

La carilogia di due *taxa* rappresentati nell'erpeto fauna montana: *Discoglossus* Otth, 1837 e le *Archaeolacerta* Méhely, 1909 iberiche

GAETANO ODIERNA, GENNARO APREA, OSCAR ARRIBAS,
TERESA CAPRIGLIONE & VINCENZO CAPUTO

ABSTRACT - ODIERNA G., APREA G., ARRIBAS O., CAPRIGLIONE T. & CAPUTO V., 1996 - La carilogia di due *taxa* rappresentati nell'erpeto fauna montana: *Discoglossus* Otth, 1837 e le *Archaeolacerta* Méhely, 1909 iberiche. [The karyology of two *taxa* represented in the mountain herpetofauna: *Discoglossus* Otth, 1837 and Iberian *Archaeolacerta* Méhely, 1909]. *Studi Trent. Sci. Nat., Acta Biol.*, vol. 71, pp. 109-117.

Discoglossus and Iberian *Archaeolacerta* represent good models in studying the roles played by chromosomal variations during evolution. In *Discoglossus* chromosomal rearrangements appear to have essentially involved the localisation and/or composition of heterochromatin and, at a lower degree, the chromosome morphology. Kariologic data on the Iberian *Archaeolacerta* showed that *L. monticola* is a polytypical *taxon* including *L. monticola sensu stricto* and the *L. bonnali* complex. In the former *taxon* there are $2n=36$ all acrocentric chromosomes, and in the latter there are $2n=24-26$ chromosomes, 10-12 of which biarmed.

PAROLE CHIAVE: carilogia del Genere *Discoglossus*, carilogia delle *Archaeolacerta* iberiche, analisi cromosomica, eterocromatina, polimorfismo robertsoniano.

KEY WORDS: *Discoglossus* karyology, Iberian rock-lizard karyology, chromosome banding, heterochromatin, Robertsonian polymorphism.

Gaetano Odierna, Gennaro Aprea, Teresa Capriglione - Dipartimento di Biologia Evolutiva e Comparata, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via Mezzocannone 8, I - 80134 Napoli.

Oscar Arribas - Soria, Spagna.

Vincenzo Caputo - Facoltà di Scienze, Università degli Studi di Ancona, Via delle Breccie Bianche, I - 60100 Ancona.

1. INTRODUZIONE

I metodi d'analisi cromosomica sviluppati negli ultimi vent'anni rendono l'approccio citogenetico un potente strumento per lo studio dei problemi sia dell'organizzazione ed evoluzione del genoma sia della sistematica e della filogenesi.

Infatti, i vari metodi di bandeggio (C-, G-, NOR), le digestioni con le endonucleasi di restrizione, i fluorocromi basi specifici per il DNA, consentendo l'analisi della fine struttura dei cromosomi, permettono di riconoscere le omologie cromosomiche fra le specie.

Tali metodiche, sviluppate nell'Uomo e con successo estese a molte altre specie di Mammiferi, risultano finora applicate ad un numero relativamente scarso di Anfibi e Rettili.

Tuttavia l'interesse per tale genere d'indagine è in continua ascesa anche nei riguardi di questi vertebrati eterotermi, come documenta l'edizione, negli ultimi otto anni, di 4 libri di citogenetica d' Anfibi e Rettili: *Reptilia* di OLMO (1986) e *Amphibia* di KING (1990); *Cytogenetics of Amphibians and Reptiles*, di OLMO (1990), e *Amphibians cytogenetics and evolution*, di GREEN & SESSION (1991).

Discoglossus tra gli Anfibi e le *Archaeolacerta* iberiche tra i Rettili costituiscono buoni modelli per studiare il ruolo svolto dalle variazioni cromosomiche nel corso dell'evoluzione di questi due taxa.

Le specie rappresentate nei due taxa e il loro areale di distribuzione sono indicati nelle figure 1 e 2.

L'analisi cromosomica è stata condotta tramite varie tecniche di bandeggio (C-banding, NOR banding, enzimi di restrizione e fluorocromo base specifico per l'adenina e timina, DAPI); i risultati ottenuti sono stati schematizzati negli idiogrammi aploidi (Figg. 3, 4, 5 e 6).

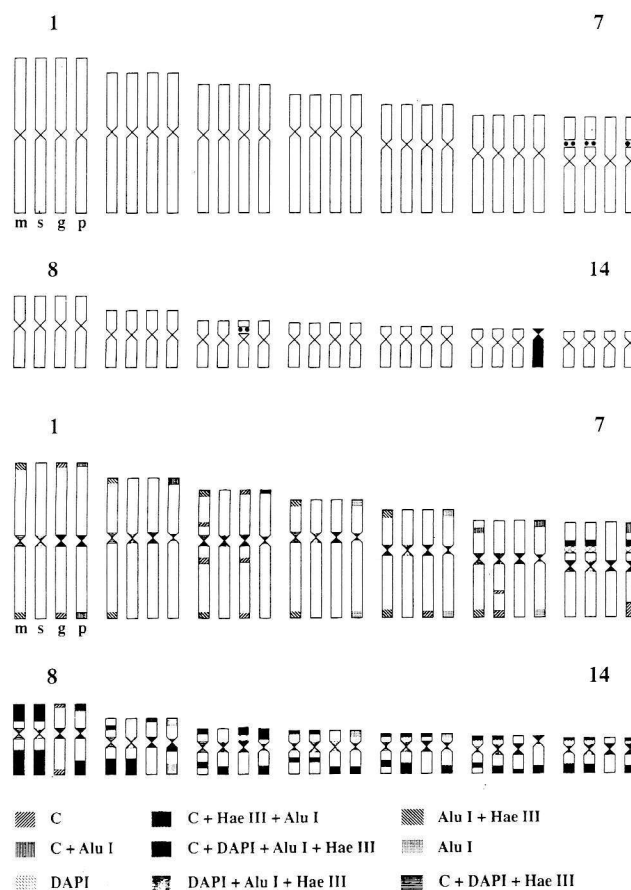
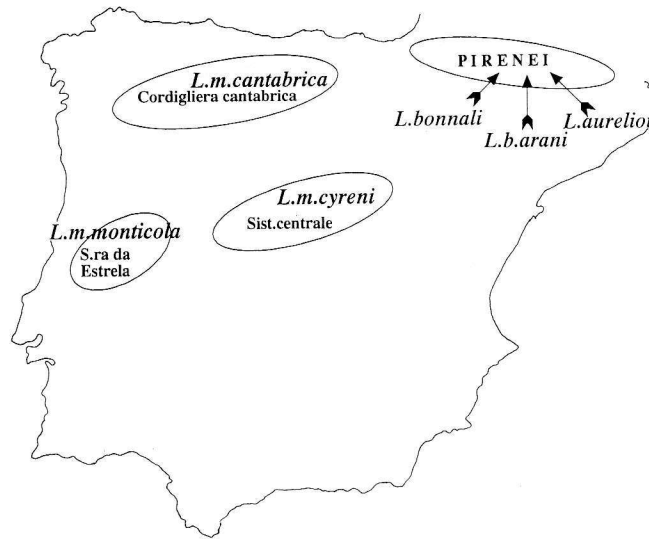
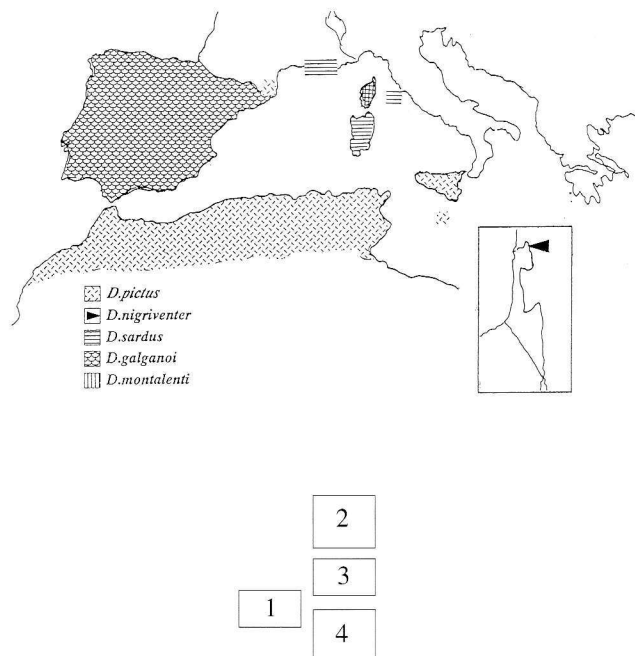


Fig. 1 - Distribuzione delle specie del genere *Discoglossus*.

Fig. 2 - Distribuzione delle specie e sottospecie delle *Archaeolacerta* iberiche.

Fig. 3 - Idiogrammi aploidi delle 4 specie di *Discoglossus* studiate: m = *D. montalenti*; s = *D. sardus*; g = *D. galganoi*; p = *D. pictus*. ●● = Organizzatore nucleolare.

Fig. 4 - Idiogrammi aploidi delle bande C, DAPI, Alu I e Hae III di *D. montalenti* (m), *D. sardus* (s), *D. galganoi* (g) e *D. pictus* (p).

Fig. 1 - Species distribution of the genus *Discoglossus*.

Fig. 2 - Species and subspecies distribution of the Iberian rock lizards.

Fig. 3 - Haploid idiograms of the 4 investigated *Discoglossus* species: m = *D. montalenti*; s = *D. sardus*; g = *D. galganoi*; p = *D. pictus*. ●● = Nucleolar organizer region.

Fig. 4 - Haploid idiograms of C, DAPI, Alu I and Hae III bands of *D. montalenti* (m), *D. sardus* (s), *D. galganoi* (g) and *D. pictus* (p).

2. DISCUSSIONE

I risultati ottenuti in *Discoglossus* evidenziano i limiti dell'analisi cariológica se ristretta alla sola morfologia cromosomica.

Infatti, dall'analisi morfologica dei cariotipi delle quattro specie esaminate (Fig. 3) risulterebbe che in tale genere la diversificazione sarebbe avvenuta senza che fossero coinvolte sostanziali modificazioni cromosomiche.

Tuttavia, la stabilità cariológica in *Discoglossus* è solo apparente. Infatti, i risultati ottenuti con il C-banding, il DAPI e le endonucleasi di restrizioni (Fig. 4) denotano, in netto contrasto con quanto evidenziato dall'analisi morfologica, che in tale genere la diversificazione è stata accompagnata da imponenti riarrangiamenti cromosomici, particolarmente a carico delle regioni eterocromatiche.

Almeno due tipi di eterocromatina sono individuabili: quella stabile per localizzazione e composizione e quella variabile per composizione o localizzazione o per entrambe.

La prima categoria di eterocromatina, cioè quella stabile, è rappresentata solo da quella nucleolo-associata, localizzata al margine distale della costrizione secondaria, che risulta C-positiva, DAPI negativa, Alu I e Hae III resistente nelle quattro specie esaminate.

SCHMID (1982) in una analisi condotta su 260 specie di Anuri mediante C-banding, fluorocromi basi specifici e colorazioni con argento, ha evidenziato che la regione nucleolare è sempre delimitata da eterocromatina. Tuttavia tale materiale genomico pur esibendo nei vari *taxa* una differente reattività ai fluorocromi, in gruppi di specie affini mostra una uniforme risposta ai fluorocromi.

È noto che i cistroni ribosomiali mostrano una bassa velocità di evoluzione; è possibile quindi ipotizzare che gli stessi *constraints* che controllano le regioni nucleolari possano in una certa misura influenzare anche l'eterocromatina delle regioni adiacenti.

La seconda categoria di eterocromatina, cioè quella variabile, appartiene a due sottocategorie: quella centromerica e quella delle regioni telomeriche ed interstiziali.

La variabilità dell'eterocromatina centromerica è stata evidenziata in molti *taxa* di Vertebrati (JOHN, 1988) e l'analisi molecolare di tale materiale genomico, condotta in molti gruppi di specie, ad esempio *Lacertidi*, *Mus*, *Equus*, *Hydromantes*, *Triturus* (CAPRIGLIONE *et al.*, 1991; REDI *et al.*, 1990; GARAGNA *et al.*, 1993; WIJERS *et al.*, 1993; NARDI, 1991; CREMISI *et al.*, 1988; MACGREGOR & SESSION, 1986) ha evidenziato la rapida divergenza delle famiglie di DNA satelliti, che a sua volta può dipendere dal fatto che

tali regioni cromosomiche non sono sottoposte a rigidi *constraints* rispetto ad altre regioni, come suggerisce la ritrovata bassa frequenza di chiasmi (JOHN, 1988) e la minore attività degli enzimi addetti al riconoscimento e riparo delle mutazioni nelle regioni centromeriche (BOULAKIS, 1992).

L'eterocromatina telomerica ed interstiziale mostra un grado di variabilità abbastanza accentuato per quanto riguarda la sua localizzazione lungo gli omologhi delle quattro specie; tuttavia la composizione di tale eterocromatina sembra mostrare una ridotta velocità di differenziamento. Ciò è particolarmente evidente per i blocchi di eterocromatina telomerica ed interstiziale delle ultime sette coppie di omologhi del corredo di *D. sardus*, *D. montalenti* e *D. galganoi*.

Il differente grado di variabilità tra l'eterocromatina nucleolo associata, quella centromerica e quella telomerica ed interstiziale evidenzia quindi che in *Discoglossus*, ma probabilmente anche negli altri Anuri, in dipendenza della localizzazione cromosomica operano *constraints* molecolari differenti sulla velocità di evoluzione di tale frazione genomica.

È interessante evidenziare che molte coppie di omologhi del cariotipo di tre delle quattro specie di *Discoglossus* esaminate presentano cospicui blocchi di eterocromatina telomerica e/o interstiziale.

Nelle altre specie di Archaeobatrachia in cui è stato condotto il C-banding (poco più di una decina fra le oltre 100 del sottordine) le regioni cromosomiche telomeriche o interstiziali sono risultate prive di blocchi eterocromatici, i quali viceversa sono frequentemente osservati nelle corrispondenti aree cromosomiche di specie dei Neobatrachia (SCHMID *et al.*, 1990; KING, 1991). Secondo KING (1991) ciò costituirebbe una discriminante genomica tra i due sottordini.

Tuttavia la presenza di blocchi eterocromatici telomerici ed interstiziali presenti in molti omologhi delle quattro specie di *Discoglossus* indicherebbe che nei due sottordini di Anuri agiscono gli stessi meccanismi di evoluzione cromosomica. Al riguardo va evidenziato che i blocchi di eterocromatina telomerica ed interstiziale di *Discoglossus* condividono con quelli delle specie di Neobatrachia la negatività ai fluorocromi A+T specifici.

I risultati ottenuti, oltre che a fornire interessanti informazioni sulla natura ed evoluzione di alcune componenti genomiche di *Discoglossus*, danno anche elementi utili ai fini della sistematica di tale genere.

Il numero e la morfologia di quasi tutti i cromosomi condivisi nelle quattro specie di *Discoglossus* indicano sicuramente che il genere è monofiletico.

Inoltre, le quattro specie risultano cariológicamente ben differenziate per il fatto di possedere ciascuna un caratteristico pattern nei riguardi delle bande C, DAPI, Alu I e Hae III.

Nel genoma dei Discoglossidi sembrano operare dei *constraints* che mantengono rigida la morfologia dei cromosomi. Pertanto, l'innovazione morfologica a carico della 13^a coppia di omologhi di *Discoglossus pictus* può assumere un rilevante ruolo sistematico, permettendo di separare dal punto di vista cariologico questa specie dalle altre tre esaminate. In aggiunta, va evidenziato che i cromosomi di *D. pictus* presentano, rispetto alle specie congeneriche, una diversa reattività delle regioni eucromatiche all'endonucleasi Hae III.

D'altra parte, *D. montalenti*, *D. sardus* e *D. galganoi* hanno in comune la morfologia dei cromosomi, la reattività delle regioni eucromatiche all'endonucleasi Hae III, e la presenza di cospicui blocchi di eterocromatina in alcuni degli omologhi più piccoli.

Tra le tre specie, *D. sardus* risulta più simile a *D. montalenti* che non a *D. galganoi*. Infatti le prime due specie condividono la presenza di imponenti blocchi di eterocromatina intercalare o telomerica DAPI-, Alu I e Hae III resistenti negli omologhi 7-14. La differente localizzazione dei blocchi eterocromatici degli omologhi 10, 12 e 13 di *D. sardus* e *D. montalenti* è verosimilmente riconducibile ad inversioni paracentriche. D'altra parte l'inversione sembra essere un meccanismo cromosomico abbastanza frequente in questo genere: ad essa può essere ricondotta la morfologia della 13^a coppia di *D. pictus*.

Va rilevato che *D. sardus* e *D. galganoi*, pur condividendo la positività al DAPI, la resistenza all'Alu I e all'Hae III delle regioni centromeriche, presentano regioni cromosomiche diversificate nella risposta al C-banding (aree C-negative in *D. sardus*; C-positive in *D. galganoi*).

Il confronto delle evidenze cariologiche con quelle provenienti da altri tipi di indagini è contraddittorio.

Infatti esse sono in contrasto con le evidenze genetiche che indicano una minore affinità di *D. montalenti* rispetto a *D. sardus*, *D. pictus* e *D. galganoi*, mentre tra queste ultime specie *D. sardus* risulterebbe più affine a *D. pictus* che non a *D. galganoi* (LANZA *et al.*, 1984 e 1986; CAPULA *et al.*, 1985).

Gli studi immulologici (MAXSON & SZYMURA, 1984; MAXSON, 1992), limitati a *D. pictus*, *D. sardus* e *D. galganoi*, indicano una maggiore affinità di *D. sardus* a *D. galganoi* che non a *D. pictus*.

D'altra parte l'analisi dei caratteri morfometrici (CAPULA & CORTI, 1993) indicherebbe una stretta affinità tra *D. sardus* e *D. montalenti*.

L'eterogeneità dei risultati non sorprende in vista della grande antichità del genere *Discoglossus* e dei complessi eventi geologici intervenuti a catalizzarne la speciazione.

Risultati altrettanto interessanti sono stati ottenuti dall'indagine condotta tra le *Archaeolacerta* iberiche (Figg. 5 e 6).

I caratteri cariologici, questa volta in pieno accordo con i dati morfologici (ARRIBAS, 1993A e 1993B; PEREZ MELLADO *et al.*, 1993), evidenziano che le *Archaeolacerta* iberiche sono un *taxon* eterogeneo, con popolazioni pirenaiche nettamente distinte da *L. monticola*.

In quest'ultima specie è possibile riconoscere due gruppi di popolazioni (Fig. 5).

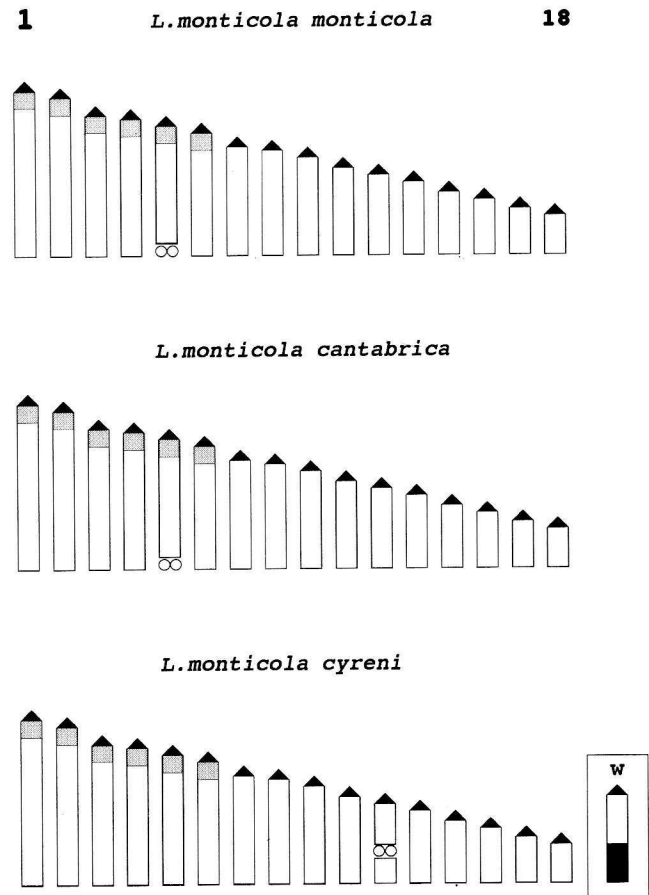


Fig. 5 - Idiogrammi aploidi delle bande C (blocchi neri) e Alu I (blocchi grigi) delle tre sottospecie di *L. monticola*.

Fig. 5 - Haploid idiograms of C (black blocks) and Alu I (gray blocks) bands of three *L. monticola* subspecies.

Un primo gruppo comprendente *L. m. cantabrica* e *L. m. monticola*, cariologicamente indistinguibili.

Un secondo gruppo è rappresentato da *L. m. cyreni*, che possiede lo stesso numero cromosomico delle altre due sottospecie di *L. monticola*, ma differisce da esse per la localizzazione dei NOR e per la presenza di un cromosoma sessuale eteromorfo (W) ed eterocromatico.

È da evidenziare che, tra le tre sottospecie di *L. monticola*, *cyreni* risulta morfologicamente differenziata rispetto alle altre due sottospecie, sia negli adulti sia nei giovani, sebbene finora non venga

considerata una specie distinta (ARRIBAS, 1993A; PEREZ MELLADO *et al.*, 1993).

La cariologia sembra concordare con queste osservazioni e favorisce l'ipotesi di una posizione distinta di *cyreni* rispetto alle altre sottospecie. Infatti, tra i vari caratteri cromosomici, la localizzazione del NOR ha dimostrato di avere un buon valore diagnostico nei Lacertidi (ODIerna *et al.*, 1987) e non sono ancora noti in questa famiglia casi di differenze intraspecifiche riguardanti questo carattere (OLMO *et al.*, 1993).

Inoltre va ricordata l'osservazione fatta in vari organismi, tra i quali specie di Cyprinidae, Sternopygidae e Salmonidae, secondo cui la localizzazione del NOR appare uniforme tra *taxa* correlati, come è il caso delle *Archaeolacerta*; una sua eventuale variazione inter- o intraspecifica sembra dunque assumere un importante significato tassonomico (AMEMIYA & GOLD, 1988; PHILLIPS *et al.*, 1988; FORESTI DE ALMEIDA-TOLEDO *et al.*, 1993; LOZANO *et al.*, 1992).

In definitiva, le notevoli differenze cariologiche di *cyreni* rispetto alle altre due sottospecie di *monticola* indicano per il primo *taxon* la possibilità di un rango sistematico superiore a quello di sottospecie.

Nettamente più marcata è la differenza cariologica mostrata dalle forme pirenaiche che posseggono dei cariotipi ricchi di cromosomi a due braccia e cromosomi sessuali dei tipi Z_1Z_2W in cui il W presenta due braccia (Fig. 6). Questi caratteri sono piuttosto rari nei lacertidi.

Infatti, tra le oltre 90 specie della famiglia di cui è noto il corredo cromosomico, un cariotipo ricco di cromosomi a due braccia è stato finora osservato soltanto in *L. parva* (GORMAN, 1969; KUPRIYANOVA, 1980) e dei cromosomi sessuali simili a quelli trovati nelle *Archaeolacerta* pirenaiche si riscontrano solo in *L. vivipara* (CHEVALIER *et al.*, 1979; KUPRIYANOVA, 1990; ODIerna *et al.*, 1993).

L'estrema peculiarità cariologica osservata nelle forme pirenaiche concorda molto bene con le osservazioni morfologiche di ARIBAS (1993A; 1993B e in press) e PEREZ MELLADO *et al.* (1993) e fornisce un ulteriore supporto all'idea che queste lucertole appartengano ad una o due specie molto distinte rispetto a *monticola*.

Interessanti sono anche le indicazioni che si possono trarre confrontando i cariotipi dei tre *taxa* pirenaici (Fig. 6).

L. aurelioi e *L. bonnali* sottospecie nominale, in buon accordo con le evidenze morfologiche di ARIBAS (1993B), risultano ben differenziate anche dal punto di vista cariologico. Infatti, i due *taxa* presentano un differente numero di cromosomi ($2n=26$ nella prima e $2n=24$ nella seconda); il cromosoma W si diversifica sia per la morfologia sia per il contenuto di materiale eterocromatico; il differente comportamen-

to all'Alu I del materiale NOR associato (Alu I sensibile in *L. aurelioi*; resistente in *L. b. bonnali*); il diverso contenuto di eterocromatina centromerica.

Gli esemplari di *L. bonnali aranica* differiscono da quelli della sottospecie nominale per il numero di cromosomi a due braccia, oltre che per certe caratteristiche dell'eterocromatina. Questo è il primo reperto tra i Lacertidi di una variazione intraspecifica dovuta a mutazioni robertsoniane, le quali tra i Sauri sono state trovate in *Anolis* (WEBSTER *et al.*, 1972), *Cordylus* (OLMO & ODIerna, 1980) e *Sceloporus* (SITES, 1983).

I risultati conseguiti consentono di formulare un'interessante ipotesi circa le cause che avrebbero originato il polimorfismo cromosomico in *L. bonnali*.

Poiché queste lucertole sono forme d'alta quota distribuite in popolazioni isolate lungo le cime dei differenti picchi dei Pirenei, le variazioni robertsoniane potrebbero essere favorite dall'isolamento geografico,

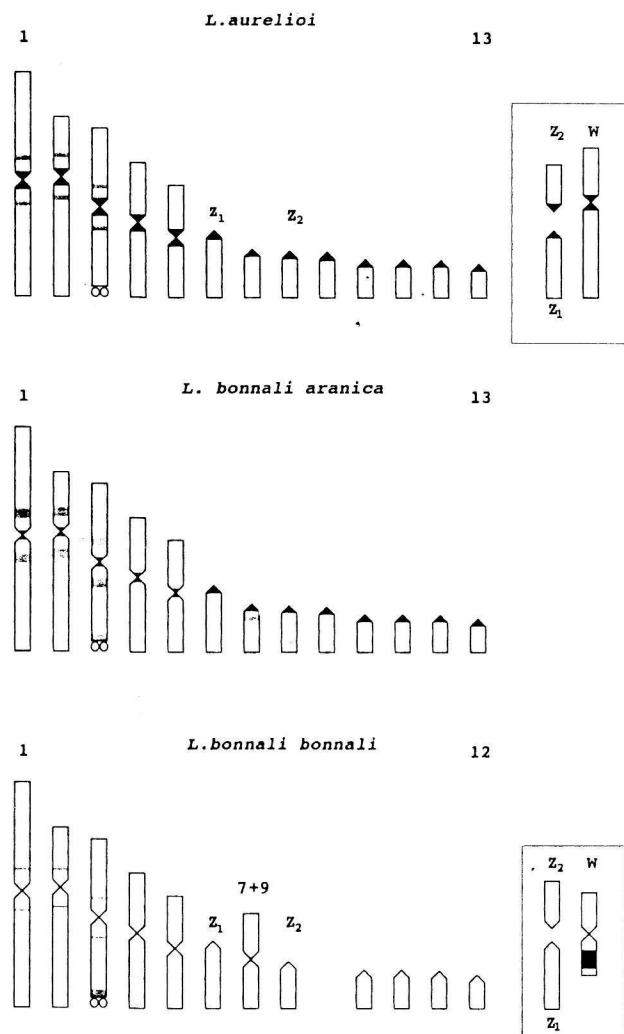


Fig. 6 - Idiogramma aploide delle bande C (blocchi neri) e Alu I (blocchi grigi) del *L. bonnali* complex.

Fig. 6 - Haploid idiograms of C (black blocks) and Alu I (gray blocks) bands of the *L. bonnali* complex.

come è stato ritrovato in vari organismi (ad esempio *Mus* [CAPANNA *et al.*, 1977]) e ciò potrebbe essere vero in particolare per le popolazioni di *L. b. aranica*, il cui grado di differenziamento morfologico, secondo ARRIBAS (1993B), è indice di un remoto isolamento da quelle dei Pirenei centrali.

Inoltre, si stanno accumulando sempre nuove evidenze che determinate frazioni di DNA, in particolare quelle a sequenza altamente ripetuta inducono o favoriscono alcune mutazioni cromosomiche (REDI *et al.*, 1990; LUKE *et al.*, 1992; REIMANN *et al.*, 1994). La presenza o meno a livello del centromero di sequenze altamente ripetute impedirebbe o consentirebbe la fusione centrica. Al riguardo è da evidenziare il peculiare tipo di eterocromatina DAPI positiva e Alu I resistente che è esclusivamente e significativamente presente in posizione prossimale ai centromeri della settima coppia di cromosomi acrocentrici di *L. b. aranica*. Vale la pena di ricordare che la coppia di cromosomi a due braccia esclusiva del cariotipo degli esemplari di *L. b. bonnali* *sensu stricto* potrebbe derivare, in base alle misure morfometriche, dalla fusione di acrocentrici di lunghezza pari a quelli della 7^a e 9^a coppia di omologhi presenti nel cariotipo di *L. b. aranica* e *L. aurelioi*.

È possibile quindi ipotizzare che l'eterocromatina pericentromerica Alu I resistente e DAPI positiva sarebbe insorta nella 7^a coppia di omologhi nelle popolazioni di *L. b. aranica* dopo l'isolamento da quelle della sottospecie nominale impedendo la fusione centrica tra tale coppia di omologhi con quelli della 9^a coppia, fusione che viceversa sarebbe avvenuta tra gli esemplari della popolazione di *L. b. bonnali* di Monte Perdido.

Al momento, non essendo noti dati sull'interfecondità o meno tra gli esemplari delle due sottospecie, non è possibile indicare se il differenziamento cariologico tra gli esemplari delle due popolazioni possa costituire una barriera per un loro isolamento riproduttivo.

Infatti, il ruolo delle variazioni robertsoniane nei processi di speciazione è tuttora controverso (WHITE, 1978; JOHN, 1981) e sono riportati casi in cui tali variazioni non sembrerebbero aver alcuna influenza sull'isolamento riproduttivo (*Mus*, *Sceloporus* [CAPANNA *et al.*, 1977; ARÉVALO *et al.*, 1991]) e casi in cui invece esse sembrerebbero essere la causa primaria, se non la sola, di tale isolamento (*Caledia*, *Anolis aeneus* [WEBSTER *et al.*, 1972; JOHN, 1981]).

Alcuni commenti meritano le somiglianze cariologiche fra le *Archaeolacerta* iberiche, e specialmente le specie dei Pirenei, e gli altri Lacertidi.

Una di queste somiglianze è la presenza di numerosi cromosomi a due braccia osservata nelle specie pirenaiche e in *L. parva*. Tale somiglianza è rilevante e potrebbe riflettere un'eventuale affinità tassonomica, anche se al riguardo i dati non sono uni-

voci. Infatti su base immunologica *L. parva* è ritenuta affine alle *Archaeolacerta* (MAYER & LUTZ, 1989), mentre su base morfologica essa è posta in un ramo completamente distinto (ARNOLD, 1989).

In assenza di G-banding non siamo in grado di stabilire se i cromosomi a due braccia delle specie pirenaiche sono realmente omologhi a quelli di *L. parva* o se la somiglianza tra i cariotipi di queste specie sia un caso di convergenza evolutiva, considerato anche che *L. parva* differisce dalle specie pirenaiche anche per altri caratteri cariologici, come la presenza di microcromosomi associati ai NORs (OLMO *et al.*, 1991).

Un maggior significato potrebbe avere la mancanza di microcromosomi che si osserva in tutte le specie delle *Archaeolacerta* iberiche e in *L. horwathi* (CAPULA *et al.*, 1989), cioè in Lacertidi che, anche in base a molti altri caratteri, sono considerati fra loro affini da vari autori (LANZA, 1963; ARRIBAS, 1993A; BÖHME & CORTI, 1993; PEREZ MELLADO *et al.*, 1993).

La mancanza di microcromosomi è però condivisa anche da *L. vivipara*, che finora non è stata considerata affine alle *Archaeolacerta* iberiche, ma che possiede anche dei cromosomi sessuali del tipo Z₁Z₂W, uguali o simili a quelli dei *taxa* pirenaici.

Nessuno dei due ultimi caratteri cariologici è stato finora ritenuto importante dal punto di vista sistematico (OLMO *et al.*, 1991 e 1993). Tuttavia il fatto che *L. vivipara*, il cui limite meridionale di diffusione si sovrappone in parte a quello delle *Archaeolacerta* pirenaiche, condivide con esse dei caratteri così peculiari e rari nei Lacertidi, potrebbe non essere solo frutto del caso.

È da notare inoltre che il NOR di *L. vivipara* mostra una localizzazione su un cromosoma del tipo ms (OLMO *et al.*, 1993), cioè simile a quello ritrovato in *L. m. cyreni*.

A nostro avviso queste osservazioni forniscono nuovi elementi per lo studio dei rapporti filitici, non ancora chiaramente definiti, tra *L. vivipara* e altri *taxa* dei Lacertidi, in particolare le *Archaeolacerta*, alle quali, secondo evidenze immunologiche, questa specie sarebbe affine (MAYER & LUTZ, 1989).

In conclusione, lo studio della cariologia avvalora l'ipotesi che le *Archaeolacerta* iberiche appartengano ad almeno tre, forse cinque, specie distinte (*monticola*, *cyreni*, *bonnali*, *aranica* e *aurelioi*), e inoltre fornisce dei contributi interessanti sia allo studio dei rapporti tassonomici intercorrenti tra queste diverse specie e tra di esse ed altre specie di Lacertidi, sia a problematiche più generali, quali il ruolo delle variazioni cromosomiche nella speciazione o quello di un certo tipo di eterocromatina nella regolazione delle mutazioni cromosomiche.

SUMMARY - *Discoglossus* and the Iberian *Archaeolacerta* represent good models to study the roles played by chromosomal variations during evolution. In *D. galaganoi*, *D. montalenti*, *D. pictus* e *D. sardus*, chromosomal rearrangements appear to have essentially involved the localization and/or composition of heterochromatin, and to a lower degree the chromosome morphology. Actually, the karyotypes differ in the morphology of the 13th pair of homologs, which are acrocentric in *D. pictus* and metacentric in the remaining three species. Karyological data on the Iberian *Archaeolacerta* showed that *L. monticola* is a polytypical *taxon* including *L. monticola sensu stricto* and the *L. bonnali* complex. In fact, the two *taxa* are different in both the number and morphology of the chromosomes. In the former *taxon* there are $2n=36$ all acrocentric chromosomes, and in the latter there are $2n=24-26$ chromosomes, 10-12 of which biarmed. In *L. monticola* karyological investigation pointed out that the nominal subspecies is not substantially different from the subspecies *cantabrica*. On the contrary, the stock *cyreni* differs in NOR localization and in sex chromosome system. In the *L. bonnali* complex, *L. bonnali* ($2n=24$ chromosomes, 12 of which biarmed and 12 acrocentric, Z_1Z_2W sex chromosome system) differs from *L. aurelioi* in chromosome number ($2n=26$ chromosomes, 10 of which biarmed and 16 acrocentric, Z_1Z_2W sex chromosome system), as well as in heterochromatin distribution and W-chromosome morphology. A population of the subspecies *aranica* with $2n=26$ chromosomes, 10 of which biarmed and 16 acrocentric, was also found in *L. bonnali*.

RIASSUNTO - *Discoglossus* e le *Archaeolacerta* iberiche costituiscono dei buoni modelli per studiare il ruolo svolto dalle variazioni cromosomiche nel corso dell'evoluzione di questi due *taxa*. In *D. galaganoi*, *D. montalenti*, *D. pictus* e *D. sardus* ($2n=28$ cromosomi e NOR localizzato sul braccio corto della settima coppia di omologhi) i riarrangiamenti cromosomici avrebbero essenzialmente interessato la localizzazione e/o la composizione dell'eterocromatina e in misura minore la morfologia dei cromosomi (il cariotipo di *D. pictus* differisce per la morfologia della tredicesima coppia di omologhi, che risultano acrocentrici in questa specie e metacentrici nelle altre tre). L'indagine cariológica delle *Archaeolacerta* iberiche ha evidenziato che *L. monticola* è un *taxon* politipico comprendente *L. monticola sensu stricto* e il complesso di *L. bonnali*. Infatti, i due *taxa* risultano differenziati sia per il numero sia per la morfologia dei cromosomi: $2n=36$ cromosomi tutti acrocentrici nel primo *taxon* e $2n=24-26$ cromosomi, di cui 10-12 a due braccia, nel secondo *taxon*. In *L. monticola* l'analisi cromosomica rileva che la sottospecie nominale non è sostanzialmente differente dalla sottospecie *cantabrica*. Al contrario, la razza *cyreni* risulta differenziata per la localizzazione del NOR e per il sistema dei cromosomi sessuali ZW. Nel *L. bonnali* complex, *L. bonnali* ($2n=24$, 12 cromosomi a due braccia e 12 acrocentrici, sistema dei cromosomi sessuali Z_1Z_2W) differisce da *L. aurelioi* oltre che per un differente numero di cromosomi ($2n=26$, 10 cromosomi a due braccia e 16 acrocentrici, sistema dei cromosomi sessuali Z_1Z_2W) anche per la distribuzione dell'eterocromatina e per la morfologia del cromosoma W. Inoltre, in *L. bonnali* è stata ritrovata una popolazione della sottospecie *aranica* con $2n=26$ cromosomi, di cui 10 a due braccia e 16 acrocentrici.

BIBLIOGRAFIA

- AMEMIYA C. & GOLD J.R., 1988 - Chromosomal NOR as taxonomic and systematic characters in North American cyprinidae fishes. *Genetica*, 76, pp. 81-90.
- ARÉVALO E., PORTER C.A., GONZÁLEZ A., MENDOZA F., CAMARILLO J.L. & SITES J.W., 1991 - Population cytogenetics and evolution of the *Sceloporus grammicus* complex (Iguanidae) in Central Mexico. *Herpetological Monographs*, 5, pp. 79-115.
- ARNOLD E.N., 1989 - Towards a phylogeny and biogeography of the Lacertidae: relationships within an Old-World family of lizards derived from morphology. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.)*, 55, pp. 209-257.
- ARRIBAS O.J., 1993A - Estatus específico para *Lacerta (Archaeolacerta) monticola bonnali* Lantz, 1927 (Reptilia, Lacertidae). *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. (Sec. Biol.)*, 90, pp. 101-112.
- ARRIBAS O.J., 1993B - Intraspecific variability of *Lacerta (Archaeolacerta) bonnali* Lantz, 1927 (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa*, 6, pp. 129-140.
- ARRIBAS O.J., (in press) - Una nueva especie de lagartija de los Pirineos Orientales: *Lacerta (Archaeolacerta) aurelioi* sp. nov. (Reptilia, Lacertidae). *Boll. Mus. reg. Sci. Nat. Torino*.
- BÖHME W. & CORTI C., 1993 - Zoogeography of the lacertid lizards of the western Mediterranean basin. In: E.D. Valakos, W. Böhme, V. Perez Mellado & P. Maragou (eds.), *Lacertis of the Mediterranean region*, pp. 17-33, Athens, Bonn, Alicante.
- BOULAKIS T., 1992 - Evolutionary consequences of non-random damage and repair of chromatin domains. *J. Mol. Evol.*, 35, pp. 156-180.
- CAPANNA E., CIVITELLI M.V. & CRISTALDI M., 1977 - Chromosomal rearrangements, reproductive isolation and speciation in mammals. The case of *Mus musculus*. *Boll. Zool.*, 44, pp. 231-246.
- CAPRIGLIONE T., CARDONE A., ODIERNA G. & OLMO E., 1991 - Evolution of a centromeric satellite DNA and phylogeny of lacertid lizards. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100B, pp. 641-645.
- CAPULA M. & CORTI M., 1993 - Divergenza morfometrica e filogenesi nel genere *Discoglossus* (Amphibia: Discoglossidae). *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXI, pp. 597-604.
- CAPULA M., LAPINI I. & CAPANNA E., 1989 - The karyotype of *Lacerta horwathi* (Reptilia, Sauria, Lacertidae). *Genetica*, 79, pp. 11-16.
- CAPULA M., NASCETTI G., LANZA B., BULLINI L. & CRESPO E.G., 1985 - Morphological and genetic differentiation between

- the Iberian and the other West Mediterranean *Discoglossus* species (Amphibia, Salientia, Discoglossidae). *Monitore Zool. Ital.*, 19, pp. 69-90.
- CHEVALIER M., DUFAURE J.P. & LECHER P., 1979 - Cytogenetic study of several species of *Lacerta* (Lacertidae, Reptilia) with particular reference to sex chromosomes. *Genetica*, 50, pp. 11-18.
- CREMISTI F., VIGNALI R., BATISTONI R. & BARSACCHI G., 1988 - Heterochromatic DNA in *Triturus* (Amphibia, Urodela). II. A centromeric DNA. *Chromosoma*, 97, pp. 204-211.
- FORESTI DE ALMEIDA-TOLEDO L., FORESTI F., ZAMPELLI DANIEL M.F. & DE ALMEIDA TOLEDO-FILHO S., 1993 - Nucleolar chromosome variants in *Sternopygus macrurus* (Pisces, Sternopygidae) from three Brazilian river basins. *Caryologia*, 46, pp. 53-61.
- GARAGNA S., REDI C.A., CAPANNA E., ANDAYANI N., ALFANO R.M., DOI P. & VIALE G., 1993 - Genome distribution, chromosomal allocation, and organization of the major and minor satellite DNAs in 11 species and subspecies of the genus *Mus*. *Cytogenet. Cell Genet.*, 64, pp. 247-255.
- GREEN D.M. & SESSIONS S.K. (eds.), 1991 - Amphibian cytogenetics and evolution. Sessions Academic Press, p. I-XV+454, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
- GORMAN G.C., 1969 - New chromosome data from 12 species of lacertid lizards. *J. Herpetol.*, 3, pp. 49-54.
- JOHN M., 1981 - Chromosome change and evolutionary change: a critique. In: W.R. Atchley & D. Woodruff (eds.), *Evolution and Speciation, Essays in honor of M.J.D. White*, Cambridge Univ. Press, pp. 23-51, New York.
- JOHN B., 1988 - The biology of the heterochromatin. In: R.S. Verma, *Heterochromatin: Molecular and structural aspects*, pp. 1-147, Cambr. Univ. Press, Cambridge, New York, New Rochelle, Melbourne, Sidney.
- KING M., 1990 - Animal Cytogenetics. 4. Chordata 2. Amphibia. Ed. B. John, p. 240, Berlin.
- KING M., 1991 - The evolution of heterochromatin in the Amphibian genome. In: D.M. Green & S.K. Sessions (eds.), *Amphibian cytogenetics and evolution*, Academic Press, pp. 359-392, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
- KUPRIYANOVA L.A., 1980 - B-chromosomes in the karyotype of *Lacerta parva* Boul. *Genetica*, 52/53, pp. 223-226.
- KUPRIYANOVA L.A., 1990 - Cytogenetic studies in lacertid lizards. In: E. Olmo (ed.), *Cytogenetics of Amphibians and Reptiles*, Birkhauser, pp. 241-245, Basel, Boston, Berlin.
- LANZA B., 1963 - Note erpetologica sulla zona del Lac Blue di Bagnères de Bigorre (Hautes-Pyrénées). *Vie Milieu*, 14, pp. 629-639.
- LANZA B., NASCETTI G., CAPULA M. & BULLINI L., 1984 - Genetic relationships among West Mediterranean *Discoglossus* with the description of a new species (Amphibia, Salientia, Discoglossidae). *Monitore Zool. Ital.*, 18, pp. 133-152.
- LANZA B., NASCETTI G., CAPULA M. & BULLINI L., 1986 - Les discoglosses de la région méditerranéenne occidentale (Amphibia; Anura; Discoglossidae). *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 40, pp. 16-27.
- LOZANO R., RUIZ REJON C. & RUIZ REJON M., 1992 - A comparative analysis of NORs in diploid and triploid salmonids: implications with respect to the diploidization process occurring in this fish group. *Heredity*, 68, pp. 450-457.
- LUKE S., VERMA R.S., CONTE R.A. & MATHEWS T., 1992 - Molecular characterization of the secondary constriction region (qh) of human chromosome 9 with pericentric inversion. *J. Cell. Sci.*, 1203, pp. 919-923.
- MACGREGOR H.C. & SESSIONS S.K., 1986 - The biological significance of variation in satellite DNA and heterochromatin in newts of the genus *Triturus*: An evolutionary perspective. *Phil. Trans. R. Soc.*, B 312, pp. 243-259.
- MAXSON L., 1992 - Tempo and pattern in Anuran speciation and phylogeny: an albumine perspective. In: K. Adler (ed.), *Herpetology: Current Research on the Biology of Amphibians and Reptiles*, Proceedings of the First World Congress of Herpetology, Society for the study of Amphibians and Reptiles, pp. 41-57, Oxford (Ohio).
- MAXSON L. & SZYMURA J.M., 1984 - Relationships among Discoglossid frogs: an albumin perspective. *Amphibia-Reptilia*, 5, pp. 245-252.
- MAYER W. & LUTZ D., 1989 - Chemosystematische Untersuchungen zur Phylognese der Sammelgattung *Lacerta* (Reptilia: Sauria: Lacertidae). *Zeit. Zool. Syst. Evolut. Forsch.*, 27, pp. 338-349.
- NARDI I., 1991 - Cytogenetics of the European plethodontid salamanders, genus *Hydromantes*. In: D.M. Green & S.K. Sessions (eds.), *Amphibian cytogenetics and evolution*. Academic Press, pp. 131-156, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
- ODIERNA G., KUPRIYANOVA L.A., CAPRIGLIONE T. & OLMO E., 1993 - Further data on sex chromosomes of *Lacertidae* and a hypothesis on their evolutionary trend. *Amphibia-Reptilia*, 14, pp. 1-11.
- ODIERNA G., OLMO E. & COBROR O., 1987 - Taxonomic implications of NOR- localization in lacertid lizards. *Amphibia-Reptilia*, 8, pp. 373-382.
- OLMO E. (ed.), 1986 - Animal Cytogenetics. 4. Chordata 3. Reptilia. Ed. B. John, p. 100, Berlin.
- OLMO E. (ed.), 1990 - Citogenetics of Amphibians and Reptiles. Birkhauser Verlag, p. 270, Basel.
- OLMO E. & ODIERNA G., 1980 - Chromosomal evolution and DNA of cordylid lizards. *Herpetologica*, 36, pp. 311-316.
- OLMO E., ODIERNA G. & CAPRIGLIONE T., 1993 - The karyology of Mediterranean lacertid lizards. In: E.D. Valakos, W. Böhme, V. Perez-Mellado & P. Maragou (eds.), *Lacertids of the Mediterranean region*, pp. 61-84, Athens, Bonn, Alicante.
- OLMO E., ODIERNA G., CAPRIGLIONE T. & CAPUTO V., 1991 - A karyological approach to the systematic of Lacertidae (Reptilia, Sauria). *Rev. Esp. Herpetol.*, 6, pp. 81-90.
- PEREZ MELLADO V., BARBADILLO L.J., BARAHONA F., BROWN R.P., CORTI C., GUERRERO F. & LANZA B., 1993 - A systematic survey of the Iberian rock lizard *Lacerta monticola* Boulenger, 1905. In: E.D. Valakos, W. Böhme, V. Perez Mellado & P. Maragou (eds.), *Lacertids of the Mediterranean region*, pp. 85-105, Athens, Bonn, Alicante.
- PHILLIPS R.B., PLEYTE K. & HARTLEY S.E., 1988 - Stock-specific differences in the number and chromosome positions of the nucleolar organizer regions in arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Cytogenet. Cell genet.*, 48, pp. 9-12.
- REDI C.A., GARAGNA S. & CAPANNA E., 1990 - Nature's experiment with *in situ* hybridization. A hypothesis for the mechanism of Rb fusion. *J. Evol. Biol.*, 3, pp. 133-137.
- REIMANN N., ROGALLA P., KAZMIERCZAK B., BONK U., NOLTE I.,

- GRZONKA T., BARNITZKE S. & BULLERDIEK J., 1994 - Evidence that metacentric and submetacentric chromosomes in canine tumors can result from telomeric fusion. *Cytogenet. Cell Genet.*, 67, pp. 81-85.
- SCHMID M., 1982 - Chromosome banding in Amphibia. VII. Analysis of the structure and variability of NORs in Anura. *Chromosoma*, 87, pp. 327-344.
- SCHMID M., STEINLEIN C., NANDA I. & EPLEN J.T., 1990 - Chromosome banding in Amphibia. In: E. Olmo (ed.), *Cytogenetics of Amphibians and Reptiles*, Birkhauser Verlag, pp. 21-46, Basel.
- SITES J.W., 1983 - Chromosome evolution in the iguanid lizard *Sceloporus grammicus*. I. Chromosome polymorphisms. *Evolution*, 37, pp. 54-65.
- WEBSTER T.P., HALL W.P. & WILLIAMS E.E., 1972 - Fission in the evolution of a lizard karyotype. *Science*, 177, pp. 611-613.
- WHITE M.J.D., 1978 - Modes of speciation. W.H. Freeman, p. 540, San Francisco.
- WIJERS E.R., ZIJLSTRA C. & LENSTRA J., 1993 - Rapid evolution of horse satellite DNA. *Genomics*, 18, pp. 113-117.

Lavoro pervenuto nell'agosto 1994.