

Relation between ventral colour polymorphism and femoral gland proteins in the common wall lizard (*Podarcis muralis*)

Marco MANGIACOTTI¹, Marco FUMAGALLI², Stefano SCALI³, Marco A.L. ZUFFI⁴, Maddalena CAGNONE⁵, Monica DIVENERE⁵, Paolo IADAROLA², Roberto SACCHI¹

¹Department of Earth and Environmental Sciences, University of Pavia, Via Taramelli, 24, I-27100 Pavia, Italy; ²Department of Biology and Biotechnology "L. Spallanzani", Biochemistry Unit, University of Pavia, Via Taramelli 3, I-27100 Pavia, Italy; ³Museo Civico di Storia Naturale di Milano, Corso Venezia 55, I-20121 Milano, Italy; ⁴Museo di Storia Naturale e del Territorio, Università di Pisa, Via Roma 79, I-56011 Calci (Pisa), Italy; ⁵Department of Molecular Medicine, Biochemistry Unit, University of Pavia, Via Taramelli 3, I-27100 Pavia, Italy

Abstract. Colour polymorphism (CP) is the occurrence in the same population of discrete colour morphs at a frequency too high to be simply explained by the effect of random mutation. The functional and evolutionary meanings of CP have been the focus of many studies in the last decades. The common wall lizard (*Podarcis muralis*) was often used as model species to address these issues since it is characterized by a ventral colour polymorphism (with three pure morphs: red, white and yellow) that has been already associated to differences in ecological, physiological, behavioural and reproductive traits. In this context, given that getting or giving information about morph without a direct interaction with conspecifics can be a multilevel advantage, chemical communication may play an important role. While morph-specific profiles have been found in the composition of the lipophilic fraction of the femoral pore secretions, no analogous information is available about their main component, i.e., proteins. Unlike lipids, whose occurrence in the femoral secretions can be influenced by diet and environment, proteins are more stable and consequently suitable to signal individual identity-related information. Protein patterns among the three morphs have been compared by means of two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), a powerful technique that separates proteins based on both charge and size. Proteins extracted from femoral secretions of nine males (three males for each morph) from a polymorphic population (Lemna, Lombardy) have been submitted to 2-DE. By collecting the digital acquisition of the nine gels, three master gels, one for each morph, were obtained. Upon superimposition of the three master gels, differences in the number and in the intensity of a few spots in all pairwise comparisons were found. Our findings support the hypothesis that chemical cues might be able to transfer information about morph in the common wall lizard.

Riassunto. Il polimorfismo cromatico (PC) consiste nella coesistenza, all'interno della medesima popolazione, di differenti morfi cromatici, ciascuno con una frequenza troppo alta per essere spiegata dall'effetto di mutazioni casuali. Il significato funzionale ed evolutivo del PC è stato oggetto di innumerevoli studi negli ultimi decenni. La lucertola muraiola (*Podarcis muralis*) è stata spesso utilizzata come specie modello per affrontare queste problematiche, poiché è caratterizzata da un polimorfismo della colorazione ventrale (con tre morfi puri: rosso, bianco e giallo), che è stata in precedenza messa in relazione a differenze ecologiche, fisiologiche, comportamentali e riproduttive. In questo contesto, considerato che ottenere o fornire informazioni sul morfo senza una interazione diretta con i conspecifici può costituire un vantaggio a più livelli, la comunicazione chimica può giocare un ruolo importante. Sebbene profili morfo-specifici siano stati osservati nella composizione della frazione lipidica delle secrezioni dei pori femorali, nessuna informazione analoga è disponibile sulla loro componente principale, cioè le proteine. Diversamente dai lipidi, la cui presenza nelle secrezioni femorali può essere influenzata dalla dieta e dall'ambiente, le proteine sono più stabili e conseguentemente idonee a veicolare informazioni legate all'identità.

I pattern proteici dei tre morfi puri sono stati confrontati attraverso una elettroforesi bidimensionale (2-DE),

una potente tecnica che separa le proteine sulla base della carica e della dimensione. Le proteine estratte dalle secrezioni femorali di nove maschi (tre per ciascun morfo puro) provenienti da una popolazione polimorfica (Lemna, Lombardia) sono state sottoposte a 2-DE. Dalle immagini digitali dei nove gel sono stati ottenuti tre master gel, uno per ciascun morfo. Dalla sovrapposizione dei tre master gel, sono emerse differenze nel numero e nell'intensità delle macchie in tutti i confronti a coppie. I nostri risultati supportano l'ipotesi che i segnali chimici possano trasferire informazioni sul morfo nella lucertola muraiola.