INDICE GENERALE

Parte Prima

Elenco dei partecipanti al XXXIII Congresso SIBM

Tema 1 - *Biodiversità ed insularità*

Relazioni

MALTAGLIATI F. - Strumenti efficaci per il monitoraggio della biodiversità a livello di popolazione negli ambienti salmastri 1

CURINI GALLETTI M. - I popolamenti insulari: un comparto sottostimato della biodiversità marina? 15

Comunicazioni

CANTONE G., CATALANO D., DI PIETRO N., FASSARI G., MOLLICA E., SCUDERI D. - L'area marina protetta "Isole Ciclopi": un forziere di biodiversità? 25

FRASCHETTI S., TERLIZZI A., MATINATO L., BOERO F. - Patterns of assemblage spatial distribution under the *Cystoseira* sp. fringe 34

MISTRI M., FANO E.A. - Biodiversità e specie alloctone: il ruolo di *Musculista senhousia* nella Sacca di Goro 40

UGOLINI U., FERDEGHINI F., SARA G., MORRI C., BIANCHI C.N. - Indagine ecologica sulla grotta sottomarina dell'Isola del Tinetto (Golfo di La Spezia, Mar Ligure orientale): dati preliminari 48

VARGIU G., MARRAS M., CASU M., MALTAGLIATI F., CASTELLI A. - Elevati livelli di divergenza tra popolazioni del polichete *Ophelia bicornis*. Isolamento o confusione tassonomica? 58

Poster

CARDINALE C., DI LORENZO S., MILAZZO M., CHEMELLO R. - La distribuzione a media scala dei molluschi delle alghe fotofile: un caso di "costafilia inversa"? 67

CASU M., CURINI GALLETTI M., OGGIANO G., VARGIU G., CUBEDDU M., CORREDDU A.R., COSSU P. - Insularità e endemismo: il caso dei platelminti interstiziali 70

COSTANTINI F., TINTI F., ABBIATI M. - Sistematica molecolare e filogenesi di *Corallium rubrum* 73

DE BIASI A.M., GAI F., PACCIARDI L. - Biodiversità del popolamento bentonico dei "catini" delle Secche della Meloria 76

FANO E.A., MISTRI M. - Diversità spaziale delle macroalgale e del macrozoobenthos associato 80

PIAZZI L., BALATA D., NALDI A., CINELLI F. - I popolamenti fitobentonici dell'isola di Gorgona (arcipelago toscano) 84

Tema 2 – *Riproduzione e cicli vitali*

Relazione

CAU A., CANNAS R. - L'ottimizzazione dell'investimento riproduttivo nei teleostei: strategie e tattiche 86

Comunicazioni Gruppo A

BRAMANTI L., MAGAGNINI G., SANTANGELO G. - Ciclo vitale e riproduzione di organismi bentonici marini: la strategia di reclutamento del corallo rosso (*Corallium rubrum* L. 1758) 97

CARBONARA P., COSTANTINO G., GIOVINE G., LEMBO G., SPEDICATO M.T., MACHIAS A. - Some aspects of the life history of *Polyprion americanus* (Schneider, 1801) along the coasts of the North Western Ionian Sea 102

CARCUPINO M., TADDEI A.R., CORSO G., MAZZINI M., FRANZOI P. - Struttura e funzione della tasca incubatrice e del corion nelle strategie riproduttive dei Singnatidi 113

CUCCU D., DAMELE F., FOLLESA M.C., MURENU M., CAU A. - Aspetti biologici di *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda Ottopoda) nei mari circostanti la Sardegna 119

POTOSCHI A., BATTAGLIA P., ROSSI G., TRISCARI M. - Studio sulla cre scita e su alcuni aspetti biologici di *Hygophum benoiti* (Cocco, 1838), Pisces, Myctophidae 127

RICCATO F., FIORIN R., FRANCO A., FRANZOI P., LIBERTINI A., PRANOVI F., TORRICELLI P. - Population structure and reproduction of three pipe-fish species (Pisces Syngnathidae) in a sea grass meadow of the Venice Lagoon 138

Comunicazioni Gruppo B

AZZINI F., CERRANO C., PUCE S., BAVESTRELLO G. - Influenza dell'ambiente sulla storia vitale di *Eudendrium racemosum* (Gmelin, 1791) (Cnidaria, Hydrozoa) in Mar Ligure 146

FRANCO A., FIORIN R. , MALAVASI S., FRANZOI P., TORRICELLI P. - Spatial and temporal variation in reproductive and somatic investment of *Zosterisessor ophiocephalus* (Pisces, Gobiidae) in the Venice Lagoon 152

NONNIS MARZANO C., CORRIERO G., SCALERA LIACI L. - Distribuzione e ciclo vitale di *Halichondria panicea* (Porifera, Demospongiae) nel lago di Lesina 159

PREVEDELLI D., SIMONINI R. - Differenze nella life history di tre popolazioni di *Ophryotrocha japonica* (Polychaeta, Dorvilleidae) 168

SARA G., GASPARINI G.P., MORRI C., BIANCHI C.N., CINELLI F. - Reclutamento di gorgonie dopo un episodio di moria di massa in Mar Ligure orientale 176

SIMONINI R., PREVEDELLI D. - Effetto della temperatura sul ciclo biologico e la riproduzione di due popolazioni di *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae) 188

VALLI G., BORGESE E., BUSETTO E. - Ciclo riproduttivo di *Nassarius reticulatus* (L., 1758), Gastropoda, Prosobranchia in tre stazioni del Golfo di Trieste 190

Comunicazioni Gruppo C

GELLI F., CICERO A.M., MELOTTI P., RONCARATI A., PREGNOLATO L., SAVORELLI F., PALAZZI D., CASAZZA G. - Riproduzione controllata del latterino (*Atherina boyeri* Risso, 1810) mediante condizionamento ecofisiologico 203

ORSI L., PALANDRI G., GARIBALDI F. - Reproductive parameters of the Mditerranean swordfish 210

RAGONESE S., GANCITANO S., NORRITO G., RIZZO P., BONO G. - Life history traits of the slender rockfish, *Scorpaena elongata* Cadenat, 1943 (Pisces-Scorpaenidae) of the Strait of Sicily (Mediterranean Sea) 223

VITALE S., CANNIZZARO L., BONO G., BELTRANO A.M., MILAZZO A., CSUMANO S. - Maturità sessuale, età e accrescimento della mormora, *Lithognathus mormyrus* (L., 1758) (Pisces; Sparidae) costa sud occidentale della Sicilia 233

Poster Gruppo A

BARBATO F., TADDEI A.R., VALENTINI V., FAUSTO A.M. - Aspetti morfologici dello sviluppo larvale di *Sparus aurata* osservati tramite SEM 242

BARBIN L., BIONDI C., BARION P., FIORINI S., ROSSI R., BORASIO P.G. - Espressione e funzione dell'ossido nitrico sintasi negli oociti di *Venus verrucosa* (Bivalvia, Veneridae) 246

DI CAVE D., ORECCHIA P., ORTIS M., PAGGI L. - Metazoi parassiti di alcuni elasmobranchi del Mare Tirreno 249

FOLLESA M.C., CUCCU D., DAMELE F., SABATINI A., CAU A. - Valutazioni sull'accrescimento di *Palinurus elephas* (Fabr. 1787) tramite marcatura e ricattura nei mari sardi 253

GARIBALDI F., ORSI RELINI L. - Prime osservazioni sulla biologia riproduttiva di *Remora osteochir* (Osteichthyes, Echeneididae) in Mar Ligure 257

PAJETTA R., PIRONE A., SERENA F., FABIANI O. - Studio istologico e ultrastrutturale sull'oogenesi di *Merluccius merluccius* (Osteichthyes, Merluccidae).. 260

PANNACCIULLI F.G., BISHOP J.D.D. - Fertilization in isolated individuals of *Chthamalus montagui* (Crustacea, Cirripedia) 265

PUCCIO V., RELINI M., AZZURRO E. - Osservazioni sulla riproduzione di *Percon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) nelle Isole Pelagie (Sicilia)..... 267

ZAGAMI G., COSTANZO G., CAMPOLMI M., GRANATA A., BRUGNANO C. - Ciclo biologico del copepode *Pseudocyclops umbraticus* Giesbrecht, 1893 allevato in laboratorio 273

Poster Gruppo B

MINNITI F., CEFALI A., POTOSCHI A., BRUNO R. - Riproduzione di *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827) nel lago di Ganzirri (Messina)..... 276

MURA M., PESCI P., SABATINI A. - Note sull'accrescimento e sulla riproduzione di *Palaemonetes antennarius* (H. Milne Edwards, 1837) (Crustacea, Decapoda) nel fiume Tirso 281

Poster Gruppo C

BELTRANO A.M., CANNIZZARO L., VITALE S., MILAZZO A. - Aspetti della biologia di *Diplodus vulgaris* (Pisces: Sparidae) nello stretto di Sicilia..... 287

CARLUCCI R., MAIORANO P., CAPEZZUTO F., IMPERATRICE M. - Osservazioni sulla riproduzione di *Aristeus antennatus* e *Aristaeomorpha foliacea* (Crustacea, Decapoda) nel compartimento marittimo di Gallipoli (Mar Ionio)..... 291

VALLISNERI M., PICCINETTI MANFRIN G., PICCINETTI C. - Biologia riproduttiva di *Trisopterus minutus capelanus* (Lacepéde, 1800) nel Mar Adriatico..... 296

TEMA 3 -*Aspetti biochimici emergenti nell'ambiente marino*

Relazioni

FOCARDI S. - Approccio integrato chimico e biochimico per valutare gli effetti dell'inquinamento nell'ambiente marino..... 300

ROSSINI G.P., MALAGUTI C., FERRARI S., PIEROTTI S., RONZITTI G., CALLEGARI F. - Alterazioni della funzionalità cellulare indotte da ficotossine liofile 305

Comunicazioni: Ambiente marino e prodotti

BLASUTTO O., DE VITTOR C., SDRIGOTTI E., DE PRA F., FONDA UMANI S. - Utilizzo di parametri biochimici per lo studio della comunità microfitobentonica nel Golfo di Trieste (Adriatico Settentrionale) 319

CENGARLE L., CHESSA L.A., PANTALEO A., TILLOCA G., VITALE L. - Aspetti della composizione biochimica di alcune specie di invertebrati marini di interesse economico 327

DEL NEGRO P., FONDA UMANI S. - Modificazione del substrato organic ad opera di enzimi idrolitici di origine batterica 335

PUSCEDDU A., FIORDELMONDO C., DANOVARO R. - Impact of trawling activity on the trophic status of marin sediments in the Thermaikos Gulf (Aegean Sea): a biochemical approach 343

ROSSANO R., UNGARO N., D'AMBROSIO A., LIUZZI G.M., RICCIO P. - Dosaggio di istamina nell'acciuga *Engraulis encrasicolus* (L., 1758) mediante elettroforesi capillare zonale: considerazioni di interesse biomedico e commerciale 351

SEGATO S., GIACCONE V., GOBBATO D., NOVELLI E., LOPPARELLI R.M., CATELLANI P., BALZAN S., ANDRIGHETTO I. - Influenza della stagione di cattura su caratteristiche biometriche e nutrizionali di cefalopodi provenienti dall'alto Adriatico 357

Comunicazioni: Caratteristiche biochimiche

GIULIANINI P.G., METTULIO R., LORENZON S., FERRERO E.A., EDOMI P. - Gli ormoni CHH (iperglicemizzanti dei crostacei) e GIH (gonado-inibitorio) nel ciclo riproduttivo dei decapodi: un approccio molecolare 367

Poster

BARLETTA D., PUSCEDDU A., TOTTI C.M. - Composizione biochimica delle foglie di *Zostera marina* L. e del substrato sedimentario d'impianto 374

CANNAS R., DEIANA A.M., TAGLIAVINI J. - AFLP fingerprinting delle aragoste mediterranee *Palinurus elephas* e *P. mauritanicus* . Dati preliminari 379

CATTANI O., MONARI M., VITALI G., BOSI S., CORTESI P., SERRATORE P., DE ZWAAN A. - Studio delle cause che influenzano la mortalità di *Chamelea gallina* 383

CIGLIANO M., MANINI E., GAMBI M.C. - First data on cellulolytic enzyme activity in polychaete borers associated to *Posidonia oceanica* sheats..... 388

FARCHI C., ALCARO L., CORSI I., DELLA TORRE C., PENNA M., BALOCCHI C., BONACCI S., AMATO E., RINALDI A., FOCARDI S. - Bio markers d'esposizione e d'effetto in *Conger conger* (L.) in relazione alla presenza di residuati bellici sui fondali dell'Isola di Pianosa (Arcipelago delle Isole Tremiti): analisi preliminare 392

PAGLIARANI A., VENTRELLA V., MANUZZI M.P., PIRINI M., TROMBETTI F., TRIGARI G., BORGATTI A.R. - Na-ATPasi insensibile all'ouabaina in branchie di molluschi bivalvi dell'Adriatico: effetti ambientali 396

PAMPANIN D.M., MARIN M.G. - Variazioni stagionali di acidi nucleici e proteine in *Tapes philippinarum* della Laguna di Venezia 398

STORELLI M.M., GALLO M., GIACOMINELLI-STUFFLER R., CECI E., D'ADDABBO R., MARCOTRIGIANO G.O. - Distribuzione cellulare di metalli (Zn, Cu e Cd) nel fegato e rene di tartarughe marine 401

Poster Acquacoltura

BALLARIN L., DALL'ORO M., BERTOTTO D., LIBERTINI A., BARBARO A. - Caratteristiche ematologiche nell'ombrina (*Umbrina cirrosa*). Confronto tra individui triploidi e diploidi 404

BERTOTTO D., BARBARO A., VERONESE E., POLTRONIERI C., FRANCESCON A. - Ottimizzazione dell'ovodeposizione in cattività della sogliola (*Solea solea*) mediante trattamento ormonale con GnRH a rilascio prolungato ... 408

CABERLOTTO S., GALVAN T., PELLIZZATO M. - Molluschicoltura sperimentale in biotopi marginali della Laguna di Venezia 412

CABERLOTTO S., PELLIZZATO M., BRESSAN M. - A successful method of collecting manila clam (*Tapes philippinarum*) spat in the Venice lagoon 415

CANNAS A., LECCA E., LENTI G. - Produzione di avannotti di *Mugil cephalus* (L.) per il ripopolamento di lagune sarde 418

CAPUANO S., SONETTI D., BORASIO P.G., SBRENNA G. - Un probabile "sito neuroemale" cerebrale in *Venus verrucosa* (Veneridae, Bivalvia)..... 421

CARDELLINI P., MASSIRONI M., RIGHI E., BERTOTTO D., LIBERTINI A., FRANCESCON A. - Effetti della triploidia sullo sviluppo gonadico dell'ombrina, *Umbrina cirrosa* L..... 426

CARUSO G., GENOVESE L., MAIMONE G., MANGANARO A., MANCUSO M., PALMEGIANO G.B. - Enzimi digestivi in *Pagellus bogaraveo*: tre diete sperimentali a confronto 430

CAVALLINI S., SINISCALCHI A., SONETTI D., CAPUANO S., SBRENNA G. - Serotonina: localizzazione nel ganglio viscerale e fluttuazioni durante la maturazione gonadica di *Venus verrucosa* 434

CAVALLO A., GIANGRANDE A. - Prove di sperimentazione ai fini dell'utilizzazione di *Sabella spallanzanii* (Polychaeta) come biorimediatore in acquacoltura 438

DE MURTAS R., SINI S., SERRA S., PELUSI P. - Prove di allevamento estensivo di *Diopatra neapolitana* (Anellida, Polychaeta) nella laguna di S. Gilla (Cagliari) 441

GENOVESE L., MAIMONE G., MARICCHIOLO G., MICALE V., MODICA A., SCILIPOTI M., COSTANZO M.T. - Monitoraggio di parametri ematici in *Sparus aurata* e *Dicentrarchus labrax* in maricoltura offshore: controllo sullo stress..... 444

IEROPOLI S., LANGELLOTTI A.L., MASULLO P., PERRUCCI G., DO ESPIRITO SANTO M., NASCIMENTO I.A., SANSONE G. - Effetti di soluzioni crioprotettive su embrioni di mitile *Mytilus galloprovincialis* allo stadio di trocofora..... 447

MASULLO P., LANGELLOTTI A.L., IEROPOLI S., PERRUCCI G., DO ESPIRITO SANTO M., NASCIMENTO I.A., SANSONE G. - Qualità di gameti ed embrioni di riproduttori di *Crassostrea gigas* in ambiente confinato e condizionato..... 451

LANGELLOTTI A.L., IEROPOLI S., MARTELLO A., MASULLO P., DO ESPIRITO SANTO M., OCCIDENTE M., SANSONE G., MATASSINO D. - Effetti dell'esposizione ai crioprotettivi su embrioni di orata (*S. aurata*) 455

MELOTTI P., RONCARATI A., GATTA P.P., MORDENTI O., MAGI E. – Impiego di materie prime di origine acquatica e/o vegetale nell'alimentazione dell'orata (*Sparus aurata* L.): effetti sulle performance zootecniche e sulla frazione lipidica del prodotto 459

MERCURIO M., LONGO C., NONNIS MARZANO C., SCALERA LIACI L., CORRIERO G. - L'allevamento di spugne commerciali nella riserva naturale marina "Isola di Ustica"..... 462

MESSINA C., FODERA' C., SANTULLI A. - Qualità del tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*) proveniente da un allevamento commerciale ubicato nel golfo di Castellamare (Trapani, Italia)..... 465

MONETTI C., VIGETTI D., PRATI M., BERNARDINI G., TEROVA G., SAROGLIA M., GORNATI R. - I livelli di ossigeno influenzano l'espressione genica nelle branchie di *Dicentrarchus labrax*..... 468

PATI A.C., BELMONTE G., BOERO F. - Seeking for new fodder species in acquaculture 470

PENZO P., GALVAN T., PELLIZZATO M. - Reclutamento e accrescimento del seme di *Tapes philippinarum* in un'area della laguna di Venezia 473

SANTULLI A., BERTOLINO F., ASARO E., LOMBARDO S., MODICA A., PORRELLO S., MISTRETTA G., ARENA R., MESSINA C.M. - Impatto am-

bientale di un allevamento commerciale di tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*) ubicato nel golfo di Castellamare (Trapani): risultati preliminari..... 477

SARA' G., VIZZINI S., CARUSO M., MAZZOLA A. - Origine del carbonio sedimentario in un'area soggetta ad impatto da gabbie di piscicoltura (Golfo di Gaeta, Tirreno centrale) 482

SEGATO S., LOPPARELLI R.M., FRANCESCON A., BARBARO A., TRISOLINI R., ANDRIGHETTO I. - Effetto della ploidia sulle caratteristiche qualitative dell'ombrina (*Umbrina cirrosa* L.) 485

TUROLLA E., CASTALDELLI G., BARBIN L., ROSSI R. - Induzione all'emissione dei gameti in *Mytilus galloprovincialis* mediante l'impiego di due stimolanti chimici (KCl e H_2O_2) 490

TUROLLA E., CASTALDELLI G., BARBIN L., DEZFULI B.S., ROSSI R. - Primo ottenimento di spat di tartufo di mare (*Venus verrucosa*) mediante tecniche di riproduzione controllata 492

Poster Benthos

BARLETTA D., CAMPANELLI A., TOTTI C.M., MARINI M. - Variazioni stagionali di un popolamento a *Zostera marina* L. in relazione alla disponibilità di nutrienti 495

BELMONTE G., COSTANTINI A., FORTI P., METRANGOLO M., ONORATO R., POTO M. - Biocostruzioni stalattitiche nelle grotte sommerse del Capo d'Otranto 500

CALVISI G., PAIS M., FLORIS A. - Un metodo di valutazione dell'impatto dell'attività subacquea in un'area marina protetta sarda..... 503

CALVISI G., TRAINITO E., PAIS M., FRANCI G., SCHIAPARELLI S. - Prima segnalazione di un episodio di mortalità di gorgonacei lungo la costa dell'isola di Tavolara (Sardegna settentrionale)..... 506

CARRIGLIO D., SANDULLI R., DEASTIS S., GALLO D'ADDABBO M., DE ZIO GRIMALDI S. - Effetti della colonizzazione di *Caulerpa racemosa* sulla meiofauna del Golfo di Taranto..... 509

CASELLATO S., RIZZO M.E., ALFANO A., MASIERO L. - Modificazioni strutturali della comunità zoobentonica in alcune aree della laguna di Venezia.... 512

CASTRIOTA L., GAMBI M.C., ZUPO V., SUNSERI G. - Structure and trophic ecology of a population of *Lysidice ninetta* (Polychaeta) associated to rhodoliths off the Island of Ustica (Southern Tyrrhenian Sea)..... 517

CASU D., FLORIS A., RAPPOSELLI L., CASTELLI A. - Polichetofauna di fondi molli della Grotta della Galatea (Sardegna nord-occidentale)-indagine preliminare 521

CASU D., MILELLA I. - Polichetofauna di fondi molli delle isole settentrionali dell'arcipelago di La Maddalena 525

CECCHERELLI G. - Effetto dell'habitat sulla variabilità spaziale e temporale delle macroalghe nella laguna di S'Ena Arrubia (Sardegna centro-occidentale) .. 529

COMO S., LARDICCI C. - Influence of epibenthic predators on activity of a burrowing shrimp, *Upogebia pusilla* (Petagna), in a Mediterranean intertidal mudflat 532

CORNELLO M., GIOVANARDI O. - Dinamica temporale dei popolamenti macrozoobentonici al largo di Chioggia (Venezia) ed effetti dell'attività di mitilicoltura 535

CORTI S., CECCANTI B., MASCIANDARO G., LARDICCI C. - Effects of *Hediste diversicolor* (Polychaeta: Nereididae) on organic matter mineralization: a preliminary experiment 539

COSSU A., PALA D., RUIU A., ZANELLO A. - Distribuzione di *Caulerpa racemosa* nel Golfo dell'Asinara (Sardegna settentrionale) 542

CRISTO B. - Contributo alla conoscenza della distribuzione di *Gerardia savaglia* (Anthozoa: Zoantharia) lungo le coste della Sardegna 544

CULOTTA R., PESSANI D., TIRELLI T. - Casi di xenochia osservati in folliculinidi (Ciliati Eterotrichi) 547

DE DOMENICO F., COSENTINO A., SPANO' N. - Fauna carcinologica di due ambienti insulari: arcipelago toscano e Isole Pontine 550

DIELI T., FERRERI B.M., PELLINO D., RIGGIO S. - Effetti dell'illuminazione sul popolamento algale di reef a vermeti in seguito a rimozione di una passerella 555

FRANCI G., SCHIAPARELLI S., CATTANEO-VIETTI R., ALBERTELLI G. - 1999 mass mortality event in the Ligurian Sea: recovery strategies in *Eunicella cavolinii* (Cnidaria: Ottocorallia) 558

GAETA S., SCUDERI D., CANTONE G. - Prime osservazioni sulla selezione dell'habitat in due specie di *Haliotis* (Mollusca: Gastropoda) del Mediterraneo: *H. tuberculata* Linnaeus, 1758 e *H. stomatiaeformis* Reeve, 1846 561

GARAVENTA F., FAIMALI M., SEPCIC K., GERACI S. - Laboratory analysis of antimicrofouling activity of poly-APS extracted from *Reniera sarai* (Porifera: Demospongiae) 565

GUGLIELMO R., GIACOBBE S., SPANO' N., MANGANARO A. - Comunità macrozoobentoniche associate a *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh nello Stretto di Messina: primi risultati 568

LARDICCI C., CORTI S., COMO S. - Effects of taxonomic resolution in analysis of macrobenthic communities of a mediterranean coastal lagoon (Orbetello, Italy) 571

MANGIALAJO L., CATTANEO-VIETTI R., CHIANTORE M., MEINESZ A., DE VAUGELAS J., BARBERIS G. - Superficial algae as environmental quality indicators: application of a G.I.S. to the Portofino Promontory Park 574

MARTINO M., MARANO C.A., CAPUTI JAMBRENGHI A., MARZANO M.C. - Indagini istologiche preliminari sul ciclo stagionale delle cellule germinali dei maschi di *Nephrops norvegicus* (L.) (Crustacea Decapoda) nell'Adriatico meridionale 577

MOSCI D., SALVI E., BALSAMO M., COLANTONI P. - Meiofauna connessa a sorgenti sulfuree 580

MUSSAT SARTOR R., PESSANI D., VETERE M. - Prime indagini sulla componente bentonica di Punta di Li Francesi (Sardegna settentrionale) 583

NICOLETTI L., CHIMENZ GUSSO C., ARDIZZONE G.D. - Polychaetes of Fregane artificial reef after 20 years from its construction (Latium, Thyrrenian Sea): preliminary study 586

NICOLETTI L., FANELLI E., LATTANZI L., LA VALLE P., GABELLINI M., CHIMENZ-GUSSO C. - Contribution to the knowledge of coastal detritic bottoms off Anzio (Central Tyrrhenian Sea) 589

PANE L., DE NUCCIO L., FRANCESCHI E. - Contenuto energetico del Copepode *Tigriopus fulvus* (Fischer 1860): applicazione della DSC (Differential scanning calorimetry) 593

PANETTA P., MASTROTOTARO F., MATARRESE A., TURSI A. - Tanatocenosi a molluschi presenti nelle acque adriatiche albanesi 597

PANSINI M., MALFETTANI F. - Il genere *Aplysina* Nardo (Porifera, Demospongiae) nell'area caraibica: note sistematiche ed ecologiche 602

PARTE SECONDA

RAPPOSELLI L., MILELLA I., FLORIS A., SANTONI M., CASU D. - Polichetofauna di fondi molli del litorale antistante Porto Torres (Sardegna settentrionale) 605

RUSSO G.F., BALZANO R., CARRADA G.C. - Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* ed ulteriori notizie sulla distribuzione di *Caulerpa racemosa* per le coste della Campania (Tirreno centrale) 608

SANDULLI R., GALLO D'ADDABBO M., CARRIGLIO D., PENTASSUGLIA A., GRIMALDI DE ZIO S. - Composizione e diversità della meiofauna lungo le coste albanesi 611

SCAPOLATEMPO M., SOLUSTRI C., SABELLI B. - *Amathina tricarinata* (Linnaeus, 1767) (Orthogastropoda, Heterobranchia, Amathinidae): una nuova specie esotica in Mediterraneo 614

SCUDERI D., RUSSO G.F. - Due nuovi gasteropodi per le acque italiane: *Melibe fimbriata* Alder e Hancok, 1864 e *Tricolia tingitana* Gofas, 1982 (Mollusca: Gastropoda)..... 618

SOLUSTRI C., MORELLO E., FROGLIA C. - Osservazioni su *Anadara demiri* (Piani, 1981) (Bivalvia: Arcidae) epibionte di alcune specie di molluschi..... 622

Poster Fascia Costiera

AGNESI S., MANCA ZEICHEN M., MARIANI L., MORI M., TUNESI L. - Settlement variability of *Diplodus* spp. post-larvae related to sea surface temperature within the Portofino marine protected area (Ligurian Sea): use of temporal series 626

AZZARO F., DECEMBRINI F., RAFFA F., GRECO S. - Caratteristiche idrobiologiche dello strato eufotico nel Tirreno sud orientale: primavera 2001 631

BARALDI E., MAURI M., SIMONINI R. - Effetti di zinco su tre generazioni di *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta): un approccio demografico..... 636

BARALDI E., VIRNO-LAMBERTI C., PELLEGRINI D., LEASI F., TODARO M.A. - Biomonitoraggio di un'area di dumping: la comunità meiobentonica..... 640

BAROLI M., DE FALCO G., PIERGALLINI G. - Cartografia ad alta risoluzione dei popolamenti bentonici della fascia costiera dell'area marina protetta della penisola del Sinis- Isola di Mal di Ventre finalizzata alla gestione del diporto nautico..... 644

BELMONTE G., BUSSOTTI S., COSTANTINI A., DENITTO F., METRANGOLO M., MUSCOGIURI L., ONORATO R. - Indagine faunistica sulle grotte sottomarine del Capo di Leuca (Mar Ionio-Puglia) 647

BIANCHI F., ACRI F. - Distribuzione dell'idrochimica nelle acque costiere dell'isola di Pantelleria: risultati preliminari 650

CATALANO B., SCACCO U., VACCHI M. - Note sulla biodiversità dei pesci cartilaginei del parco dell'Asinara..... 655

CERIOLA L., MARANO G., PASTORELLI A.M., TISCAR P.G., CIARELLI A. - Biodiversità dei fondi mobili nell'area costiera di Torre del Cerrano (Abruzzo, Italia)..... 659

CHESSA L.A., MELIS P., PAIS A., SCARDI M., SERRA S., DI DATO P. - Ricerca di stadi giovanili di *Cerastoderma glaucum* e *Tapes decussatus* nello stagno di Calich (Aghero)..... 663

CORSI I., MARIOTTINI M., MENCHI V., BONACCI S., BORGHESI N., FRENZILLI G., NIGRO M., FOCARDI S. - Applicazione di un approccio integrato di biomarkers e analisi chimiche per valutare il grado di inquinamento in ambiente acquatico: a confronto due lagune costiere italiane 667

DE FALCO G., MOLINAROLI E., BAROLI M., BELLACICCO S. - Influenza delle praterie di *Posidonia oceanica* sulla composizione dei sedimenti delle spiagge della penisola del Sinis (Sardegna occidentale)..... 671

DI TURI L., LO CAPUTO S., MARZANO M.C., PASTORELLI A.M., POMPEI M., ROSITANI L., UNGARO N. - Sulla presenza di Ostreopsidiaceae (Dinophyceae) lungo il litorale barese 675

FARAPONOVA O., TODARO M.A., ONORATI F., FINOIA M.G. - Sensibilità sesso ed età specifica di *Tigriopus fulvus* (Copepoda, Harpacticoida) nei confronti di due metalli pesanti (cadmio e rame) 679

FERRARI S., MELA F., PELLEGRINI D. - Livelli di mercurio nel tessuto muscolare di *Mullus barbatus* lungo le coste settentrionali della Toscana 682

FIORDELMONDO C., PUSCEDDU A., MANINI E., GAMBI C., DANOVARO R. - Impatto della pesca di molluschi bivalvi su circuito microbico e meiofauna nella Sacca di Goro (FE)..... 685

GAMBACCINI S., DEGL'INNOCENTI R., DE RANIERI S. - Osservazioni sull'accrescimento dei giovanili di sarago maggiore (*Diplodus sargus,* L. 1758) nel Mar Ligure sud-orientale 689

GAZALE V., COSSU A. ZANELLO A., CARTA M., MILELLA I., RAGAZZOLA F. - Studio e realizzazione di sentieri marini all'interno del parco nazionale dell'Asinara 693

GAZALE V., PALA D., SECHI N. - Individuazione di attività illegali di pesca a strascico all'interno della baia di Porto Conte (Sardegna NW)..... 696

GELLI F., CICERO A M., MELOTTI P., RONCARATI A., PREGNOLATO L., SAVORELLI F., PALAZZI D., MARIANI L., CASAZZA G. - Impiego di stadi larvali e giovanili di *D. labrax* (L.) in saggi biologici: valutazione della qualità di acque marine, salmastre e di sedimenti attraverso test acuti..... 698

GENTILE A., RIGGIO S. - Sviluppo di un database G.I.S. come strumento di gestione in un piano di monitoraggio e controllo dalla fascia costiera..... 701

GENTILE A., RIGGIO S. - La rappresentazione cartografica in ambiente G.I.S. delle biocenosi bentoniche marine nell'area di Capo Gallo (Sicilia nord-occidentale)..... 706

GIANI L., COSSU A. - Stress antropico e condizioni ecologiche delle praterie i *Posidonia oceanica* (L.) Delile nel parco nazionale di La Maddalena (NE Sardegna)..... 711

GUIDETTI P., FRASCHETTI S., TERLIZZI A., FALUGI C., BOERO F. - Human predation on the sea urchin *Paracentrotus lividus* along the southern Apulian rocky coasts: effects on populations..... 714

LAURIANO G., MACKELWORTH P., FORTUNA C.M., MOLTEDO G., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. - Densità e abbondanza del Tursiope (*Tursiops truncatus)* nel parco nazionale dell'Asinara, Sardegna 717

MALTAGLIATI F., DOMENICI P., FRANCH FOSCH C., COSSU P., CASU M., CASTELLI A. - Diversità morfologica e genetica su piccola scala spaziale in *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae) da uno stagno salmastro e una pozza adiacente del nord Sardegna 721

MATOZZO V., BALLARIN L., MARIN M.G. - Parametri cellulari in popolazioni di vongole (*Tapes philippinarum)* soggette a diverso impatto di pesca in Laguna di Venezia 724

MILAZZO M., ANASTASI I., BADALAMENTI F., CHEMELLO R. - Impatto dei turisti nell'AMP "Isola di Ustica": cambiamenti nel comportamento di pesci costieri 727

MILAZZO M., PALMERI A., CHEMELLO R. - Impatto dei turisti nell'AMP "Isola di Ustica": effetto immediato del calpestio umano 730

MOLINARI A., TUNESI L. - Characterization of the artisanal fishery activities in the Berteggi Island's waters (Ligurian Sea) 734

MOSCHINO V., DEPPIERI M., MARIN M.G. - Parametri fisiologici in popolazioni di vongole (*Tapes philippinarum*) soggette a diverso impatto di pesca in Laguna di Venezia 738

TREBINI F., CECCHERELLI G., SECHI N. - Variazione temporale delle macroalghe e del fitoplancton nella laguna eutrofica di S'Ena Arrubia (Sardegna centro-occidentale) 742

TUNESI L., SALVATI E., MOLINARI A. - Il popolamento ittico dei fondali interessati dallo sversamento di carbone della M/V Eurobulker IV 745

VANNUCCI A., GAMBACCINI S., FRANCESCONI B., ROSSETTI I. - Censimenti visivi in immersione: confronto tra metodi di valutazione di un popola mento ittico costiero nell'isola d'Elba 750

VEGA FERNANDEZ T., D'ANNA G., BADALAMENTI F., PIPITONE C., COPPOLA M., RIVAS G., MODICA A. - Fauna ittica associata ad un impianto di acquacoltura off-shore nel Golfo di Castellammare (Sicilia NO) 755

VIZZINI S., SARA' G., SAVONA A., MAZZOLA A. - Analisi degli isotopi stabili di carbonio ed azoto ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) in alcune specie di mugilidi dello stagno di Santa Giusta (Sardegna occidentale): evidenze sul fenomeno della ripartizione delle risorse trofiche 760

VIZZINI S., SAVONA A., MAZZOLA A. - Analisi della rete trofica nel Lago Fusaro (Tlrreno meridionalei) attraverso la tecnica degli isotopi stabili di carbonio ed azoto ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) 764

Poster Necton

ARCULEO M., LO BRUTTO S., SIRNA M., MAGGIO T., CANNIZZARO L., PARRINELLO N. - Variabilità genetica intraspecifica e flusso genico in due specie di sparidi nel Mar Mediterraneo 767

ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., CARPENTIERI P., COLLOCA F. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Central Tyrrhenian Sea 769

BOTTARI T., GIORDANO D., BUSALACCHI B., PERDICHIZZI F. - Relazione taglia-peso dello sgombro (*Scomber scombrus*, Linneo 1758) nel Mar Adriatico in funzione della maturità sessuale 774

CAMPO D., FINOIA M.G., SINOPOLI M., VIVONA P. - Strategie alimentari del pesce balestra (*Balistes carolinensis* Gmelin, 1789) nella fase pelagica del suo ciclo vitale 777

CARLUCCI R., PANZA M., COSTANTINO G., D'ONGHIA G. - Osservazioni sullo sbarcato dei gamberi rossi (*Aristeus antennatus* ed *Aristaeomorpha foliacea*) nella marineria di Gallipoli (Mar Ionio) 781

CARPENTIERI P., COLLOCA F., NICOLETTI L., ARDIZZONE G.D. - Does the composition of demersal assemblages change during a 24-h period? 785

CATALANO B., MANCUSI C., CLO' S., DALU' M., SERENA F., VACCHI M. - Marcatura e rilascio di esemplari giovanili di razza stellata *Raja asterias* nelle acque toscane: risultati preliminari e prospettive di lavoro 789

DALU' M., CONSALVO I., CANDI G., ROMANELLI M. - Un esemplare ermafrodita di *Torpedo torpedo* (Chondrichthyes, Torpedinidae)..... 792

CUCCU D., ADDIS P., DAMELE F., MANFRIN PICCINETTI G. - Primo censimento della teutofauna dei mari circostanti la Sardegna..... 795

DALU' M., CLO' S., DANOVARO R., VACCHI M. - Lo squalo di profondità *Centroscymnus coelolepis* in Mediterraneo: una popolazione isolata? 799

DEFLORIO M., APREA A., SANTAMARIA N., CORRIERO A., ZUBANI D., TERIO E., SCISCIOLI V., DE METRIO G. - Catture accidentali di tartarughe marine nella pesca dei grandi pelagici nel Mar Ionio 803

FANELLI E., BELLUSCIO A. - Some aspecs of reproductive biology of pandalid shrimps of the genus *Plesionika* (Bate, 1888) (Crustacea, Decapoda) in the Central Thyrrenian Sea 808

FIORENTINO F., GANCITANO S., GIUSTO G.B., RIZZO P. - Assessing lon gevity of gadoids in the Strait of Sicily on the basis of otolith reading 814

FIORENTINO F., GAROFALO G., GRISTINA M., LEVI D. - The ratio between "bottom dwelling" and overall fish biomass (BOI) as an indicator of trawling impact on demersal assemblages 819

FLORIO G., CONSOLI P., PERDICHIZZI F., RINELLI P., GRECO S. - Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the South-Tyrrhenian Sea from Cape Suvero (Calabria) to Cape S. Vito (Sicily) 824

FOLLESA M.C., ADDIS P., MURENU M., SABA R., SABATINI A. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Sardinian seas..... 828

FRANCESCONI B., SBRANA M., DE RANIERI S. - Fishery with trammel net targeting red mullets in the Livorno artisanal fleet: characterization of *Mullus barbatus* and *Mullus surmuletus* catches 834

GRISTINA M., BONO G., FIORENTINO F., GAROFALO G. - L'impatto della pesca a strascico sulla diversità delle comunità demersali dello Stretto di Sicilia..... 838

IMPERATRICE M., CARLUCCI R., SION L., D'ONGHIA G. - Esperimenti di selettività della rete a strascico relativi alla pesca di *Aristeus antennatus* ed *Aristaeomorpha foliacea* nella marineria di Gallipoli (Mar Ionio)..... 843

LAURIANO G., FORTUNA C.M., MOLTEDO G., MACKELWORTH P., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. - Presenza e distribuzione dei cetacei nelle aree limitrofe al parco nazionale dell'Asinara (Sardegna nord-occidentale) 848

LIGAS A., BELCARI P., BERTOLINI D., VIVA C. - Growth of *juveniles* of European hake, *Merluccius merluccius* (L., 1758), in the Northern Tyrrhenian Sea..... 853

MARANO C.A., MANFRIN-PICCINETTI G., PASOLINI P., TINTI F., UNGARO N. - Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Adriatic Sea..... 856

MAURO A., MAGGIO T., HEMIDA F., ANDALORO F., ARCULEO M., PARRINELLO N. - Cytochrome B gene variation in the Mediterranean species of *Epinephelus*..... 863

MURA M., CAU A. - Sulla presenza di *Gaidropsarus granti* (Regan, 1903) (Osteichthyes, Gadidae) nel Mediterranneo centro-occidentale 866

PAIS A., MAFUCA J.M. - Indagini preliminari sulle attività di pesca artigianale nella laguna di Bilene (Mozambico)..... 870

RAGONESE S., CIGALA FULGOSI F., BIANCHINI M.L., NORRITO G., SINACORI G. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Straits of Sicily (Central Mediterranean)..... 874

RELINI G., MANNINI A., PIANO T. - Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Northern Ligurian Sea 882

RIZZO P., GANCITANO S., NORRITO G., GIUSTO G.B., RAGONESE S. - Longevityof the slender rockfish, *Scorpaena elongata* Cadenat, 1943 (Pisces-Scorpaenidae), in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea) 886

ROMEO T., ANCORA S., CONSOLI P., AUSILI A., FOSSI M.C., ANDALORO F. - Approccio sperimentale al calcolo dello sforzo di pesca e delle catture per unità di sforzo (CPUE) della pesca al pescespada con l'arpone..... 891

ROSSETTI I., SARTOR P., BELCARI P. - Length-weight relationship in *Sepia officinalis* L. 1758, (Cephalopoda: Sepioidea) in the Eastern Ligurian Sea 895

SANTAMARIA N., ACONE F., DI SUMMA A., GENTILE R., DEFLORIO M., DE METRIO G. - Età ed accrescimento di giovanili di tonno rosso (*Thunnus Thynnus* L. 1758) nei mari meridionali d'Italia 900

SARTOR P., CARLINI F., DE RANIERI S. - Diet of young European hake (*Merluccius merluccius*) in the Northern Tyrrhenian Sea 904

SBRANA M., SARTOR P., REALE B. - Fishing capacity and fishing activity of the trammel net targeting red mullets in the artisanal fleet of Livorno (Eastern Ligurian Sea)..... 909

SCACCO U., LAURIANO G., MOLTEDO G. - Incidenza della pesca artigianale su alcune specie commerciali nel Parco Nazionale dell'Asinara: un triennio di studi..... 913

SERENA F., MANCUSI C., AUTERI R. - Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the South Ligurian and North Tyrrhenian Sea 918

SILVESTRI R., BAINO R., VOLIANI A. - Caratteristiche delle catture di *Sepia officinalis* con reti da posta 927

SINOPOLI M., CAMPO D., D'ANNA G., BADALAMENTI F., VIVONA P., ANDALORO F. - Utilizzo dei censimenti visivi per lo studio della fauna ittica associata ai FADs 931

SION L., D'ONGHIA G., TURSI A., MATARRESE A. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the North-Western Ionian Sea..... 935

SPEDICATO M.T., LEMBO G., CARBONARA P. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Central-Southern Tyrrhenian Sea 941

TIDU C., CANNAS A., LECCA E., MELONI M.F., PINNA M., SAVARINO R. - Catches analysis of *Palinurus elephas* (Fabricius, 1787) in North Western Sardinia 946

VALLISNERI M., SCAPOLATEMPO M., TOMMASINI S., CAVICCHI S. - Caratterizzazione morfologica di *Solea vulgaris* (Quensel, 1806) dei mari italiani 949

VITALE S., BELTRANO A.M., MILAZZO A., CUSUMANO S., INGRASSIA M. - Sulla determinazione dell'età dei pesci mediante pesatura degli otoliti 954

VIVA C., REALE B., SBRANA M. - Annotated check list of the skates (Chondrichthyes; Rajidae) in the Northern Tyrrhenian Sea..... 958

VOLIANI A., ABELLA A., CUOCO C. - Distribuzione geografica di tre specie di *Pagellus* nel Mar Ligure sud-orientale..... 966

VOLIANI A., ABELLA A., MANCUSI C. - Accrescimento di tre specie di *Pagellus* nel Mar Ligure sud-orientale..... 971

Poster Plancton

AGUZZI L., CARINI V., CUTTITTA A., CAVALCANTE C., MAZZOLA S., BASILONE G., BUSCAINO G., PATTI B., BONANNO A. - Distribuzione spaziale e abbondanza del popolamento mesozooplanctonico nel Canale di Sicilia .. 975

BENSI A., DEL NEGRO P. - Abbondanze virali nel Golfo di Trieste 980

CABRINI M., PECCHIAR I., COMISSO S., FALCONI C., CULVERHOUSE P.F. - Identificazione automatizzata di fitoplancton tossico..... 984

COMISSO S., PECCHIAR I., CABRINI M. - Evoluzione della biodiversità specifica della comunità microfitoplanctonica del Golfo di Trieste (gennaio 2001-gennaio 2002) 987

CUTTITTA A., CAVALCANTE C., BASILONE G., BUSCAINO G., GARCIA A., GARCIA LAFUENTE J., BONANNO A., PATTI B., MAZZOLA S., CARINI V., AVELLONE P. - Distribuzione di uova e larve di *Sardinella aurita* in relazione alle condizioni oceanografiche nel Canale di Sicilia..... 990

DE DOMENICO M., SCARFI' S., LEONARDI M., RAFFA F., DE LUCA M., DE DOMENICO E. - Variazione temporale delle comunità microbiche in un sito pelagico al largo di Capo Passero (Mare Ionio meridionale)..... 994

DE VITTOR C., DE PRA' F. - Distribuzione della clorofilla *a* frazionata nella colonna d'acqua del Golfo di Trieste: autunno 1998-estate 2001..... 998

LARATO C., CREVATIN E., DEGANI A., FALCONI C., DEL NEGRO P. - Influenza delle mucillagini sullo sviluppo della comunità picoplanctonica autotrofa..... 1003

FACCA C., SFRISO A., SOCAL G. - Diatomee plantoniche e bentoniche: abbondanza e diversità nella laguna di Venezia..... 1006

LA FERLA R., AZZARO F., AZZARO M., CRISAFI E. - Biomassa e respirazione microbica nel Mare di Ross..... 1010

MAGILLO F., FAIMALI M., GERACI S. - Effect of cadmium chloride on the swimming behaviour of *Balanus amphitrite* (Crustacea: Cirripedia) larvae 1014

MOCCI G.A., SOLINAS P.L. - Dati preliminari sui popolamenti mesozooplanctonici nel Golfo dell'Asinara (Sardegna) 1018

PANE L., DE NUCCIO L., BOZZOLASCO M., MARIOTTINI G.L., DEBBIA E. - Studio dell'associazione zooplancton-batteri in un'area neritica del Golfo di Genova (Mar Ligure) 1022

PECCHIAR I., BUSSANI A., CABRINI M., CELIO M., COMISSO S., FALCONI C., TAMBERLICH F., FONDA UMANI S. - Variazione della produttività primaria e della biomassa autotrofa in relazione alle caratteristiche idrologiche delle masse d'acqua del Golfo di Trieste nel 2001 1026

PENNA A., BERTOZZINI E., MAGNANI M., FENOGLIO I., FUBINI B., BAVESTRELLO G., CERRANO C. - Effetti di diverse fonti di silice sull'accrescimento cellulare di diatomee marine 1032

PIGOZZI S., COLANGELO M.A., GUERRINI F., PISTOCCHI R., BONI L. - Distribuzione di *Dinophyta* in Mediterraneo..... 1035

SARTINI M., BELCARI P. - Larvae of gadiforms in the Southern Tuscan Archipelago..... 1038

SCARFI' S., GIULIANO L., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E., YAKIMOV M.M. - Studio della successione naturale di popolazioni batteriche idrocarburoclastiche in seguito all'introduzione di petrolio grezzo in microcosmo.... 1043

SALERNO M., SDRIGOTTI E. - Uso delle trappole di sedimentazione per la stima del flusso attivo dello zooplancton nel Golfo di Trieste (Adriatico settentrionale)..... 1046

Poster Vari

BALESTRI E., VALLERINI F., CINELLI F. - Variabilità spaziale di alcune caratteristiche strutturali e morfologiche in *Posidonia oceanica* 1051

BOSCOLO R., GIOVANARDI O. - Insediamento del polichete *Polydora ciliata* nella conchiglia della vongola filippina *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) . 1054

CARDONA A., GIACOBBE M.G., DE DOMENICO E. YAKIMOV M.M. - Batteri endosimbionti associati alla produzione di PSTs in *Alexandrium minutum* (Dinophyceae)..... 1057

CASELLATO S. - Le collezioni storiche per confrontare la biodiversità passata con quella presente: il caso delle collezioni marine della Stazione Idrobiologica di Chioggia..... 1061

CINGOLANI N., SANTOJANNI A., COLELLA S., DONATO F. - Monitoraggio della pesca sportiva da natante nei mari italiani 1064

COLUCCIA E., SALVADORI S., CANNAS R., DEIANA A.M. - Studio dei cromosomi mitotici e mieiotici di *Palinurus mauritanicus* (Crustacea, Decapoda) 1069

MENEGHETTI F., NASCI C., PENZO P., DA ROS L. - Indici biologici di stress in popolazioni di *Tapes philippinarum* della laguna di Venezia 1072

DESANTIS S., LABATE M., MINNITI F., LABATE G.M., CEFALI A., BRUNO R. - Localizzazione immunoistochimica delle cellule ad MSH nell'ipofisi di pesce spada (*Xiphias gladius* L.) 1075

DI CARLO G., TOCCACELI M. - The role of the enzyme carbonic anhydrase in the temperate seagrass species: *Zostera noltii* (Hornemann)..... 1079

FIGUS V., CULURGIONI J., DE MURTAS R., CANESTRI TROTTI G. - *Nematopsis* and *Perkinsus* infections in *Tapes* (*Ruditapes*) *decussatus* (L.) (Bivalvia: Veneridae) from St. Gilla Lagoon (Sardinia, Western Mediterranean)..... 1083

FORNASIERO P., CAMPANELLI A., GRILLI F., MARINI M. - Variazioni spazio-temporali delle caratteristiche biochimiche nel nord Adriatico nell'estate 2001 1086

GARIBALDI F., RELINI G. - Note sul ruolo di *Conchoderma virgatum* (Crustacea, Lepadidae) come epibionte del pesce spada, *Xiphias gladius* L., in Mar Ligure 1093

GIACALONE V.M., D'ANNA G., PIPITONE C., DI STEFANO G. - Metodologia di marcatura del sarago maggiore, *Diplodus sargus* (L., 1758), con etichette esterne "T-bar" 1098

KOZINKOVA L., ENNAS C., GIULIANI S., PELLEGRINI D. - Valutazione della qualità dei gameti di *Paracentrotus lividus* (Lamarck) utilizzando $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ come tossico di riferimento su animali stabulati e non stabulati 1101

LICCIANO M., STABILI L., CAVALLO R.A., GIANGRANDE A. - Prove di stabulazione per la valutazione della capacità di accumulo microbiologico con il sabellide filtratore *Sabella spallazanii* (Annelida: Polychaeta) 1105

LO GIUDICE A., MICHAUD L., ALLEGRA A., BRUNI V. - Batteri psicrotrofi provenienti da habitat diversi del Mare di Ross (Baia Terra Nova, Antartide) 1108

PEDERZOLI A., PARISINI B., GAMBARELLI A., SPANO' A., MOLA L. - Localizzazione istochimica e immunoistichimica dell'ossido nitrico nel tratto digerente in sviluppo di *Dicentrarchus labrax* 1112

PIAZZA V., FAIMALI M., GERACI S. - Settlement of *Balanus amphitrite* (Crustacea, Cirripedia) as a possible behavioural parameter in an alternative toxicological assay 1115

PICOLLO A., DE NOVELLIS F., COSTA M., LASAGNA C., PALUMBO F., BAVA S., VERARDI D. - Valutazione qualitativa di sedimenti portuali: proposta metodologica attraverso un indice integrato 1119

PIGNATARO L., BIGONGIARI N., PELLEGRINI D. - Approfondimenti metodologici per l'esecuzione del saggio biologico con *Brachionus plicatilis* 1124

QUAGLIA A., MINELLI D., GIULIANI A., DIPIETRANGELO L, VILLANI L. - Connessioni olfattorie secondarie nell'encefalo di *Anguilla anguilla* (Osteichthyes, Actinopterygii) 1129

RINALDI L., GRIMALDI A., TETTAMANTI G., TEROVA G., SAROGLIA M., VALVASSORI R., DE EGUILEOR M. - I livelli di ossigeno influenzano l'organizzazione strutturale delle branchie in *Dicentrarchus labrax* 1133

UNGARO A., ROSSI A.R., DE INNOCENTIIS S., MIGGIANO E., LIVI S., ANDREOLI C., GORNUNG E., CROSETTI D., SOLA L. - Phylogenetic analysis of Mediterranean mugilids: allozymes and mtDNA sequences data 1136

ZEDDA M., CORDA L., MANCA P., GADAU S., LEPORE G., FARINA V. - Conchiglie marine provenienti da una località dell'Età del Bronzo in Sardegna .. 1138

ZEDDA M., MANCA P., CORDA L., LEPORE G., GADAU S., FARINA V. - Studio sulle ostriche (*Ostrea edulis* L.) consumate nella Karalis alto-medievale (IV-VI sec. D.C.) 1140

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1-14

F. Maltagliati

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
maltagli@discat.unipi.it

STRUMENTI EFFICACI PER IL MONITORAGGIO DELLA BIODIVERSITÀ A LIVELLO DI POPOLAZIONE NEGLI AMBIENTI SALMASTRI

EFFECTIVE TOOLS FOR MONITORING BIODIVERSITY AT POPULATION LEVEL IN BRACKISH-WATER HABITATS

Abstract

The discrete nature of brackish-water habitats allows to consider them as "islands" with peculiar communities, species and populations. In the present essay methods of genetic monitoring are proposed in order to assess genetic losses in brackish-water populations. The case study of the cyprinodont fish Aphanius fasciatus *is reported. Methods of genetic monitoring were proved to be effective for assessing the effects of natural or anthropogenic stress on populations of this species. Because only one sample per locality is required and the number of loci analysed need not to be large, these methods are attractive candidates for large-scale application. Thus, their use is recommended for other species from brackish-water habitats and, whether possible, from other habitats.*

Key-words*: brackish-water habitats, genetic diversity, monitoring, bottleneck,* Aphanius fasciatus.

Aspetti conservazionistici dell'isolamento e della biodiversità negli ambienti salmastri

La natura discreta degli ambienti salmastri determina un alto grado di isolamento delle popolazioni che vi vivono mediante la frammentazione del loro pool genico (Muus, 1967; Cognetti, 1994). L'isolamento è spesso favorito dalle caratteristiche biologiche delle specie, ritenute un adattamento alla vita nelle acque salmastre, quali, ad esempio, le scarse capacità di movimento, la fedeltà a determinate zone, oppure l'assenza di fasi dispersive (Cognetti, 1994). Gli ambienti salmastri possono essere quindi considerati "isole" entro le quali sono presenti comunità biologiche peculiari che possono essere assai diverse tra loro persino a piccola scala spaziale. L'isolamento tra gli organismi di ambienti salmastri determina differenziazione che va da popolazioni conspecifiche moderatamente isolate fino ad arrivare a complessi di specie (Cognetti e Maltagliati, 2000), talvolta su scala spaziale di poche centinaia di metri, come nel caso del polichete *Perinereis cultrifera* all'Isola d'Elba (Maltagliati *et al*., 2001). Inoltre è stato osservato che è presente elevata differenziazione tra popolazioni ritenute conspecifiche che vivono rispettivamente negli ambienti salmastri e in habitat marini adiacenti. Ad esempio, nel polichete *Syllis gracilis*, sulla base di indagini di genetica biochimica, è stato rilevato un complesso di specie (Maltagliati *et al*., 2000) ed una divergenza genetica estremamente elevata è stata osservata nel bivalve *Mytilaster minimus* (Camilli *et al*., 2001). Tutto questo si riflette in maniera importante sulla conservazione della diversità biologica di questi ambienti, in quanto appare chiaro che essa deve essere considerata ben differente dalla "conservazione dei binomi latini". Infatti, che si tratti di popolazioni più o meno differenziate o di sibling species, è la popolazione locale che risponde alla variabilità ambientale mediante le proprie strategie adattative e dove la diversità genetica viene mantenuta e trasmessa alle generazioni successive.

Tab. 1 - La struttura ecologica in ambiente marino (da Zacharias e Roff, 2000, modificato). Da notare che questi autori considerano come ecosistema esclusivamente la componente abiotica. Essi hanno subito critiche per avere assegnato un ruolo preponderante agli aspetti chimico-fisici rispetto a quelli biologici (vedi Salomon *et al*., 2001).

The marine ecological framework (modified from Zacharias e Roff, 2000). Note that these authors consider only abiotic characetristics under ecosystem-level. These authors' approach has been subjected to criticism because they gave too much emphasis to abiotic aspects with respect to biological ones (e.g. see Salomon et al*., 2001).*

Popolazione		*Comunità*		*Ecosistema*	
Struttura (statica)	*Processo (funzione)*	*Struttura (statica)*	*Processo (funzione)*	*Struttura (statica)*	*Processo (funzione)*
Strutt. della popolaz.[b,c]	Migrazione[b,c]	Aree di transizione[b]	Successione[b,c]	Proprietà dell'acqua[b,c,d]	Cicli biogeochimici[b,c,d]
Distribuzione[b,c]	Reclutamento[b]	Gruppi funzionali[b,c]	Predazione[b]	Topografia del fondale[b,c,d]	Produttività[b,c,d]
Dispersione[b]	Riproduzione[b]	Metapopolazioni[b,c]	Competizione[b]	Confini[b,c,d]	Idrodinamismo[b,c,d]
Specie cardine[b]	Ritenzione[b]	Eterogeneità[b]	Parassitismo[b]	Esposiz. all'idrodinam.[b,c,d]	Disturbo[b,c,d]
Indicatori[b,c,d]	Evoluzione[b]	Endemismo[b]	Mutualismo[b]	Tipo di substrato[b,c,d]	Anomalie[b,c,d]
Specie ombrello[b]		Diversità[b,c]	Malattia[b]	Profondità[b,c,d]	Associazione[b,c,d]
Specie carismatiche[b]		Stati stabili alternati[b]	Commensalismo[b]	Illuminazione[b,c,d]	Ritenzione[b,c]
Specie vulnerabili[b,c]		Ricchezza di specie[b,c,d]		Stratificazione[b,c,d]	Trascinamento[b,c]
Specie di inter. commerc.[b]		Evenness[b,c,d]		Patchiness[b,c,d]	Esposizione all'aria[b,c]
		Abbondanza di specie[b,c,d]		Gas disciolti[b,c]	
		Aree distinte e rappr.[b,c,d]		Aree distinte e rappr.[b,c,d]	
		biomassa[b,c,d]			

[a]*Attributi della struttura (statica) e dei processi (funzione o dinamica) arrangiati nei livelli di organizzazione di popolazione, comunità ed ecosistema (attributi composizionali) Gli attributi strutturali in questo schema possono essere sia misurabili che teorici. Un indicatore per esempio può essere usato per indicare la presenza di una determinata comunità, ma la sua applicazione nei riguardi della conservazione della biodiversità è inclusa nel livello di popolazione.*
[b]*Fenomeno osservabile*
[c]*Fenomeno osservabile che è stato misurato, quantificato o modellizzato, portando alla comprensione della sua influenza sulla biodiversità.*
[d]*Fenomeno osservabile che è stato applicato al monitoraggio della biodiversità.*

È naturale che la considerazione dei livelli infraspecifici complica notevolmente la stesura dei piani di conservazione ed è forse questo il motivo per cui l'aspetto adattativo-evolutivo viene sovente ignorato. Un'ulteriore complicazione deriva dal fatto che un piano di gestione ambientale per avere efficacia a lungo termine dovrebbe considerare non solo l'"icona" attuale della biodiversità, anche qualora vengano considerati tutti i livelli composizionali, ma anche i processi e le dinamiche che l'hanno prodotta nel tempo e che la mantengono (Fieldså e Lovett, 1997). La Tab. 1 evidenzia la complessità dell'organizzazione della diversità biologica e dei processi che entrano in gioco nel produrla secondo la visione di Zacharias e Roff (2000). Questi autori hanno ripreso e adattato all'ambiente marino lo schema proposto da Noss (1990). Tale visione della biodiversità e soprattutto l'approccio da usare per la sua conservazione nell'ambiente marino è stato aspramente criticato, in quanto il ruolo che viene assegnato agli attributi abiotici è ritenuto esageratamente enfatizzato a scapito delle componenti biologiche (Solomon *et al*., 2001). Da notare come nella Tab. 1 vengano considerati i processi dinamici che determinano la biodiversità, il cui mantenimento è, come abbiamo visto, una prerogativa per l'efficacia a lungo termine delle strategie di conservazione (Meffe *et al*., 1997).

Erosione della diversità genetica

L'attuale crisi della biodiversità è dovuta principalmente all'alterazione, alla frammentazione ed alla distruzione degli habitat, allo sfruttamento eccessivo di certe specie, all'inquinamento ed agli effetti secondari e sinergici di questi. Da un punto di vista macroscopico la crisi della biodiversità si manifesta con le estinzioni delle specie più evidenti, tuttavia risulta estremamente importante anche la perdità di diversità a livello subspecifico, che è scarsamente considerata nelle strategie di conservazione. La diversità genetica di una popolazione determina la sua capacità di adattamento ad eventuali variazioni dell'ambiente ed alle nuove pressioni selettive; essa influenza quindi fortemente il rischio di estinzione della popolazione stessa. La diversità genetica di una popolazione viene comunemente descritta in termini di eterozigosità media, diversità allelica, o percentuale di loci polimorfici. È da notare, comunque, che ciascuna di queste misure risponde diversamente a fenomeni di erosione genetica come ad esempio quelli provocati dai colli di bottiglia (Nei *et al*., 1975; Maruyama e Fuerst, 1985) e non è ancora chiaro come questi descrittori si mettano in relazione con il potenziale evolutivo ed il rischio di estinzione della popolazione. La dimensione efficace di una popolazione (N_e), da non confondere con la dimensione censita (N), è pertanto un descrittore della capacità di sopravvivenza di una popolazione. La dimensione efficace di un popolazione calibra l'influenza della deriva genetica rispetto ad una popolazione ideale (sex ratio = 1:1, generazioni non sovrapposte e dimensioni costanti). La teoria prevede che una popolazione ideale perda diversità genetica a un tasso di $1/2N$ per generazione (Wright, 1938). Nei casi reali, invece, se le popolazioni sono isolate, la perdita di diversità genetica per generazione sarà $1/2N_e$ che è un tasso maggiore, in quanto solitamente $N_e << N$. Da un punto di vista conservazionistico, mantenere alto N_e è essenziale per la sopravvivenza della popolazione. Ciò infatti equivale ad aumentare la probabilità che vengano diffuse nella popolazione mutazioni favorevoli ed eliminate quelle sfavorevoli (Lynch *et al*., 1995) ed anche a migliorare le capacità adattative della popolazione per far fronte ai mutamenti ambientali (Bürger e Lynch, 1995). La perdita di diversità genetica di una popolazione può avvenire mediante un collo di bottiglia, cioè una drastica riduzione delle dimensioni della popolazione (sia N che N_e)

per un periodo relativamente limitato. Un collo di bottiglia può determinare erosione genetica mediante deriva genetica o per fluttuazioni casuali delle frequenze alleliche della popolazione, portandola a rischio di estinzione (Spellerberg, 1996; Storfer, 1996; Meffe et *al*., 1997).

Metodi di monitoraggio genetico delle popolazioni

Uno degli scopi dei ricercatori conservazionisti è quello di verificare mediante il monitoraggio, che è uno strumento essenziale della gestione ambientale (Hirons *et al*., 1995), se gli obiettivi di conservazione sono stati raggiunti, in modo da fornire informazioni necessarie per la gestione adattativa (Meffe *et al*., 1997; Zacharias e Roff, 2001). La finalità è quella di controllare periodicamente l'efficacia del piano di gestione, in modo da potere eventualmente cambiare o reindirizzare determinate strategie. Il monitoraggio della biodiversità è estremamente complesso e dovrebbe quindi considerare un ampio spettro di indicatori, in quanto, come abbiamo visto, la diversità biologica è organizzata in vari livelli gerarchici nelle sue componenti strutturali, composizionali e funzionali (Noss, 1990; Zacharias e Roff, 2000) (Tab. 1). Il monitoraggio genetico si rende necessario, in quanto lo stress naturale e/o antropico può determinare alterazioni nella struttura demografica delle popolazioni, depauperando talvolta la variabilità genetica e, in ultima analisi, portando all'estinzione delle popolazioni stesse. Per evitare che lo stress determini alterazioni irreversibili nelle popolazioni naturali, una gestione adeguata non può quindi prescindere dal monitoraggio genetico a livello di popolazione. A questo proposito si propongono due metodi statistici basati su teorie di genetica di popolazione per la valutazione dell'erosione genetica dovuta a colli di bottiglia recenti. Tali metodi necessitano di dati derivanti dall'analisi di genotipi multilocus, quali ad esempio gli alloenzimi o i microsatelliti. Il primo metodo è un test non parametrico basato sull'eccesso di eterozigosità (Cornuet e Luikart, 1996; Luikart e Cornuet, 1998); il secondo metodo è una valutazione grafico-qualitativa basata sulla distribuzione delle frequenze alleliche (Luikart *et al*., 1998b) (Fig. 1).

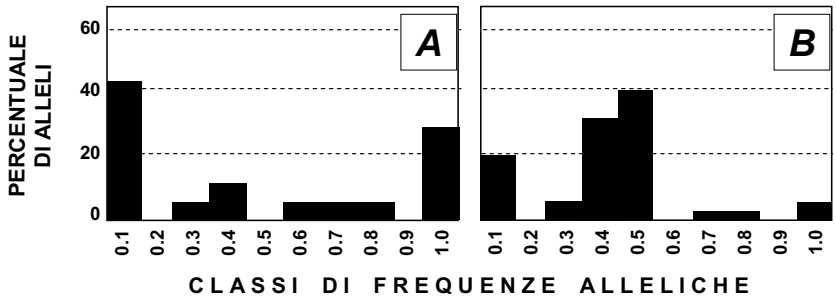


Fig. 1 - Esempi di distribuzione delle frequenze alleliche in una popolazione che non è stata soggetta (*A*) ed in una che è stata soggetta (*B*) ad un collo di bottiglia recente. Questo metodo grafico-qualitativo prevede che se una popolazione ha subito un collo di bottiglia recente, allora nella classe di frequenze più bassa (0-0.1) viene trovato un numero minore di alleli rispetto a quello rilevato in una o più classi intermedie (Luikart *et al*., 1998a).

Allele frequency distribution from nonbottlenecked (A) and bottlenecked populations (B). This graphical-qualitative method provides that a population has been recently bottlenecked if fewer alleles are found in the low frequency class (0-0.1) then in one or more intermediate frequency classes (Luikart et al., *1998a).*

I calcoli relativi ad entrambi i metodi possono essere effettuati mediante il programma BOTTLENECK (Piry *et al.,* 1999). Il grande vantaggio di questi metodi è che non richiedono alcuna informazione sulle dimensioni storiche delle popolazioni, che nella maggior parte dei casi non sono disponibili; inoltre può essere analizzato solamente un campione (di almeno 30 individui) per ciascuna località. È comunque da sottolineare che i metodi proposti non sono da intendersi sostitutivi ad alcuni di quelli già esistenti, ma piuttosto, devono essere considerati come uno strumento per monitorare un'ulteriore sfaccettatura della diversità biologica che viene sovente ignorata.

Principio su cui si basa il test non parametrico per la valutazione dell'eccesso di eterozigosità

Un collo di bottiglia, se avvenuto in un passato relativamente recente, determina il discostamento dall'equilibrio mutazione-deriva genetica (EMDG) (Piry *et al*., 1999). I colli di bottiglia tipicamente implicano una riduzione di N_e che si riflette in un rapido aumento del tasso di deriva genetica. Poiché la diversità allelica si riduce più velocemente rispetto all'eterozigosità (Nei *et al*., 1975; Leberg, 1992), il discostamento risultante dall'EMDG produce un eccesso transitorio di eterozigosità basata sull'equilibrio di Hardy-Weinberg (H_{HW}), rispetto all'eterozigosità calcolata sulla base del numero di alleli presente nel campione analizzato (H_{eq}). È importante notare la distinzione del test per la valutazione dell'eccesso di eterozigosità ($H_{HW} > H_{eq}$) rispetto a quello per la valutazione dell'eccesso (oppure del deficit) di individui eterozigoti [$H_o >$ (oppure <) H_{HW}]. Il primo tipo di test confronta l'eterozigosità del campione analizzato con quella attesa secondo l'EMDG, mentre il secondo tipo, classicamente usato nella maggior parte dei lavori riguardanti la variabilità genetica delle popolazioni, confronta il numero di eterozigoti osservati con quello atteso secondo l'equilibrio di Hardy-Weinberg. L'eccesso di eterozigosità prodotto dal collo di bottiglia è transitorio e può persistere nella popolazione fino a $4N_e$ generazioni (Cornuet e Luikart, 1996). La conclusione che i colli di bottiglia determinano un eccesso di eterozigosità transitorio fu basata originariamente sulla teoria sviluppata per il modello di mutazione degli alleli infiniti (*IAM, infinite allele model*) (Watterson, 1984, 1986; Maruyama e Fuerst, 1985). Recentemente Cornuet e Luikart (1996) hanno dimostrato che la conclusione può essere generalizzata anche ad altri modelli di mutazione, fornendo la possibilità di utilizzare un ampio spettro di marcatori genetici. In una popolazione in EMDG, cioè con N_e che è rimasto costante in un passato recente, c'è approssimativamente la stessa probabilità che un locus mostri un eccesso o un deficit di eterozigosità. Il test statistico utilizzato per determinare se una popolazione mostra un numero significativo di loci con eccesso di diversità genetica (cioè per valutare se la popolazione ha subito colli di bottiglia recenti) è il *Wilcoxon sign-rank test* (Luikart *et al*., 1998a). Questo test possiede una potenza statistica relativamente elevata e può essere usato con appena quattro loci polimorfici e qualsiasi numero di individui. Comunque, per conferire elevata potenza statistica al test, è consigliabile usare 15-40 individui e 10-15 loci polimorfici (Piry *et al*., 1999).

Principio su cui si basa il metodo grafico-qualitativo basato sulla distribuzione delle frequenze alleliche

Il secondo test per l'individuazione di un collo di bottiglia è basato sulla distribuzione delle frequenze alleliche all'EMDG. Se i marcatori genetici sono neutrali, ci si attende che gli alleli presenti con frequenze molto basse (<0.1) siano maggiori rispetto

a tutte le altre classi di frequenza intermedie, indipendentemente dal modello di mutazione considerato (Luikart *et al*., 1998b). Un collo di bottiglia recente determina invece uno spostamento della moda verso uno dei valori intermedi delle classi di frequenza allelica (Fig. 1). Questo metodo è comunque ritenuto meno potente rispetto a quello descritto in precedenza e non può essere ritenuto attendibile se vengono usati campioni con un numero di individui inferiore a 30 (Piry *et al*., 1999). È da notare inoltre che in senso stretto questo metodo qualitativo non è un test statistico vero e proprio, poiché l'errore di tipo I varia con la dimensione del campione (Piry *et al*., 1999).

Il ciprinodontide *Aphanius fasciatus* come caso di studio

Un vertebrato tipico degli habitat salmastri, dove viene solitamente osservato in popolazioni di grandi dimensioni e dove può svolgere l'intero ciclo vitale, è *Aphanius fasciatus* Nardo 1827, ciprinodontide endemico della regione mediterranea. Viene anche rilevato in acque dolci a notevole distanza dal mare (Parenti e Tigano, 1993) e nelle oasi della Tunisia (Kraiem, 1983). Recentemente la specie ha assunto importanza conservazionistica a causa della progressiva alterazione e distruzione degli habitat costieri e per l'introduzione del competitore alloctono *Gambusia affinis* (Bianco, 1995). Per queste ragioni *A. fasciatus* è stato elencato tra le specie in pericolo della Convenzione di Berna e della Direttiva Fauna-Flora-Habitat 92/43/CEE. In recenti lavori è stato rilevato che la specie è caratterizzata da popolazioni morfologicamente e geneticamente differenziate per lo scarso flusso genico tra di esse (Parenti e Tigano, 1993; Maltagliati, 1999; Ferrito *et al*., 2003). È stato messo in evidenza come questa specie segua il modello di strutturazione genetica dello "stepping stone" monodimensionale, in cui gli ambienti salmastri lungo la costa rappresentano le "isole". Il flusso genico, seppur limitato, può avvenire tra "isole" adiacenti o molto vicine, in modo da produrre isolamento per distanza (Maltagliati, 1998a, 1999). Rimane da capire il peso da assegnare ai processi di migrazione attuali o recenti ed ai fattori storici nel plasmare la sua struttura genetica (Maltagliati, 2002a). In un recente lavoro (Maltagliati, 2002b) è stato effettuato il primo tentativo di monitorare la diversità genetica in popolazioni naturali di ambienti salmastri. In tale lavoro vengono riportati i risultati relativi alla valutazione dell'erosione genetica di ventitre popolazioni di *A. fasciatus* sulla base dell'analisi di tredici marcatori proteici (*loci* alloenzimatici). Sono stati fatti inoltre tentativi per interpretare i fattori di stress che hanno causato la perdita di diversità genetica in alcune popolazioni.

Applicando il *t*-test ai valori di eterozigosità attesa, trasformati in arcsen$\sqrt{x}$ (Archie, 1985), non sono state osservate differenze significative tra le eterozigosità, suggerendo omogeneità tra i descrittori della variabilità genetica delle popolazioni analizzate. Risultati più eterogenei e, a mio avviso più informativi, sono stati però ottenuti con l'applicazione dei due test precedentemente descritti. Essi sono stati utilizzati per verificare se le popolazioni hanno subito recenti colli di bottiglia demografici. Entrambi i test sono risultati significativi nella popolazione della Laguna di Orbetello ed in quella della Salina di Portoferraio all'Isola d'Elba (Tab. 2, Fig. 2), mentre la popolazione di Cala Gilgolu nella Sardegna nord-orientale è risultata positiva solamente al test grafico-qualitativo (Tab. 2, Fig. 2). Questa popolazione richiede pertanto un ulteriore controllo, in quanto la positività al test basato sulla distorsione della distribuzione delle frequenze alleliche, considerato meno potente rispetto al test di Wilcoxon (Piry *et al*., 1999), potrebbe funzionare come campanello d'allarme, cioè come segnale di un'incipiente erosione genetica. Da questi risultati risulta quindi erronea la conclusione cui

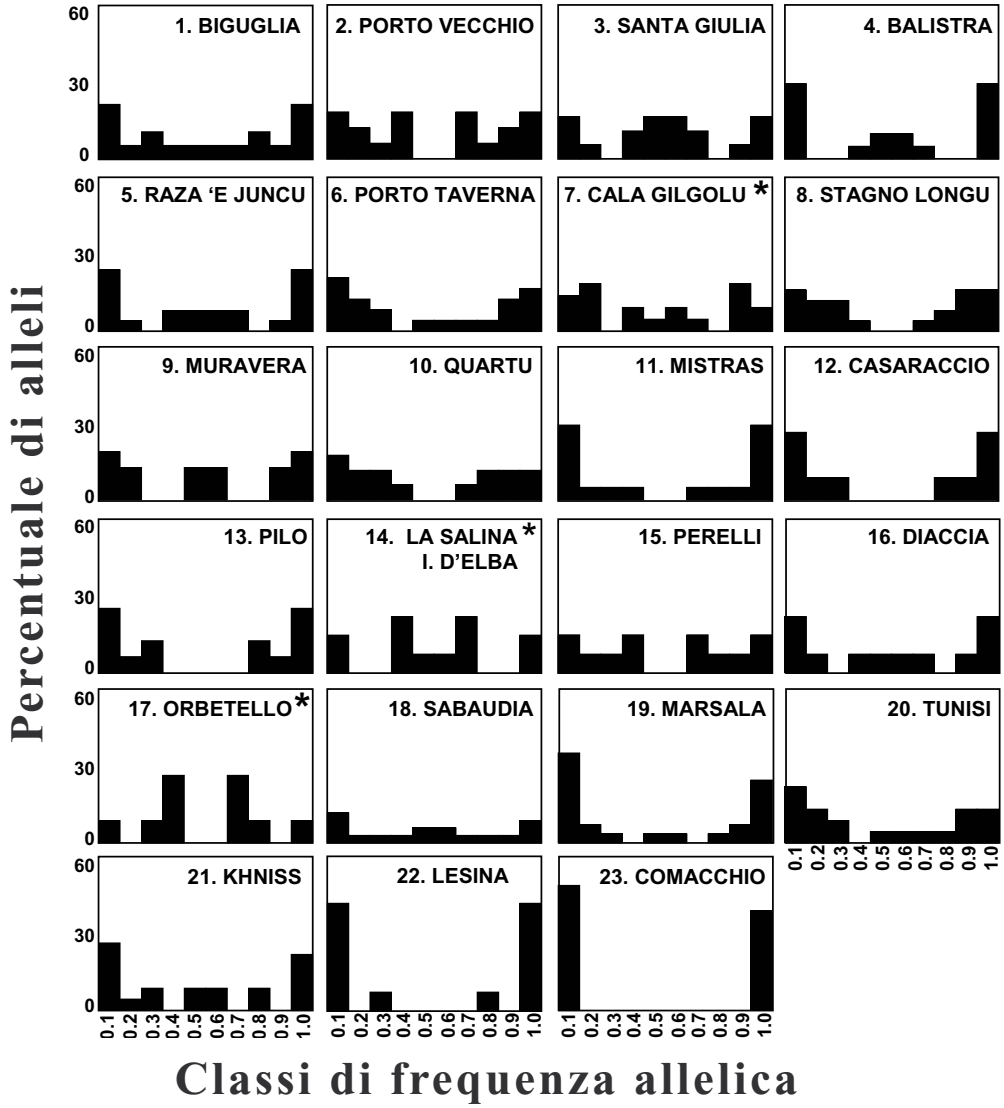


Fig. 2 - Distribuzione delle frequenze alleliche nelle 23 popolazioni di *Aphanius fasciatus* analizzate. Le distorsioni da spostamenti delle mode sono state rilevate nelle popolazioni contrassegnate da un asterisco. Da Maltagliati (2002b), modificato.

Distribution of allele frequencies in the 23 populations of Aphanius fasciatus *analysed. Mode-shift distortions were observed in the populations marked with an asterisk. Modified from Maltagliati (2002b).*

ero arrivato in un precedente lavoro basandomi sulla sola osservazione dell'equilibrio di Hardy-Weimberg nelle singole popolazioni (Maltagliati, 2002b) e cioè che tutte le popolazioni sono in equilibrio mutazione-deriva genetica.

Tab. 2 - Risultati del test di Wilcoxon per l'eccesso di eterozigosità considerando il modello di mutazione degli alleli infiniti (Luikart *et al*., 1998a) in 23 popolazioni di *Aphanius fasciatus*. *L*: numero di *loci* polimorfici; *N*: numero medio di individui analizzati per *locus*; LH_{exc}: numero di *loci* con eccesso di eterozigosità (oss: osservato; att: atteso); *P*: probabilità di non avere eccesso di eterozigosità. I valori significativi sono riportati in grassetto. Da Maltagliati (2002b), modificato.

Results of Wilcoxon sign-rank test for heterozygosity excess under the Infinite Allele Model of mutation (Luikart et al*., 1998a) in 23 populations of* Aphanius fasciatus*. L: No. of polymorphic loci; N: mean No. of individuals sampled per locus;* LH_{exc}*: No. of loci with heterozygosity excess (oss: observed; att: expected); P: probability of no significant heterozygosity excess. Signifant values of probability are in bold. Modified from Maltagliati (2002b).*

	Popolazione	*L*	*N* (±ES)	test di Wilcoxon		
				LH_{exc} oss	LH_{exc} att	*P*
1	Stagno di Biguglia (Corsica)	9	57.3 ±0.9	5	3.61	0.180
2	Saline di Porto Vecchio (Corsica)	9	58.6 ±0.9	6	3.55	0.125
3	Stagno di Santa Giulia (Corsica)	9	56.2 ±1.5	6	3.61	0.064
4	Stagno di Balistra (Corsica)	9	55.0 ±1.9	3	3.63	0.455
5	Stagno di Raza 'e Juncu (Sardegna)	11	50.5 ±2.1	5	4.44	0.319
6	Stagno di Porto Taverna (Sardegna)	10	54.3 ±2.9	6	4.13	0.278
7	Stagno di Cala Gilgolu (Sardegna)	9	47.8 ±3.3	6	3.71	0.082
8	Stagno Longu (Sardegna)	11	55.4 ±1.8	7	4.40	0.103
9	Stagno di Muravera (Sardegna)	7	56.1 ±1.5	4	2.81	0.188
10	Stagno di Quartu (Sardegna)	7	58.2 ±0.9	5	2.89	0.148
11	Stagno di Mistras (Sardegna)	9	51.2 ±2.5	3	3.61	0.633
12	Stagno di Casaraccio (Sardegna)	5	60.9 ±0.8	2	1.96	0.406
13	Stagno di Pilo (Sardegna)	7	50.2 ±3.1	3	2.84	0.344
14	La Salina – I. d'Elba (Toscana)	6	59.4 ±1.4	4	2.36	**0.039**
15	Canale Perelli (Toscana)	6	62.4 ±0.9	4	2.36	0.078
16	Padule della Diaccia (Toscana)	6	59.2 ±3.4	3	2.35	0.422
17	Laguna di Orbetello (Toscana)	5	57.5 ±2.0	4	1.96	**0.031**
18	Lago di Sabaudia (Lazio)	8	64.8 ±0.5	5	3.30	0.098
19	Stagnone di Marsala (Sicilia)	11	66.8 ±3.9	4	4.66	0.793
20	Lago sud di Tunisi (Tunisia)	9	58.2 ±2.5	5	3.80	0.248
21	Laguna di Khniss (Tunisia)	9	61.2 ±1.9	4	3.76	0.500
22	Laguna di Lesina (Puglia)	6	55.7 ±1.3	1	2.39	0.922
23	Valli di Comacchio (Emilia Romagna)	4	63.4 ±1.2	0	1.69	1.000

Erosione genetica nella popolazione di Aphanius fasciatus *della Laguna di Orbetello*

Ampie variazioni nelle dimensioni delle popolazioni di ambienti salmastri in seguito ad eventi catastrofici di origine naturale e/o dovuti ad attività umane sono fenomeni abbastanza comuni (Lardicci *et al*., 1997, 2001). Nella laguna di Orbetello sono state documentate crisi distrofiche a partire dagli anni sessanta (Lardicci *et al*., 1997, 2001; Cartei *et al*., 1998; Lenzi *et al*., 1998). Queste crisi, dovute all'aumento degli scarichi urbani ed alle attività di acquacoltura che avvengono nella laguna, possono causare grandi eventi di mortalità per gli estesi fenomeni di anossia che si verificano. In particolare, le ben note crisi della primavera/estate 1992 e 1993 furono di intensità eccezionale, con abbondanti fioriture algali e con evidenti morie di pesci (Lardicci *et al*., 1997, 2001; Cartei *et al*., 1998; Lenzi *et al*., 1998; C. Lardicci, com. pers.). I risultati del monitoraggio genetico svolto sulla popolazione di *A. fasciatus* della Laguna di Orbetello suggeriscono che le crisi anossiche hanno prodotto gli effetti di un collo di bottiglia, nonostante l'ampia estensione della laguna e la notevole dimensione demografica della popolazione attuale. Probabilmente negli anni successivi alla crisi, la popolazione è stata rapidamente ricostituita da individui sopravissuti in rifugi, quali i canali affluenti d'acqua dolce o le zone più prossime alle bocche a mare, sfruttando l'elevato potenziale riproduttivo di questa specie.

Erosione genetica nella popolazione di Aphanius fasciatus *della Salina di Portoferraio all'Isola d'Elba*

Il collo di bottiglia della popolazione di *Aphanius fasciatus* della Salina di Portoferraio all'Isola d'Elba è stato spiegato come dovuto a cause naturali. Questo piccolo bacino salmastro è infatti fortemente influenzato dalle variazioni di marea: durante le basse maree di maggiore entità, gran parte del biotopo risulta emersa, quindi gli individui di *A. fasciatus* vengono confinati entro pozze di diverse dimensioni. Gli individui in questi ambienti transitori possono essere sottoposti a condizioni ambientali estreme nei periodi dell'anno più freddi (temperature al di sotto del limite di tollerabilità) ed in quelli più caldi (alte temperature al di sopra del limite di tollerabilità o che provocano scarsezza o assenza di ossigeno per l'elevata densità di individui). Inoltre gli individui confinati nelle pozze sono più vulnerabili alla predazione da parte di uccelli ed altri predatori naturali abbondantemente presenti nell'area. Quindi la sinergia dello stress fisiologico e della pressione di predazione in situazioni particolari potrebbe essere responsabile di riduzioni della dimensione della popolazione talmente elevate da determinare gli effetti di un collo di bottiglia.

Simulazioni di erosione genetica in alcune popolazioni di *Aphanius fasciatus*

È stato utilizzato il programma GENELOSS, recentemente sviluppato da England e Osler (2001), per effettuare simulazioni Monte Carlo al fine di valutare gli effetti di colli di bottiglia nelle popolazioni di *Aphanius fasciatus* della Salina di Portoferraio, della Laguna di Orbetello, di Cala Gilgolu e del Golfo di Olbia. Sono state scelte queste popolazioni, poiché le prime due sono risultate positive sia al test di Wilcoxon che a quello sulla distorsione della distribuzione delle frequenze alleliche, la terza è risultata positiva solo al test qualitativo e, infine, la quarta come caso di non significatività ad entrambi i test. GENELOSS assume assenza di immigrazione durante il collo di bottiglia. Ciò è abbastanza realistico nel caso di *A. fasciatus*, in quanto è stato rilevato che l'entità del flusso genico tra le popolazioni è estremamente ridotto (Maltagliati,

1998a, 1998b, 1999) e probabilmente i valori di flusso genico e la struttura genetica devono essere intesi soprattutto in senso storico, piuttosto che determinati da eventi di migrazione contemporanei (Maltagliati, 2002a). Sono state effettuate simulazioni di colli di bottiglia riducenti le popolazioni a 50, 25, 10, 5, 2 ed 1 coppie deputate alla ricostituzione demografica della popolazione. Per ciascuna di queste simulazioni sono state impostate tre differenti durate del collo di bottiglia (1, 2 e 3 generazioni). L'entità dell'erosione genetica sarà tanto maggiore quanto minori sono le coppie che restano in seguito al collo di bottiglia e quanto più lunga è la durata (misurata in generazioni) del collo di bottiglia. Il programma fornisce come output i valori delle eterozigosità per locus al termine del collo di bottiglia, consentendo di prevedere l'andamento di questo parametro a seconda delle impostazioni assegnate.

In Fig. 3 sono riportati i risultati delle simulazioni effettuate. Come atteso, i valori di eterozigosità media hanno in tutti i casi una diminuzione rispetto al valore misurato di eterozigosità (Fig. 3). Comunque tale diminuzione può essere considerata lieve, almeno quando il collo di bottiglia riduce la popolazione a più di due coppie. Inoltre anche quando i colli di bottiglia hanno impostazioni più drastiche, ad esempio quando riducono la popolazione ad una sola coppia, il valore di eterozigosità mantiene valori ben al di sopra dello zero (Fig 3). Si ritiene che in natura le riduzioni delle dimensioni delle popolazioni di *A. fasciatus* possano raggiungere tali entità solamente in casi catastrofici e che presumibilmente anche nei casi di forti riduzioni delle popolazioni gli individui che rimangono possano essere più di due o tre coppie. Un altro risultato che è emerso dalle simulazioni Monte Carlo è che il destino delle quattro popolazioni analizzate è praticamente identico, quindi appare indipendente dalla situazione di partenza delle singole popolazioni (Fig. 3).

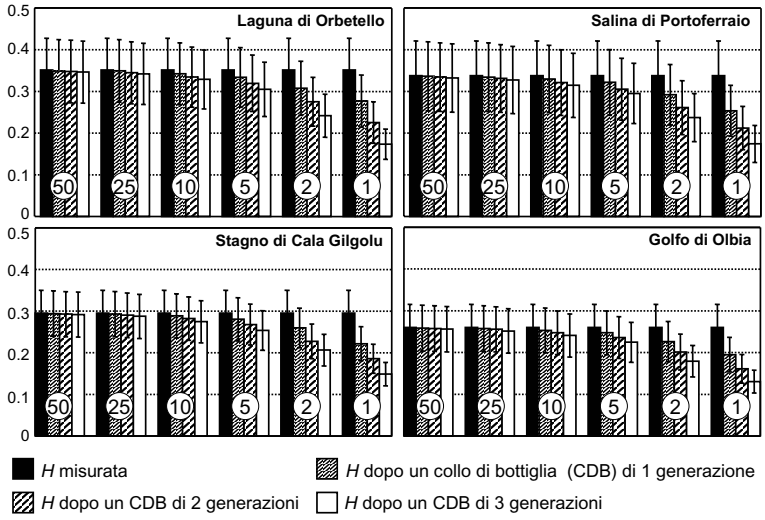


Fig. 3 - Risultati delle simulazioni Monte Carlo (con 3000 iterazioni) nelle popolazioni di *Aphanius fasciatus* della Laguna di Orbetello, della Salina di Portoferraio, di Cala Gilgolu e del Golfo di Olbia. I numeri all'interno dei cerchi indicano il numero di coppie rimaste dopo il collo di bottiglia.

Results of Monte Carlo simulations (with 3000 iterations) of bottlenecks in Aphanius fasciatus *populations from Orbetello Lagoon, Portoferraio salt-works, Cala Gilgolu pond and Gulf of Olbia. Number within circles are the breeding pairs left after the bottleneck.*

Considerazioni conclusive

La prima considerazione generale che deriva dallo studio dell'erosione genetica in *Aphanius fasciatus* e dalle simulazioni effettuate è che l'eterozigosità, sebbene sia classicamente ritenuto il migliore descrittore della diversità genetica presente all'interno di una popolazione, non ha sufficiente sensibilità ai fini pratici del monitoraggio, a meno che non vengano raccolti ed analizzati più campioni nel tempo. Come abbiamo visto, Il calcolo ed il confronto dei valori di eterozigosità delle popolazioni in un singolo punto nel tempo non sono stati sufficienti ad individuare fenomeni di erosione genetica in *A. fasciatus*. Si può generalizzare che i valori assoluti delle eterozigosità hanno scarso significato pratico, in quanto, per esempio, non è possibile distinguere se un basso valore di eterozigosità sia una caratteristica intrinseca di una determinata popolazione, oppure derivi da fenomeni di erosione genetica recenti o lontani nel tempo. Il test di Wilcoxon per la valutazione dell'eccesso dell'eterozigosità ed il metodo grafico-qualitativo basato sulla distribuzione delle classi di frequenza allelica, invece, risultano assai efficaci nell'individuare erosione genetica dovuta a colli di bottiglia avvenuti in tempi recenti.

Ad oggi non sono molte le applicazioni pratiche dei metodi di monitoraggio genetico sopra descritti. Tra queste, alcune hanno riguardato gli effetti di una patologia virale su una popolazione di coniglio selvatico, *Oryctolagus cuniculus* (Queney *et al*., 2000), l'allevamento controllato della trota, *Salmo trutta* (Hansen *et al*., 2000), il controllo del declino delle popolazioni dell'anfibio *Bufo calamita* (Beebee e Rowe, 2001) e la valutazione dei determinanti la dimensione di una popolazione di babbuini, *Papio cynocephalus* (Storz *et al*., 2002). L'applicazione dei metodi di monitoraggio genetico descritti rappresenta la prima applicazione in un organismo di ambienti salamstri. Essa si è rivelata una procedura utile ed efficace per il monitoraggio degli effetti dello stress naturale e antropico sulle popolazioni di *A. fasciatus*. Considerando la struttura gerarchica della biodiversità proposta da Noss (1990), i metodi di monitoraggio proposti si collocano a cavallo dei livelli composizionali di "geni" e "popolazione". Si propone la loro applicazione su altre specie di ambienti salmastri, in modo da avere concordanza tassonomica, e, laddove possibile, in altri tipi di habitat. La loro utilizzazione è raccomandata unitamente agli altri metodi di monitoraggio più classici che prendono in considerazione vari livelli della biodiversità.

Summary

The discrete nature of brackish-water habitats allows to consider them as "islands" with peculiar communities, species and populations. Conservation strategies should consider all compositional levels of biodiversity, from genes within individuals, through populations, to communities and ecosystems. Biodiversity crisis is due to species extinctions as well as infraspecific losses of diversity such as population genetic diversity. Environmental monitoring is a component of environmental management aimed to assess the effectiveness of the conservation strategy adopted. It is necessary to change or redirect conservation strategies. In the present essay two methods of genetic monitoring based on multilocus genotypes at a single point in time are proposed in order to assess genetic losses in brackish-water habitats at population-level. These methods are based on the expectation that a bottlenecked population will 1) transitorily demonstrate an excess of heterozygosity over that expected under the mutation-drift equilibrium and 2) cause a characteristic mode-shift distortion in the distribution of allele frequencies at selectively neutral *loc*i. The application of these methods to the cyprinodont fish *Aphanius fasciatus* highlighted genetic erosion in two out of the 23 populations analysed. Attempts to define the causative factors which have determined genetic loss have been done.

Methods of genetic monitoring were proved to be effective for assessing the effects of natural or anthropogenic stress on populations of *A. fasciatus*. Because only one sample per locality is required and the number of *loci* analysed need not to be large, these methods are attractive candidates for large-scale application. Thus, their use is recommended for other species from brackish-water habitats and, whether possible, from other habitats.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare caldamente l'intero Comitato Direttivo della Società Italiana di Biologia Marina per avermi invitato a svolgere la presente relazione durante il Congresso di Castelsardo.

Bibliografia

ARCHIE J.W. (1985) - Statistical analysis of heterozygosity data: independent sample comparisons. *Evolution*, **39**: 623-637.

BEEBEE T., ROWE G. (2001) - Application of genetic bottleneck testing to the investigation of amphibian declines: a case study with natterjack toads. *Conserv. Biol.*, **15**: 266-270.

BIANCO P.G. (1995) - Mediterranean endemic freshwater fishes of Italy. *Biol. Conserv*., **72**: 159-170.

BÜRGER R., LYNCH M. (1995) – Evolution and extinction in a changing environment: a quantitative-genetic analysis. *Evolution*, **49**: 151-163.

CAMILLI L., CASTELLI A., LARDICCI C., MALTAGLIATI F. (2001) - Evidence for high levels of genetic divergence between populations of the bivalve *Mytilaster minimus* from a brackish environment and two adjacent marine sites. *J. Mollusc. Stud.*, **67**: 506-510.

CARTEI P., INNAMORATI M., MELILLO C. (1998) - Omeostasi trofica modulata dal mare ed ipertrofia autoctona lagunare. *Biol. Mar. Medit.*, **5**: 41-46.

COGNETTI G. (1994) - Colonization of brackish waters. *Mar. Pollut. Bull.*, **28**: 583-586.

COGNETTI G., MALTAGLIATI F. (2000) - Biodiversity and adaptive mechanisms in brackish water fauna. *Mar. Pollut. Bull.*, **40**: 7-14.

CORNUET J.M., LUIKART G. (1996) - Description and evaluation of two tests for detecting recent bottlenecks. *Genetics*, **144**: 2001-2014.

ENGLAND P.R., OSLER G.H.R. (2001) - GENELOSS: a computer program for simulating the effects of population bottlenecks on genetic diversity. *Mol. Ecol. Notes*, **1**: 111-113.

FERRITO V., MALTAGLIATI F., MAUCERI A., ADORNO A., TIGANO C. (2003) - Morphological and genetic variation in four Italian populations of *Lebias fasciata* (Teleostei, Cyprinodontidae). *It. J. Zool* in stampa.

FIELDSÅ J., LOVETT J.C. (1997) - Biodiversity and environmental stability. *Biodiv. Conserv.*, **6**: 315-323.

HANSEN M.M., NIELSEN E.E., RUZZANTE D.E., BOUZA C., MENSBERG K.-L.D. (2000) - Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta* L.), using microsatellite DNA markers. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*., **57**: 2130-2139.

HIRONS G., GOLDSMITH B., THOMAS G. (1995) - Site management planning. In: Sutherland W.J., Hill D.A. (eds), *Managing habitats for conservation*. Cambridge University Press, Cambridge: 22-41.

KRAIEM M.M. (1983) - Les poissons d'eau douce de Tunisie: Inventaire commenté et répartition géographique. *Bull. Inst. natn. sci. tech. Océanogr. Pêche Salammbo*, **10**: 107-124.

LARDICCI C., ROSSI F., CASTELLI A. (1997) - Analysis of macrozoobenthic community structure after severe dystrophic crises in a Mediterranean coastal lagoon. *Mar. Pollut. Bull*., **34**: 536-547.

LARDICCI C., COMO S., CORTI S., ROSSI F. (2001) - Recovery of the macrozoobenthic community after severe dystrophic crises in a Mediterranean coastal lagoon (Orbetello, Italy). *Mar. Pollut. Bull.*, **42**: 202-214.

LEBERG P.L. (1992) - Effect of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution*, **46**: 477-494.

LENZI M., COSTA A., GIANNERINI S. (1998) - Variazioni di dominanza nei popolamenti algali della Laguna di Orbetello. Un'ipotesi che ne individua le cause. *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B*, **105**: 35-43.

LUIKART G., CORNUET J.M. (1998) - Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conserv. Biol.*, **12**: 228-237.

LUIKART G., SHERWIN W.B., STEELE B.M., ALLENDORF F.W. (1998a) - Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Mol. Ecol*., **7**: 963-974.

LUIKART G., ALLENDORF F.W., CORNUET J.M., SHERWIN W.B. (1998b) - Distortion of allele frequency distributions provided a test for recent population bottlenecks. *J. Hered*., **89**: 238-247.

LYNCH M., CONERY J., BÜRGER R. (1995) - Mutation accumulation and the extinction of small sezual populations. *Amer. Nat.*, **146**: 489-518.

MALTAGLIATI F. (1998a) - Does the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* Nardo (Teleostei: Cyprinodontidae) fit the one-dimensional stepping-stone model of gene flow? *Env. Biol. Fish.*, **53**: 385-392.

MALTAGLIATI F. (1998b) - A preliminary investigation of allozyme genetic variation and population geographical structure in *Aphanius fasciatus* from Italian brackish water habitats. *J. Fish Biol.*, **52**: 1130-1140.

MALTAGLIATI F. (1999) - Genetic divergence in natural populations of the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **179**: 155-162.

MALTAGLIATI F. (2002a) - Patterns of genetic diversity of the Mediterranean killifish, *Aphanius fasciatus*, in the Corsican-Sardinian complex (Western Mediterranean). The role of contemporary and historical events. *Abstract book of the International Symposium "Phylogeography in Southern European Refugia: Evolutionary perspectives on the Origins and Conservation of European Biodiversity"*, 11-15 March 2002, Vairão, Portugal: p. 47.

MALTAGLIATI F. (2002b) - Genetic monitoring of brackish-water populations: the Mediterranean toothcarp, *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae), as a model. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, (in stampa).

MALTAGLIATI F., CAMILLI L., LARDICCI C., CASTELLI A. (2001) – Evidence for morphological and genetic divergence in *Perinereis cultrifera* (Polychaeta: Nereididae) from two habitat types at Elba Island. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **81**: 411-414.

MALTAGLIATI F., PERU A.P., CASU M., ROSSI F., LARDICCI C., CURINI-GALLETTI M., CASTELLI A. (2000) - Is *Syllis gracilis* (Polychaeta: Syllidae) a species complex? An allozyme perspective. *Mar. Biol.*, **136**: 871-879.

MARUYAMA T., FUERST P.A. (1985) - Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics*, **111**: 675-689.

MEFFE G.K., CARROLL C.R., CONTRIBUTORS (1997) - Principles of Conservation Biology. Sinauer Associates, Sunderland, MA: 729 pp.

MUUS B.J. (1967) - Some problems facing the ecologist concerning races and subspecies of brackish-water animals. In: Lauff G.H. (ed), *Estuaries*, American Association for the Advancement of Science: 558-563.

NEI M., MARUYAMA T., CHAKRABORTY R. (1975) - The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, **29**: 1-10.

NOSS R.F. (1990) - Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conserv. Biol.*, **4**: 355-364.

PARENTI L.R., TIGANO C. (1993) - Polymorphic skeletal characters in *Aphanius fasciatus* (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Copeia*, **1993**: 1132-1137.

PIRY S.G., LUIKART G., CORNUET J.M. (1999) - BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J. Hered*., **90**: 502-503.

QUENEY G., FERRAND N., MARCHANDEAU S., AZEVEDO M., MOUGEL F., BRANCO M., MONNEROT M. (2000) - Absence of a genetic bottleneck in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population exposed to a severe viral epizootic. *Mol. Ecol*., **9**: 1253-1264.

SALOMON A.K., RUESINK J.L., SEMMENS B.X., PAINE R.T. (2001) - Incorporating human and ecological communities in marine conservation: an alternative to Zacharias and Roff. *Conser. Biol.*, **15**: 1452-1455.

SPELLERBERG I.F. (1996) - *Conservation Biology*. Longman Group Limited, Harlow: 242 pp.

STORFER A. (1996) - Quantitative genetics: a promising approach for the assessment of genetic variation in endangered species. *Trends Ecol. Evol*., **11**: 343-348.

STORZ J.F., RAMAKRISHNAN U., ALBERTS S. (2002) - Genetic effective size of a wild primate population: influence of current and historical demography. *Evolution*, **56**: 817-829.

WATTERSON G.A. (1984) - Allele frequencies after a bottleneck. *Theor. Popul. Biol.*, **26**: 387-407.

WATTERSON G.A. (1986) - The homozygosity test after a change in population size. *Genetics*, **112**: 899-907.

WRIGHT S. (1938) - Size of a population and breeding structure in relation to evolution. *Science*, **87**: 430-431.

ZACHARIAS M.A., ROFF J.C. (2000) - A hierarchical ecological approach to conserving marine biodiversity. *Conserv. Biol.*, **14**: 1327-1334.

ZACHARIAS M.A., ROFF J.C. (2001) - Zacharias and Roff vs. Salomon et al.: Who adds more value to marine conservation efforts? *Conserv. Biol.*, **15**: 1456-1458.

I lavori sperimentali cui si fa riferimento nel testo sono stati svolti nell'ambito dei progetti COFIN 1999-2000 "Biodiversità e disturbo ambientale nelle acque salmastre" ed INTERREG II.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 15-24

M. Curini Galletti

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.
curini@uniss.it

I POPOLAMENTI INSULARI: UN COMPARTO SOTTOSTIMATO DELLA BIODIVERSITA' MARINA?

THE CONTRIBUTION OF INSULAR POPULATIONS TO MARINE BIODIVERSITY: AN OVERVIEW

Abstract

The evolutionary potential of populations of marine insular habitats has been investigated. Literature data reveal surprisingly high levels of endemism in shallow water biota of oceanic islands. Evidences point to the role of hydrographic patterns (such as local gyres and eddies) as well as behavioural adaptations in limiting dispersal of planctonic stages, thus allowing genetic drift and/or adaptation to local conditions, eventually leading to speciation. Conversely, few endemisms are known from Mediterranean islands, though there are clear indications that the number of endemisms may be high in meiofaunal taxa. Appreciation of the actual extent of insular endemisms in the Mediterranean appears hampered by lack of specific research and poor knowledge of marine biodiversity as a whole.

Key-words*: islands, speciation, dispersal, marine biodiversity, conservation.*

Introduzione

Le isole, per la loro stessa essenza (che implica, in genere, dimensioni ridotte, netti confini con gli ecosistemi circostanti e presenza di comunità biologiche semplificate) e per la possibilità di presentarsi in arcipelaghi, hanno affascinato i biologi per più di 150 anni e hanno avuto uno speciale significato per lo studio dell'ecologia e dell'evoluzione. Osservazioni sulla fauna insulare hanno ispirato Alfred Russel Wallace (1876, 1881) e Charles Darwin (1859), le cui inferenze sulle relazioni tra le specie insulari e quelle dei continenti più vicini fornirono solide basi per sostenere la teoria dell'evoluzione tramite selezione naturale. Più recentemente, Robert MacArthur e Edward O. Wilson (1963, 1967) svilupparono modelli di ricchezza specifica come funzione di tassi di colonizzazione e estinzione sulla base di dati provenienti da comunità insulari.

In confronto, però, all'interesse suscitato da organismi e/o biocenosi terrestri, l'effetto dell'insularità in ambiente marino è sempre stato considerato di rilevanza minore, se non trascurabile, come esplicitato dallo stesso Darwin (1859): 'Madera è popolata da uno straordinario numero di gasteropodi terrestri endemici, mentre non vi è neppure un solo mollusco marino esclusivo delle sue coste. Ora, pur non sapendo in qual modo avvenga la diffusione dei molluschi marini, possiamo tuttavia pensare che le loro uova o larve, aderendo forse alle alghe o a pezzi di legno galleggianti o ai piedi dei trampolieri, vengano trasportate per tre o quattrocento miglia di mare aperto molto più facilmente di quelle dei gasteropodi terrestri' (trad. italiana: p. 466).

In effetti, la connettività dell'ambiente marino, e le potenzialità di dispersione che larve (è stato stimato che circa il 70% degli organismi marini presenti fasi dispersive planctoniche) (Thorson, 1950) e/o adulti (o frammenti di essi!) (*cf.* Jackson, 1986) possono presentare, sono fattori in grado di offrire resilienza a fenomeni di divergenza in allopatria. Da qui l'enfasi che è stata data alla ricerca per l'ambiente marino di modelli

di speciazione allopatrica ad ampia scala geografica - come il classico modello di Mayr (1954) della speciazione dei generi *Diadema* e *Eucidaris* in diversi bacini oceanici - o di modelli alternativi che non prevedano disgiunzione geografica (Palumbi, 1992). Solo raramente i modelli di speciazione in ambiente marino hanno preso in considerazione il potenziale evolutivo degli habitat costieri insulari, che sono in genere considerati trascurabili come 'source' di biodiversità.

Le assunzioni sulla biodiversità marina insulare dovrebbero però essere vagliate criticamente, alla luce di alcuni aspetti:

1) la recente consapevolezza che l'attuale percezione della biodiversità marina tout court è basata su dati non rappresentativi, e che molte delle 'specie' cosmopolite marine e di ambienti salmastri nascondono in realtà unità evolutive discrete, che spaziano da popolazioni geneticamente divergenti a complessi di sibling species (Knowlton, 1993, 2000);
2) il fatto che in ambiente terrestre e dulceacquicolo la maggiore ricchezza specifica si colloca nella classe dimensionale attorno ad 1-2 mm circa di taglia (Siemann *et al.*, 1996), rappresentata in mare da organismi della meiofauna, caratterizzati da brevi cicli vitali e assenza di fasi dispersive, la cui composizione tassonomica, biogeografia e processi evolutivi sono pochissimo conosciuti;
3) l'attuale, rovente dibattito sulla definizione stessa di specie - basti ricordare, come esempio, le stime drammaticamente diverse sul numero di specie di un gruppo così studiato come gli uccelli, adottando il Biological Species Concept (BSC) o il Phylogenetical Species Concept (PSC)! - (Martin, 1996) che hanno sinora coinvolto solo marginalmente ricercatori operanti in ambito marino.

Parte dello scarso apprezzamento del contributo dei popolamenti insulari alla biodiversità marina è probabilmente da ricondursi alla vasta popolarità di cui ha goduto il modello di equilibrio della diversità insulare di MacArthur e Wilson - che prevede le isole unicamente come 'sink' di biodiversità - a partire dagli anni '70. L'influenza di tale approccio ha contribuito all'affermazione del classico 'paradosso di Rockall' (Moore, 1977). Rockall è poco più di un faraglione isolato, 400 km ad ovest delle isole Ebridi. Gli habitat litorali di Rockall sono caratteristici per la mancanza di molti degli organismi cospicui di tale fascia nel Nord Atlantico, come cirripedi, mitili, *Littorina littorea* (Linné 1758) e, in genere, tutti gli invertebrati con larve planctoniche. La fauna bentonica è largamente rimpiazzata da macroalghe, con fase a vita libera molto breve (nel range di minuti). Tutte le 17 specie animali rinvenuti negli habitat litorali di Rockall mancano di fase larvale planctonica; una di esse, *Littorina saxatilis* (Olivi 1792), è vivipara (Fretter e Graham, 1980). Non sfugge l'importanza della strategia riproduttiva per la sopravvivenza in un ambiente come Rockall: eventi di dispersione, per quanto accidentali (*L. saxatilis*, ad esempio, è nota per le sue capacità di dispersione tramite rafting su pezzi di macroalghe), possono permettere la colonizzazione da parte di pochi individui (al limite, una sola femmina fecondata!), che, nel caso di specie a sviluppo diretto, possono dare inizio ad una popolazione in grado di autoperpetuarsi. Specie come *L. littorea*, con fase planctonica di 4 settimane, possono più facilmente colonizzare le coste di Rockall, ma le larve originate dai colonizzatori, date le condizioni idrografiche dell'area, non sono in grado di fissarsi *in situ*. L''effetto Rockall' è stato riscontrato anche nell'arcipelago delle Scilly (40 km a SW della Cornovaglia) e all'isola di Lundy (nel canale di Bristol, a 18 km dalla costa), dove *L. saxatilis* è abbondante, mentre *L. littorea* è rinvenuta sporadicamente, come pure *Monodonta lineata* (Da Costa 1778), anch'essa con larve planctotrofiche (Johannesson, 1988).

Gli esempi sopra riportati sono relativi a masse insulari di ridotte o ridottissime

dimensioni, in un'area del pianeta a bassa biodiversità marina, a causa delle fluttuazioni ambientali del Pleistocene, in tale zona particolarmente drammatiche per l'ambiente marino costiero. La generalizzazione dell''effetto Rockall' è pertanto improbabile e, in effetti, esistono osservazioni del tutto conflittuali. Nell'Indo-Pacifico, infatti, la maggioranza delle specie di gasteropodi delle isole oceaniche possiede stadi larvali planctonici, mentre la ben più ricca fauna delle coste continentali presenta una marcata frazione di specie con sviluppo diretto (Vermeji, 1987).

Si potrà notare come gli autori sopra citati enfatizzino i problemi di colonizzazione degli habitat insulari, nella tradizione di MacArthur e Wilson (1967) dell'isola come 'bersaglio'. Considerando però la messe di dati disponibile concernente i fenomeni di speciazione insulare in ambiente terrestre, pare legittimo chiedersi se simili processi operino anche in ambiente marino e quale sia la loro rilevanza.

Isole come 'source' di biodiversità: le isole oceaniche

In realtà, l'esistenza di endemismi marini insulari è ben nota. Dall'epoca della citazione di Darwin sopra riportata, numerose specie animali endemiche - soprattutto gasteropodi - sono state descritte anche per Madera, di cui una dall'autore stesso di questa nota (Curini Galletti, 1990)! Alcuni arcipelaghi sono stati oggetto di particolari indagini. Tra essi, le isole Hawaii sono particolarmente interessanti per l'isolamento (sono le terre più lontane da qualunque altra terra emersa del pianeta) e antichità (la formazione delle isole più antiche, ora sommerse, è datata a circa 80 milioni di anni fa) (Brown e Gibson, 1983). La loro lontananza da terre emerse, nonostante la posizione dell'arcipelago a cavallo del Tropico, ha inoltre contribuito a moderare gli effetti degli sconvolgimenti climatici del Pleistocene, garantendo stabilità nel tempo delle condizioni ambientali. Tali fattori hanno concorso a determinarne lo straordinario tasso di endemismo degli organismi terrestri (superiore al 90%), che è il più alto riscontrato in ambienti insulari nel pianeta. Il tasso di endemismo della fauna marina, pur sensibilmente più basso, attorno al 32%, è comunque particolarmente elevato (Kay e Palumbi, 1987). La fauna marina costiera delle isole Hawaii presenta numerose peculiarità, che riflettono le condizioni di insularità 'estrema' che esse presentano:

1) assenza di specie comuni e diffuse nel resto dell'Indo-Pacifico, come le appartenenti ai generi *Tridacna*, *Uca, Amphiprion*, e di interi taxa sopragenerici, come Milleporinae, Siganidae, Serranidae e Lutjanidae;
2) livelli di endemismo particolarmente elevati nei taxa di acque basse. Ad esempio, le coste rocciose sono colonizzate da tre specie endemiche di patelle del genere *Cellana* e dai loro predatori (Muricidae), anch'essi endemici. Inoltre, circa il 60% di Blennidi e Gobidi appare endemico. In genere, il tasso di endemismo appare più elevato nei taxa con breve fase larvale planctonica;
3) l'assenza di competitori ha favorito casi di allargamento o modifica di nicchia. Tra gli esempi più eclatanti, il pesce più comune degli habitat costieri delle Hawaii è un endemita, *Chaetodon miliaris* Quoy e Gaimard 1825, che, in assenza di pesci planctivori, a differenza della grande maggioranza dei congeneri, che si nutrono di organismi bentonici e vivono in coppia, si nutre di zooplancton, vive in grandi branchi, si riproduce in massa, e presenta adattamenti morfologici dell'apparato alimentare per una dieta a base di zooplancton (Hourigan e Reese, 1987);
4) assenza completa nella fauna marina dell''effetto arcipelago', risultante negli 'species swarms', così caratteristici della fauna terrestre delle isole Hawaii (basta ricordare, a questo proposito, le oltre 400 specie del genere *Drosophila*) (Carson

et al., 1970). Inoltre, mancano endemismi marini di singole isole. La breve distanza, soprattutto tra le isole 'alte', più orientali, dell'arcipelago, che costituisce un ostacolo insormontabile per la maggior parte degli organismi terrestri, non è apparentemente percepita come barriera dagli organismi marini.

Quest'ultimo punto è probabilmente responsabile della forte discrepanza in percentuale di specie endemiche tra habitat marini e terrestri. E' pero da notare come il numero di endemismi marini delle isole Hawaii sia probabilmente severamente sottostimato. Molti taxa hanno infatti ricevuto designazioni infrasubspecifiche (ad esempio, più del 30% dei pesci!) – largamente sulla base di una stretta aderenza al BSC. L'approccio filogenetico, e l'utilizzo di dati non esclusivamente fenetici, potrebbero modificare fortemente le attuali stime sugli endemismi marini delle Hawaii.

Non a caso, recentemente, tecniche di indagine molecolare hanno evidenziato l'esistenza di numerosi endemismi insulari, difficilmente caratterizzabili su base morfologica. In particolare, recenti studi su Echinodermi suggeriscono che il già sorprendemente elevato numero di endemismi insulari del gruppo (ad esempio, ben 17 endemismi sono noti per le Is. Galapagos, e nove per la sola Is. Cocos!) (Maluf, 1991) sia in realtà sottostimato. Esemplare a questo proposito il caso del genere *Eucidaris.* Oltre alle quattro specie generalmente riconosciute per il genere, analisi di sequenze di mtDNA hanno rivelato come le popolazioni delle Is. Galapagos, Cocos e Clipperton costituiscano una specie distinta da *E. thouarsi* Mortensen 1928, la specie diffusa nella provincia panamense, e con un rapporto di sister-species con essa (Lessios *et al.*, 1999). E' interessante notare che tale evento di speciazione, considerata di tipo peripatrico dagli autori, sia potuto avvenire *nonostante* i venti prevalenti, la vicinanza (Cocos dista solo 500 km dal continente), l'età delle isole (le Is. Galapagos hanno solo 3 milioni di anni, anche se non può essere esclusa la possibilità della presenza di isole ora sommerse nell'area) e la durata della fase larvale nel genere *Eucidaris*, pari a 25-30 giorni (Lessios *et al.*, 1999).

Di particolare interesse a questo proposito sono i casi di S. Elena e Ascensione. Studi di struttura di popolazione di specie anfiatlantiche di Echinodermi e Pesci hanno infatti rivelato come le popolazioni delle due isole siano ben distinte dalle popolazioni continentali (Lessios *et al.*, 2001; Bowen *et al.*, 2001). Il caso di Ascensione, un'isola geologicamente molto giovane (circa 1.5 milioni di anni), è particolarmente paradossale. Infatti, il 15.7% della sua fauna marina costiera appare endemica, mentre il 22% delle specie presenti è condiviso con la sola S. Elena. Anche se S. Elena (sorta circa 15 milioni di anni fa), o qualche isola medioatlantica oggi erosa, può essere stata responsabile dell'elevatissimo tasso di endemismo marino dell'isola, che, vale la pena di ricordare, ha appena 12 km di massimo diametro, e la cui terra più vicina è S. Elena, distante 1290 km, è da segnalare che la presenza di aplotipi unici nelle popolazioni di Ascensione di specie con fase larvale planctonica suggerisce forti livelli di ritenzione larvale (Bowen *et al.*, 2001). Simili processi sono presumibilmente all'opera in altre remote isole oceaniche. Significativo il caso dell'isola di Pasqua, non troppo dissimile per isolamento e dimensioni da Ascensione, che presenta ben quattro specie endemiche del genere *Cypraea* (Lorenz e Raines, 2001). E' da notare che ricerche sullo sviluppo larvale di una di esse (la ben nota *Cypraea caputdraconis* Melvill 1888) hanno rivelato una fase planctonica della durata di almeno tre settimane (Osorio *et al.*, 1992).

Da quanto sopra, emerge chiaramente che cruciale per la comprensione del potenziale evolutivo dei popolamenti marini insulari è la valutazione di quale sia la reale capacità dispersiva delle fasi pelagiche. Recenti studi suggeriscono che tale capacità sia effettivamente molto più bassa di quanto deducibile solo sulla base della lunghezza del periodo di vita planctonica (Victor e Wellington, 2000). Significativi a questo proposito

sono i dati sul potenziale dispersivo di pesci tipicamente costieri, come Labridi e Pomacentridi. Nei taxa studiati di entrambi i gruppi, una ampia proporzione di larve si fissa nella scogliera in cui è nata (Jones *et al.*, 1999; Swearer *et al.*, 1999). In particolare, in *Pomacentrus amboinensis* Bleeker 1868, con durata di sviluppo planctonico pari a 18-21 giorni, la percentuale dei pesci che trascorrono l'intera vita nella stessa barriera (nel caso studiato, Lizard Island) è compresa tra 1/3 e 2/3 del totale. In tali specie, è spesso presente una marcata struttura genetica di popolazione (Palumbi, 1999). Particolari condizioni idrodinamiche possono contribuire al fenomeno, come vortici, anche di pochi km di diametro, che possono raggruppare le larve al loro interno, riducendone di fatto notevolmente le capacità di dispersione. Sono inoltre presenti evidenze di comportamento adattativo: nei pesci delle Hawaii, la stagione riproduttiva coincide con la massima presenza di vortici attorno alle isole (Hourigan e Reese, 1987). Non sfugge il significato di tale strategia: le Hawaii sono talmente isolate che il tempo di trasporto da parte delle correnti a masse terrestri limitrofe è largamente superiore alla durata della vita larvale della maggior parte dei pesci (Hourigan e Reese, 1987). Non si possono inoltre escludere movimenti attivi, soprattutto di tipo verticale, delle larve, atti ad evitare di essere trascinate in mare aperto. E' da ricordare che la perdita o riduzione delle capacità dispersive – come la perdita delle ali negli insetti – sono fenomeni ben noti negli organismi terrestri insulari.

A questo proposito, di particolare interesse appare l'ipotesi di riduzione della fase medusoide negli Hydrozoa proposta da Cornelius (1992). Ricostruzioni dei rapporti filogenetici intra-group hanno rivelato come negli Hydrozoa la riduzione della fase medusoide sia avvenuta almeno 60 volte indipendentemente. I taxa in cui la fase medusoide è soppressa hanno distribuzione particolarmente ampia, dovuta alle possibilità di trasporto tramite rafting che tali organismi presentano. Potendo inoltre vivere per lunghi periodi su oggetti galleggianti, essi possono colonizzare isole poste a tale distanza dalla costa che la durata del trasporto tramite correnti eccede la durata della vita delle fasi dispersive. Si spiega così la preponderanza di idroidi senza fase medusoide in remote isole oceaniche (Jackson, 1986). Cornelius (1992) ha ipotizzato che l'insorgenza delle linee prive di medusa sarebbe avvenuta proprio in remote isole oceaniche, a causa della forte selezione a favore di processi di ritenzione e perdita delle fase dispersive. Una volta evolutesi, tali forme sarebbero preadattate per dispersione tramite rafting, risultando nell'attuale distribuzione cosmopolita.

Le isole oceaniche appaiono quindi nel complesso come uno scenario evolutivo di grande interesse, e in grado di contribuire significativamente alla biodiversità marina.

Ma cosa succede a diversa scala geografica?

Isole come 'source' di biodiversità: le isole mediterranee

Le condizioni viste in precedenza non sembrano facilmente applicabili ad un bacino semichiuso come il Mediterraneo, in cui le isole sono abbastanza vicine alle coste continentali da consentire flussi di migrazione sufficienti per impedire fenomeni di divergenza, almeno per specie con fasi dispersive di una certa durata, e la cui stessa configurazione è fortemente influenzata dai cicli glaciali/interglaciali. Durante il Würmiano, ad esempio, l'abbassamento massimo del livello del mare, raggiunto circa 20.000 anni fa, è stimato pari a –120 m (*cf.* Rohling *et al.*, 1998), di fatto connettendo molte delle attuali isole al continente. E' però anche vero che ricerche tassonomiche mirate ad evidenziare l'esistenza di endemismi insulari in Mediterraneo sono particolarmente carenti. In realtà, esistono specie note esclusivamente per isole – nel caso di molti taxa, è però difficile

discernere quanto questi casi rappresentino reali endemismi insulari o semplici assenze di segnalazioni al di fuori del *locus typicus* per specie di gruppi scarsamente studiati. E' però possibile un *distinguo* nel caso dei molluschi – gruppo che gode (o soffre) di una notevole popolarità tra collezionisti, con la conseguenza di avere una mappatura della loro distribuzione assai più fine di quanto in genere possibile per altri taxa. Sicuramente endemismo insulare è il gasteropode *Gibbula nivosa* A. Adams 1851, nota solo per alcune baie nel versante orientale di Malta (Ghisotti, 1976). E' improbabile infatti che la presenza della specie, di notevoli dimensioni, vistosa, molto caratteristica e di habitat litoraneo, sia potuta sfuggire altrove. Altri endemismi sono possibili nella fam. Rissoidae: *Alvania elisae* Margelli 2001, molto comune nell'infralitorale superiore dell'isola di Capraia (Margelli, 2001), *A. aeoliae* Palazzi 1988, apparentemente limitata alle isole Eolie (Palazzi, 1988), e *Rissoa multicincta* Smriglio e Mariottini 1995, presente a Giannutri (Arc. Toscano), ma non rinvenuta sulle coste continentali antistanti (Smriglio e Mariottini 1995; Gruppo Subacqueo grossetano, com. pers.).

Tali specie condividono il tratto della mancanza di una fase dispersiva, almeno a lungo raggio. I Rissoidi sopra citati presentano protoconca che testimonia sviluppo diretto. Lo sviluppo di *G. nivosa* non è conosciuto, ma le specie del genere sono note per avere breve fase dispersiva pelagica (al massimo pochi giorni) o sviluppo diretto (Fretter e Graham, 1977). Il caso dei Rissoidi è di particolare interesse: la famiglia, in generale, comprende specie di piccole dimensioni, con breve ciclo vitale (Fretter e Graham, 1978), che, in condizioni ottimali, consente più generazioni l'anno, conferendo al gruppo un potenziale evolutivo non trascurabile, che rende plausibile ipotizzare che altri casi di endemismi insulari, ancora non evidenziati, possano esistere.

E' da notare che, a parte le Is. Eolie, le isole sopra citate sono separate da aree continentali tramite tratti di fondale inferiore a 120 m (anche se mai inferiori a 90-100 m), rendendo quindi possibili connessioni durante epoche glaciali. Uno scenario alternativo – che vede la distribuzione attuale di tali specie come areale relittuale – è quindi proponibile. Giova ricordare a questo proposito che il ruolo delle isole come 'last stand' è documentato anche per organismi marini - *cf. Alca impennis* Linné 1758 e *Hydrodamalis gigas* (Zimmermann 1780) - (Carlton *et al.,* 1999). E' però da notare che l'abbassamento massimo del livello del mare è stato raggiunto solo in fasi molto brevi dei periodi glaciali, e che quindi la perdita dell'insularità è stata in realtà una fase episodica e transitoria, potenzialmente, quindi, almeno in alcuni casi, non in grado di impedire fenomeni di divergenza – per adattamento a condizioni locali o anche solo per deriva (in accordo, ad esempio, a modelli di speciazione peripatrica o degli 'isolati periferici' della speciazione allopatrica) (*cf.* Wiley, 1981). E' anche da ricordare come sia in realtà limitata l'effettiva capacità di dispersione e/o la tolleranza di fluttuazioni di parametri ambientali in molti organismi marini. Il Mediterraneo stesso offre clamorosi esempi di specie dotate di fase planctonica e a distribuzione peraltro ristrettissima: solo di recente vi è stata 'riscoperta' una ulteriore specie del genere *Haliotis*, *H. stomatiaeformis* Reeve 1846, a distribuzione limitata a Malta e a alcune stazioni della Sicilia orientale, e dotata di fase dispersiva planctonica (Gaeta *et al.,* 2003; Geiger, 2000). Tale caso, relativo ad una specie di un gruppo così vistoso e di grande taglia come il genere *Haliotis*, è peraltro esemplificativo del livello di conoscenza della biodiversità marina del Mediterraneo e suscita pesanti interrogativi sull'adeguatezza delle conoscenze attuali, soprattutto in gruppi scarsamente studiati e che, per la presenza di numerosi complessi di sibling species, necessitano di tecniche di indagine particolari, come, in generale, gli organismi della meiofauna. Essi costituiscono con ogni probabilità il comparto più ricco di specie dell'intera fauna marina (*cf.* Siemann *et al.*, 1996)

– ma anche uno dei più colpiti dall'attuale 'crisi della tassonomia'. Il ciclo vitale particolarmente breve, l'assenza in genere di fasi larvali planctoniche e il ridotto raggio di movimento degli adulti, li rendono candidati ideali per lo studio dell'importanza delle barriere geografiche – quali quelle determinate dall'insularità – nei processi evolutivi degli organismi marini.

Recenti ricerche, utilizzando tecniche genetiche, citotassonomiche e biologico-riproduttive, appaiono confermare l'esistenza di endemismi nei Platelminti interstiziali del complesso sardo-corso (Casu *et al.*, 2001 a, b, in prep.). In un caso, relativo al complesso di sibling species di *Gyratrix hermaphroditus* Ehrenberg 1831 è stato inoltre possibile accertare l'esistenza di una evoluzione cariologica tramite meccanismi di fusione Robertsoniana unica nel Mediterraneo, e limitata al complesso sardo-corso, dove lo species-group pare abbia subito una vera e propria radiazione (Casu *et al.*, 2003; Curini-Galletti *et al.*, 2000). Data l'assenza di studi analoghi in altri taxa interstiziali di ambiente insulare, è ragionevole attendersi che questi dati rappresentino solo la 'punta dell'iceberg' – esemplificativa del potenziale evolutivo e del contributo alla biodiversità marina degli organismi della meiofauna.

Considerazioni conclusive

Nel complesso, i popolamenti insulari marini appaiono costituire una 'source' di biodiversità più importante di quanto generalmente percepito. Le implicazioni conservazionistiche di ciò sono ovvie: i piani di salvaguardia della biodiversità marina dovrebbero infatti considerare gli habitat insulari tanto per la qualità dell'ambiente che per la qualità delle specie che presentano. Nella situazione attuale di carenza di conoscenze in generale della biodiversità marina, ciò dovrebbe comportare un approccio cautelativo nella pianificazione delle Aree Marine Protette, tale da comprendere aree rappresentative degli habitat insulari, particolarmente a basso idrodinamismo – i cui organismi hanno, almeno teoricamente, minori chances di dispersione e maggiori possibilità di presentare fenomeni di divergenza.

La conservazione degli habitat insulari assume aspetti di particolare priorità data l'attuale crisi della biodiversità marina (*cf.* Cognetti e Curini Galletti, 1993 per una review), e per la particolare fragilità presentata dalle piccole popolazioni, come molti casi di popolazioni insulari, anche di invertebrati. L'esistenza infatti di esempi di estinzione di specie litoranee del genere *Conus*, endemiche di habitat di acque basse delle Hawaii, durante tutto il Pleistocene (Kay e Palumbi, 1987), evidenzia come gli endemismi insulari possano avere 'life span' breve, se confrontata con specie a vasta distribuzione lungo le coste continentali, e ampie capacità di dispersione.

Summary

The evolutionary potential of populations of marine insular habitats has been investigated. Literature data show a surprisingly high level of endemism in shallow water biota of oceanic islands. Hydrographic patterns (such as local gyres and eddies) as well as behavioural adaptations appear to limit the dispersive potential of planctonic life stages – thus allowing larval ritention. Insular self-recruitment may lead to divergence through genetic drift and/or adaptation to local conditions – eventually leading to speciation. Such conditions may not apply to Mediterranean islands, which are in general too close to continental coasts to effectively hamper gene-flow in marine species with dispersal life-stages. However, a small number of shallow water insular endemisms is apparent in molluscs, whose distribution is particularly well known and sampling biases may not be involved. All cases refer to species with short planctonic development, if any. Preliminary evidences suggest that endemism rate may be high in meiofaunal taxa. Lack of means of dispersal and very short life cycles make them suitable candidates to test the effects of barriers – such as insularity – in promoting specia-

tion in marine habitats. Appreciation of the contribution of insular populations to biodiversity appears however hampered by lack of specific research and by the inadequate state of our knowledge of marine biodiversity as a whole. Conservation strategies should however carefully consider the evolutionary potential and taxonomic distictiveness of insular populations.

Bibliografia

BOWEN B.W., BASS A.L., ROCHA L.A., GRANT W.S., ROBERTSON D.R. (2001) - Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): Ring species complex on a global scale. *Evolution*, **55**: 1029-1039.

BROWN J.H., GIBSON A.C. (1983) - *Biogeography*. The C.V. Mosby Company, St Louis, Toronto, London: 644 pp.

CARLTON J.T., GELLER J.B., REAKA-KUDLA M.L., NORSE E.A. (1999) - Historical Extinctions in the Sea. *Annu. Rev. Ecol. Syst*., **30**: 515-538.

CARSON H.D.L., HARDY D.E., SPIETH H.T., STONE W.S. (1970) - The evolutionary biology of the Hawaiian Drosophilidae. In: Hecht M.K., Steere W.C. (eds), *Essays in evolution and genetics in honor of Theodosius Dobzhansky*. New York, Appleton-Century-Crofts: 37-543.

CASU M., CURINI GALLETTI M., OGGIANO G., VARGIU G. (2001a) - Analisi della struttura genetica del complesso di sibling species riferite a *Pseudomonocelis ophiocephala* (Schmidt, 1861) (Platyhelminthes: Proseriata*). 62° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana*, 23-27 settembre 2001, Sanremo (IM): 48 pp.

CASU M., CURINI GALLETTI M., OGGIANO G., VARGIU G., CUBEDDU M., CORREDDU A.R., COSSU P. (2003) - Insularità e Endemismo: il caso dei Platelminti interstiziali. *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 70-72.

CASU M., CURINI GALLETTI M., VARGIU G., OGGIANO G., CORREDDU A.R., CUBEDDU M. (2001b) - Cosa conosciamo della biodiversità dei Platelminti mesopsammici, e perché dovrebbe interessarci? Abstract *32° Congresso Società Italiana di Biologia Marina,* 4-9 giugno 2001, Numana-Riviera del Conero (AN): 47 pp.

COGNETTI G., CURINI GALLETTI M. (1993) - Biodiversity Conservation Problems in Marine Environment. *Marine Pollution Bulletin,* **26**: 179-183.

CORNELIUS P.F.S. (1992) - Medusa loss in leptolid Hydrozoa (Cnidaria), hydroid rafting, and abbreviated life cycles among their remote-island faunae: an interim review. *Scientia Marina,* **56**: 245-261.

CURINI GALLETTI M. (1990) - Revision of the genus *Jujubinus* Monterosato, 1884: the *J. gravinae* (Dautzenberg, 1881) species-group. *Lavori della Società Italiana di Malacologia*, **23**: 37-50.

CURINI GALLETTI M., CASU M., OGGIANO G. (2000) - The *Gyratrix hermaphroditus* species complex (Kalyptorhynchia: Polycystididae) in the Mediterranean. *9th International Symposium on the Biology of Turbellaria*, June 26th – July 1st 2000, Barcelona: 54 pp.

DARWIN C. (1859) - *L'origine delle specie per selezione naturale o la preservazione delle razze privilegiate nella lotta per la vita*. Trad. italiana: Newton Compton ed. (1973): 584 pp.

FRETTER V., GRAHAM A. (1977) - The Prosobranch Molluscs of Britain and Denmark. Part 2, Trochacea. *J. Moll. Studies*, **3** (Suppl.): 39-100.

FRETTER V., GRAHAM A. (1978) - The Prosobranch Molluscs of Britain and Denmark. Part 4, Marine Rissoacea. *J. Moll. Studies*, **6** (Suppl.): 153-242.

FRETTER V., GRAHAM A. (1980) - The Prosobranch Molluscs of Britain and Denmark. Part 5, Marine Littorinacea. *J. Moll. Studies*, **7** (Suppl.): 243-284.

GAETA S., SCUDERI D., CANTONE G. (2003) - Prime osservazioni sulla selezione dell'habitat in due specie di *Haliotis* (Mollusca: Gastropoda) del Mediterraneo: *H. tuberculata* e *H. stomatiaeformis*, *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 561-564.

GEIGER D.L. (2000) - Distribution and biogeography of Haliotidae (Gastropoda: Vetigastropoda) worldwide. *Boll. Malacologico*, **35**: 57-120.

GHISOTTI F. (1976) - Considerazioni su *Gibbula nivosa* A. Adams, 1851. *Conchiglie*, **12**: 79-88.

HOURIGAN T.F., REESE E.S. (1987) – Mid-ocean Isolation and the Evolution of Hawaiian Reef

Fishes. *Trends Ecol. Evol*., **2**: 187-191.
JACKSON J.B.C. (1986) - Modes of dispersal of clonal benthic invertebrates: consequences for species' distributions and genetic structure of local populations. *Bull. Mar. Sci*., **39**: 588-606.
JOHANNESSON K. (1988) - The paradox of Rockall: why is a brooding gastropod (*Littorina saxatilis*) more widespread than one having a planktonic larval dispersal stage (*L. littorea*)? *Marine Biology*, **99**: 507-513.
JONES G.P., MILICICH M.J., EMSLIE M.J., LUNOW C. (1999) - Self recruitment in a coral reef fish population. *Nature*, **402**: 802-804.
KAY A.E., PALUMBI S.R. (1987) - Endemism and Evolution in Hawaiian Marine Invertebrates. *Trends Ecol. Evol*., **2**: 183-186.
KNOWLTON N. (1993) - Sibling Species in the Sea. *Annu. Rev. Ecol. Syst*., **24**: 189-216.
KNOWLTON N. (2000) - Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. *Hydrobiologia*, **420**: 73-90.
LESSIOS H.A., KESSING B.D., ROBERTSON D.R., PAULAY G. (1999) - Phylogeography of the pantropical sea urchin *Eucidaris* in relation to land barriers and ocean currents. *Evolution*, **53**: 806-817.
LESSIOS H.A., KESSING B.D., PEARSE J.S. (2001) - Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution*, **55**: 955-975.
LORENZ F., RAINES B. (2001) - A new species of *Cribrarula* from Easter Island. *La Conchiglia*, **299**: 11-16.
MACARTHUR R.H, WILSON E.O. (1963) - An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*, **17**: 373-387.
MACARTHUR R.H, WILSON E.O. (1967) - The theory of island biogeography. *Monographs in population biology no. 1*. Princeton N.J., Princeton University Press: 203 pp.
MALUF L.Y. (1991) - Echinoderm fauna of the Galapagos Islands. In: James M.J. (ed), *Galapagos marine Invertebrates*. Plenum Press, New York: 345-367.
MARGELLI A. (2001) - Una nuova specie dalle acque dell'Isola di Capraia (Arcipelago Toscano): *Alvania elisae* n. sp. *La Conchiglia*, **300**: 43-50.
MARTIN G. (1996) - Birds in double trouble. *Nature*, **380**: 666-667.
MAYR E. (1954) - Geographic speciation in tropical echinoids. *Evolution*, **8**: 1-18.
MOORE P.H. (1977) – Additions to the littoral fauna of Rockall, with a description of *Araeolaimus penelope* sp. nov. (Nematoda: Axonolaimidae). *J. Mar. biol. Ass. U.K.,* **57**: 191-200.
OSORIO C., GALLARDO C., ATAN H. (1992) - Egg Mass and Intracapsular Development of *Cypraea caputdraconis* Melvill, 1888, from Easter Oisland (Gastropoda: Cypraeidae). *The Veliger*, **35**: 316-322.
PALAZZI S. (1988) - Descrizione di due nuove specie di *Alvania*. *La Conchiglia*, **230-231**: 21-24.
PALUMBI S.R. (1992) - Marine speciation on a small planet. *Trends Ecol. Evol*., **7**: 114-118.
PALUMBI S.R. (1999) - The prodigal fish. *Nature*, **402**: 733-735.
ROHLING E.J., FENTON M., JORISSENT F.J., BERTRAND P., GANSSEN G., CAULET J.P. (1998) - Magnitudes of sea-level lowstands of the past 500,000 years. *Nature*, **394**: 162-165.
SIEMANN E., TILMAN D., HAARSTAD J. (1996) - Insect species diversity, abundance and body size relationships. *Nature*, **380**: 704-706.
SMRIGLIO C., MARIOTTINI P. (1995) - Descrizione di una nuova specie di Rissoidae Gray, 1847 per il Mar Mediterraneo: *Rissoa multicincta* n. sp. *Bollettino Malacologico*, **30**: 297-303.
SWEARER S.E., CASELLE J.E., LEA D.W., WARNER R.R. (1999) - Larval retention and recruitment in an island population of a coral-reef fish. *Nature*, **402**: 799-802.
THORSON G. (1950) - Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc*., **25**: 1-45.
VERMEJI G.J. (1987) - The dispersal barrier in the tropical Pacific; implications for molluscan speciation and extinction. *Evolution*, **41**: 1046-1058.
VICTOR B.C., WELLINGTON G.M. (2000) – Endemism and the pelagic larval duration of reef fishes in the eastern Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **205**: 241-248.
WALLACE A.R. (1876) - *The geographical distribution of animals*. 2 vols. MacMillan e Co., London: 503 pp e 607 pp.

WALLACE A.R. (1881) - *Island life*. Harper e Brothers, New York: 522 pp.
WILEY E.O. (1981) - *Phylogenetics. The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. John Wiley e Sons, New York, Toronto: 439 pp.

Il lavoro è stato effettuato in parte con fondi INTERREG e sviluppa tematiche di pertinenza del Centro per lo sviluppo della ricerca biotecnologica e per lo studio della biodiversità della Sardegna e dell'area Mediterranea dell'Università di Sassari.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 25-33

G. Cantone, D. Catalano, N. Di Pietro, G. Fassari, E. Mollica*, D. Scuderi

Dipartimento di Biologia Animale "Marcello La Greca", Università di Catania
Via Androne, 81 – 95124 Catania, Italia.
*Consorzio di gestione A.M.P. "Isole Ciclopi".

L'AREA MARINA PROTETTA "ISOLE CICLOPI": UN FORZIERE DI BIODIVERSITA'?

PROTECTED MARINE AREA "CICLOPI ISLANDS": A BIODIVERSITY'S COFFER ?

Abstract

Polychaeta, Mollusca and Crustacea Decapoda living from 2 to 32 m of depth, on hard bottoms of the Marine Protected Area "Ciclopi Islands"(Acitrezza, eastern Sicily), have been studied during the last two years. 228 species of Polychaeta, 352 of Mollusca and 30 of Decapoda have been determined. Many species, belonging to all above-named taxa, are new finding for this zone and some also for the Ionian and the Tyrrhenian Sea (for instance Clavodorum adriaticum, *Polychaeta Sphaerodoridae, was known only for the middle Adriatic). The finding of* Lepidochitona monterosatoi *and* Chiton phaseolinus *(Mollusca Polyplacophora) permitted to study their biology and ecology.*

Pisodonophis semicinctus *(Osteichthyes) and* Arbaciella elegans *(Echinodermata, Echinoidea) not commonly present in Mediterranean Sea, have been recorded in this zone.*

Key-words*: biodiversity, zoobenthos, Ciclopi Islands, Eastern Sicily.*

Introduzione

L'arcipelago dei Ciclopi, situato a circa 200 m, dall'abitato di Acitrezza (Catania), è costituito da un gruppo di isolette e scogli di varie dimensioni, di natura basaltica, formatosi in seguito alle prime manifestazioni vulcaniche sottomarine, risalenti a circa 500.000 anni fa, che hanno portato alla formazione dell'Etna, seguite da movimenti bradisismici di sollevamento.

La più grande di tali isole è la Lachea, lunga circa 250 m e larga 150 m; le altre formazioni dell'arcipelago, denominate complessivamente Faraglioni, sono tutte più piccole della Lachea. Nel dicembre del 1989 questo piccolo arcipelago è divenuto riserva marina.

La fauna delle Isole Ciclopi è stata studiata da lungo tempo: già dalla prima metà dell'Ottocento molti studiosi si occuparono di Molluschi, Crostacei ed Echinodermi, mentre i Briozoi e gli Anellidi Policheti ne hanno suscitato l'interesse solamente a partire dal 1960.

La fauna bentonica dell'Isola Lachea rinvenuta con certezza sui suoi fondali dal 1836 al 1997 comprende 14 specie di Poriferi, 18 di Cnidari, 76 di Briozoi, 183 di Molluschi, 155 di Policheti, 71 di Crostacei e 16 di Echinodermi (Cantone, 2001).

In questo lavoro vengono riportati i dati ottenuti da uno studio condotto nel 2000-2001 per conto del Ministero dell'Ambiente- Capitaneria di Porto di Catania, sui fondi duri da 2 a 32 m, nella zona A della A.M.P. "Isole Ciclopi", che ha apportato nuove conoscenze alla biodiversità di quest'area relative a Molluschi, Policheti e Decapodi.

Materiali e metodi

Sui fondi duri dell'Isola Lachea sono stati effettuati campionamenti, in immersione con A.R.A., a 2, 6, 8, 20 e 32 m di profondità, lungo tre transetti, a nord-est, ad est e ad ovest dell'isola; la scelta dei siti è scaturita dal fatto che le profondità maggiori si raggiungono proprio in questi versanti (Fig. 1). Le stazioni sono state campionate mediante la tecnica "sorbona - grattaggio - sorbona" (Chemello e Russo, 1998) che, oltre a catturare le forme più mobili, consente di mantenere la stratificazione del popolamento. Per delimitare l'area da campionare, si applica sul fondo una cornice di 30×30 cm. Si effettua quindi, tramite sorbona, una prima aspirazione della fauna vagile presente sulla copertura algale, ad essa segue il grattaggio per asportare gli organismi sessili o che hanno trovato rifugio tra le alghe ed infine una nuova aspirazione per la cattura di eventuali organismi viventi negli anfratti.

Il materiale raccolto è stato fissato in formalina al 4%. Prima del sorting i campioni sono stati lavati e fatti passare attraverso setacci sovrapposti aventi maglie di 3 e di 0,2 mm.

I gruppi tassonomici oggetto di studio sono stati gli Anellidi Policheti, i Molluschi, i Crostacei Decapodi. Interessanti rinvenimenti riguardano un Echinoideo ed un Teleosteo.

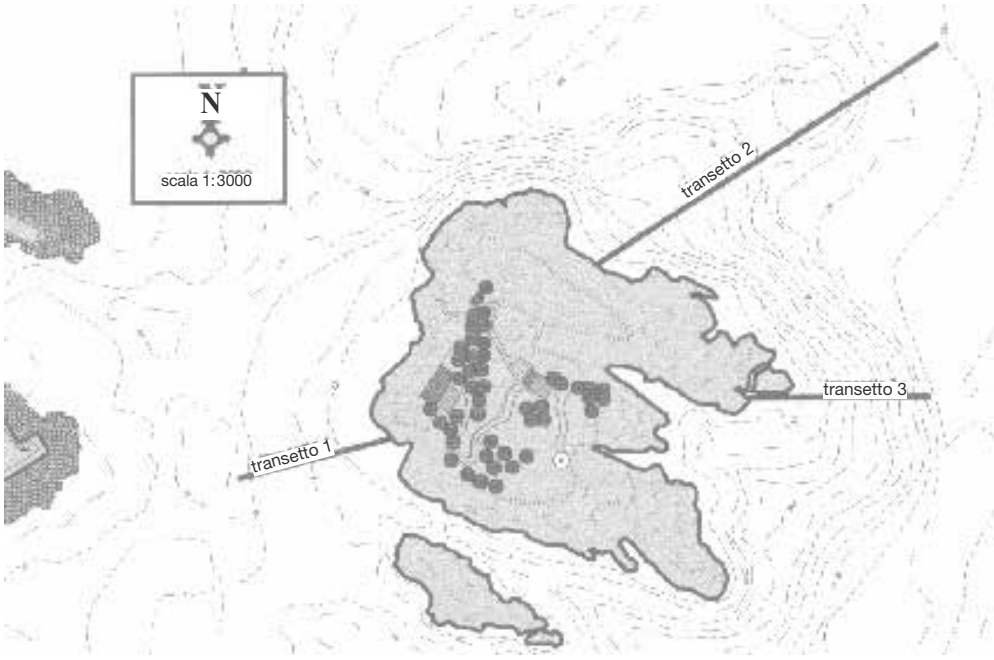


Fig. 1 - Localizzazione dei transetti nell'area indagata.
Location of the transects into the investigated area.

Risultati

In generale l'intera area presenta da 0 a 1-1,5 metri una fascia con biocenosi fotofila della roccia infralitorale in ambiente esposto (RIPB) con predominanza di *Cystoseira amentacea* var. *stricta*. Fino a circa 6 metri, è presente la biocenosi fotofila della roccia infralitorale di moda calma senza dominanza di *Cystoseira* o *Sargassum* (RIPC/0): in tale fascia sono evidenti ampi tratti rocciosi con biocenosi a rodoficee calcaree incrostanti e ricci (RCEO), in cui le rocce appaiono bianche perché su di esse, a causa dell'azione di pascolo degli erbivori, permane solo un sottile strato di alghe calcaree. Il profilo batimetrico prosegue degradando in maniera molto repentina, pervenendo al precoralligeno intorno ai 30 metri ed arrestandosi poco più in basso (35 metri) su fondo mobile. Nel transetto 1, che si arresta a batimetriche più modeste (8/10 m) rispetto agli altri, è presente un posidonieto di dimensioni non ragguardevoli, insediato su substrato misto (roccia e sabbia), che continua a nord e a sud dell'isola con distribuzione a macchia, dando origine ad una fascia più o meno continua.

Per quanto riguarda i Policheti sono state rinvenute 228 specie appartenenti a 32 famiglie. Il popolamento riscontrato ha mostrato una predominanza dei Syllidae sia come biodiversità che come abbondanza. Numerose altre famiglie quali Sabellidae, Serpulidae, Phyllodocidae, Nereididae, Eunicidae presentano un elevato numero di specie, sempre superiore alla decina.

Tra le 67 specie di Syllidae predominano *Syllis prolifera*, con quasi 2.000 individui, *Sphaerosyllis pirifera* e *Grubeosyllis limbata*.

Abbondanti pure *Amphiglena mediterranea* con 1.822 esemplari, *Josephella marenzelleri*, *Platynereis dumerilii, Chrysopetalum debile* e *Polyophthalmus pictus*.

Particolarmente interessante è stato il rinvenimento di quattro specie di Sphaerodoridae; tale famiglia, che per le ridotte dimensioni dei suoi componenti, passa spesso inosservata, nei mari italiani è rappresentata da 8 specie, 4 delle quali segnalate solamente in Medio Adriatico; durante queste ricerche sono stati determinati *Sphaerodoropsis sphaerulifer*, noto solo per il Tirreno, *Sphaerodoropsis minutum*, già presente lungo il litorale catanese, *Clavodorum adriaticum,* segnalato solo per il Medio Adriatico ed *Ephesiella cantonei*, sino ad oggi rinvenuta solamente lungo la costa orientale siciliana.

Prime segnalazioni siciliane riguardano *Brania* cfr. *rophalophora*, *Procerastea halleziana*, *Syllis alternata*, *S. mediterranea*, *S. westheidei*, *S. zonata* e *Sphaerosyllis xarifae*.

Il popolamento a Decapodi è risultato composto da 30 specie appartenenti a 12 famiglie, la più abbondante è quella dei Majidae con 9 specie; riveste particolare importanza il rinvenimento di *Hippolyte garciarasoi*, specie di recente istituzione che non era ancora stata segnalata per le acque italiane.

I Molluschi sono abbondantemente presenti sui fondali dell'AMP, con 352 specie appartenenti a 117 famiglie. I Poliplacofori *Chiton phaseolinus* e *Lepidochitona monterosatoi* sono specie poco note, per la rarità della prima e la recente descrizione della seconda; il rinvenimento di abbondante materiale ne ha consentito lo studio ecologico e biologico (Scuderi *et al.,* in stampa). Fra i Gasteropodi *Tricolia tingitana* viene segnalata per la prima volta nelle acque italiane (Scuderi e Russo, 2003); per *Alvania aeoliae*, invece, questa è la prima citazione al di fuori della località tipica. Il Vermetide *Dendropoma cristatum* risulta topotipico poiché fu descritto su esemplari di Acitrezza (Scuderi, 1995). *Mitrella svelta*, specie poco frequente, distribuita in prevalenza lungo le coste nordafricane e siciliane, considerata un tempo sottospecie di *Mitrella scripta*, se ne distingue per alcuni caratteri morfologici della conchiglia (Sabelli e Spada, 1981)

nonché dell'animale vivo (osservazioni personali); due Marginellidi risultano simpatrici ad Acitrezza, *Granulina boucheti*, descritta recentemente su materiale tipico proveniente da Acitrezza e *G. clandestina*. *Dizoniopsis micalii* è una specie di Cerithiopsidae descritta su pochi esemplari, la maggior parte dei quali rinvenuti ad Acitrezza (Cecalupo e Villari, 1997). Fra i Bivalvi degno di nota è *Brachidontes pharaonis*, specie del Mar Rosso penetrata in Mediterraneo grazie al traffico marittimo già nel secolo scorso (Carus, 1889).

Per quanto concerne altri gruppi sistematici, di particolare interesse è il rinvenimento del piccolo Echinoide Regolare *Arbaciella elegans* Mortensen, 1910 (Arbaciidae). La specie, di habitus microcriptico, è stata raccolta tra 0,5 e 5 m di profondità e rappresenta, dal punto di vista quantitativo, la seconda più importante segnalazione per il Mediterraneo, dopo quella di Giacobbe e Rinelli (1992), per lo Stretto di Messina.

Tra i Teleostei, risulta rilevante la presenza della specie atlantica *Pisodonophis semicinctus* (Richardson, 1848), (Ophichthidae), finora raramente segnalata in Mediterraneo (Golfo del Leone, Stretto di Sicilia, Tirreno meridionale).

Conclusioni

Da questo studio è emersa una notevole biodiversità della fauna bentonica dei fondi duri, con 114 specie di Policheti, 180 di Molluschi e 6 di Decapodi che non erano state rinvenute precedentemente, per cui la fauna polichetologica delle isole Ciclopi assomma, attualmente, a 268 specie, quella a Decapodi a 60 e quella malacologica a 363.

Noi pensiamo che l'elevata biodiversità emersa in questo studio non sia da imputare a cause eccezionali bensì ad una serie di fattori: la posizione dell'area di studio, interessata da un favorevole gioco di correnti, l'utilizzo della nuova tecnica di campionamento, che aggiunge l'uso della sorbona al solito grattaggio, nonché la dimensione della maglia dei setacci (0,2 mm) che ha permesso di raccogliere anche esemplari estremamente piccoli, che sarebbero altrimenti sfuggiti.

Summary

In this paper the results of a study carried out on hard bottoms of Protected Marine Area "Ciclopi Island" (Acitrezza, Eastern Sicily) are reported. During 2000-2001 samples by Scuba diving, at 2, 6, 8, 20, 32 m of depth, using suction sampler-scraping-suction sampler technique were collected. 228 species of Polychaeta, 239 of Mollusca and 30 of Crustacea Decapoda have been found. *Syllis alternata, S. mediterranea, S. westheidei, S. zonata, Sphaerosyllis xarifae, Brania* cfr. *rophalophora, Procerastea halleziana,* are recorded for the first time in sicilian waters; *Tricolia tingitana* and *Hyppolyte garciarasoi* were not yet collected in Italy; *Clavodorum adriaticum* was known only for the middle Adriatic, *Sphaerodoropsis sphaerulifer* for the Tyrrhenian; *Brachidontes pharaonis* is a Red Sea species entered in Mediterranean by shipping commerce.

Other interesting findings are regarding the atlantic bony fish *Pisodonophis semicinctus* and the Echinoid *Arbaciella elegans*, species not commonly present in the Mediterranean Sea.

We think that the richness of benthic fauna is not determined by unusual environmental situations but by different reasons: the position of the investigated area (with streams), the new sampling technique, the mesh size (0,2 mm) employed for sieving the collected material.

Bibliografia

CANTONE G. (2001) – Fauna bentica dell'isola Lachea (Sicilia Orientale). *Boll. Acc. Gioenia Sc. Nat. Catania,* **34** (360): 49-64.

CARUS J.V. (1889) – Prodromus faunae Mediterranee. Stutgard. *Mollusca,* **2**: 496 pp.

CECALUPO A., VILLARI A. (1997) – *Dizoniopsis micalii*. Una nuova specie per il Mediterraneo. (Mesogastropoda: Cerithiopsidae). *Boll. Malacologico,* **32** (1-4): 41-44.

CHEMELLO R., RUSSO G.F. (1998) – The Molluscan taxocene of photophilic algae from the island Lampedusa. *Boll. Malacologico*, **33** (5-8): 94-104.

GIACOBBE S., RINELLI P. (1992) – Ecological notes on *Arbaciella elegans* (Mortensen) from population of *Pinna* in the Strait of Messina. In: Scalera-Liaci *et al.* (eds), *Echinoderm Research 1991*. Rotterdam: 185-190.

SABELLI B., SPADA G. (1981) – Guida illustrata all'identificazione delle conchiglie del Mediterraneo. Fam Columbellidae II. *Boll. Malacologico,* **17** (11-12) (Suppl.): G.I. 19.

SCUDERI D. (1995) – Il genere *Dendropoma* (Gastropoda: Vermetidae) nel Mediterraneo. *Boll. Malacologico,* **31** (1-4): 1-6.

SCUDERI D., RUSSO G.F. (2003) – Due nuovi gasteropodi per le acque italiane: *Tricolia tingitana* Gofas, 1982 e *Melide fimbriata* Alder e Hancock, 1864 (Mollusca: Gastropoda). *Biol. Mar. Medit.*, **10** (2): 618-621.

SCUDERI D., RUSSO G.F., DELL'ANGELO B. (in stampa) – The Polyplacophora taxocoene of shallow bottoms of Ognina and Acitrezza (Sicily). *Boll. Malacologico,* IV Workshop Internazionale, Sistematica e Filogenesi dei Molluschi Poliplacofori, Menfi (AG) 2001.

Lavoro realizzato con il finanziamento del Ministero dell'Ambiente - Capitaneria di porto di Catania.

Tab. 1 - Lista dei Molluschi.
List of Mollusca.

Lepidopleurus (Leptochiton) scabridus (Jeffreys, 1880)	*Megalomphalus azonus* (Brusina, 1865)
Callochiton septemvalvis (Montagu, 1803)	*Crepidula gibbosa* Defrance, 1818
Lepidochitona monterosatoi Kaas e Van Belle, 1981	*Vermetus (Vermetus) triquetrus* Bivona Ant., 1832
Chiton (Rhyssoplax) phaseolinus Monterosato, 1879	*Vermetus (Thylacodus) granulatus* (Gravenhorst, 1831)
Smaragdia viridis (Linnaeus, 1758)	*Dendropoma cristatum* (Biondi, 1857)
Diodora gibberula (Lamarck, 1822)	*Petaloconchus* sp.
Emarginula octaviana Coen, 1939	*Lamellaria perspicua* (Linnaeus, 1758)
Emarginula sicula Gray, 1825	*Galeodea echinophora* (Linnaeus, 1758)
Scissurella costata D'Orbigny, 1824	*Cerithiopsis fayalensis* Watson, 1886
Anatoma affinis (Costa O.G., 1861)	*Cerithiopsis tubercularis* (Montagu, 1803)
Sinezona cingulata (Costa O.G., 1861)	*Dizoniopsis coppolae* (Aradas, 1870)
Clanculus (Clanculus) corallinus (Gmelin, 1791)	*Dizoniopsis micalii* Cecalupo e Villari, 1996
Clanculus (Clanculopsis) cruciatus (Linnaeus, 1758)	*Cheirodonta pallescens* (Jeffreys, 1867)
Clanculus (Clanculopsis) jussieui (Payraudeau, 1826)	*Pogonodon pseudocanaricus* (Bouchet, 1985)
Gibbula (Colliculus) racketti (Payraudeau, 1826)	*Marshallora adversa* (Montagu, 1803)
Gibbula (Colliculus) turbinoides (Deshayes, 1835)	*Monophorus erythrosoma* (Bouchet e Guillemot, 1978)
Gibbula (Phorcus) varia (Linnaeus, 1758)	*Monophorus thiriotae* Bouchet, 1984
Gibbula (Tumulus) umbilicaris (Linnaeus, 1758)	*Similiphora similior* (Bouchet e Guillemot, 1978)
Jujubinus gravinae (Dautzenberg, 1881)	*Metaxia metaxae* (Delle Chiaje, 1828)
Dikoleps pusilla (Jeffreys, 1847)	*Parvioris microstoma* (Brusina, 1864)
Tricolia pullus pullus (Linnaeus, 1758)	*Vitreolina curva* (Monterosato, 1874 ex Jeffreys ms.)
Tricolia speciosa (Von Muehlfeldt, 1824)	*Vitreolina perminima* (Jeffreys, 1883)
Tricolia tingitana Gofas, 1982	*Vitreolina philippi* (Rayneval e Ponzi, 1854)
Cerithium vulgatum Bruguiere, 1792	*Hexaplex trunculus* (Linnaeus, 1758)
Bittium jadertinum (Brusina, 1865)	*Muricopsis cristata* (Brocchi, 1814)
Eatonina (Coriandria) fulgida (Adams J., 1797)	*Ocenebra erinaceus* (Linnaeus, 1758)
Rissoa auriscalpium (Linnaeus, 1758)	*Ocinebrina aciculata* (Lamarck, 1822)
Rissoa guerinii Recluz, 1843	*Buccinulum corneum* (Linnaeus, 1758)
Rissoa lia (Monterosato, 1884 ex Benoit ms.)	*Chauvetia mamillata* (Risso, 1826)
Rissoa variabilis (Von Muehlfeldt, 1824)	*Chauvetia procerula* Monterosato, 1889
Alvania (Alvania) aeoliae Palazzi, 1988	*Chauvetia recondita* (Brugnone, 1873)
Alvania (Alvania) lineata Risso, 1826	*Chauvetia turritellata* (Deshayes, 1835)
Alvania (Alvania) paupercula (Jeffreys, 1867)	*Engina leucozona* (Philippi, 1843)
Alvania (Alvania) scabra (Philippi, 1844)	*Pollia scabra* Locard, 1886
Alvania (Alvania) subcrenulata (B.D.D., 1884)	*Fusinus (Barbarofusus) rudis* (Philippi, 1844)
Alvania (Crisilla) pseudocingulata (Nordsieck F., 1972)	*Mitrella coccinea* (Philippi, 1836)
Alvania (Crisilla) simulans Locard, 1886	*Mitrella gervillii* (Payraudeau, 1826)
Manzonia (Alvinia) dictyophora (Philippi, 1844)	*Mitrella spelta* (Kobelt, 1893)
Manzonia (Alvinia) weinkauffi weink. (Weinkauff, 1868 ex Sch. ms.)	*Gibberula philippii* (Monterosato, 1878)
Pusillina inconspicua (Alder, 1844)	*Gibberula recondita* Monterosato, 1884
Pusillina philippi (Aradas e Maggiore, 1844)	*Granulina boucheti* Gofas, 1992
Pusillina radiata (Philippi, 1836)	*Vexillum (Pusia) savignyi* (Payraudeau, 1826)
Setia (Setia) ambigua (Brugnone, 1873)	*Mitra cornicula* (Linnaeus, 1758)
Setia (Setia) maculata (Monterosato, 1869)	*Mangelia taeniata* (Deshayes, 1835)
Setia (Setia) turriculata Monterosato, 1884	*Mitrolumna olivoidea* (Cantraine, 1835)
Rissoina (Rissoina) bruguieri (Payraudeau, 1826)	*Raphitoma (Raphitoma) laviae* (Philippi, 1844)
Pisinna glabrata (Von Muehlfeldt, 1824)	*Raphitoma (Raphitoma) linearis* (Montagu, 1803)
Caecum auriculatum De Folin, 1868	*Raphitoma (Leufroyia) concinna* (Scacchi, 1836)
Caecum clarkii Carpenter, 1858	*Raphitoma (Leufroyia) leufroyi* (Michaud, 1828)
Caecum subannulatum De Folin, 1870	*Philbertia papillosa* Pallary, 1904
Caecum trachea (Montagu, 1803)	*Rissoella inflata* Locard, 1892
Tornus subcarinatus (Montagu, 1803)	*Omalogyra atomus* (Philippi, 1841)

Omalogyra simplex (Costa O.G., 1861)	*Petalifera petalifera* (Rang, 1828)
Ammonicera fischeriana (Monterosato, 1869)	*Tritonia manicata* Deshayes, 1853
Ammonicera rota (Forbes e Hanley, 1850)	*Flabellina affinis* (Gmelin, 1791)
Cima cylindrica (Jeffreys, 1856)	*Eubranchus exiguus* (Alder e Hancock, 1848)
Graphis albida (Kanmacher, 1798)	*Facelina coronata* (Forbes e Goodsir, 1839)
Xenoskenea pellucida (Monterosato, 1874)	*Williamia gussonii* (Costa O.G., 1829)
Mathilda cochlaeformis Brugnone, 1873	*Barbatia (Barbatia) barbata* (Linnaeus, 1758)
Odostomia (Odostomia) carrozzai Van Aartsen, 1987	*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819
Odostomia (Odostomia) lukisii Jeffreys, 1859	*Brachidontes pharaonis* (Fischer P., 1870)
Odostomia (Odostomia) striolata Forbes e Hanley, 1850	*Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1791)
Odostomia (Odostomia) turrita Hanley, 1844	*Gregariella petagnae* (Scacchi, 1832)
Odostomia (Megastomia) conoidea (Brocchi, 1814)	*Modiolarca subpicta* (Cantraine, 1835)
Chrysallida brusinai (Cossman, 1921)	*Musculus costulatus* (Risso, 1826)
Chrysallida emaciata (Brusina, 1866)	*Rhomboidella prideauxi* (Leach, 1815)
Chrysallida intermixta (Monterosato, 1884)	*Modiolus (Modiolus) barbatus* (Linnaeus, 1758)
Chrysallida jeffreysiana (Monterosato, 1884)	*Pinna nobilis* Linnaeus, 1758
Chrysallida obtusa (T. Brown, 1827)	*Lissopecten hyalinus* (Poli, 1795)
Folinella excavata (Philippi, 1836)	*Chlamys (Chlamys) multistriata* (Poli, 1795)
Ondina vitrea (Brusina, 1866)	*Chlamys (Chlamys) varia* (Linnaeus, 1758)
Turbonilla hamata Nordsieck F., 1972	*Lima (Limaria) exilis* Wood S.V., 1839
Turbonilla jeffreysi (Jeffreys, 1848)	*Ctena decussata* (Costa O.G., 1829)
Turbonilla pseudogradata Nordsieck F., 1972	*Lucinella divaricata* (Linnaeus, 1758)
Turbonilla pusilla (Philippi, 1844)	*Chama gryphoides* Linnaeus, 1758
Turbonilla striatula (Linnaeus, 1758)	*Venus (Venus) verrucosa* Linnaeus, 1758
Ebala nitidissima (Montagu, 1803)	*Gouldia minima* (Montagu, 1803)
Cylichnina laevisculpta (Granata-Grillo, 1877)	*Irus irus* (Linnaeus, 1758)
Retusa truncatula (Bruguiere, 1792)	*Lasaea rubra* (Montagu, 1803)
Runcina coronata (Quatrefages, 1844)	*Mysella bidentata* (Montagu, 1803)
Runcina ferruginea Kress, 1977	*Glans (Glans) trapezia* (Linnaeus, 1767)
Philine catena (Montagu, 1803)	*Venericardia antiquata* (Linnaeus, 1758)
Melanochlamys seurati (Vayssière, 1926)	*Parvicardium scriptum* (B.D.D., 1892)
Elysia viridis (Montagu, 1804)	*Tellina (Moerella) donacina* Linnaeus, 1758
Aplysiopsis elegans Deshayes, 1864	*Coralliophaga lithophagella* (Lamarck, 1819)
Bosellia mimetica Trinchese, 1891	*Petricola (Petricola) lithophaga* (Retzius, 1786)
Calliopaea bellula D'Orbigny, 1837	*Gastrochaena dubia* (Pennant, 1777)
Berthella cfr. plumula (Montagu, 1803)	*Hiatella rugosa* (Linnaeus, 1767)
Berthella cfr. aurantiaca (Risso, 1818)	*Thracia (Thracia) papyracea* (Poli, 1791)
Cavolinia tridentata (Niebuhr, 1775 ex Forskal ms.)	*Clavagella (Clavagella) melitensis* Broderip, 1835
Aplysia (Pruvotaplysia) parvula Guilding in Moerch, 1863	

Tab. 2 - Lista dei Policheti.
List of Polychaeta.

Naineris laevigata (Grube, 1885)	*Levinsenia gracilis* (Tauber 1879)
Boccardia polybranchia (Haswell, 1885)	*Paradoneis ilvana* Castelli, 1985
Laonice cirrata (Sars 1851)	*Aphelochaeta multibranchiis* (Grube, 1863)
Microspio mecznikovianus (Claparède 1869)	*Caulleriella bioculata* (Keferstein, 1862)
Polydora armata Langerhans, 1880	*Caulleriella zetlandica* (Mc Intosh 1911)
Polydora ciliata (Johnston 1838)	*Chaetozone setosa* Malmgren, 1867
Polydora caeca (Oersted 1843)	*Dodecaceria concharum* Oersted 1843
Polydora flava Claparède, 1870	*Dasybranchus caducus* (Grube 1846)
Scolelepis tridentata (Southern, 1914)	*Dasybranchus gajolae* Eisig, 1887
Spio decoratus Bobretzky, 1870	*Branchiomaldane vincenti* Langerhans 1881
Spio filicornis (O.F.Muller 1766)	*Nicomache maculata* Arwidsson 1911
Streblospio shrubsolii (Buchanan, 1890)	*Armandia cirrhosa* Philippi 1865
Sclerocheilus minutus Grube 1863	*Syllis bouvieri* Gravier, 1900
Genetyllis rubiginosa (Saint-Joseph, 1888)	*Syllis cfr. golfonovensis* (Hartmann-Schroeder, 1962)
Eulalia rubiginosa Saint-Joseph, 1888	*Syllis cfr. luquei* San Martin, 1984
Mystides limbata Saint-Joseph, 1888)	*Syllis cfr. lutea* (Hartmann-Schroeder, 1960)
Phyllodoce laminosa Savigny 1818	*Nereis usticensis* Cantone, Catalano, Badalamenti
Phyllodoce macrophthalma Schmarda,1861	*Micronephtys mariae* San Martin, 1982
Phyllodoce mucosa (Oersted 1843)	*Aphrodita aculeata* Linnaeus 1761
Pterocirrus limbatus (Claparède, 1868)	*Pontogenia chrysocoma* (Baird, 1865)
Lacydonia miranda Marion e Bobretzky 1875	*Adyte pellucida* (Ehlers, 1864)
Glycera lapidum Quatrefages, 1865	*Harmothoe ljungmani* (Malmgren, 1867)
Clavodorum adriaticum (Katzmann, 1973)	*Harmothoe lunulata* (Delle Chiaje, 1841)
Ephesiella cantonei Mollica 1994	*Pholoe synophthalmica* Claparède, 1868
Sphaerodoropsis minutum (Webster e Benedict 1887)	*Euphrosyne armadillo* Sars, 1851
Sphaerodoropsis sphaerulifer (Moore 1911)	*Euphrosyne myrtosa* Savigny, 1818
Gyptis propinqua Marione Bobretzky, 1875	*Eunice antennata* (Lamarck, 1818)
Nereimyra punctata (O.F.Muller 1776)	*Eunice torquata* Quatrefages, 1865
Ophiodromus agilis (Ehlers 1864)	*Marphysa fallax* Marion e Bobretzky, 1875
Amblyosyllis cfr.dorsigera Claparède, 1864	*Arabella geniculata* (Claparède, 1868)
Autolytus convolutus Cognetti, 1953	*Schistomeringos rudolphii* (Delle Chiaje, 1828)
Autolytus inermis Saint-Joseph, 1887	*Diplocirrus glaucus* Haase, 1915
Autolytus quindecemdentatus Langerhans 1884	*Trichobranchus glacialis* Malmgren, 1866
Brania arminii Langerhans, 1880	*Amphitritides gracilis* (Grube, 1860)
Brania pusilla (Dujardin 1939)	*Pista unibranchia* Day, 1963
Brania cfr. rhopalophora (Ehlers, 1897)	*Amphicorina eimeri* (Langerhans, 1880)
Eusyllis assimilis Marenzeller 1875	*Chone acustica* (Claparède, 1870)
Grubeosyllis tenuicirrata (Claparède 1864)	*Chone collaris* Langerhans, 1880
Grubeosyllis vieitezi (San Martin, 1984)	*Chone duneri* Malmgren, 1867
Odontosyllis fulgurans (Audouin e Milne Edwards, 1834)	*Demonax brachychona* (Claparède, 1870)
Odontosyllis gibba Claparède, 1863	*Demonax langerhansi* Knigth-Jones, 1983
Parapionosyllis elegans (Pierantoni, 1903)	*Euchone rosea* Langerhan, 1884
Parapionosyllis gestans (Pierantoni 1903)	*Fabricia stellaris* (O.F.Muller, 1774)
Parapionosyllis labronica Cognetti, 1965	*Jasmineira elegans* Saint-Joseph, 1884
Parapionosyllis minuta (Pierantoni 1903)	*Myxicola infundibulum* (Renier, 1804)
Pionosyllis longocirrata Saint-Joseph 1887	*Pseudofabricia aberrans* Cantone, 1972
Pionosyllis lamelligera Saint-Joseph 1856	*Filograna implexa* Berkeley, 1827
Pionosyllis morenoae San Martin, 1984	*Hydroides elegans* (Haswell, 1883)
Pionosyllis pulligera Krohn, 1852	*Hydroides norvegicus* Gunnerus, 1768
Pionosyllis serrata Southern, 1914	*Pomatoceros lamarckii* (Quatrefages, 1865)
Procerastea halleziana Malaquin 1893	*Spiraserpula massiliensis* (Zibrowius, 1968)
Proceraea aurantiaca Claparède, 1868	*Vermiliopsis labiata* (Costa, 1861)

Sphaerosyllis austriaca Banse 1959	*Vermiliopsis monodiscus* Zibrowius, 1968
Sphaerosyllis xarifae Hartmann-Schroeder, 1960	*Janua pagenstecheri* (Quatrefages, 1865)
Syllides edentulus Claparède, 1868	*Neodexiospira pseudocorrugata* (Bush, 1904)
Syllis alternata (Moore, 1908)	*Pileolaria militaris* Claparède, 1870
Syllis beneliahuae Campoy e Alquezar, 1982	

Tab. 3 - Lista dei Crostacei Decapodi.
List of Crustacea Decapoda.

Gnathophyllum elegans (Risso, 1816)	*Herbstia condyliata* (Fabricius, 1787)
Hippolyte garciarasoi d'Udekem d'Acoz, 1996	*Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818)
Hippolyte inermis Leach, 1815	*Xantho cfr. pilipes* (A. Milne Edwards, 1867)

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 34-39

S. Fraschetti, A. Terlizzi, L. Matinato, F. Boero

Laboratory of Zoology and Marine Biology, DiSTeBA, CoNISMa, University of Lecce,
Via Prov.le Monteroni - 73100 Lecce, Italia.
sfrasca@ilenic.unile.it

PATTERNS OF ASSEMBLAGE SPATIAL DISTRIBUTION UNDER THE *CYSTOSEIRA* SP. FRINGE

MODALITÀ DI DISTRIBUZIONE SPAZIALE DEI POPOLAMENTI ASSOCIATI ALLA FRANGIA A CYSTOSEIRA

Abstract

Sublittoral shallow marine assemblages are particularly exposed to environmental changes and human impacts. Thus, they are expected to exhibit stronger responses than deeper habitats. The Cystoseira *fringe plays an important role in the maintenance of understorey assemblages on rocky substrates, but is very sensitive to both natural and anthropogenic stress.*

Between June and July 2001 two areas were surveyed: the Apulian coast and the Ionian Greek coast. In each area, seven streches of coast (i.e., locations, separated by 10s-100s km) were sampled.

In each location, four sites (separated by 100s m - 1000s m) were selected at random. At each of the 56 sites, the percentage cover of the understorey assemblages was sampled by visual census of five 20×20 random quadrats, after the evaluation of the percentage cover of the Cystoseira *canopy and the cut of its stipes. Differences in assemblages across the considered scales were detected by multivariate analyses. The species most contributing to these differences were identified and their contribute to variation at each spatial scale was quantified by univariate analysis. The paper stress the importance of detailed quantitative understanding of the spatial scales of variations in the structure of natural assemblages. It also points out the importance of detailed quantitative data on the spatial scales of variations in the structure of natural assemblages and represents an attempt to monitor areas where there is an expectation of repeated, planned environmental assault or the institution of Marine Protected Areas.*

Key-words: Cystoseira *spp., spatial distribution, benthos, Apulia, Greece.*

Introduction

The quantitative description of temporal and spatial variations of plant and organisms at both population and assemblage level can have a great impact on our understanding of patterns in nature (Åberg and Pavia, 1997). There is also an increasing evidence that such patterns may be different at different spatial scales.

The canopy formed by the algae of the genus *Cystoseira* plays an important role in increasing local diversity with the mainteinance of both an understory assemblage (Bulleri *et al.*, 2002) and vagile and sessile epiphytes (Fraschetti *et al*., 2002; Chemello and Milazzo, 2002). Notwithstanding the ecological importance of this habitat-forming species, in many coastal areas human activity is becoming a source of disturbance determining its disappearance, with possible assemblage modifications under the *Cystoseira* canopy (Benedetti-Cecchi *et al*., 2001).

The study covered two areas: the Apulian coast and the Ionian Greek coast. Besides few exceptions, these two areas are characterized by low source of anthropogenic disturbance. The study was designed to evaluate the patterns of spatial distribution of cover and species composition of organisms on a hierarchy of spatial scales.

Materials and methods

Sampling design

Samples were undertaken between June and July 2001. In each area, seven locations, separated by 10s-100s km (Corfù, Parga, Paxos, Meganissi, Lefkada, Cefalonia and Zante), characterized by comparable habitat in terms of *Cystoseira* canopy, were sampled. Other seven locations (Taranto, Porto Cesareo, Torre S. Giovanni, S. Maria di Leuca, Otranto, Costa Merlata, Gargano, at a comparable spatial scale) were sampled along the Apulian coasts. The genus *Cystoseira* was mainly represented by the *Cystoseira amentacea* Bory var. *stricta* Montagne, but in a few samples and with very low percentage cover (never more than 20%), *C. compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin and *C. barbata* Agardh were also present.

At each location, four sites (separated by 100s - 1000s m) were selected at random. At each of the 56 sites, the percentage cover of the understorey assemblages was sampled by visual census of five 20×20 cm random quadrats (Dethier *et al.*, 1993), after the evaluation of the percentage cover of the *Cystoseira* canopy and the cut of its stipes. This hierarchical sampling design provided the framework for quantifying the variation among samples due to each spatial scale.

Statistical analyses

Data were analysed by both univariate and multivariate analyses. Differences among samples were represented by non-metric multidimensional scaling ordinations (nMDS) on the Bray-Curtis similarity matrix. SIMPER (Clarke, 1993) was employed to identify the percentage contribution of each species to dissimilarities between areas (PRIMER package from Plymouth Marine Laboratory, UK, Clarke & Warwick, 1994).

Analysis of variance (ANOVA, using GMAV 5 from University of Sydney, Australia) was used to assess differences in some single response variables such as number of taxa, total cover and cover of some of the most important taxa (as identified by SIMPER procedure) between 'areas', among 'locations' within areas, and among 'sites' within locations. Prior to analysis, Cochran's test was employed to assess the homogeneity of variances and, whenever necessary, abundance data were transformed to ln $(x+1)$. In the analyses, all factors (area, location and site) were considered as random, with location nested in area and site nested in location.

Results

Cover and species richness of understory assemblage

Fiftynine taxa were identified. The mean cover values per site ranged between 89.8 ($\pm$4.2, n=5) and 31.2 ($\pm$3.3, n=5). The mean number of taxa per site ranged from 14 ($\pm$1.7, n=5) to 4.8 ($\pm$0.5, n=5). Cover values differed significantly among locations ($F=3.48$, $p<0.05$) and among sites ($F=2.51$, $p<0.05$), but not between areas. Similarly, the number of taxa differed significantly among locations (3-way ANOVA, $F=4.17$, $p<0.01$) and among sites ($F=3.04$, $p<0.01$), but not between areas. In both cases, the variance component for the residuals was large (the 54.92% and the 57.84% of the total, respectively for the total cover and for the number of taxa), indicating strong variations between replicates within sites (Tab. 1).

Assemblage structure

The nMDS (Fig. 1) was obtained plotting the centroid for each site. It showed a separation in the assemblage structure between the two areas, at the largest investigated scale. A group of species was identified as important in characterising and/or differentiating the two areas: Articulate Corallines, *Corallina* sp., Didemnidae (mostly *Diplosoma listerianum*), the Encrusting Corallines Rodophytes, and *Laurencia* complex (Tab. 2).

As an example, for some of these species the ANOVA was also performed to compare the spatial variation at the considered scales (Tab. 3). Besides *Corallina*, also in this case the variance component for the residuals was always more than 50% of the total, indicating high variability at small scale.

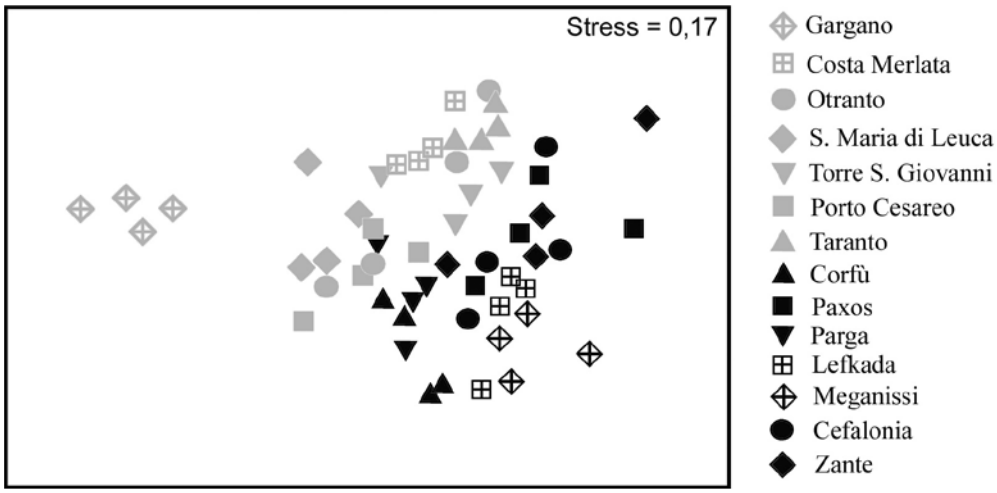


Fig. 1 - Non-metric multidimensional scaling (nMDS) on site's centroids. The Apulian sites are in grey, the Greek sites are in black. The location names are indicate on the right.
Non-metric multidimensional scaling (nMDS) calcolato sul centroide dei siti. In grigio sono rappresentati i siti della Puglia, in nero i siti della Grecia. Sulla destra, la legenda che identifica i tratti di costa campionati.

Tab. 1 - Summary of ANOVAs performed on total cover and number of taxa.
Quadro riassuntivo delle ANOVA condotte sui dati di ricoprimento e sul numero dei taxa.

		Cover				Number of taxa			
Source	d.f.	MS	F	P	Variance component	MS	F	P	Variance component
Areas	1	5500.29	2.84	0.12	25.43	15.09	0.25	0.62	-0.32
Lo(Ar)	12	1939.52	3.48	0.00	69.10	59.24	4.17	0.00	2.25
Si(ArXLo)	42	557.59	2.51	0.00	67.16	14.22	3.04	0.00	1.91
RES	224	221.79			221.79	4.68			4.68
TOT	279								
Cochran test			C= 0.082 ns				C=0.058 ns		

Tab. 2 - Taxa contributing, in percentage, to similarity within each area and/or the dissimilarity between the two areas.

Taxa che contribuiscono, in percentuale, alla similarità all'interno di ciascuna area e/o alla dissimilarità tra aree.

Taxon	Characterization of areas Similarity values (%)		Differentiation between areas Dissimilarity values (%)
	Greece	Apulia	
AC	11.99	14.6	7.06
Corallina sp.	0.2	17.4	7.82
Didemnidae	15.08	0.2	5.5
Encrusting calcified red algae	7.37	14.59	5.14
Laurencia complex	20.87	14.11	7.93

Tab. 3 - ANOVAs comparing spatial variation of taxa selected by SIMPER analysis.

Anova condotte per analizzare le modalità di distribuzione dei taxa individuati tramite la procedura SIMPER.

		AC				*Corallina* sp.			
Source	d.f.	MS	F	P	Variance component	MS	F	P	Variance component
Areas	1	250.80	0.51	0.49	-1.73	165.01	9.04	0.01	1.05
Lo(Ar)	12	493.49	2.12	0.04	13.03	18.24	4.29	0.00	0.67
Si(ArXLo)	42	232.80	3.70	0.00	33.98	4.25	4.05	0.00	0.64
RES	224	62.87			62.87	1.04			1.04
TOT	279								
Cochran test		C= 0.11, not significant				C=0.09, not significant			
Transformation		None				ln(x+1)			

		ECR				Didemnidae			
Source	d.f.	MS	F	P	Variance component	MS	F	P	Variance component
Areas	1	17.18	3.02	0.11	0.09	1 255.88	7.08	0.02	7.70
Lo(Ar)	12	4.50	2.71	0.01	0.14	177.28	3.15	0.00	6.05
Si(ArXLo)	42	1.64	1.72	0.01	0.21	56.22	2.82	0.00	7.25
RES	224	0.60			0.60	19.94			19.94
TOT	279								
Cochran test		C = 0.07, not significant				C=0.08, not significant			
		ln(x+1)				ln(x+1)			

Conclusions

The study did not show significant differences in total cover and number of taxa at the largest considered scale. Also the taxa identified as important by SIMPER, besides *Corallina* sp. and Didemnidae, were not found to differ significantly at this scale. Thus, since differences were observed in the structure of the assemblage, it is possible to conclude that the assemblage is almost characterised by the presence of the same conspicuous taxa but with a different relative contribution at the largest considered scale. The different contribution could be caused both by the interative effects of natural physical and biological processes and by differences in anthropogenic pressure.

Besides the scale of areas, the results of this study reflect the great spatial variability often exhibited by benthic assemblages in temperate areas. Total cover, number of taxa and the pattern of distributions of most of important taxa showed significant differences at the scale of locations and sites. However, the greatest proportion of this variation was explained at the smallest spatial scale sampled, that of replicates within sites. Small-scale patchiness in the distribution of benthic organisms is becoming a prominent feature in studies on spatial distribution. Underwood and Chapman (1996), Archambault and Bourget (1996) and Kelaher *et al*. (2001) found most of the variation in pattern of abundance of benthic organisms at scales smaller than 1 m, maybe reflecting different life-cycle and life-history features.

Many ecological and environmental studies are unreplicated or confounded because of inadequate attention to spatial and temporal scales of variance. If small-scale variation goes undetected, differences due to impacts may be confused with differences due to natural spatial variability. When the scales at which variation occurs are not known in advance, sampling using nested designs can identify the relevant scales of variability to be incorporated into further research (Olabarria and Chapman, 2001).

However, to date, many traditional statistical methods cannot handle the complexities of ecological systems at the level of assemblage. As a consequences, complex designs including more than two factors (as in this case) cannot be analised in a multivariate context. More appropriate analyses will give the possibility to further analyse assemblage patterns of distribution taking into account all the considered scales (Anderson, 2001).

In conclusion, the paper points out the importance of detailed quantitative data on the spatial scales of variations in the structure of natural assemblages and represent an attempt to monitor areas where there is an expectation of repeated, planned environmental assault (especially on the Apulian coast) or the institution of marine protected areas (along the Greek coast).

The paper also stress the importance of this kind of simple and low-costing sampling effort mainly based on taxonomic expertise sufficient to provide a quick and rough estimate of biodiversity over a large geographical area on a short time.

Riassunto

Nel periodo compreso fra giugno e luglio 2001, è stato condotto un campionamento in corrispondenza di due aree: la Puglia e il tratto ionico della Grecia. In Grecia, sono stati campionati sette tratti di costa (i.e., ad una distanza compresa fra 10-100 km) da Corfù a Zante. Analogamente, in Puglia, sono stati campionati sette tratti di costa (da Taranto al Gargano). Il disegno di campionamento è adeguato per generare ipotesi sulle modalità di distribuzione dei popolamenti che vivono al di sotto della frangia a *Cystoseira* sp. In corrispondenza di ciascun tratto di costa, sono stati randomicamente campionati quattro siti (ad una distanza compresa fra 100 e 1000 metri), ed in ciascuno dei 56 siti è stata calcolata la percentuale di ricoprimento del popolamento sottostante la *Cystoseira* sp. all'interno di cinque quadrati (20×20 cm) scelti randomicamente, dopo valutazione del ricoprimento percentuale della canopy e taglio dei talli. L'analisi univariata ha messo in evidenza differenze significative nel numero delle specie e nella percentuale di ricoprimento fra siti e fra tratti di costa, ma non fra aree. L'analisi, inoltre, ha rilevato una forte variabilità a piccola scala (fra quadrati), a conferma di quanto già rilevato in letteratura nello stesso habitat ma ad altre latitudini. L'analisi multivariata ha evidenziato differenze nella struttura del popolamento determinate soprattutto da una maggiore abbondanza di alcuni taxa (ascidie ed idroidi) lungo le coste greche. Il lavoro sottolinea l'importanza di disegni sperimentali atti a quantificare la variabilità naturale di popolamenti che presentano un'elevata probabilità di essere soggetti a differenti forme di impatto, sia negativo che positivo (aumento pressione antropica lungo le coste, istituzione di Aree Marine Protette) con l'utilizzo di metodi di acquisizione dei dati rapidi e poco costosi.

References

ÅBERG P., PAVIA H. (1997) - Temporal and multiple scale spatial variation in juvenile and adult abundance of the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **158**: 111-119.

ANDERSON M.J. (2001) - A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust. Ecol*., **26**: 32-46.

ARCHAMBOULT P., BOURGET E. (1996) - Scales of coastal heterogeneity and benthic intertidal species richness, diversity and abundance. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **136**: 111-121.

BENEDETTI-CECCHI L., PANNACCIULLI F., BULLERI F., MOSCHELLA P.S., AIROLDI L., RELINI G., CINELLI F. (2001) - Predicting the consequences of anthropogenic disturbance: large-scale effects of loss of canopy algae on rocky shores. *Mar. Ecol. Prog. Series*, **214**: 137-150.

BULLERI F., BENEDETTI-CECCHI L., ACUNTO S., CINELLI F., HAWKINS S. (2002) - The influence of canopy algae on vertical patterns of distribution of low-shore assemblages on rocky coasts in the northwest Mediterranean. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **267**: 89-106.

CHEMELLO R., MILAZZO M. (2002) - Effect of algal architecture on associated fauna: some evidences from phytal molluscs. *Mar. Biol.*, **140**: 981-990.

CLARKE K.R. (1993) - Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.*, **18**: 117-143.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation.* Natural Environment Research Council, UK.

DETHIER M.N., GRAHAM E.S., COHEN S., TEAR L.M. (1993) - Visual-versus random point percent cover estimations: 'objective' is not always better. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **96**: 93-100.

FRASCHETTI S., GIANGRANDE A., TERLIZZI A., MIGLIETTA M.P., DELLA TOMMASA L., BOERO F. (2002) - Spatio-temporal variation of hydroids and polychaetes associated with *Cystoseira amentacea* (Fucales: Phaeophyceae). *Mar. Biol*., **140**: 949-957.

KELAHER B.P., CHAPMAN M.G., UNDERWOOD A.J. (2001) - Spatial patterns of diverse macrofaunal assemblages in coralline turf and their associations with environmental variables. *J. Mar. Biol. Ass. U.K*., **81**: 917-930.

OLABARRIA C., CHAPMAN M.G. (2001) - Comparison of patterns of spatial variations of microgastropods between two contrasting intertidal habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **220**: 201-211.

UNDERWOOD A.J., CHAPMAN M.G. (1996) - Scales of spatial patterns of distribution of intertidal invertebrates. *Oecologia*, **107**: 212-224.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 40-47

M. Mistri, E.A. Fano

Dipartimento di Biologia, Sezione di Biologia Evolutiva, Università di Ferrara,
Via L. Borsari, 46 – 44100 Ferrara, Italia.

BIODIVERSITA' E SPECIE ALLOCTONE: IL RUOLO DI *MUSCULISTA SENHOUSIA* NELLA SACCA DI GORO

BIODIVERSITY AND INTRODUCED SPECIES: THE ROLE OF MUSCULISTA SENHOUSIA *IN THE SACCA DI GORO*

Abstract

The Asian date mussel, Musculista senhousia *(Mytilidae), appeared in the Sacca di Goro in the 1990s and soon become very abundant. The time course of the invasion was documented through a 5 yr macrobenthic sampling at 3 sites in the Sacca. From 1995, when the new mussel was first collected,* M. senhousia *spread throughout the lagoon, and, within a few years, reached densities up to 10.000 ind* m^{-2}*. The explosive increase in abundance of* M. senhousia *resulted in an alteration of the pre-established macrobenthic community, at least at one of the study sites. Changes in benthic dynamics occurred, through the inhibition of some epifaunal, suspension-feeding taxa, and the enhancement of some surface-feeders.*

Key-words*:* Musculista senhousia*, non indigenous species, community structure, lagoons, Adriatic Sea.*

Introduzione

L'invasione di specie alloctone (NIS: nonindigenous species) costituisce un problema di importanza primaria per gli ecologi del XXI secolo. Le NIS possono influenzare le comunità autoctone mediante meccanismi di competizione, predazione, parassitismo, alterazione della rete trofica o del ciclo dei nutrienti (Vitousek, 1990). Alcune di queste specie, definite *ecosystem engineers* (*sensu* Jones *et al*., 1994), sono addirittura in grado di indurre importanti modificazioni ambientali. Il mitilide *Musculista senhousia* appartiene a quest'ultima categoria, grazie all'habitus aggregativo ed alla conseguente capacità di costruire ampi tappeti sul substrato, all'interfaccia acqua-sedimento. Endemica nel Pacifico occidentale, dalla Siberia a Singapore (Kulikova, 1978), la cozza cuculo (dalla traduzione letterale del termine giapponese *hototogesugai*) è presente nel Mediterraneo, seppur con una distribuzione assai discontinua, dalla metà degli anni '60. Indicata come migrante lessepsiano nel Mar di Levante (Barash e Danin, 1972), *M. senhousia* è stata rinvenuta improvvisamente in alcune lagune francesi della regione di Marsiglia (Etang de Thau, Balaruc les Bains, Etang D'Or) alla fine degli anni '80 (Hoenselaar e Hoenselaar, 1989). Le successive segnalazioni avvengono negli anni '90, e riguardano la costa Alto-Adriatica (Lazzari e Rinaldi, 1994) ed il Golfo di Olbia (A. Cannas, CIRSPE Cagliari, com. pers.). L'assenza di un gradiente di distribuzione preclude la possibilità che la cozza cuculo sia pervenuta in maniera naturale nel nostro Paese. La sua dispersione nel Mediterraneo occidentale sembra invece essere strettamente legata ad alcune delle vie commerciali riguardanti la molluschicoltura. Si postula infatti che *M. senhousia* possa essere arrivata in Francia assieme a partite di seme di ostrica provenienti dal Giappone (Hoenselaar e Hoenselaar, 1989), e, allo stesso modo, con partite di seme di bivalvi (ostriche o vongole) francesi, potrebbe essere pervenuta nell'Alto Adriatico. In Sardegna sarebbe stata importata assieme a mitili provenienti da allevamenti Alto Adriatici.

La fauna macrobentonica della Sacca di Goro viene monitorata, seppur con frequenza variabile, almeno da un ventennio. Ciò consente di stabilire, con un errore minimo, l'epoca di introduzione della cozza cuculo in questo ambiente: i primi sporadici ritrovamenti risalgono ai primi anni '90. Attualmente, *M. senhousia* è la specie numericamente dominante in ampie aree della laguna, dove esibisce tipiche caratteristiche da *r*-stratega (Mistri, 2002a) e costituisce un importante anello della rete trofica di quell'ambiente (Mistri, 2002b). Tuttavia, il suo ruolo in qualità di fattore strutturante (o destrutturante) la comunità macrobentonica in questo ambiente non è ancora stato valutato. In questo lavoro viene analizzata una serie quinquennale di dati di abbondanza macrobentonica al fine di valutare l'effetto della colonizzazione di *M. senhousia* sulla comunità della Sacca. Per meglio comprendere le eventuali modificazioni occorse a lungo termine, è stato inoltre effettuato un confronto presso uno dei siti di indagine per il quale esistevano dati pregressi raccolti precedentemente all'insediamento della cozza cuculo.

Materiali e metodi

Tre siti (St.1: 44°50.112'N, 12°17.422'E; St. 4: 44°49.617'N, 12°18.478'E; St. 5: 44°49.094'N, 12°19.960'E, posti lungo un gradiente di confinamento) sono stati campionati, con frequenza pressappoco mensile-bimestrale, dal gennaio 1994 al dicembre 1998. Presso ciascun sito, ed a ciascuna data, la fauna macrobentonica è stata raccolta in 3 repliche mediante una benna Van Veen (superficie di prelievo: 0.06 m^{-2}). La classificazione tassonomica del materiale raccolto è stata condotta fino al livello della specie, assegnando inoltre i vari *taxa* a 5 categorie funzionali (detritivori: De, limivori: Li; sospensivori: So; erbivori: Er; carnivori: Ca) secondo la letteratura corrente. La comunità è stata caratterizzata mediante indici (abbondanza: *N*, numero di specie: *S*, ricchezza: *d*, diversità: *H'*, evenness: *J'*) e le eventuali differenze tra siti e date (dal 1995 al 1998, dalla comparsa cioè di *M. senhousia*) sono state indagate mediante ANOVA sui dati trasformati logaritmicamente. Eventuali relazioni tra l'abbondanza di *M. senhousia* e l'abbondanza delle varie guild (escludendo ovviamente *M. senhousia* da So) sono state indagate calcolando il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman *r* e valutandone la significatività mediante *t*-test.

Presso la St. 4 è stato inoltre effettuato un confronto tra la struttura della comunità macrobentonica prima e dopo l'insediamento di *M. senhousia* mediante analisi statististica multivariata. A tale scopo sono stati utilizzati dati di letteratura (Parenti, 1993) riguardanti il monitoraggio di tale sito negli anni 1989-90, e dati riguardanti l'ultimo biennio (1997-98) della presente campagna, quando, cioè, la cozza cuculo aveva definitivamente stabilito una popolazione persistente presso il sito in questione. La matrice triangolare di similarità, costruita mediante il coefficiente di Bray-Curtis su dati trasformati (doppia radice quadrata), è stata ordinata mediante MDS non-parametrico. Le eventuali differenze nella struttura e composizione della comunità tra i vari anni sono state indagate mediante analisi delle similarità (ANOSIM) sulla stessa matrice triangolare di Bray-Curtis. L'analisi delle similarità percentuali (SIMPER) ha infine permesso di stabilire il contributo delle singole specie alla dissimilarità tra le comunità nei 2 periodi. L'analisi multivariata è stata eseguita mediante il software PRIMER *v.5* (Clarke e Warwick, 1994)

Risultati

I primi esemplari di *M. senhousia* sono stati raccolti presso le St. 1 e 4 nel gennaio 1995, mentre presso la St. 5 nel maggio 1995. Nella Fig. 1 vengono riportati gli andamenti delle abbondanze della cozza cuculo ai 3 siti di indagine nel periodo 1994-98. *M. senhousia* è risultata costantemente presente dal 1995 con abbondanze via via crescenti, fino a raggiungere densità di oltre 10.000 ind m^{-2}.

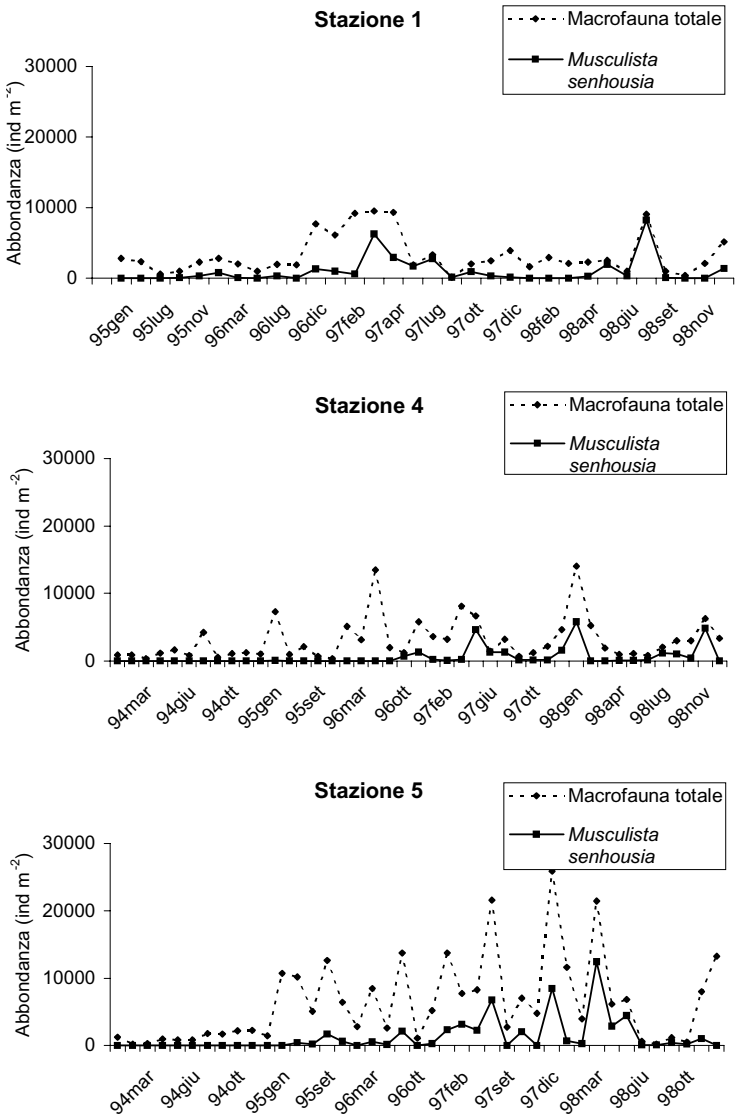


Fig. 1 - Andamento delle abbondanze di *Musculista senhousia* e della macrofauna totale ai 3 siti di studio.

Abundance of Musculista senhousia *and total macrofauna at the 3 study sites.*

La Tab. 1 riporta la significatività dei confronti tra siti e date dal 1995 al 1998: gli indici strutturali di comunità risultano significativamente differenti tra i 3 siti, mentre tra le date si riscontra una differenza significativa nella ricchezza specifica tra i periodi 1995-96 e 1997-98 (Tukey HSD test, $p<0,05$). Correlazioni positive sono state inoltre trovate tra le abbondanze di *M. senhousia* e quelle dei detritivori ($r=0.46$, $p<0.01$) e degli erbivori ($r=0.68$, $p<0.001$) presso la St. 5, mentre correlazioni negative sono state riscontrate con le abbondanze dei sospensivori alla St. 4 ($r=–0.31$, $p<0.05$), e dei carnivori alle St. 4 ($r=–0.32$, $p<0.05$) e 5 ($r=–0.38$, $p<0.05$).

L'ordinamento mediante MDS (stress=0.16; grafico non riportato) mostra una netta separazione tra i punti-data, con i singoli punti-campione relativi al biennio 1989-90 allocati sulla parte destra e quelli relativi al biennio 1997-98 sulla parte sinistra del piano di ordinamento. Tale risultato viene ulteriormente confermato dall'analisi delle similarità (Tab. 2), con differenze maggiori nei confronti tra periodi rispetto ai confronti entro periodi. Nella Tab. 2, inoltre, sono riportate le abbondanze medie delle specie che maggiormente contribuiscono alla dissimilarità (cut-off: 70%) tra le comunità nei 2 periodi.

Tab. 1 - ANOVA a 2 vie (fattori: siti e tempo) sugli attributi di comunità (dati log trasformati).
Two-way ANOVA (factors: sites and time) on community attributes (log-transformed data).

Attributi	F	p
Numero di specie (S)		
siti	4.21	<0,05
tempo	3.35	<0,05
siti x tempo	0.66	NS
Abbondanza (N)		
siti	7.48	<0,01
tempo	1.91	NS
siti x tempo	1.21	NS
Ricchezza (d)		
siti	4.58	<0,05
tempo	5.82	<0,01
siti x tempo	1.87	NS
Evenness (J')		
siti	5.28	<0,01
tempo	1.45	NS
siti x tempo	1.85	NS
Diversità (H')		
siti	7.72	<0,01
tempo	0.62	NS
siti x tempo	1.81	NS

Tab. 2 - Stazione 4: SIMPER analysis sull'abbondanza media (ind m^{-2}) delle specie che contribuiscono alla dissimilarità (cut-off 70%) tra i 2 periodi di studio, in ordine decrescente di contributo percentuale, assieme alla significatività dei confronti appaiati mediante ANOSIM.

Differences in average abundance (ind m^{-2}) of species which contribute to dissimilarity (cut-off 70%). Significancy of pairwise ANOSIM tests is also given.

Taxon	1989-90		1997-98
Hydrobia sp.	2635,4	>	660,9
Musculista senhousia	0	<	1184,7
Chironomus salinarius	862,5	>	387,1
Neanthes succinea	20	<	413,7
Ficopomatus enigmaticus	353,1	>	21,8
Streblospio shrubsolii	2	<	266,7
cf. *Capitella capitata*	602,9	>	319,8
Polydora ciliata	413,4	>	364,6
Microdeutopus gryllotalpa	84,6	<	204,5
Gammarus sp.	204	>	79,7
Mytilaster minimus	23	>	1
Hydroides dianthus	32,5	>	0,8
Oligochaeta	23,1	<	53,9
Corophium insidiosum	12,5	>	8,4
Anadara inaequivalvis	3,4	<	13,4
test ANOSIM	R globale = 0,44; p = 0,1%		
Confronti appaiati	R		p (%)
1989 vs 1990	0,26		8,6
1989 vs 1997	0,477		0,5
1989 vs 1998	0,618		0,1
1990 vs 1997	0,616		0,2
1990 vs 1998	0,895		0,1
1997 vs 1998	0,15		2,5

Conclusioni

I potenziali effetti che *Musculista senhousia* può esercitare sulla comunità o sull'intero ecosistema sono estremamente vari. Le interazioni tra le NIS e la fauna autoctona vengono generalmente considerate in termini negativi (Ruiz *et al*., 1999, e bibliografia ivi citata), e la caratterizzazione del ruolo di una NIS sulla componente biotica di un ambiente colonizzato è soggetta ad una serie di difficoltà da non sottovalutare. Per una analisi il più corretta possibile sono infatti necessarie: a) osservazioni effettuate su una adeguata scala temporale e con adeguata frequenza, al fine di monitorare l'evoluzione del biota nel tempo; b) una documentazione storica capace di definire le condizioni antecedenti la colonizzazione; c) la capacità di poter discriminare tra gli eventuali cambiamenti intercorsi nella comunità a causa della colonizzazione da parte della NIS da quelli potenzialmente causati da altri tipi di disturbo (inquinamento, *overexploitation*, ecc.). Il presente studio soddisfa almeno 2 di queste condizioni.

M. senhousia ha avuto successo perché ha sfruttato un transitorio di instabilità nella Sacca di Goro. Le comunità macrobentoniche della Sacca prima dell'arrivo di *M. senhousia* sono state descritte da Franzoi *et al*. (1986) e Ceccherelli *et al*. (1994). Negli anni '80, le caratteristiche di tali comunità erano principalmente dettate dalla scarsa circolazione idrica e dalle esplosioni stagionali di estesi banchi di alghe pleustofitiche (fenomeno, quest'ultimo, tuttora ricorrente ma con dimensioni minori); le comunità macrobentoniche erano soggette a gravissimi episodi di distrofia ed anossia estiva (Colombo *et al*., 1994). All'inizio degli anni '90, per migliorare le condizioni generali della Sacca, lo scanno sabbioso è stato tagliato, modificando parzialmente l'assetto idrodinamico (e di conseguenza la struttura della componente biotica) della parte centrale della Sacca (Mistri *et al*., 2000). Si può ipotizzare che all'epoca dell'introduzione di *M. senhousia* nella Sacca di Goro, i sedimenti della laguna fossero abitati da comunità bentoniche relativamente depauperate (Ceccherelli *et al*., 1994). Una componente biotica depauperata (a causa delle pesanti crisi anossiche) ed eventi di disturbo estremi (le crisi anossiche stesse oltre alla modificata regimazione idrica causata dal taglio dello scanno, perlomeno nelle fasi iniziali del riassetto della laguna) sono riconosciuti come fattori facilitanti l'insediamento delle NIS in nuovi habitat (Cohen e Carlton, 1998). E' quindi verosimile ipotizzare che *M. senhousia* nella Sacca di Goro si sia comportata come un colonizzatore piuttosto che un invasore (*sensu* Bazzazz, 1986), in quanto, più che interporsi nella comunità e sostituire specie presenti, ha sfruttato un ambiente fortemente disturbato e caratterizzato da una componente biotica depauperata.

Il successo di *M. senhousia* ha contribuito a strutturare la nuova comunità a seguito della ripresa di vivificazione. Dalla serie di dati raccolti presso 3 siti dal 1994 al 1998 si evince come le comunità macrobentoniche siano lentamente andate modificandosi a seguito della colonizzazione dell'habitat da parte di *M. senhousia*, le cui abbondanze spesso sono risultate superiori a quelle di qualsiasi altro *taxon*. L'invasione non ha però portato ad un sovvertimento della zonazione (gradiente di confinamento tra le stazioni) né ad una drastica variazione dei parametri strutturali della comunità dal momento della colonizzazione iniziale fino al raggiungimento della altissime densità attuali. Il fatto che le maggiori differenze siano emerse nei confronti tra siti è probabilmente indicativo di come il gradiente ambientale, principalmente dovuto al confinamento rispetto le bocche a mare, abbia giuocato un ruolo primario sulla strutturazione delle comunità dei 3 siti. D'altro canto, le correlazioni significative tra l'abbondanza di *M. senhousia* e quelle di alcune guild suggeriscono l'importanza della cozza cuculo come fattore strutturante della comunità.

M. senhousia è un *ecosystem engineer* (*sensu* Jones *et al*., 1994) che ha la capacità di alterare l'habitat bentonico mediante la creazione di tappeti strutturalmente complessi, costituiti dai bivalvi stessi e dall'accumulo di conchiglie, bisso, sedimento e detrito (Crooks e Khim, 1999). E' riportato (Willan, 1987; Creese *et al*., 1997) che la presenza di *M. senhousia* in elevate densità semplifica e destruttura la comunità macrobentonica, riducendone la ricchezza in specie e, soprattutto, le abbondanze. Queste osservazioni, tuttavia, non sembrano venire confermate da quanto emerso per la comunità bentonica nella Sacca di Goro. Il confronto della struttura di comunità ad un sito prima e dopo l'arrivo di *M. senhousia*, su un intervallo di quasi un decennio, ha mostrato come la comunità si sia significativamente modificata. Tuttavia, calibrando l'analisi al livello delle singole specie anziché a quello dell'intera comunità, si evince come numerosi *taxa* macrobentonici esibiscano densità più elevate proprio in presenza dei tappeti del bivalve. Alcuni policheti (*Neanthes succinea* e *Streblospio shrubsolii*) ed un anfipode (*Microdeutopus gryllotalpa*) mostrano abbondanze maggiori a seguito

della colonizzazione dell'habitat da parte di *M. senhousia*. Questi risultati, comunque, sono in accordo con osservazioni più recenti (Ragnarsson e Raffaelli, 1999; Dexter e Crooks, 2000) sul ruolo facilitante che i banchi di mitilidi esercitano su alcuni *taxa* macrobentonici. Tale facilitazione può verosimilmente essere messa in relazione alla diversificazione o all'incremento della complessità strutturale del microhabitat causati dalla presenza dei tappeti, e/o dall'accumulo superficiale di sostanza organica dovuto ai processi metabolici del bivalve stesso. D'altro canto, un probabile effetto di inibizione pare essere stato esercitato su altri *taxa*, quali *Ficopomatus enigmaticus, Mytilaster minimus* e *Chironomus salinarius*, che hanno mostrato significative diminuzioni nelle abbondanze dei loro effettivi a seguito della colonizzazione di *M. senhousia*. *F. enigmaticus* e *M. minimus* sono entrambe specie epifaunali e sospensivore, e possono essere state inibite dalla presenza della cozza cuculo a seguito di interazioni competitive per il substrato e/o per il cibo. In California, la presenza di tappeti di *M. senhousia* ha causato il declino di *Chione fluctifraga*, bivalve epifaunale e sospensivoro, mentre *Macoma nasuta*, specie infaunale e detritivora, coesiste con la cozza cuculo (Crooks, 2001).

Summary

The Asian date mussel, *Musculista senhousia*, is an outstanding example of species introduced through human-mediated transport, establishing sustaining populations in distant parts of the world. Endemic in Western Pacific, from Siberia to Singapore, the date mussel appeared and became very abundant in the Sacca di Goro in the 1990s. The time course of the invasion was documented through a 5 yr macrobenthic sampling at 3 sites in the Sacca. From 1995, when the mussel was first collected, *M. senhousia* spread throughout the lagoon and, within a few years, reached densities over 10.000 ind m^{-2}. Over a short time period (5 yr), changes in the macrobenthic community structure were not apparent from ANOVA. Over a longer time period (10 yr), on the contrary, the explosive increase in abundance of *M. senhousia* resulted in some alteration of the pre-established macrobenthic community, at least at one study site. Changes in benthic dynamics are likely, given the inhibition of some epifaunal, suspension-feeding taxa, and the enhancement of some surface-feeders. It is hypothesized that the Asian date mussel was initially successful because it exploited a disturbed, sparsely occupied environment, rather than interfering with and displacing existing species. *M. senhousia* acted, at least initially, as a colonizer rather than an invader.

Bibliografia

BARASH A., DANIN Z. (1972) - The Indo-Pacific species of Mollusca in the Mediterranean and notes on a collection from the Suez Canal. *Israel J. Zool*., **21**: 301-374.

BAZZAZZ F.A. (1986) - Life history of colonizing plants: some demographic, genetic, and physiological features. In: Mooney H.A., Drake J.A. (eds), *Ecology of biological invasions of North America and Hawaii*. Ecological Studies 58, Springer-Verlag, New York (USA): 96-110.

CECCHERELLI V.U., REGGIANI G., CARAMORI G., GAIANI V., CORAZZA C. (1994) - Le comunità macrobentoniche della Sacca di Goro e gli effetti del disturbo ambientale: risultati di due anni di indagine (dicembre 1987-dicembre 1989). In: Bencivelli S., Castaldi N., Finessi D. (eds), *Sacca di Goro: studio integrato sull'ecologia*. Franco Angeli s.r.l. Milano: 83-108.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Changes in marine communities. An approach to statistical analyses and interpretation.* Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK: 144 pp.

COHEN A.N., CARLTON J.T. (1998) - Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science*, **279**: 555-557.

COLOMBO G., BISCEGLIE R., ZACCARIA V, GAIANI V. (1994) - Variazioni spaziali e temporali delle caratteristiche fisicochimiche delle acque e della biomassa fitoplanctonica della Sacca di Goro nel quadriennio 1988-91. In: Bencivelli S., Castaldi N., Finessi D. (eds), *Sacca di Goro: studio integrato sull'ecologia*. Franco Angeli s.r.l. Milano: 9-82.

CREESE R., HOOKER S., DELUCA S., WHARTON Y. (1997) - Ecology and environmental impact of *Musculista senhousia* (Mollusca: Bivalvia: Mytilidae) in Tamaki Estuary, Auckland, New Zealand. *N. Zeal. J. Mar. Fresh. Res.*, **31**: 225-236.

CROOKS J.A. (2001) - Assessing invader roles within changing ecosystems: historical and experimental perspectives on an exotic mussel in an urbanized lagoon. *Biological Invasions*, **3**: 23-36.
CROOKS J.A., KHIM H.S. (1999) - Architectural vs. biological effects of a habitat-altering exotic mussel *Musculista senhousia*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **240**: 53-75.
DEXTER D.M., CROOKS J.A. (2000) - Benthic communities and the invasion of an exotic mussel in Mission Bay, San Diego: a long-term history. *Bull. Southern California Acad. Sci*., **99**: 128-146.
FRANZOI P., MISTRI M., ROSSI R., CECCHERELLI V.U. (1986) - Crisi distrofiche e variazioni della associazione a bivalvi in una sacca del Delta del Po. *Nova Thalassia*, **8**: 305-310.
HOENSELAAR H.J., HOENSELAAR J. (1989) - *Musculista senhousia* (Benson in Cantor, 1842) in the Western Mediterranean (Bivalvia; Mytilidae). *Basteria*, **53**: 73-76.
JONES C.G., LAWTON J.H., SHACHAK M. (1994) - Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, **689**: 373-386.
KULIKOVA V.A. (1978) - Morphology, seasonal population dynamics, and settlement of larvae of the bivalve mollusc *Musculista senhousia*, in Busse Lagoon (South Sakalin). *Soviet J. Mar. Biol*., **4**: 769-773.
LAZZARI G., RINALDI E. (1994) - Alcune considerazioni sulla presenza di specie extra mediterranee nelle lagune salmastre di Ravenna. *Boll. Malacol*., **30**: 195-202.
MILLS E.L., LEACH J.H., CARLTON J.T., SECOR C.L. (1993) - Exotic species in the Great Lakes: a history of biotic crises and anthropogenic introductions. *J. Great Lakes Res.*, **19**: 1-57.
MISTRI M. (2002a) - Ecological characteristics of the invasive Asian date mussel, *Musculista senhousia*, in the Sacca di Goro (Adriatic Sea, Italy). *Estuaries*, **25**: 431-440.
MISTRI M. (2002b) - Foraging behaviour and mutual interference in the Mediterranean shore crab, *Carcinus aestuarii*, preying upon the immigrant mussel *Musculista senhousia*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **54**: in press.
MISTRI M., ROSSI G., CECCHERELLI V.U., ROSSI G. (2000) - Variazioni di struttura trofica in una comunità macrobentonica lagunare. *Biol. Mar. Medit*., **7**: 247-252.
PARENTI R. (1993) - *Analisi degli effetti di disturbo sul popolamento macrobentonico della Sacca di Goro (1989-1990)*. Tesi di Laurea, Università di Ferrara: 82 pp.
RAGNARSSON S.A., RAFFAELLI D. (1999) - Effects of the mussel *Mytilus edulis* L. on the invertebrate fauna of sediments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **241**: 31-43.
RUIZ G.M., FOFONOFF P., HINES A.H., GROSHOLZ E.D. (1999) - Non-indigenous species as stressors in estuarine and marine communities: Assessing invasion impacts and interactions. *Limnol. Oceanogr*., **44**: 950-972.
VITOUSEK P.M. (1990) - Biological invasions and ecosystem processes: towards an integration of population biology and ecosystem studies. *Oikos*, **57**: 7-13.
WILLAN R.C. (1987) - The mussel *Musculista senhousia* in Australasia; another aggressive alien highlights the need for quarantine at ports. *Bull. Mar. Sci*., **41**: 475-478.

Questo lavoro è stato supportato dal MiPAF, VI° Piano Triennale per la Pesca e l'Acquacoltura, nell'ambito del progetto ALIEN (Impatto della specie alloctona *Musculista senhousia* su allevamenti di bivalvi di interesse commerciale nell'Alto Adriatico e strategie di contenimento).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 48-57

U. Ugolini, F. Ferdeghini, G. Sara, C. Morri*, C.N. Bianchi*

Earth, Consulenza ambientale e Promozione culturale scrl, Via Matteotti, 20/II - 19032 Lerici, La Spezia, Italia.
*Dip.Te.Ris., Università di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.

INDAGINE ECOLOGICA SULLA GROTTA SOTTOMARINA DELL'ISOLA DEL TINETTO (GOLFO DI LA SPEZIA, MAR LIGURE ORIENTALE): DATI PRELIMINARI

ECOLOGICAL STUDY ON THE SUBMARINE CAVE OF TINETTO ISLAND (GULF OF LA SPEZIA, WESTERN LIGURIAN SEA): PRELIMINARY RESULTS

Abstract

Submarine caves habitats can be considered a sort of 'ecological islands' because they represent a particular type of habitat, isolated from similar kinds of habitat (aphotic - bathyal habitats), by dissimilar habitat (euphotic - littoral habitats). The submarine cave of Tinetto Island (Gulf of La Spezia, Ligurian Sea) shows a peculiar morphology not comparable neither with closed end caves neither with open tunnel caves, being a closed end cave connected with open air. Aim of this work was to investigate the the distribution and abundance of invertebrates benthic assemblages at Tinetto cave in order to provide a first description of benthic assemblages structure and to investigate the existence of ecological gradients related to cave morphology.

Key-words: *marine caves, benthos, distribution, diversity.*

Introduzione

Accanto all'esistenza di isole che rispondono alla definizione classica di "piccole masse di terra di dimensioni minori ai continenti e circondate da acqua", molte altre situazioni ambientali possono essere viste come insulari; queste situazioni rispondono al nome di "isole habitat" o "isole ecologiche" e rappresentano un particolare tipo di habitat, separato da tipi simili di habitat, da habitat di tipo differente (Schoener, 1988). L'ambiente della grotta marina si può considerare una sorta di 'isola ecologica' (o "isola habitat") in quanto rappresenta un tipo di habitat afitale-batiale, isolato da habitat simili, in un ambito di habitat eufotici-litorali (Harmelin e Vacelet, 1997).

Nelle grotte marine è vantaggioso studiare il ruolo e l'influenza dei fattori ambientali marini sulla comunità biologica (Riedl, 1978) poichè le variazioni verticali di luce, idrodinamismo e apporto trofico, che in mare aperto possono interessare decine o centinaia di metri, si concentrano in pochi metri (Sarà, 1978; Bianchi, 1994).

I parametri strutturali utilizzati per descrivere l'organizzazione delle comunità biologiche hanno rivelato graduali e costanti diminuzioni dei valori penetrando all'interno delle cavità (Balduzzi *et al.*, 1989; Harmelin *et al.*, 1985; Bianchi *et al.*, 1996; Gili *et al.*, 1996). La principale causa responsabile dei mutamenti delle comunità di grotta è la diminuzione di cibo ed al confinamento (Bianchi e Morri, 1994). In tal senso, il confinamento all'interno delle grotte rappresenta l'analogo della "distanza" nelle isole geografiche, in quanto le isole remote sono tipicamente meno ricche rispetto alle isole prossime al continente.

La morfologia della grotta può influenzare fortemente la distribuzione ed abbondanza dei popolamenti bentonici. Gli studi biologici sulle grotte del Mediterraneo indicano che la maggior parte delle cavità sommerse possono essere ricondotte a due

tipologie di grotta: cavità a fondo cieco e grotte a tunnel. I due modelli di grotta differiscono principalmente per un diverso grado di confinamento (Harmelin, 1980; Bianchi *et al.*, 1996). Da indagini preliminari risulta invece che la grotta del Tinetto (Golfo di La Spezia, Mar Ligure orientale) presenta una morfologia che non può essere accostata né alle grotte a tunnel né alle grotte a fondo cieco.

Scopo del lavoro è quello di fornire una prima descrizione dei popolamenti bentonici della grotta del Tinetto ed inoltre individuare l'esistenza di gradienti di distribuzione spaziale in relazione alla peculiare morfologia della grotta. Sulla base del fatto che in grotta si verifica ad una selezione di gruppi tassonomici lungo il gradiente di confinamento (Harmelin, 1980; Bianchi e Morri, 1994), ricchezza specifica, diversità e distinzione tassonomica sono stati scelti come parametri strutturali al fine di determinare il modello di distribuzione spaziale nella Grotta del Tinetto.

Materiali e metodi

L'isola del Tinetto è la minore e la più meridionale delle tre isole che chiudono a Ovest il Golfo di La Spezia (Mar Ligure orientale) (Fig. 1). La grotta del Tinetto è una cavità di circa 1.000 m^3 di volume, con una profondità massima di 20 metri, presso l'ingresso, ed uno sviluppo longitudinale di circa 30 metri, che si apre presso il lato ovest dell'isola del Tinetto.

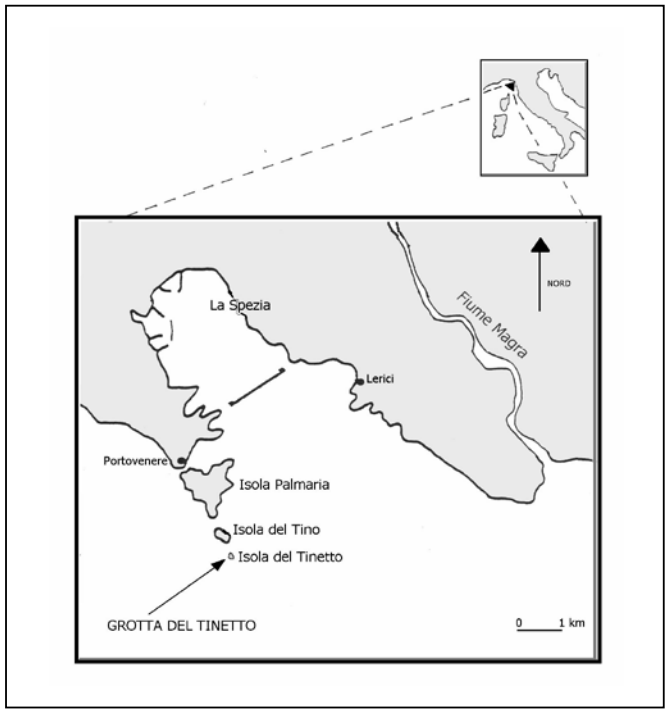


Fig. 1 - Sito di studio.
Study site.

Per realizzare il presente lavoro si è scelta una metodologia di campionamento distruttiva mediante grattaggio di superfici di 20×20 cm (Pansini e Pronzato, 1982). I grattaggi sono stati nel mese di aprile 1998 sulla parete sud della grotta, in quattro diverse stazioni poste a distanza fissa dall'ingresso, posizionate a caso all'interno di una fascia batimetrica compresa tra 10 e 15 metri di profondità. La stazione 1, posta sul fondo della grotta, alla distanza di 27 metri dall'ingresso; stazione 2, posta alla distanza di 20 metri dall'ingresso; stazione 3, posta alla distanza di 13 metri dall'ingresso; stazione 4, posta alla distanza di 5 metri dall'ingresso. All'interno di ogni stazione sono state effettuate tre repliche, per un totale di sedici campioni (Fig. 2).

Al fine di uniformare la stima dell'abbondanza relativa dei taxa solitari (espressa dal numero individui) con la stima di abbondanza dei taxa coloniali (espressa dal ricoprimento) è stato utilizzato un indice semi-quantitativo. L'indice semi-quantitativo prevede tre classi di abbondanza: ai taxa 'abbondanti', rappresentati da più di 10 individui o con ricoprimento superiore al 10%, è stato assegnato un valore dell'indice semi-quantitativo pari a 3; ai taxa definiti 'frequenti', rappresentati da un numero di individui compreso tra 3 e 10 o un ricoprimento compreso tra il 3% e il 10%, è stato assegnato un valore dell'indice pari a 2; ai taxa 'scarsi', ossia rappresentati da meno di 3 individui o da colonie con ricoprimento inferiore al 3%, corrisponde un valore dell'indice semi-quantitativo pari a 1. Le stime di abbondanza sono state utilizzate per calcolare tre parametri, scelti per studiare il modello di distribuzione spaziale: ricchezza specifica, diversità ecologica e distinzione tassonomica, introdotto da Warwick e Clarke (1995) per tenere conto della distanza tassonomica tra gruppi di organismi cui appartengono i taxa ritrovati.

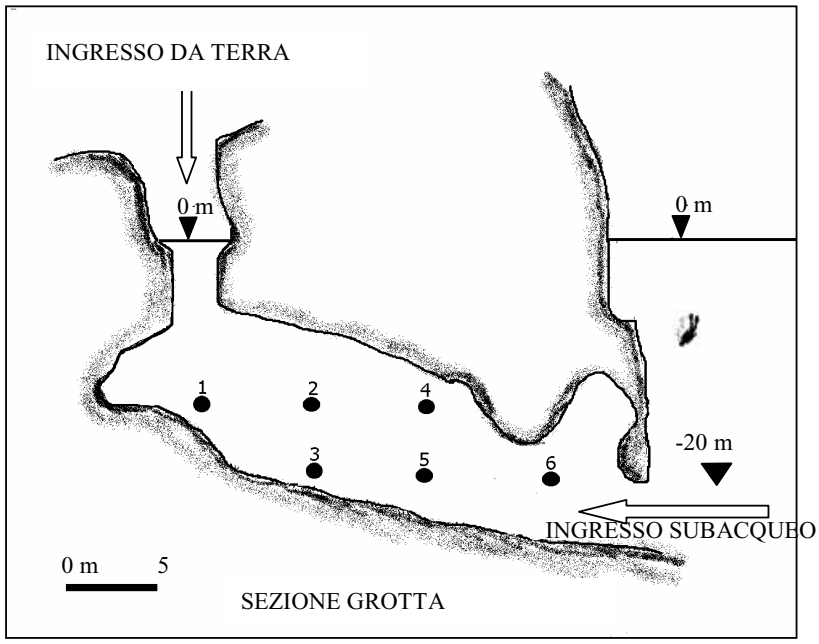


Fig. 2 - Sezione della Grotta del Tinetto con indicate le sei stazioni di campionamento.
Transverse section of Tinetto cave. The six sampling stations are indicated.

L'esistenza di differenze tra stazioni per ciascuno dei parametri analizzati è stata indagata utilizzando un'ANOVA con un unico fattore fisso, stazione (4 livelli), con 3 repliche per ciascun livello.

L'omogeneità delle varianze è stata verificata utilizzando il test del C di Cochran. Quando sono state ritrovate differenze significative per i parametri analizzati, è stato effettuato un test a posteriori (SNK test) che esegue confronti multipli tra medie (con $\alpha = 0.05$) per individuare i valori responsabili della variabilità osservata.

Risultati

L'ingresso principale della grotta, molto ampio, presenta pareti con *Peyssonnelia* spp. e corallinacee incrostanti, che caratterizzano una biocenosi precoralligena (zona di avangrotta). Il ricoprimento in questa fascia, delle dimensioni di circa 1-2 metri, è ancora elevato. Proseguendo nella prima stanza (terminante a 6 metri dall'ingresso), le pareti mostrano una notevole diminuzione del ricoprimento, con *facies* a poriferi massivi (*Petrosia ficiformis* ed *Aplysina cavernicola*) ed incrostanti (*Spirastrella cunctatrix*). Questa parte è ascrivibile alla grotta vivificata. Nella seconda sala risulta abbondante la spugna *Petrosia ficiformis*, che presenta il fenomeno di sbiancamento dei tessuti ed è disposta a macchie irregolari sulle pareti della grotta. Questa zona è piuttosto confinata. La parte finale della grotta è decisamente confinata, è infatti risulta caratterizzata da serpulidi e da spugne incrostanti. Le spugne incrostanti, distribuite irregolarmente, presentano dimensioni via via sempre più ridotte avvicinandosi al fondo della grotta.

Per quanto riguarda la composizione a grandi taxa, 6 taxa sono risultati i più abbondanti: 1) policheti, rappresentati dai serpuloidei; 2) cnidari, rappresentati soprattutto da idroidi e dal madreporario solitario *Leptopsammia pruvoti*; 3) molluschi bivalvi, dominati da *Arca* sp. e *Striarca lactea*; 4) briozoi, caratterizzati dalla abbondanza di *Chlidonia pyriformis*; 5) crostacei cirripedi; 6) poriferi, tra cui *Sycon* sp., *Ircinia* sp. e *Petrosia ficiformis*.

I policheti serpuloidei sono il taxon dominante alle stazioni 1, 2 e 3, raggiungendo il valore massimo per stazione alla stazione 2; i briozoi sono poco rappresentati nella parte interna della grotta, mentre dominano nettamente nella stazione 4 posta presso l'ingresso della grotta; i poriferi hanno una distribuzione praticamente costante lungo tutta la grotta , gli cnidari mostrano un andamento simile nelle stazioni 1, 2 e 3, con una diminuzione nella stazione 4, posta presso l'ingresso. Presso la stazione posta presso l'ingresso della grotta, si assiste ad un forte incremento di briozoi ed, in minor misura, di cnidari; di contro, si verifica una diminuzione di policheti serpuloidei e, soprattutto, molluschi bivalvi (Fig. 3a). La specie più abbondante tra i briozoi nella stazione 4 e in quelle poste centralmente alla grotta è risultata essere *Chlidonia pyriformis*.

Per quanto riguarda la distribuzione dei valori di ricchezza specifica nelle quattro stazioni analizzate, la stazione 2 ha una composizione in grandi taxa più eterogenea (valore medio di ricchezza specifica pari a 24,33), collegata a valori più elevati dell'indice; la ricchezza specifica diminuisce spostandosi sia verso l'ingresso della grotta (stazione 3 e 4) che verso il fondo della grotta (stazione 1), dove l'indice mostra un valore medio più basso rispetto a tutte le altre stazioni (valore medio di ricchezza specifica pari a 9) (Fig. 3b).

Per quanto riguarda l'andamento del l'indice di diversità di Shannon (H') il valore massimo si riscontra nella stazione 2; le stazioni 3 e 4 mostrano valori medi intermedi tra la stazione 2 e quella posta sul fondo (1), dove il valore medio di H' mostra il suo minimo (H'=2,12) (Fig. 4a).

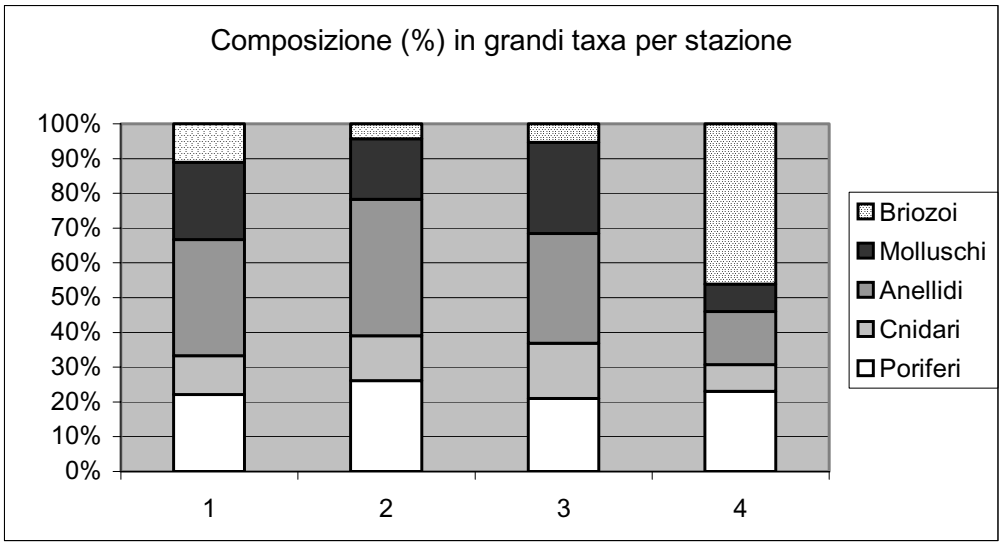


Fig. 3a - Composizione tassonomica di ciascuna stazione espressa come percentuale di ogni *taxon*.
Taxonomical composition of each station expressed as percentage of each taxon.

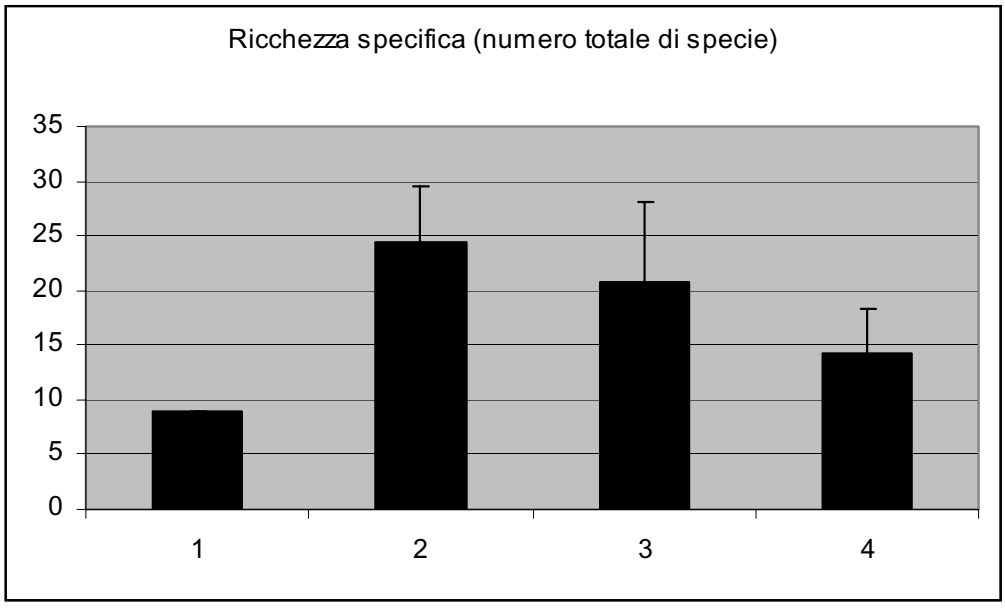


Fig. 3b - Valore medio di ricchezza specifica (espresso come numero totale di specie) in ciascuna stazione. Le barre indicano la deviazione standard su tre repliche.
Species richness mean value at each station. Species richness is expressed as total number of species. Bars indicate standard deviation on three replicates.

Se consideriamo la ricchezza di specie e la diversità ecologica sembra quindi emergere una zona centrale con maggiore ricchezza e diversità con due periferie (ingresso e fondo grotta) in cui i valori diminuiscono gradatamente. Per quanto riguarda invece i valori dell'indice di distinzione tassonomica essi presentano un andamento praticamente costante lungo tutta la grotta (Fig. 4b).

Per verificare se le differenze osservate tra le stazioni in termini di ricchezza e diversità specifica risultavano statisticamente significative è stata applicata un'analisi della varianza.

I risultati dell'ANOVA mostrano l'esistenza di differenze significative tra stazioni per quanto riguarda il parametro la ricchezza specifica ($P<0.05$) e per quanto riguarda la diversità di Shannon ($P<0,05$) (Tab. 1).

Relativamente al parametro ricchezza specifica, il test *a posteriori* SNK non ha fornito nessuna indicazione precisa circa l'esistenza di un gradiente di distribuzione spaziale; se accettiamo i valori medi per stazione, sembrerebbe evidenziarsi un gradiente ingresso < centro > fondo grotta, come mostrato dalla Fig. 4a.

I risultati del test SNK per quanto riguarda il parametro diversità di Shannon indicano che le stazioni 2 e 3 (centrali) risultano significativamente diverse dalla stazione 1 (posta presso il fondo della grotta) e dalla 4 (posta all'ingresso); anche le stazioni 1 e 4 sono significativamente differenti tra loro. Quindi si delinea un gradiente ingresso < centro > fondo grotta.

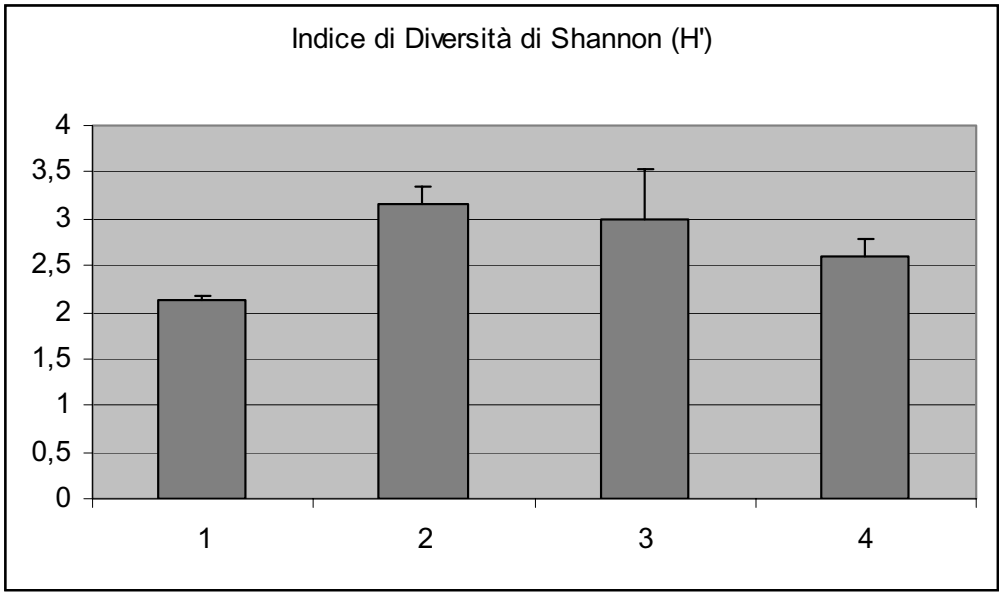


Fig. 4a - Valore medio per stazione dell'indice di diversità specifica di Shannon (H'). Le barre indicano la deviazione standard su tre repliche.

Mean value of Shannon' diversity (H') index at each station. Bars indicate standard deviation on three replicates.

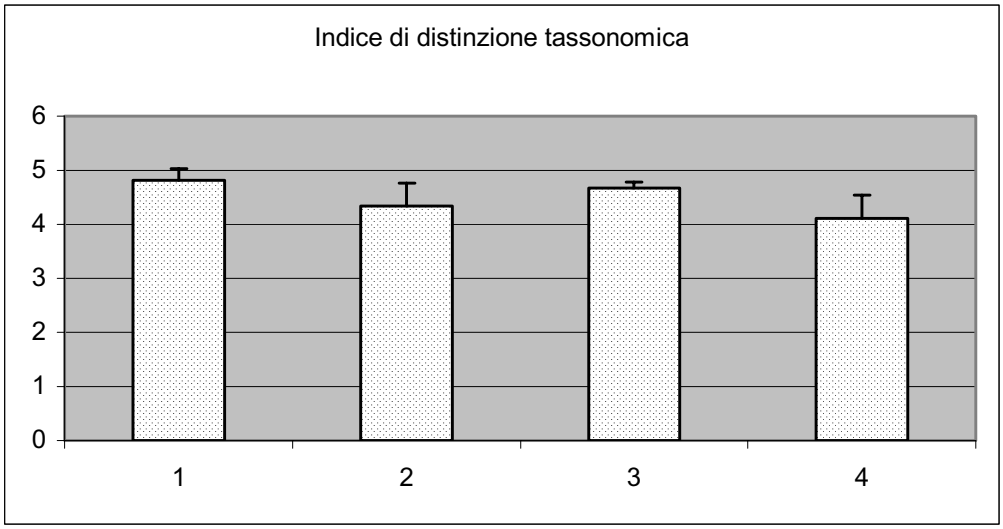


Fig. 4b - Valore medio per stazione dell'indice di distinzione tassonomica. Le barre indicano la deviazione standard su tre repliche.
Mean value of taxonomic distinctness at each station. Bars indicate standard deviation on three replicates.

Tab. 1 - Risultati dell'ANOVA relativi ai parametri ricchezza specifica e diversità di Shannon.
Results of ANOVA test for species richness and Shannon diversity.

		Ricchezza specifica			Diversità di Shannon		
Fonte di variazione	GL	MS	F	P	MS	F	P
Stazione	3	138,3056	9,22	0.0056	0,6360	14,56	0.0013
RES	8	15,00			0,0437		
TOT	11						
		C = 0.4429 (n.s.)			C = 0.3616 (n.s.)		

Conclusioni

L'analisi dei grandi taxa ha rivelato che la parte centrale della grotta del Tinetto ha una composizione più eterogenea rispetto alla parte interna e all'ingresso, in accordo con i valori più elevati riscontrati anche nel parametro diversità ecologica.

E' interessante notare l'abbondanza del briozoo *Chlidonia pyriformis* nelle stazioni più esterne e centrali, specie ritenuta fotofila e quindi al di fuori del proprio habitat (alghe e fanerogame). Nella grotta del Tinetto, ed in special modo presso l'ingresso, questo briozoo è risultato dominante e sempre epibionte su poriferi. Tuttavia, la pre-

senza di *Chlidonia pyriformis* in ambienti sciafili era già stata segnalata da Balduzzi *et al.* (1980), nella grotta della Scaletta presso la penisola Sorrentina, dove veniva ipotizzata la presenza concomitante di una serie di condizioni particolari per permettere lo sviluppo di questo briozoo in zone limitate di una certa grotta.

Relativamente ai valori di ricchezza specifica misurati, confronti con i risultati di studi compiuti in altre grotte hanno rivelato inoltre che i popolamenti della grotta del Tinetto mostrano valori di ricchezza specifica (massimo 36 *taxa* per campione, valore medio per campione 30 *taxa*) molto più scarsi rispetto ad altre grotte (70 specie all'entrata e 20-30 specie nelle parti più confinate in Balduzzi *et al.* (1989).

Mentre la distinzione tassonomica non ha evidenziato alcun modello di distribuzione spaziale, ricchezza specifica e diversità ecologica hanno mostrato l'esistenza di un gradiente centro–periferie per i popolamenti sessili animali della grotta del Tinetto.

Il ritrovamento di un gradiente centro-periferie presso la grotta del Tinetto contrasta con molti lavori precedenti, in cui l'organizzazione della comunità biologica evidenzia gradienti esterno–interno (Harmelin *et al.*, 1985; Balduzzi *et al.*, 1989; Bianchi *et al.*, 1996). Tuttavia un gradiente centro-periferia e' stato trovato anche presso la Grotta Azzurra di Capo Palinuro, a causa dell'esistenza di una estrema variabilità nella distribuzione degli organismi, attribuita dagli autori a diverse cause, tra cui presenza di sorgenti idrotermali, interazioni tra organismi e differenze nel reclutamento (Benedetti Cecchi *et al.,* 1996; 1998). Un contributo importante viene dallo studio dei modelli di distribuzione spaziale delle specie osservati in alcune grotte lungo la Penisola Salentina. L'esistenza di un modello di distribuzione spaziale non coerente con il grado di confinamento sarebbe stato rinvenuto anche in alcune grotte lungo la Penisola Salentina, anche se i fattori responsabili di questi modelli distributivi 'devianti' non sono stati ancora identificati (Bussotti *et al.*, 2001).

Si avanza quindi l'ipotesi che la particolare morfologia della grotta del Tinetto possa essere responsabile del modello di distribuzione osservato, ossia l'instaurarsi di due periferie (ingresso e fondo grotta) rispetto alla zona centrale, che svolgerebbe il ruolo di 'hot spot' di ricchezza specifica.

Questo studio preliminare sottolinea inoltre come non possa essere proposto un unico modello di distribuzione spaziale per le grotte marine sommerse. In tal caso, non un unico, ma diversi fattori possano essere invocati come responsabili per i modelli distributivi osservati (Benedetti Cecchi *et al*., 1996, 1998).

L'esistenza di variabilità a grande scala spaziale (tra grotta e grotta) nella distribuzione spaziale dei popolamenti sottolinea come ulteriori studi siano necessari al fine di verificare l'esistenza di differenti modelli di distribuzione spaziale ed i fattori responsabili dei modelli osservati.

Summary

Submarine caves represents a sort of 'ecological island' because they are an 'habitat island' representing a particular type of habitat, isolated from similar kinds of habitat (aphotic - bathyal habitats), by dissimilar habitat (euphotic - littoral habitats). In marine caves structural parameters, used to describe community structure, reveal decreasing values from the entrance to the inner part of the cave. Cave morphology may strongly influence distribution and abundance of benthic assemblages. Two main types of marine caves can be identified in the Mediterranean; notwithstanding, the submarine cave of Tinetto Island (Gulf of La Spezia, Ligurian Sea) shows a peculiar morphology not comparable with the two models proposed. Aim of this work was to investigate the influence of cave morphology on the distribution of benthic assemblages at cave of Tinetto Island. Sampling was made by scraping three replicated plots (20 cm × 20 cm) in four different stations located at a fixed distance from the entrance of the cave (respectively 5, 13, 20 and 27 metres), randomly chosen between –10

and –15 metres deep. A semi-quantitative index was used to estimate abundance of each taxon; structural parametres (species richness, Shannon' diversity and taxonomic distinctness) were used to investigate distribution model. While taxonomic distinctness did not show any variability among stations, species richness and Shannon diversity revealed that higher values were found in the central part of the cave, descreasing towards the entrance and the inner part. A gradient entrance <central cave> inner part for sessile invertebrates distribution of Tinetto cave could be proposed. These preliminary results seem to be in contrast with previous studies, that evidenced decreasing values from the entrance to the inner part of the cave. We hypotesise that peculiar morphology of the submarine cave at Tinetto Island could be responsible for the model of distribution observed.

Ringraziamenti

Si ringraziano Pietro Pellizzi, Gianfranco Farina, Giancarlo Garbin, Renato Taverna per l'indispensabile aiuto offerto nelle fasi di campionamento in mare.

Bibliografia

BALDUZZI A., BIANCHI C.N., BOERO F., CATTANEO-VIETTI R., PANSINI M., SARA' M. (1989) - The suspension feeder communities of a Mediterranean sea cave. In: J.D. Ros (ed), *Topics in marine biology*. Scient. Mar., **53** (2-3): 387-395.

BALDUZZI A., BOERO F., CATTANEO R., PANSINI M., PRONZATO R., SARA' M. (1980) - Ricerche sull'insediamento dello zoobenthos in alcune grotte marine della Penisola Sorrentina. *Mem. Biol. mar. Oceanogr.*, **10** (Suppl.): 121-127.

BENEDETTI-CECCHI L., AIROLDI L., ABBIATI M., CINELLI F. (1996) – Exploring the causes of spatial variation in an assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **208**: 153-168.

BENEDETTI-CECCHI L., AIROLDI L., ABBIATI M., CINELLI F. (1998) - Spatial variability in the distribution of sponges and cnidaria in a sublittoral marine cave with sulphur- water springs. *J. Mar. Biol. Ass. U. K*., **78**: 43-58.

BIANCHI C.N. (1985) - Structure trophique du peuplement annélidien dans quelques grottes sous-marines méditerranéennes. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit*., **29** (5): 147-148.

BIANCHI C.N. (1994) - Biologia delle grotte marine del Mediterraneo. In: Fiorentini A. (ed), *Mare ed ecologia*, Provincia di Genova, U.R.P.L. (Unione Regionale Province Liguri) e Marevivo, Genova: 35-44.

BIANCHI C.N., CATTANEO-VIETTI R., CINELLI F., MORRI C., PANSINI M. (1996) - Lo studio biologico delle grotte sottomarine del Mediterraneo: conoscenze attuali e prospettive. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **60-61** (1994-1995): 41-61.

BIANCHI C.N., MORRI C. (1994) - Studio bionomico comparativo di alcune grotte marine sommerse: definizione di una scala di confinamento. *Mem. Ist. Ital. Speleol*., Bologna, ser. **2 (**6): 107-123.

BUSSOTTI S., DENITTO F., METRANGOLO M., MUSCOGIURI L., BELMONTE G., BOERO F. (2001) - Distribuzione spaziale di comunità sessili di fondo duro in tre grotte marine della Penisola Salentina (Mar Ionio – Puglia Meridionale). *Atti del 62° Convegno UZI*, Sanremo: 69 pp.

GILI J.M., RIERA T., ZABALA M. (1996) – Physical and biological gradietns in a submarine cave of the western Mediterranean coast (north-east Spain). *Mar. Biol.*, **90**: 291-297.

HARMELIN J.G. (1969) - Bryozoaires des grottes sous-marine obscures de la région marseillaise. Faunistique et écologie. *Téthys*, **1** (3): 793-806.

HARMELIN J.G. (1980) - Etablissement des communautés de substras durs en milieau obscur. Resultats préliminaires d'une expérience à long terme en Méditerranée. *Mem. Biol. mar. Oceanogr*., **10** (Suppl.): 29-52.

HARMELIN J.G., VACELET J. (1997) – Clues to deep-sea biodiversity in a nearshore cave. *Vie Milieu*, **47** (4): 351-354.

HARMELIN J.G., VACELET J., VASSEUR P. (1985) - Les grottes sous - marines obscures: un milieau extreme et un remarquable biotope refuge. *Téthys*, **11** (3-4): 214-219.

PANSINI M., PRONZATO R. (1982) - Distribuzione ed ecologia dei poriferi nella grotta di Mitigliano (Penisola Sorrentina). *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **50** (Suppl.): 287-293.

RIEDL R. (1978) - The role of sea cave investigation in marine sciences. *Pubbl. Staz. zool. Napoli*, **40** (1976): 492-501.

SARA' M. (1978) - Il popolamento delle grotte marine: interesse di una salvaguardia. *Pubbl. Staz. zool. Napoli*, **40** (1976): 502-505.

SCHOENER A. (1988) - Experimental island biogeography. In: Myers A.A. and Giller P.S. (eds), *Analytical biogeography*, Chapman and Hall, London, **15**: 483-512.

UNDERWOOD A.J. (1997) - *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance.* Cambridge University Press, Cambridge: 504 pp.

WARWICK R.M., CLARKE K.R. (1995) - New "biodiversity" measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **129**: 301-305.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 58-66

G. Vargiu, M. Marras, M. Casu, F. Maltagliati*, A. Castelli*

Dipartimento di Zoologia ed Antropologia Biologica, Università di Sassari,
Corso Margherita di Savoia, 15 - 07100 Sassari, Italia.
*Dip. Sci. Uomo e Amb., Univ. di Pisa, Pisa, Italia.

ELEVATI LIVELLI DI DIVERGENZA TRA POPOLAZIONI DEL POLICHETE *OPHELIA BICORNIS*. ISOLAMENTO O CONFUSIONE TASSONOMICA?

UNEXPECTEDLY HIGH LEVELS OF DIVERGENCE AMONG POPULATIONS OF THE POLYCHAETE OPHELIA BICORNIS. *ISOLATION OR TAXONOMIC CONFUSION?*

Abstract

Morphological and genetic investigations have been carried out over samples of the marine polychaete Ophelia bicornis *Savigny (Opheliidae) collected from eight beaches located along the coasts of Sardinia (Italy) and Corsica (France). Results showed high levels of morphological and genetic variation at both within- and between-population level. A strong connection between the No. of nephridiopores and genetic differentiation led to the characterization of two valid species (*Ophelia bicornis *and* O. barquii*), in some cases occurring in sympatry, with possible cases of hybridisation. In addition, genetic data revealed a degree of isolation between Sardinian and Corsican populations due to the current regime of the Strait of Bonifacio constituting a barrier to gene flow.*

Key-words: *morphology, genetic variation, allozymes, taxonomy,* Ophelia.

Introduzione

Ophelia bicornis Savigny 1818 (Polychaeta, Opheliidae) è un organismo fossorio che occupa generalmente la porzione superficiale del piano mesolitorale costituito da sabbie fini ad alto regime idrodinamico di tutto il Mediterraneo e dell'Atlantico orientale (Harris, 1991). *O. bicornis* possiede una fase larvale pelagica che può durare diverse settimane (Wilson, 1948) e perciò si può ipotizzare che essa abbia un alto potenziale di dispersione.

Le specie appartenenti al genere *Ophelia* Savigny hanno da sempre presentato problemi di classificazione in relazione alla difficoltà di individuare caratteri diagnostici validi per una loro sicura definizione. Le diverse specie presenti all'interno del genere sono state in un primo tempo classificate considerando il numero e la disposizione dei filamenti branchiali e il numero totale di segmenti. In particolare, Fauvel (1927) distingue *O. bicornis*, con 15 paia di branchie, da *O. radiata*, con 14 paia di branchie, e introduce il *taxon O. radiata* var. *barquii* per esemplari dotati di 13-12 paia di branchie. Bellan (1961), ritenendo il numero di branchie un carattere non significativo, propone di considerare *O. bicornis, O. radiata* e *O. radiata* var. *barquii* appartenenti ad una singola specie polimorfica (*O. bicornis sensu stricto*). L'importanza dei vari caratteri distintivi proposti è stata ampiamente discussa da vari Autori che sono giunti a diverse conclusioni sullo status degli individui appartenenti al genere *Ophelia* (Giordani-Soika e Sandrini, 1958; Cabioch *et al.,* 1968). Più recentemente, per saggiare il valore sistematico da attribuire al numero di branchie, Cantone e Costa (1975) prendono parallelamente in esame il numero di papille rettali e perianali; non riscontrando alcuna

correlazione tra questi caratteri essi attribuiscono gli esemplari esaminati ad un'unica specie (*O. bicornis*) con un alto grado di polimorfismo. Pilato *et al.* (1978) mettono in risalto l'importanza di un altro carattere, il numero di nefridiopori, che permette di raggruppare *O. bicornis* e *O. radiata*, caratterizzate da sei paia di nefridiopori, in una singola specie (*O. bicornis sensu stricto*), e di elevare *O. radiata* var. *barquii*, caratterizzata da cinque paia di nefridiopori, al rango di specie (*O. barquii*). Fassari (1998) nel censimento dei policheti dei mari italiani, sostiene quest'ultima ipotesi.

In un recente studio su individui del genere *Ophelia* provenienti da diverse aree del Mediterraneo occidentale era emersa una notevole eterogeneità genetica tra i campioni analizzati (Fresu *et al*., 2000). Tuttavia non era stato possibile stabilire con chiarezza la posizione tassonomica degli individui, in quanto non era stato parallelamente approfondito l'aspetto morfologico. Lo scopo del presente lavoro è stato dunque quello di applicare analisi morfologiche e genetiche a campioni raccolti lungo le coste della Sardegna e della Corsica per 1) verificare la posizione sistematica degli individui analizzati e 2) studiare la struttura genetica e le sue eventuali relazioni con i dati morfologici.

Materiali e metodi

Campionamenti

Sono stati analizzati campioni di individui appartenenti al genere *Ophelia* provenienti da quattro località della Sardegna: Platamona, (PLA, 40° 53'N, 8° 38'E; data di campionamento 2/5/2001), Pineta Mugoni (MUG, 40°37'N, 8° 11'E; 25/5/2001), Costa Rei (REI, 39° 12'N, 9° 34'E; 15/10/2001), San Giovanni di Posada (SGP, 40° 37'N, 9° 44'E; 16/9/2001) e da altrettante località della Corsica: Pinarello (PIN, 41° 38'N, 9°E, 18'E; 26/9/2001), Riccantu (RIC, 41° 55'N, 8° 47'E; 2/10/2001), Sagone (SAG, 40° 07'N, 8° 41'E; 2/10/2001) (Fig. 1). Il campionamento è stato effettuato secondo la tecnica descritta da Bellan (1961). Gli esemplari raccolti (60 individui per ciascun sito di campionamento) sono stati portati in laboratorio, sottoposti all'analisi morfologica ancora vivi e conservati a –80°C fino al momento delle analisi genetiche.

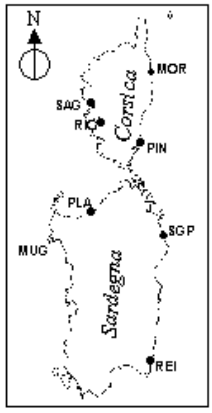


Fig. 1 – *O. bicornis*. Stazioni di campionamento: Moriani (MOR); Pianeta Mugoni (MUG); Pinarello (PIN); Platamona (PLA); Costa Rei (REI); Riccantu (RIC); Sagone (SAG); San Giovanni di Posada (SGP).

O. bicornis*. Location of sampling sites: Moriani (MOR); Pineta Mugoni (MUG); Pinarello (PIN); Platamona (PLA); costa Rei (REI); Riccantu (RIC); Sagone (SAG); San Giovanni di Posada (SGP).*

Indagine morfologica

L'indagine morfologica è stata condotta attraverso uno stereomicroscopio da dissezione, considerando i seguenti caratteri: numero filamenti branchiali su ciascun lato dell'animale; numero papille perianali; numero nefridiopori su ciascun lato. Gli individui sono stati anestetizzati con una soluzione di cloruro di magnesio (0.4 M) per agevolare l'osservazione dei caratteri.

Elettroforesi degli alloenzimi

Gli esemplari sono stati omogeneizzati in quantità di soluzione tampone estraente (Tris 0.05 M, EDTA 0.01 M, Mercaptoetanolo 0.2%, Triton X 100 0.1%, corretto a pH 8 con HCl) comprese tra 60 e 100 µl a seconda delle loro dimensioni e centrifugati per 10 min a 6000 rpm. È stata applicata l'elettroforesi su acetato di cellulosa per saggiare otto sistemi enzimatici usando la soluzione tampone di migrazione TEM (Tris 0.1 M, EDTA 0.01 M, $MgCl_2$ 0.001 M, corretto a pH 7.8 con acido maleico) e seguendo le procedure di colorazione di Pasteur *et al.* (1987) leggermente modificate. La calibrazione degli alleli è stata effettuata facendo migrare sullo stesso foglio di acetato individui di diverse località.

Analisi dei dati

La dissimilarità morfologica tra gli 8 campioni è stata calcolata considerando i caratteri morfologici come caratteri multistato mediante la seguente formula:

$D = 1 - S$,

$S = (a+d) / (a+2b+2c+d)$, (Rogers e Tanimoto, 1960),

dove a è il numero di caratteri in comune, d è il numero di elementi assenti in entrambi e b e c il numero di caratteri presenti nell'uno o nell'altro individuo.

Sono state calcolate le eterozigosità osservata (H_o) e attesa (H_e) di ciascuna popolazione. Per valutare le deviazioni delle frequenze genotipiche rispetto alle proporzioni di Hardy-Weinberg è stato utilizzato un test esatto basato su procedure di permutazione (Guo e Thompson, 1992). I livelli di strutturazione delle popolazioni e la divergenza genetica sono stati quantificati attraverso il coefficiente di inincrocio F_{IS} e la varianza standardizzata delle frequenze alleliche F_{ST} secondo Weir e Cockerham (1984). La significatività di questi due parametri è stata valutata con test di permutazione (Goudet, 2001). I campioni sono stati ordinati attraverso il multidimensional scaling (MDS) (Guiller *et al.*, 1998) utilizzando la matrice di dissimilarità di Rogers e Tanimoto (1960) per i dati morfologici e quella di distanza genetica di Nei (1978) per i dati genetici. L'elaborazione dei dati è stata effettuata utilizzando i programmi FSTAT (Goudet, 2001), GENEPOP (Raymond e Rousset, 1995) e STATISTICA (STATSOFT, 1995).

Risultati

Analisi morfologica

Bellan (1961) e Cantone e Costa (1975) tendono ad escludere la valenza sistematica del numero e disposizione dei filamenti branchiali e del numero di papille perianali. Anche nel presente lavoro la notevole variabilità del numero di filamenti branchiali e di papille perianali (Tab. 1A e 1B) ha indirizzato l'attenzione sul numero dei nefridiopori come possibile carattere discriminante (vedi anche Pilato *et al.*, 1978). Inoltre, per questo carattere, a differenza di quanto osservato da Pilato *et al.* (1978), è stata riscontrata asimmetria, seppur poco frequente (Tab. 1C).

Tab. 1 – *O. bicornis*. Dati morfologici. Il numero degli individui è ripartito secondo le classi individuate e in base al sito di provenienza. *A*: numero di branchie su ciascun lato dell'animale; *B*: numero di papille perianali; *C*: numero di nefridiopori su ciascun lato dell'animale. Vedi la Fig. 1 per le abbreviazioni delle stazioni.

O. bicornis. *Morphological data. The number of individuals is sorted according to morphological classes and sampling localities. A: No. of gills on each side of the animal. B: No. of perianal papillae; C: No. of nephridiopores on each side of the animal. See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.*

A

	NUMERO BRANCHIE									
	13/13	14/14	14/13	13/12	12/12	15/14	13/11	15/15	12/11	11/11
PIN	33	7	10	8	2	-	-	-	-	-
SAG	9	35	16	-	-	-	-	-	-	-
RIC	2	47	3	-	-	7	-	1	-	-
MOR	41	8	5	4	2	-	-	-	-	-
PLA	20	28	12	-	-	-	-	-	-	-
MUG	28	-	5	17	6	-	2	-	1	1
REI	42	7	8	2	-	-	1	-	-	-
SGP	22	26	11	1	-	-	-	-	-	-
Tot	197	158	70	32	10	7	3	1	1	1

B

	NUMERO PAPILLE PERIANALI														
	5	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
PIN	-	-	-	1	-	2	13	8	12	10	7	4	1	2	
SAG	-	-	-	-	-	-	-	6	12	14	11	10	3	3	1
RIC	-	-	-	-	-	3	7	13	13	12	7	4	-	1	-
MOR	-	-	-	-	-	2	7	16	19	10	5	1	-	-	-
PLA	-	-	-	-	-	4	11	21	14	6	3	1	-	-	-
MUG	1	2	1	11	12	17	9	7	-	-	-	-	-	-	-
REI	-	-	-	-	1	-	-	1	9	13	14	7	10	4	1
SGP	-	-	-	-	-	1	1	3	9	15	5	9	3	3	1
Tot	1	2	1	12	13	29	48	75	88	80	52	36	17	13	3

C

	NUMERO NEFRIDIOPORI							
	6/6	5/5	6/5	5/4	7/6	3/3	6/4	5/3
PIN	30	21	6	3	-	-	-	-
SAG	57	-	2	-	1	-	-	-
RIC	60	-	-	-	-	-	-	-
MOR	53	6	-	1	-	-	-	-
PLA	57	-	1	-	2	-	-	-
MUG	2	45	2	5	-	3	2	1
REI	57	-	3	-	-	-	-	-
SGP	57	-	3	-	-	-	-	-
Tot	373	72	17	9	3	3	2	1

Inoltre è emerso che la quasi totalità degli individui nei campioni di SAG, RIC, PLA, REI e SGP è composta da individui con 6 paia di nefridiopori (in seguito denominati morfotipo A) mentre i campioni di MUG, PIN e MOR possiedono individui con 5 paia di nefridiopori (morfotipo B), trovati in condizioni di simpatria con l'altro morfotipo. In queste località, le proporzioni relative ai due morfotipi sono risultate differenti: MUG è composto quasi totalmente dal morfotipo B, in PIN le frequenze dei due morfotipi si equivalgono, in MOR il morfotipo A è nettamente preponderante. La rappresentazione grafica MDS, basata sulle dissimilarità di Rogers e Tanimoto (1960) ed elaborata considerando tutti i caratteri morfologici rilevati, conferma una netta separazione delle popolazioni di PIN e MUG rispetto alle altre (Fig. 2). Sembra evidente quindi che la separazione di MUG e PIN rispetto agli altri campioni sia dovuta alla presenza al loro interno dell'elevata frazione di individui appartenenti al morfotipo B. Alla luce dei risultati ottenuti con l'analisi morfologica, i dati genetici sono stati trattati considerando nell'ambito dei campioni il numero di nefridiopori come carattere discriminante, cioè i campioni in cui sono stati rilevati entrambi i morfotipi sono stati separati in due subcampioni. Tutti gli individui non riconducibili a questi due morfotipi (un'esigua frazione) sono stati esclusi dalle analisi. Le popolazioni ottenute sono state così nuovamente denominate: PIN-A, MOR-A, SAG-A, RIC-A, PLA-A, REI-A, SGP-A composte da individui con morfotipo A, PIN-B, MOR-B, MUG-B, composte da individui con morfotipo B.

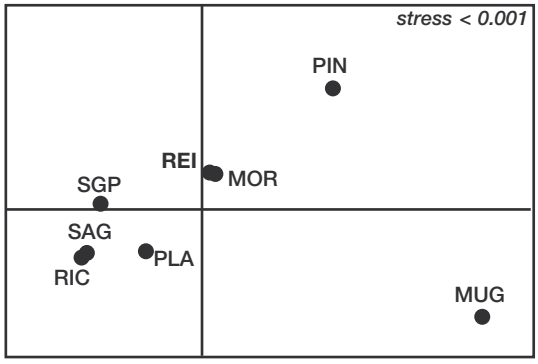


Fig. 2 – *O. bicornis*. Ordinamento effettuato con il multidimensional scaling basato sulle distanze di Rogers e Tanimoto (1960) calcolate su base morfologica. Vedi la Fig. 1 per le abbreviazioni delle stazioni.

O. bicornis. *Multidimensional scaling plot based on the matrix of Rogers and Tanimoto's (1960) distance (calculated on the basis of morphological data). See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.*

Analisi genetica

Le analisi elettroforetiche hanno permesso l'individuazione di 10 *loci* polimorfici (*Apk, Gapdh, Gpi-1, Gpi-2, Idh-1, Idh-2, Ldh, Mdh, Pgdh, Pgm*). I valori medi delle eterozigosità osservata e attesa, riportati in Tab. 2, risultano lievemente maggiori rispetto a quelli ottenuti da Fresu *et al*. (2000). Ciò è probabilmente dovuto al differente set di enzimi usati nei due lavori. Per il morfotipo A, su 48 test esatti effettuati per la valutazione dell'equilibrio di Hardy-Weinberg sono stati riscontrati 16 deviazioni signi-

ficative, mentre per il morfotipo B ne sono state riscontrate 5 su 15. In entrambi i casi le deviazioni sono dovute a deficit di individui eterozigoti. Ciò è confermato dai valori positivi e significativi del coefficiente di inincrocio (rispettivamente $F_{IS}=0.239\pm0.035$, $P<0.001$ e $F_{IS}=0.383\pm0.035$, $P<0.001$).

Tab. 2 – *O. bicornis*. Eterozigosità osservata e attesa (rispettivamente H_o and H_e) nelle sette popolazione del morfotipo A e nelle tre del morfotipo B. Vedi la Fig. 1 per le abbreviazioni delle popolazioni.

O. bicornis. *Observed and expected heterozygosity (*H_o *and* H_e*, respectively) of seven populations of morphotype A and three populations of morphotype B. See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.*

	PIN-A	PIN-B	MOR-A	MOR-B	MUG-B	SAG-A	RIC-A	PLA-A	REI-A	SGP-A
H_o	0.182 (0.049)	0.149 (0.023)	0.136 (0.044)	0.090 (0.042)	0.095 (0.046)	0.103 (0.036)	0.121 (0.043)	0.191 (0.062)	0.130 (0.053)	0.154 (0.043)
H_e	0.249 (0.071)	0.239 (0.041)	0.197 (0.063)	0.128 (0.062)	0.153 (0.071)	0.136 (0.052)	0.152 (0.055)	0.220 (0.070)	0.182 (0.055)	0.203 (0.064)

Il significativo valore medio della varianza standardizzata delle frequenze alleliche calcolato su tutti i campioni ($F_{ST}=0.362\pm0.086$, $P<0.001$) mostra gli elevati livelli di eterogeneità genetica. Anche i valori di F_{ST} calcolati considerando singolarmente la forma A e la B sono altamente significativi ($F_{ST(A)}=0.136\pm0.091$, $P<0.001$ e $F_{ST(B)}=0.083\pm0.023$, $P<0.001$), suggerendo la presenza di una marcata divergenza genetica anche tra le popolazioni nell'ambito di ciascun morfotipo.

Le distanze genetiche più elevate sono state rilevate tra le popolazioni del morfotipo A e quelle del morfotipo B (Tab. 3) con valori che superano abbondantemente $D=0.22$, definito da Thorpe e Solè-Cava (1994) come valore al di sopra del quale le popolazioni possono essere considerate appartenenti a specie distinte.

Tab. 3 – *O. bicornis*. Matrice delle distanze genetiche di Nei (1978). I valori in grassetto corrispondono ai confronti tra popolazioni di morfotipi differenti. Vedi la Fig. 1 per le abbreviazioni delle stazioni.

O. bicornis. *Matrix of pairwise Nei's (1978) genetic distances. Values in bold are comparisons between populations of two different morphotypes. See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.*

	PIN-A	PIN-B	MOR-A	MOR-B	MUG-B	SAG-A	RIC-A	PLA-A	REI-A
PIN-B	**0.259**								
MOR-A	0.002	**0.302**							
MOR-B	**0.332**	0.010	**0.396**						
MUG-B	**0.442**	0.020	**0.483**	0.038					
SAG-A	0.016	**0.416**	0.015	**0.513**	**0.628**				
RIC-A	0.014	**0.405**	0.014	**0.494**	**0.615**	0.000			
PLA-A	0.044	**0.312**	0.041	**0.388**	**0.483**	0.086	0.079		
REI-A	0.035	**0.287**	0.032	**0.350**	**0.456**	0.080	0.072	0.008	
SGP-A	0.015	**0.299**	0.012	**0.377**	**0.473**	0.046	0.041	0.009	0.004

Nel grafico MDS basato sulle distanze genetiche l'asse orizzontale corrisponde alla separazione tassonomica delle due forme. Inoltre le popolazioni del morfotipo A appaiono ulteriormente separate in due chiari raggruppamenti secondo l'asse verticale (Fig. 3). Il raggruppamento in alto a sinistra corrisponde all'insieme delle popolazioni sarde, mentre quello in basso a sinistra è il gruppo di quelle corse. Nell'ambito del morfotipo B, l'MDS non evidenzia apprezzabili separazioni. Per valutare ulteriormente l'isolamento geografico tra popolazioni sarde e corse è stato calcolato F_{ST} considerando singolarmente i due gruppi di popolazioni sarde e corse. I valori così ottenuti risultano notevolmente inferiori ($F_{ST(Sardegna)} = 0.024 \pm 0.009$ e $F_{ST(Corsica)} = 0.043, \pm 0.026$), sebbene i valori risultino ancora significativamente diversi da zero ($P < 0.001$ per entrambi i casi).

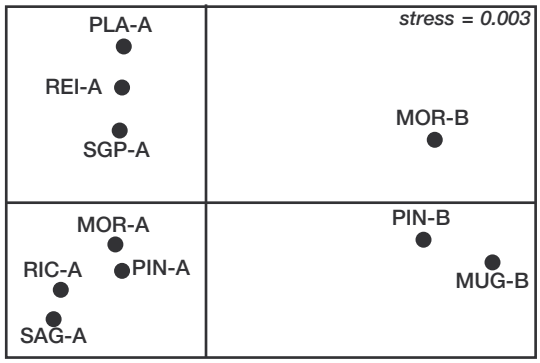


Fig. 3 – *O bicornis.* Ordinamento effettuato con il multidimensional scaling basato sulle distanze genetiche di Nei (1978). Popolazioni appartenenti al morfotipo A: MOR-A, PIN-A, PLA-A, REI-A, RIC-A, SAG-A, SGP-A. Popolazioni appartenenti al morfotipo B: MOR-B, MUG-B, PIN-B. Vedi la Fig. 1 per le abbreviazioni delle popolazioni (i suffissi -A e -B. indicano i due morfotipi).

O. bicornis. *Multidimensional scaling plot of Nei's (1978) genetic distances. Populations of morphotype A: MOR-A, PIN-A, PLA-A, REI-A, RIC-A, SAG-A, SGP-A. Populations of morphotype B: MOR-B, MUG-B, PIN-B. See Fig. 1 for explanation of population abbreviations (suffixes -A and -B indicate the two morphotypes.*

Conclusioni

Uno dei risultati che emerge dal presente lavoro è che il numero di filamenti branchiali e quello di papille perianali non possono essere considerati caratteri tassonomici validi per la determinazione di specie appartenenti al genere *Ophelia*, a causa della loro estrema variabilità. La sistematica del genere *Ophelia* dovrebbe essere quindi basata sul numero di nefridiopori, confermando quanto affermato da Pilato *et al.* (1978). Questi Autori hanno assegnato gli individui con sei paia di nefridiopori alla specie *O. bicornis* ed elevato al rango di specie la varietà *barquii* di *O. radiata* (da nominarsi quindi *Ophelia barquii*), caratterizzata da individui con cinque paia di nefridiopori. Le differenze morfologiche riscontrate per tale carattere possiedono infatti una solida base genetica. Ricerche future mireranno a chiarire la presenza degli individui asimmetrici non ascrivibili ai due morfotipi. Essi potrebbero essere infatti il prodotto di fenomeni ibridazione tra le due specie e/o derivare da plasticità fenotipica legata alle condizioni ambientali locali.

Considerando le popolazioni di *O. bicornis*, il grado di isolamento rilevato, che si fa più accentuato fra le popolazioni sarde e quelle corse, suggerisce che il potenziale di dispersione delle larve non riesca a fornire flusso genico sufficiente per garantire omogeneità tra le popolazioni del complesso sardo-corso. La divergenza tra popolazioni corse e sarde potrebbe essere dovuta alle condizioni idrografiche dello Stretto di Bonifacio, che, a causa delle note correnti, potrebbe agire da barriera alla dispersione in direzione nord-sud. La divergenza più lieve rilevata tra le popolazioni nell'ambito di ciascuna isola potrebbe essere invece dovuta a diversi fattori, non esclusivi tra loro, quali la selezione naturale a livello di reclutamento, la presenza di barriere al flusso genico non evidenti, o fenomeni di filopatria larvale.

Un possibile scenario vede quindi nell'area di studio considerata la presenza di due specie: *O. bicornis sensu stricto*, più generalista, caratterizzata da individui con 6 paia di nefridiopori e *O. barquii*, più specialista, caratterizzata da individui con 5 paia di nefridiopori. La prima specie è stata da noi rilevata in tutti i siti analizzati. Si ritiene che la seconda, essendo stata rilevata solamente a MUG, PIN e MOR, abbia esigenze ambientali particolari. Questi siti potrebbero essere caratterizzati da peculiari condizioni ambientali (il cui studio non rientrava tra gli obiettivi del presente lavoro) favorevoli alla presenza di *O. barquii*. Un'altra possibilità per spiegare la diversa frequenza di rilevamento di individui appartenenti alle due specie potrebbe essere legata a ciclicità stagionale delle densità delle popolazioni. I risultati del presente lavoro aprono interessanti prospettive per proseguire gli studi sull'ecologia delle popolazioni di queste specie che si rendono necessari per verificare le ipotesi formulate.

Summary

An investigation on morphological and genetic variability has been carried out on individuals of genus *Ophelia* (Poychaeta, Opheliidae). In Summer 2001 sixty individuals from each sample were collected in the intertidal belt of sandy beaches of Sardinian and Corsican coasts from eight different localities. The morphological characters considered in the present study were the number of gills and nephridiopores on both sides of the animal and the number of perianal papillae. Gills were 11 to 15; nephridiopores were 5 and 6 (although some cases of asymmetry were observed, along with few individuals bearing 3, 4 or 7 nephridiopores); perianal papillae were 10 to 21 (exceptionally, were observed 5, 8 or 9 papillae). The number of gills and the number of perianal papillae were not considered further due to their great variability. Two different morphotypes were characterised on the basis of the number of nephridiopores: morphotype A (individuals bearing 6 pairs) and morphotype B (5 pairs). Thus, mixed samples were divided into subsamples according to these morphotypes. Genetic diversity analyses were carried out by means of allozyme electrophoresis at 10 loci. Observed and expected heterozygosity values ranged from: $H_o = 0.103 \pm 0.036$ to 0.191 ± 0.062 and $H_e = 0.136 \pm 0.052$ to 0.249 ± 0.071, respectively (morphotype A); $H_o = 0.090 \pm 0.042$ to 0.149 ± 0.023 and $H_e = 0.128 \pm 0.062$ to 0.239 ± 0.041, respectively (morphotype B). Permutation tests and the positive average value of the inbreeding coefficient showed significant departures from Hardy-Weinberg equilibrium, due to a deficit of heterozygote individuals. Coancestry coefficient ($F_{ST} = 0.136 \pm 0.091$, $P < 0.001$ by a permutation test, for morphotype A; $F_{ST} = 0.083 \pm 0.023$, $P < 0.001$ by a permutation test, for morphotype B) showed high levels of genetic divergence among populations. Genetic distance showed very high values when calculated on pairs of populations belonging to different morphotypes. The multidimensional scaling based on genetic distances showed such a high separation, and also highlighted a degree of isolation between Sardinian and Corsican populations within the morphotype A.

In conclusion, morphological and genetic data showed a high degree of both within- and between-sample variability. The degree of differentiation detected has been interpreted on the basis of the presence of different species in sympatry (*Ophelia bicornis* and *O. barquii*), with the possible occurrence of hybrids. Each species is also characterised by unexpectedly high levels of population differentiation, despite its high potential for dispersal. The effects of selection related to local features of habitats may account for this. The current regime of the Strait of Bonifacio may constitute a barrier to gene flow producing further isolation between Sardinian and Corsican populations.

Ringraziamenti

Un ringraziamento speciale va a J. Canas, N. Canas, L. Cubeddu e G. Sanna per la loro ospitalità, il loro aiuto e consiglio durante la campagna di campionamento; desideriamo ringraziare inoltre G. Calvisi, G. Dalu, G. Delitala, G. Foddai, A. Pinna, D. Pinna, A. Spada e L. Vargiu per il loro aiuto nel reperimento dei campioni.

Bibliografia

BELLAN G. (1961) - Contribution a l'ètude de l'Annèlide Polychète *Ophelia bicornis* Savigny 1820. *Rapp. et P.V. XVI. C.I.E.S.M.M.*, **2**: 533-550.

CABIOCH L., L'HARDY J.P., RULLIER F. (1968) - Inventaire de la faune marine de Roscoff. *Annelides.Trav.Stat. Biol. Roscoff, Nov. Ser.*, **17**: 3-95.

CANTONE G., COSTA G. (1975) - Variabilità nel numero delle branchie, delle papille perianali e delle papille rettali in una popolazione di *Ophelia bicornis* Savigny delle coste orientali della Sicilia (Annelida Polychaeta). *Pubbl. Staz. Napoli*, **39 (**Suppl): 22-36.

FASSARI G. (1998) - Censimento dei policheti dei mari italiani Opheliidae Malmgren, 1867. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem., Serie B,* **105**: 45-49.

FAUVEL P. (1927) - Polychètes sèdentaries. *Faune de France*, **16**: 1-494.

FRESU L., CASTELLI A., CASU M., LARDICCI C., MALTAGLIATI F. (2000) - Analisi della struttura genetica e del flusso genico in *Ophelia bicornis* (Polychaeta, Opheliidae). *Biol. Mar. Medit.*, **7**: 683-685.

GIORDANI-SOIKA A., SANDRINI R. (1958) – Biogeografia, origine ed evoluzione delle popolazioni mediterranee di *Ophelia radiata* D.C. (Annelida: Polychaeta). *Rapp. Et P.V. XIV C.I.E.S.M.M.,* **14**: 461-484.

GOUDET J. (2001) - FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.

GUILLER A., BELLIDO A., MADEC L. (1998) - Genetic distances and ordination: the land snail *Helix aspersa* in north africa as a test case. S*yst. Biol.*, **47**: 208-227.

GUO S.W., THOMPSON E.A. (1992) - Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, **48**: 361-372.

HARRIS T. (1991) - Some aspects of the specific habitat requirements of *Ophelia bicornis* (Polychaeta). *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **77**: 771-786.

NEI M. (1978) - Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.

PASTEUR N. PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J., BRITTON-DAVIDIAN J. (1987) - Manuel de génétique par électrophorèse des protéines. *Paris: Lavoisier*.

PILATO G., BELCASTRO G., CASSIGRA R. (1978) - Il valore specifico di *Ophelia barquii* Fauvel, 1927 (Annelida, Polychaeta). *Animalia*, **1/3**: 395-403.

RAYMOND M., ROUSSET F. (1995) - GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, **86**: 248-249.

ROGERS D.J., TANIMOTO T.T. (1960) - A computer program for classifying plants. *Science*, **132**: 1115-1118.

STATSOFT (1995) - Statistica for Windows (ver, 5.0) User's manual, STATSOFT inc., Tulsa, Oklahoma.

THORPE J.P., SOLÈ-CAVA A.M. (1994) - The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. *Zool. Scr.*, **23**: 3-18.

WEIR B.S., COCKERHAM C.C. (1984) - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

WILSON D.P. (1948) - The relation of the substratum to the metamorphosis of *Ophelia* larvae. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **27**: 723-760.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 67-69

C. Cardinale, S. Di Lorenzo, M. Milazzo, R. Chemello

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

LA DISTRIBUZIONE A MEDIA SCALA DEI MOLLUSCHI DELLE ALGHE FOTOFILE: UN CASO DI "COSTAFILIA INVERSA" ?

MID-RANGE DISTRIBUTION OF PHYTAL MOLLUSCS: A CASE OF INVERSE COSTAPHYLY ?

Abstract

The mid-range distribution of phytal Molluscs was investigated using infralittoral samples collected between –1 and –10 m on Cystoseira*-dominated assemblages. The results highlight an inverse costaphyly, a trend to have more species and higher biodiversity on island than on the continental coasts.*

Key-words: *distribution, Mollusc, Sicily, Mediterranean.*

Introduzione

Gli effetti dell'influenza dell'insularità sulla biodiversità dei popolamenti animali e vegetali sono stati valutati soprattutto in ambiente terrestre mentre mancano verifiche sperimentali nell'ambiente marino condotte a media scala. Diversi esperimenti (Schoener, 1974; Koukouras *et al*., 1996) a piccola scala hanno dimostrato la validità degli assunti di MacArthur e Wilson (1967) relativi all'importanza della dimensione delle "isole" ed alla loro distanza dalla sorgente di propagali come fattori fondamentali per la colonizzazione.

Solo di recente, per i gasteropodi o nudibranchi, è stata descritta la costafilia, la tendenza a mantenere un numero più elevato di specie sulle coste continentali che sulle isole, dovuta alle strategie larvali delle specie, alle dimensioni delle isole e dalla loro distanza dal continente (Cattaneo *et al*., 1996).

Lo scopo del presente lavoro è di verificare se una simile caratteristica è propria dell'intera malacofauna o se è limitata ai soli nudibranchi.

Materiali e metodi

E' stata utilizzata una serie omogenea di campioni provenienti da 4 siti localizzati sia lungo le coste siciliane (i campioni "continentali": Isola delle Femmine-Capo Gallo) sia lungo le coste di isole distanti dalla terra ferma come Linosa, Lampedusa ed Ustica (Fig. 1).

I campionamenti, tutti svolti nel periodo primavera-estate, sono stati effettuati utilizzando il metodo "sorbona-grattaggio-sorbona" (Chemello e Russo, 1997) lungo tre transetti per sito, in tre repliche per campione, tra –1 e –10 metri, in popolamenti dominati da *Cystoseira* spp.

I dati per sito sono stati ordinati mediante l'analisi fattoriale delle corrispondenze.

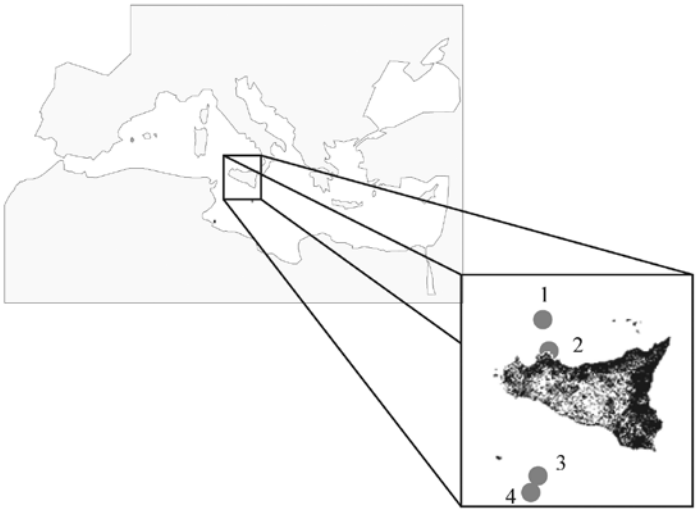


Fig. 1 – La distribuzione dei siti di campionamento. I numeri si riferiscono a: 1 - Ustica; 2 - Capo Gallo-Isola delle Femmine; 3 - Linosa; 4 - Lampedusa.
The distribution of sampling sites. The numbers are referred to: 1 - Ustica; 2 - Capo Gallo-Isola delle Femmine; 3 - Linosa; 4 - Lampedusa.

Risultati

L'analisi dei dati di ricchezza e di abbondanza specifica evidenzia una maggiore consistenza dei popolamenti dei molluschi fitali per le isole rispetto ai popolamenti del "continente". Ustica (S=113, N=1694) e Lampedusa (S=73; N=755) posseggono i valori più elevati delle due variabili mentre Capo Gallo (S=65; N=259) e Linosa (S=59, N=429) i valori più bassi. Il rapporto tra specie unitopiche e specie totali è, inoltre, più elevato a Ustica (38,05) e Lampedusa (10,96) rispetto al sito di Capo Gallo (6,15) e Linosa (8,47).

Nell'analisi delle corrispondenze i siti si distribuiscono lungo il primo asse secondo la dicotomia isola -"continente" mentre sul secondo asse è evidente un gradiente tra Tirreno e Canale di Sicilia. La distanza tra le Pelagie e le coste Africane (tra 150 e 204 Km) e la distanza tra Ustica e la terraferma, compresa tra 65 (Capo Gallo) e 135 Km (Isole Egadi) potrebbe spiegare le differenze in numero di specie tra le diverse isole. Le differenze nelle abbondanze specifiche potrebbero essere, invece, da mettere in relazione alla diversa complessità algale tra i siti (Chemello e Milazzo, 2002).

Conclusioni

Questi risultati potrebbero far supporre l'esistenza di una costafilia inversa dei popolamenti fitali, con un maggior numero di specie – ed una maggiore biodiversità – per le isole rispetto alle coste "continentali" siciliane. Una minore importanza sembrano, invece, possedere i fattori biogeografici in quanto le differenze tra popolamenti

sono legate più al riassetto della struttura delle comunità che ad una reale sostituzione di specie.

I risultati, preliminari rispetto anche alla scala spaziale esaminata, andrebbero confermati valutando la consistenza dei popolamenti fitali presenti in aree realmente continentali e pesando la ricchezza e l'abbondanza specifica della malacofauna dei diversi siti rispetto alla variabilità strutturale del substrato algale.

Bibliografia

CATTANEO-VIETTI R., CERRANO C., BAVESTRELLO G. (1996) – Possible costaphyly in Opistobranch. *Adaptation strategies of Marine Organism,* Abstract of oral presentation, St. Petersburg, **13**.

CHEMELLO R., MILAZZO M. (2002) – Effect of algal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology*, **140**: 981-990.

CHEMELLO R., RUSSO G.F. (1997) – The molluscan taxocoene of photophilic algae from the island of Lampedusa (Strait of Sicily, southern Mediterranean). *Boll. Malac.*, Roma, **33** (5-8): 95-104.

KOUKOURAS A., RUSSO A., VOULTSIADOU-KOUKOURA E., ARVANITIDIS C., STEFANIDOU D. (1996) – Macrofauna asssociated with sponge species of different morphology. *P.S.Z.N.I.: Marine Ecology*, **17** (4): 569-582.

MACARTHUR R.H., WILSON E.O. (1967) – *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, Princeton N.Y.: 203 pp.

SCHOENER A. (1974) – Experimental zoogeography: colonization of marine mini-islands. *Am. Nat.*, **108**: 715-738.

Ricerca finanziata dal MURST (ex-60%) Chemello.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 70-72

M. Casu, M. Curini-Galletti, G. Oggiano, G. Vargiu, M. Cubeddu, A.R. Correddu, P. Cossu

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.

INSULARITÀ E ENDEMISMO: IL CASO DEI PLATELMINTI INTERSTIZIALI

INSULARITY AND ENDEMISM: INTERSTITIAL PLATYHELMINTHES AS A TEST CASE

Abstract

A study of the interstitial Platyhelminthes, Gyratrix hermaphroditus *(Ehrenberg, 1831) (Kaliptorhynchia),* Pseudomonocelis ophiocephala *(Schmidt, 1861) e* Monocelis lineata *(O.F. Müller, 1774) (Proseriata), of the Corsican-Sardinian complex has been undertaken with the aim to evaluate the effect of insularity on the genetic structure of species lacking any means of dispersal. The results obtained show the presence of 1) a widespread occurrence of sibling species in interstitial taxa and 2) strong genetic structuring, in many cases with the presence of insular endemism. Our findings reflect the inadequate state of our knowledge of marine biodiversity.*

Key-words: *Platyhelminthes, islands, marine biodiversity, sibling species, endemism.*

Introduzione

I Platelminti interstiziali marini, a causa della mancanza di fasi dispersive, della ridottissima vagilità degli adulti e dell'habitat ristretto, sono in grado di percepire l'esistenza di barriere, sia fisiche che ecologiche, ad una scala più fine della maggior parte degli organismi della macrofauna. E' possibile inoltre ipotizzare che tale fenomeno sia particolarmente marcato in organismi confinati in habitat superficiali o salmastri, per i quali la colonizzazione di ambienti insulari può risultare particolarmente problematica.

A tal fine, è stata investigata la struttura morfologica e genetica di *taxa* di Platelminti interstiziali marini e di ambienti salmastri (Kalyptorhynchia e Proseriata) tra il complesso sardo-corso e il continente.

Materiali e metodi

Campioni di *Gyratrix hermaphroditus* e *Pseudomonocelis ophiocephala* sono stati raccolti in località costiere del Mar Mediterraneo. Campioni di *Monocelis lineata* provengono tanto da ambienti salmastri mediterranei e atlantici che da stazioni a normale salinità.

Più di 300 individui di *G. hermaphroditus* sono stati studiati a livello morfologico e cariologico. 16 campioni di *P. ophiocephala* e 15 campioni di *M. lineata* sono stati sottoposti ad analisi genetiche mediante l'elettroforesi degli alloenzimi, usando rispettivamente 17 e 7 sistemi enzimatici. Come indice di variabilità genetica tra le popolazioni sono state calcolate le distanze genetiche di Nei (1978) e Rogers (1972).

Risultati

Le analisi cariologiche e morfologiche hanno evidenziato la presenza di almeno 10 siblings di *Gyratrix hermaphroditus* nel Mediterraneo. Di esse, quattro appaiono

ristrette al complesso sardo-corso. Tra le siblings esclusive del complesso è da segnalare la presenza di 2 specie con assetto cromosomico n=2 derivato dall'assetto di base del gruppo tramite fusione centrica (Fig. 1).

Le analisi elettroforetiche hanno evidenziato l'esistenza nel Mediterraneo di almeno quattro siblings di *Pseudomonocelis ophiocephala*, di cui una ristretta al complesso sardo-corso e all'isola d'Elba. Situazione analoga è stata riscontrata per *Monocelis lineata*, composta almeno da sei siblings, di cui due note solo per stazioni del complesso (Fig. 2).

Conclusioni

I nostri risultati evidenziano 1) la notevole rilevanza del fenomeno delle sibling species tra i Platelminti interstiziali e 2) l'importanza dell'effetto dell'insularità all'interno degli organismi studiati. La presenza di almeno quattro siblings esclusive di *Gyratrix hermaphroditus*, due delle quali con un'evoluzione cariologica avvenuta tramite meccanismi di fusione Robertsoniana non riscontrata altrove nel Mediterraneo, suggerisce che lo species-group abbia subito una vera e propria radiazione nell'area sardo-corsa. Per quanto riguarda i taxa di Proseriata, in entrambi i casi sono stati riscontrati endemismi sardo-corsi, nonché il differenziamento delle popolazioni insulari di specie ad ampia diffusione in Mediterraneo e Atlantico.

I dati da noi ottenuti riflettono l'inadeguatezza delle attuali conoscenze del contributo alla biodiversità marina della meiofauna. La considerazione che alla categoria dimensionale comparabile alla meiofauna corrisponda il massimo di ricchezza specifica in ambiente terrestre (Siemann *et al.*, 1996) suggerisce che le stime attuali della biodiversità marina siano basate su dati non rappresentativi e, come tali, necessitino di attenta rivalutazione.

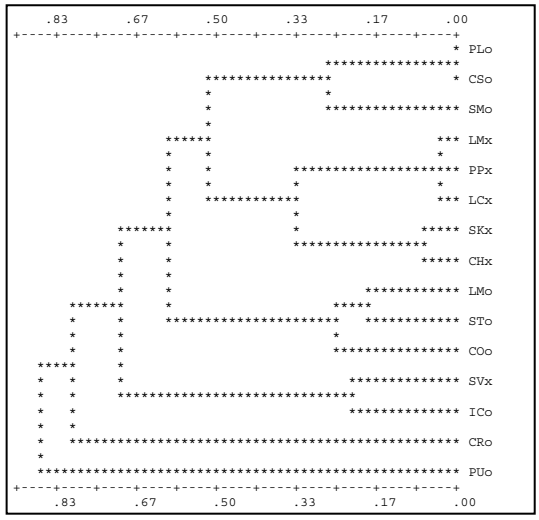


Fig. 1 - Idiogramma, piastra metafasica spermatogoniale e strutture sclerotizzate dell'organo copulatore in siblings di *G. hermaphroditus* con assetto basico (A) e assetto derivato (B).

Idiogram, spermatogonial metaphase plate and sclerotized structures of the copulatory organ in siblings with basic (A) and derived set (B) of the G. hermaphroditus *complex.*

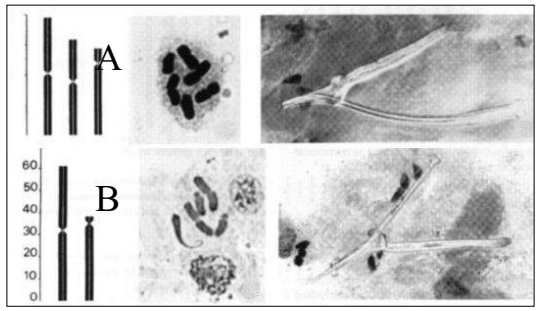


Fig. 2 - Albero UPGMA di *M. lineata* sulla base delle distanze genetiche di Rogers (1972). Sardegna: CL= Cala Rossa, CO=Colostrai, CS=Casaraccio, LC=La Ciaccia, LM=La Marinella, PL=Pilo, PP=Porto Pozzo, PU= Porto Puddu; Penisola italiana: SM=Santa Marinella, ST=Strea; Grecia: CH=Charaki, SK=Skopelos; Atlantico: IC=Keflavik (Islanda), SV=Kristineberg (Svezia).

UPGMA cluster of M. lineata *based on Rogers genetic distances (1972). Sardinia: CL= Cala Rossa, CO=Colostrai, CS=Casaraccio, LC=La Ciaccia, LM=La Marinella, PL=Pilo, PP=Porto Pozzo, PU= Porto Puddu; Italian peninsula: SM=Santa Marinella, ST=Strea; Greece: CH=Charaki, SK=Skopelos; Atlantic Ocean: IC=Keflavik (Iceland), SV= Kristineberg (Sveden).*

Bibliografia

NEI M. (1978) – Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.

ROGERS J.S. (1972) – Measures of genetic similarity and genetic distance. *Stud. Genet., Univ. Tex. Publ.*, **7213**: 145-153.

SIEMANN E., TILMAN D., HAARSTAD J. (1996) – Insect species diversity, abundance and body size relationships. *Nature*, **380**: 704-706.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 73-75

F. Costantini, F. Tinti, M. Abbiati

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali in Ravenna, Università di Bologna,
Via Tombesi dall'Ova, 55 - 48100 Ravenna, Italia.
hyppocampus75@libero.it

SISTEMATICA MOLECOLARE E FILOGENESI DI *CORALLIUM RUBRUM*

MOLECULAR SYSTEMATIC AND PHYLOGENESIS OF CORALLIUM RUBRUM

Abstract

Four Mediterranean population of red coral was characterized using molecular analysis. We used two mtDNA molecular marker (16S and COI). The sequences obtained suggest a very close relation between Corallium *and* Paragorgia *gender.* Corallium rubrum *has a molecular evolution rate 4-10 times slower than the 'standard' clock observed in many others marine species.*

Key-words: Corallium rubrum, *phylogeny, taxonomy, Mediterranean Sea*.

Introduzione

Il corallo rosso (*Corallium rubrum,* Linnaeus 1758) è una specie endemica del Mar Mediterraneo con un'ampia distribuzione batimetrica compresa tra i –10 e i –200 m e caratteristica degli ambienti delle grotte e falesie semioscure (Laborel e Vacelot, 1961). Attualmente questa specie rappresenta una fonte di lavoro e di ricchezza per diverse comunità mediterranee. L'intenso sfruttamento della risorsa ha fatto sorgere negli ultimi anni, a livello internazionale, una seria preoccupazione relativa alla gestione sostenibile degli stocks ed alla conservazione della specie. A questo proposito risulta fondamentale approfondire ed incrementare attraverso studi di tipo genetico-molecolare le attuali conoscenze biologiche ed ecologiche di questa risorsa. A tutt'oggi non si hanno dati circa la caratterizzazione di marcatori molecolari utili allo studio del corallo rosso.

Scopo dell'indagine è stato quello di caratterizzare due marcatori di sequenza corrispondenti a porzioni del DNA mitocondriale: il gene codificante per la subunità maggiore (16S) dell'RNA ribosomale e il gene codificante per la subunità I dell'enzima citocromo ossidasi (COI). Attraverso la comparazione delle sequenze è stata analizzata, su base molecolare, la posizione sistematica del corallo ed i suoi rapporti filogenetici con altri taxa di Antozoi.

Materiali e metodi

Per l'analisi sono stati utilizzati 4 popolamenti di corallo rosso del Mediterraneo distribuiti lungo le coste spagnole, francesi e italiane. Mediante immersioni con autorespiratore ad aria (ARA) sono state prelevate circa 30 colonie che sono state conservate in etanolo 80% a 4°C. Il DNA genomico totale è stato estratto da 2-4 polipi appartenenti alla stessa colonia attraverso il protocollo CTAB (Winnepennickx *et al*., 1993). I prodotti di PCR sono stati sequenziati con l'utilizzo di un sequenziatore automizzato (ABIPrism 310). Le distanze genetiche tra i taxa sono state calcolate utilizzando il modello Kimura-2- parametri (D_{K2P}, Kimura, 1980). L'analisi filogenetica è stata condotta con i metodi Neighbor-joining (NJ), maximum parsimony (MP) e maximum likelihood (ML) usando il programma PHYLIP 3.57c. Il supporto statistico alla topologia

degli alberi filogenetici è stato ottenuto mediante il test bootstrap (Felsenstein, 1985) con 1000 (NJ, MP) o 100 (ML) repliche.

Risultati

Per entrambi i marcatori le sequenze sono risultate identiche in tutti i popolamenti e con una lunghezza pari a 292 pb per il 16S (N. Acc. in GenBank AF310259) e di 437 pb per il COI (N. Acc. in GenBank AF310260). In entrambi gli allineamenti è evidente l'elevata similitudine nucleotidica tra il corallo rosso e le altre specie pacifiche di *Corallium* e *Paragorgia.*

La maggior parte dei dendrogrammi (Fig. 1) ha confermato l'affinità filogenetica di *C. rubrum* con le altre specie di Corallidae e Paragorgiidae. Quest'osservazione è basata sulla formazione di un cluster tra le specie delle due famiglie che risulta ben supportato da alti valori di bootstrap nella maggior parte dei dendrogrammi. Solo per il dendrogramma 16S MP il corallo rosso si raggruppa con la specie *Acanella arbuscula.* I valori di distanza genetica tra Corallidae e Paragorgiidae sono compresi tra 0.0297 e 0.0426 per il 16S e tra 0.0120 e 0.0362 per il gene COI.

Basandoci su una datazione paleogeografica della speciazione del corallo tra i 5 e i 18 Ma (quando cioè si ebbe la chiusura del Mar Mediterraneo nei pressi dell'attuale stretto di Gibilterra), le stime di divergenza genetica ottenute sia per il gene 16S che per il gene COI tra *C. rubrum* e le altre specie di *Corallium* pacifiche corrispondono ad

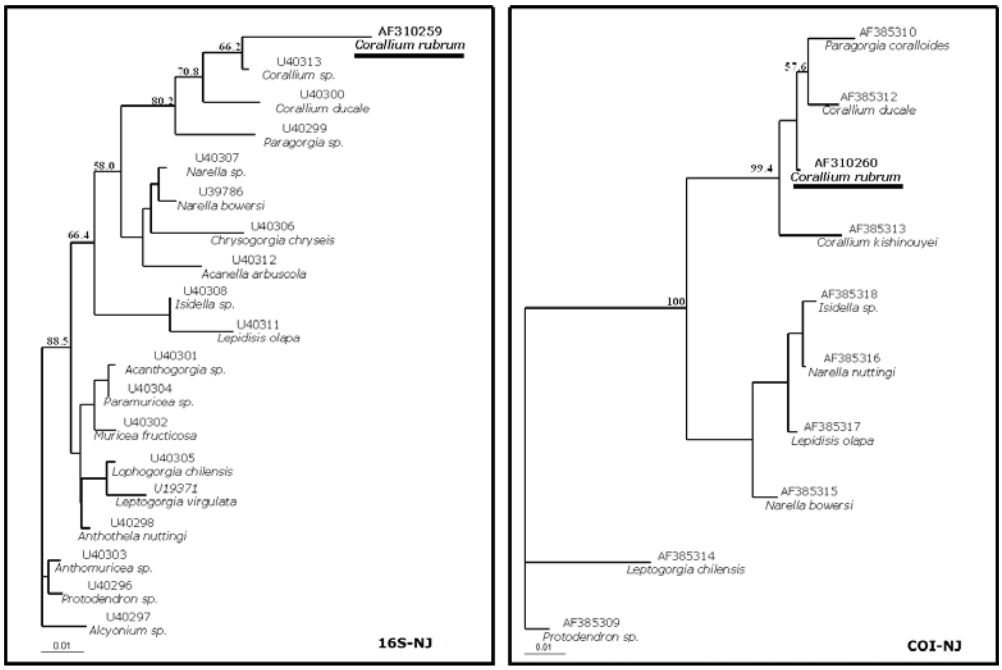


Fig. 1 - Dendogrammi NJ per il gene 16S e per il gene COI illustranti i rapporti filogenetici tra *Corallium rubrum* ed altre specie di Antozoi.

NJ phylogenetic trees for the 16S and COI genes showing genetic relationships between Corallium rubrum *and different Anthozoa's species.*

un tasso di evoluzione dei due geni assai più basso (0,25 - 054% Ma^{-1}) rispetto a quello tipicamente esibito da geni omologhi in altri organismi (2% Ma^{-1}).

Conclusioni

L'analisi comparativa della variabilità nucleotidica e la stima dei rapporti filogenetici basati sulla variazione molecolare dei geni mitocondriali 16S rDNA e COI supportano la notevole affinità sistematica di *Corallium. rubrum* con le specie dello stesso genere dell'Oceano Pacifico: *C. ducale*, *C. kishinouyei*, *Corallium* sp. nonchè con due specie del genere *Paragorgia*. L'affinità molecolare tra i generi *Corallium* e *Paragorgia* conferma i precedenti studi di France *et al*. (1996) e Bernston *et al*. (2001), che suggeriscono un elevato grado di affinità filogenetica fra le specie appartenenti a questi due generi. La stima dei tassi di evoluzione molecolare in *C. rubrum* dei due geni risulta verosimilmente 4-10 volte più bassa del tasso "standard" e del tutto simile a quella ottenuta per altri geni mitocondriali (cyt b, Van Oppen *et al.,* 1999) di Antozoi del genere *Acropora*. Il rallentamento del tasso di evoluzione sembra essere correlato all'azione di una proteina mitocondriale (MHS) legata a fenomeni di riparazione degli errori di replicazione di questo genoma (Pont-Kingdon *et al*., 1998). I dati ottenuti nel corso di questo studio rappresentano un punto di partenza per la caratterizzazione molecolare di *Corallium rubrum,* sul quale si potranno basare successive ricerche finalizzate alla gestione sostenibile e alla conservazione della risorsa nel Mar Mediterraneo.

Bibliografia

BERNSTON E.A., BAYER F.M., MCARTHUR A.G., FRANCE S.C. (2001) - Phylogenetic relationships within the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on nuclear 18S rRNA sequences. *Mar. Biol.,* **138**: 235-246.

FELSENSTEIN J. (1985) - Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evol.,* **39**: 783-791.

FRANCE S.C., ROSEL P.E., AGENBROAD J.E., MULLINEAUX L.S., KOCHER T.D. (1996) - DNA sequence variation of mitochondrial large-subunit rRNA provides support for a two-subclass organization of the Anthozoa (Cnidaria). *Mol. Mar. Bio. Biotechnol.,* **15**: 15-28.

KIMURA M. (1980) - A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions trough comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Ev*ol., **16**: 111-120.

LABOREL J., VACELET J. (1961) - Répartition bionomique du *Corallium rubrum* dans les grottes et falaises sous marines. *Rapp. P. V Reun. Com. Int. Explor. Scient. Mer Medit.,* **16**: 465-469.

PONT-KINGDON G., OKADA N.A., MACFARLANE J.L., BEAGLEY C.T., WATKINSSIMS C.D., CAVALIERSMITH T., CLARKWALKER G.D., WOLSTENHOLME D.R. (1998) - Mitochondrial-DNA of the coral *Sarcophyton glaucum* contains a gene for a homolog of bacterial muts - a possible case of gene-transfer from the nucleus to the mitochondrion. *J. Mol. Evol*., **46**: 419-431.

VAN OPPEN M.J.H., WILLIS B.L., MILLER D.J. (1999) - Atypically low rate of cytocrome b evolution in the scleractinian coral genus *Acropora*. *Proc. R. Soc. Lond.,* **266**: 179-183

WINNEPENNICKX B., BACKELJAU T., DE WACHTER R. (1993) - Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genet.,* **9**: 407.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 76-79

A.M. De Biasi, F. Gai, L. Pacciardi

Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata
Viale N. Sauro, 4 - 57127 Livorno, Italia.

BIODIVERSITÀ DEL POPOLAMENTO BENTONICO DEI "*CATINI*" DELLE SECCHE DELLA MELORIA

BIODIVERSITY OF BENTHIC ASSEMBLAGES IN THE "CATINI" *OF THE MELORIA SHOALS*

Abstract

Biodiversity of benthos was invesigated in three "catini"*, peculiar rocky pools, of the Meloria Shoals during Summer 2000. Species richness was high in all the study sites. Hypotheses about the role of body-size of macro and meiobenthic species and the environmental heterogeneity of the Shoals are proposed.*

Key-words*: biodiversity, benthos, Meloria Shoals.*

Introduzione

La corrente letteratura ecologica è ricca di discussioni sull'importanza ed il ruolo della biodiversità nel funzionamento degli ecosistemi ecologici (Ghilarov, 2000). Il crescente interesse verso questo concetto è legato anche al fatto che la diversità è spesso utilizzata come variabile per definire lo stato di salute dell'ambiente attirando così l'attenzione persino dell'opinione pubblica e dei politici. Il Mediterraneo, a fronte di una superficie pari allo 0,8% dell'Oceano mondiale, mostra una biodiversità paradossalmente elevata (Bianchi e Morri, 2000). In questo lavoro si riportano i risultati di uno studio condotto nelle Secche della Meloria (Mar Ligure Meridionale) le cui caratteristiche sembrano ben sostenere tale opinione.

Peculiari depressioni pseudocircolari chiamate catini caratterizzano tali Secche e le vicine Secche di Vada. Sul fondo di queste strutture è presente un sedimento mobile costituito da sabbie carbonatiche grossolane di origine organogena. Il popolamento bentonico presente è molto ricco in specie come emerso da uno studio sulla meiofauna che ha portato al ritrovamento di specie rare o nuove per la scienza (Todaro e Kristensen, 1998). Esso, tuttavia, è poco noto ed è stato investigato quasi esclusivamente da un punto di vista qualitativo (Bacci *et al.*, 1969; De Biasi e Gai, 2000). I risultati riportati in questo lavoro sono emersi da uno studio quantitativo condotto in tre differenti catini.

Materiali e metodi

Il campionamento è stato svolto nell'estate del 2000. Il sedimento è stato prelevato da superfici standard (30×40 cm) per un volume di 4 litri tramite immersione subacquea. In ognuno dei tre catini sono state effettuate 5 repliche. Il campione è stato setacciato su maglia 0,5 mm e gli organismi rinvenuti sono stati conservati, separatamente per ogni replica, in formalina al 5%, separati per grandi *taxa* ed identificati quando possibile a livello di specie. L'analisi strutturale è stata condotta attraverso il computo della ricchezza specifica di Margalef. I dati di abbondanza sono stati trattati

mediante tecniche di analisi univariate: la procedura Simper ha consentito di calcolare le percentuali di dissimilarità tra catini e le specie che maggiormente contribuiscono a tali percentuali; l'analisi one-way Anosim ha permesso di verificare statisticamente le suddette differenze (Clarke e Warwick, 1994).

Tab. 1 - Differenze (<0>) tra le abbondanze medie delle specie che contribuiscono alla dissimilarità tra i tre catini (cut-off 70%).
Differences (<0>) in average abundances of species that mostly contribute to dissimilarities between catini (cut-off 70%).

	Catino 1		**Catino 2**		**Catino 3**
Amphiura sp.			1,2	<	65,4
Anapagurus sp.	2,6	>			0,4
Arcidea cerrutii Laubier, 1966	0,2	<	9,2	>	1,8
Aspidosiphon muelleri Diesing, 1851	11,4	>	3,6	>	0,4
Bullomorpha n.c	7,6	>	1,4	<	4,4
Caecum clarkii Carpenter, 1858	2,2				
Caecum trachea (Montagu, 1803)					4,4
Caprella lilliput Krapp-Schickel e Ruffo, 1987	0,2	<	22,8	<	55
Chrysallida sp.	2,2				
Cyprideis torosa (Jones, 1850)	18,6	>	0,8	<	1,2
Eurysyllis tuberculata Ehlers, 1864					1,6
Halacarus sp.	1,2	<	2,6	>	1,4
Idunella nana Schiecke, 1973			0,2	<	7,4
Leptochelia savignyi (KrØyer, 1842)	2,6	>	0,2		0,2
Nerilla antennata O. Schmidt 1848					8,8
Oligochaeta n.c.			2,8	>	1
Ophiodromus pallidus (Claparède, 1864)	3,8	<	21	>	18,6
Ostracoda n.c.	0,6	>	0,4	<	4,8
Pisione remota (Southern, 1914)	0,6	<	4,2	>	0,2
Plathyhelminthes n.c.	5,2	<	8,4	>	5,2
Polyophtalmus pictus juv (Dujarding, 1939)	117,8	>	9,2	>	2,2
Protodorvillea kefersteini (Mc Intosh, 1879)	0,6	<	2,4	>	0,4
Protodrilus sp.	0,2	<	51	>	30,6
Saccocirrus papillocerus Bobretzkty, 1871			6,6	<	48,4
Sphaerosyllis taylori Perkins, 1981			0,4	<	1,6
Spisula subtruncata (Da Costa, 1778)	10,8	<	23		
Stenothoe elachista Krapp-Schickel, 1976	0,8	<	18	<	155

Risultati

Dal campionamento effettuato sono stati classificati 7109 individui appartenenti a 107 specie (o *taxa*) per un totale di 9 *phyla*: Platelminti, Nemertini, Nematodi, Anellidi, Sipunculidi, Molluschi, Artropodi ed Acrani. Tra gli Artropodi sono stati rinvenuti Ostracodi, Copepodi ed Acari che, con i Nematodi, sono tipicamente ascritti al meiobenthos. Dall'analisi dei parametri strutturali l'indice di ricchezza specifica, ottenuto mediando le 5 repliche, è risultato piuttosto elevato (Margalef, 1972): catino 1 $D=4{,}666\pm1{,}01$; catino 2 $D=4{,}186\pm1{,}16$; catino 3 $D=4{,}648\pm0{,}04$.

Da un punto di vista compositivo le differenze maggiori sono state calcolate tra i catini 1 *vs* 3 ($\sigma=83{,}29\%$). Le percentuali di dissimilarità media tra gli altri catini sono: cat 1 *vs* 2 $\sigma=72{,}34\%$ e cat 2 *vs* 3 $\sigma=55{,}82\%$.

Tutte le differenze sono, comunque, statisticamente significative ($p<0{,}05$) come emerso dal one-way-Anosim (Pair-wise test: cat 1 *vs* 3 $R=1$; cat 1 *vs* 2 $R=0{,}98$; cat 2 *vs* 3 $R=0{,}93$). Nella Tab. 1 sono riportate le 27 specie che contribuiscono maggiormente a tali differenze.

Conclusioni

L'indagine compositiva ha rilevato che i tre catini investigati, seppur omogenei dal punto di vista strutturale (ambiente, profondità e parametri chimico fisici), ospitano popolamenti differenti. Tutti sono colonizzati da specie macrobentoniche piccole e da specie meiobentoniche grandi, fenomeno noto come "convergenza di taglia" (Warwick, 1985). Essa comporta la presenza di organismi tipicamente ascritti al meiobenthos (Nematodi, Ostracodi, Copepodi ed Acari) nei campioni mirati alla raccolta del macrobenthos. Questa confluenza di *taxa* causa un incremento di ricchezza sia a livello specifico sia a livelli tassonomici superiori.

Si può ipotizzare che l'elevata eterogeneità ambientale tipica delle Secche della Meloria possa contribuire ad incrementare la biodiversità. È noto (De Biasi, 1998) che la Meloria, nonostante le sue limitate dimensioni, presenta un'elevata variabilità morfologica che consente l'insediamento di popolamenti diversificati. Occorre, tuttavia, sottolineare che la relazione tra ricchezza specifica e eterogeneità dell'habitat, rimane tuttora in discussione e scarsamente investigata da un punto di vista quantitativo (Gray, 2001).

Ringraziamenti

Si ringrazia il Prof. A. Castelli per la determinazione tassonomica dei policheti (Università degli studi di Pisa). Si desidera, inoltre, ringraziare il Prof. C. Lardicci (Università degli studi di Pisa) per il supporto scientifico.

Bibliografia

BACCI G., BADINO G., LODI E., ROSSI L. (1969) – Biologia delle Secche della Meloria. Prime ricerche e problemi di conservazione e di ripopolamento. *Boll. Pesca Pisc. Idrobiol.*, **24**: 5-30.

BIANCHI C. N., MORRI C. (2000) – Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problem and perspectives for future research. *Mar. Poll. Bull.*, **40** (5): 367-376.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Change in marine communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. *Natural Environment Research Council,* UK: 144 pp.

DE BIASI A.M. (1998) – Biologia delle Secche della Meloria: caratterizzazione bionomica lungo tre transetti pilota. *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 372-375.

DE BIASI A.M., GAI F. (2000) - I "catini" delle Secche della Meloria. Carta dei fondali. *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem.*, Serie B: 63-67.

GHILAROV A. (2000) - Ecosystem functioning and intrinsic value of biodiversity. *Oikos*, **2**: 408-411.

GRAY J. (2001) – Marine diversity: the paradigms in patterns of species richness examined. *Sc. Mar*., **65** (2): 41-56.

MARGALEF R. (1972) – Homage to Evelyn Hutchinson, or why is there an up limit to diversity. *Trans. Connect. Acad. Arts. Sci.*, **44**: 211-235.

TODARO M.A., KRISTENSEN R.M. (1998) - A new species and first report of the genus *Nanaloricus* (Loricifera, Nanaloricida, Nanaloricidae) from the Mediterranean Sea. *Ital. J. Zool*., **65**: 219-226.

WARWICK R.M. (1985) – The structure and dynamics of marine benthic communities. *Nova Thalassia*, **7** (3): 31-42.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 80-83

E.A. Fano, M. Mistri

Dipartimento di Biologia, Università di Ferrara, Via Luigi Borsari, 46 - 44100 Ferrara, Italia.

DIVERSITÀ SPAZIALE DELLE MACROALGHE E DEL MACROZOOBENTHOS ASSOCIATO

SPATIAL MACROALGAL DIVERSITY AND ASSOCIATED MACROBENTHOS

Abstract

The macrobenthic communities associated to macroalgal beds were studied in the Sacca di Goro (Adriatic Sea, Northern Italy). A total of 201 macroalgal beds were gathered through monthly sampling from December 1992 to December 1998. The importance of macroalgal typology in the spatial diversification offered to macrozoobenthic taxa was also assessed. A positive significant relationship was found between carrying capacity and spatial capacity. This means that both algal biomass and algal surface area are important in structuring the macrozoobenthic communities. It is hypothesized that algal biomass may be important as trophic resource and substrate for epiphytic colonizers, while algal suface area may provide refuge from predation.

Key-words*: macrozoobenthos, macroalgae, carrying capacity.*

Introduzione

Negli ambienti di transizione, negli ultimi anni, si è assistito, in risposta a modificazioni di trofia e di idrodinamismo, alla affermazione delle macroalghe pleustofitiche che spesso hanno sostituito quasi completamente le rizofite. Il macrozoobenthos ha rapidamente colonizzato tale habitat sfruttandolo dal punto di vista architettonico-spaziale (Schneider e Mann, 1991), come rifugio dalla predazione (Everett, 1994), e come fonte nutrizionale (Jernakoff *et al.*, 1996). Inoltre, la presenza a mosaico dei banchi macroalgali può incrementare la complessità dell'habitat rispetto al sedimento nudo (Norkko *et al*., 2000).

Scopo del nostro studio è quello di quali-quantificare le associazioni macrobentoniche dei banchi macroalgali mono e polispecifici, e di determinare il ruolo giocato dalla tipologia macroalgale nella diversificazione spaziale offerta agli animali colonizzatori nella Sacca di Goro, la laguna più meridionale connessa al Delta del Po, dove negli ultimi anni si è verificata appunto la sostituzione delle rizofite con macroalghe pleustofitiche (Fano *et al.*, 2000).

Materiali e metodi

Campioni di macroalghe sono stati raccolti mensilmente dal dicembre 1992 al dicembre 1998 in una stazione centrale della Sacca di Goro (Delta del Po, Mar Adriatico) mediante un retino (40 cm di bocca trascinata per 1 metro a 20 cm dal fondo con rete di maglia 490 μm). I campioni, immediatamente portati in laboratorio, sono stati analizzati per la componente vegetale e per la componente animale. Entrambe sono state determinate, e delle macroalghe sono state valutate le singole biomasse (PSPC m^{-2}), mentre del macrozoobenthos sono stati analizzati la composizione in gruppi funzionali, la densità (n. ind m^{-2}) il numero dei taxa rinvenuti e la diversità (Indice di Shannon-Wiener, applicato ai gruppi tassonomici = diversità tassonomica, e ai gruppi trofici = diversità trofica); è stata stimata inoltre la specifica capacità portante trofica

dei banchi macroalgali (n. ind g^{-1} PSPC di macroalghe). I dati raccolti sono stati quindi ordinati mediante MDS. Infine utilizzando il metodo proposto da Parker *et al*. (2001), è stata calcolata la capacità portante spaziale dei banchi macroalgali in termini di superficie messa a disposizione, in relazione all'abbondanza assoluta delle macroalghe che compongono i banchi stessi.

Risultati

Indipendentemente dalla stagione sono state individuate sei tipologie di banchi: solo *Gracilariopsis longissima* (G), solo *Ulva laetevirens* (U), solo *Cladophora liniformis* (C), *Gracilariopsis*+*Ulva* (GU), *Gracilariopsis*+*Cladophora* (GC) e *Gracilariopsis*+*Ulva*+*Cladophora* (GUC); non sono stati mai rinvenuti banchi misti di *Ulva* e *Cladophora*, e questo è da mettere in relazione con la presenza delle specifiche macroalghe che è chiaramente funzione del ciclo biologico della specie considerata. Questo determina il rinvenimento stagionale del tipo di banco. Solo i banchi composti esclusivamente da *Gracilariopsis* vengono rinvenuti in tutte le stagioni; quelli composti da sola *Ulva* mostrano carattere prettamente primaverile/estivo; quelli composti da *Cladophora* (da sola o in associazione con altri *taxa* macroalgali) sono rinvenuti esclusivamente in autunno.

Per quanto riguarda il macrozoobenthos sono stati identificati 46 *taxa* e 6 gruppi trofici, e, per tutti i parametri analizzati, la struttura delle comunità associate ai diversi banchi macroalgali risulta essere diversa (Tab. 1).

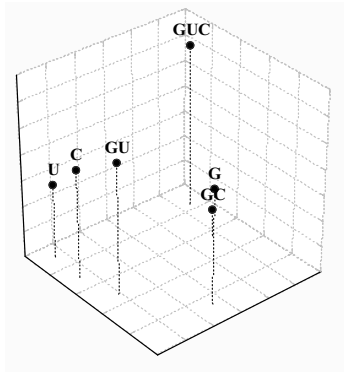


Fig. 1 - Scatterplot 3 D del Multi Dimensional Scaling, applicato ai parametri strutturali delle comunità macrobentoniche associate ai vari banchi macroalgali rinvenuti nella Sacca di Goro.
Multimensional scaling ordination on the structural parameters of the macrozoobenthic communities associated to macroalgal beds in the Sacca di Goro.

Sebbene i valori della capacità portante espressa come numero di individui g^{-1} di biomassa macroalgale siano in stretta correlazione con la capacità portante espressa come numero di individui m^{-2} di superficie messa a disposizione dai banchi, la scala di capacità evidenziata (dal valore più alto al più basso per la disponibilità trofica C, GUC, U, GC, GU e G; per la disponibilità spaziale GUC, U, GC, C, GU e G) risulta diversa. Per entrambi i parametri però, i banchi caratterizzati dalla presenza contemporanea delle tre macroalghe si posizionano ai primi posti e all'ultimo posto si posizionano sempre i banchi monospecifici di *Gracilariopsis*.

Tab. 1 - Parametri strutturali della comunità rinvenute su diverse tipologie di banchi macroalgali nella Sacca di Goro.

Structural parameters of the macrobenthic communities living on different macroalgal beds in the Sacca di Goro.

Tipologia Banco		G	U	C	G + U	G + C	G + U + C
Densità	N. medio ind/mq	1186,46	715,40	867,92	916,34	1532,12	1789,56
	ES	112,22	657,18	779,29	543,65	112,55	689,37
Tot taxa		52	35	25	49	42	33
Diversità tassonomica		2,08	1,45	1,78	2,11	2,41	1,96
Diversità trofica		1,32	1,08	1,35	1,30	1,47	1,45
Taxon dominante		*Idotea baltica*	*Brachynotus sexdentatus*	*Brachynotus sexdentatus*	*Sphaeroma hookeri*	*Tellina sp.*	*Sphaeroma hookeri*
Gruppo trofico dominante		SC	PR	PR	SC	SF	SC
Tot biom algale	media g/mq	74,18	26,66	26,60	53,26	65,26	57,10
	ES	6,48	2,79	2,18	11,24	7,06	4,83
capacità portante	ind/gr biom alg	15,99	26,84	32,63	17,21	23,48	31,34
capacità spaziale	ind/mq biom alg	156,05	214,69	201,19	157,66	209,43	279,35

I più bassi valori di densità animale e diversità tassonomica e trofica si osservano nei banchi monospecifici di *Ulva*, in concomitanza di grande abbondanza del decapode predatore *Brachynotus sexdentatus*; un risultato molto simile si evidenzia sui banchi monospecifici di *Cladophora*.

Sui banchi monospecifici di *Gracilariopsis* non si evidenzia la stessa scarsità di animali ed un'altrettanto bassa variabilità della comunità macrozoobentonica.

Conclusioni

I risultati ottenuti mostrano l'importanza dei due fattori analizzati: la disponibilità trofica rappresentata dalla biomassa macroalgale costituente il banco, e la disponibilità spaziale rappresentata dalla superficie messa a disposizione dalle varie tipologie macroalgali. Infine sebbene la presenza di due o più macroalghe nei banchi aumenti il grado di diversificazione della comunità macrozoobentonica, l'effetto somma non è esattamente tale per le varie combinazioni possibili. Infatti l'effetto di incremento dei parametri strutturali non è così evidente quando la seconda alga è rappresentata da *Ulva*, a dimostrazione dell'importanza anche della architettura della macroalga nel determinare la complessità del banco. Quindi più di un effetto somma determinato da due o più macroalghe, sembra che quello da noi evidenziato sia una nuova conformazione spaziale e trofica che sostiene una comunità macrobentonica esclusiva (Fig. 1).

Bibliografia

EVERETT R.A. (1994) - Macroalgae in marine soft-sediment communities: effects on benthic faunal assemblages. *J. Exp. Mar. Biol. And Ecol.*, **175**: 253-274.

FANO E.A., CASTALDELLI G., MISTRI M., ROSSI G., ROSSI R. (2000) - Risposta delle comunità lagunari ad un evento di disturbo. *Studi Costieri,* **2**: 217-231.

JERNAKOFF P., BREARLEY A., NIELSEN J. (1996) Factors affecting grazers-epiphyte interactions in temperate seagrass meadows. *Ocean. And Mari Biol.: An Annual Review,* **34**: 10-162.

NORKKO J., BONSDORFF E., NORKKO A. (2000) - Drifting algal mats as an alternative habitat for benthic invertebrates: Species specific responses to a transient resource. *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.,* **248**: 79-104.

PARKER J.D., DUFFY J.E., ORTH R.J. (2001) - Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **224**: 55-67.

SCHNEIDER F.I., MANN K.H. (1991) - Species specific relationships of invertebrates to vegetation in a seagrass bed. II Experiments on the importance of macrophyte shape, epiphyte cover and predation. *J. Exp. Mar. Biol. And Ecol.,* **145**: 119-139.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 84-85

L. Piazzi, D. Balata, A. Naldi*, F. Cinelli

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
*Cooperativa Parco Naturale Isola di Gorgona, Livorno, Italia.

I POPOLAMENTI FITOBENTONICI DELL'ISOLA DI GORGONA (ARCIPELAGO TOSCANO)

PHYTOBENTHIC ASSEMBLAGES OF GORGONA ISLAND (TUSCAN ARCIPELAGO)

Abstract

This work describes the benthic marine vegetation of Gorgona Island. The widest meadows of Posidonia oceanica *are situated along the south eastern coast. A total of 233 macroalgal species were identified, among them 32 Chlorophyta, 47 Fucophyceae and 154 Rhodophyta. The most interesting assemblages in shallow water were* Lithophyllum byssoides *structures and* Cystoseira *beds, while a reophilous community colonized both rhodolith beds and rocky shoals in deep water.*

Key-words: Posidonia oceanica*, macroalgae, Gorgona Island*.

Introduzione

L'importanza dello studio degli ambienti insulari è legato alla conoscenza di ecosistemi peculiari e poco antropizzati ed è da considerare fondamentale per la gestione di queste importanti risorse naturali.

Gorgona è la più piccola e la più settentrionale isola dell'Arcipelago Toscano. La presenza di un carcere sin dal 1984 ha preservato l'isola dallo sviluppo turistico, ma allo stesso tempo ha ritardato l'investigazione scientifica. Lo studio degli ecosistemi marini dell'isola è iniziato negli anni '90 e ha fino ad oggi portato alla mappatura delle praterie della fanerogama marina *Posidonia oceanica* (Cinelli *et al*., 1995) e alla descrizione di alcuni popolamenti macroalgali (Sartoni e Boddi, 1992; Pardi *et al*., 1993; Piazzi *et al*., 1995, 1996, 1999). Il presente lavoro riporta i risultati di uno studio pluriennale sulle comunità fitobentoniche dell'Isola.

Materiale e metodi

Gorgona è localizzata nella parte più settentrionale dell'Arcipelago Toscano, ha una superficie di 2,25 km² ed è distante 34 km dalle coste continentali. I popolamenti fitobentonici sono stati inventariati da ricercatori subacquei lungo 20 transetti perpendicolari alla costa, coprenti il fondo tra 0 e 50 metri di profondità. Un totale di 68 campioni quantitativi è stato effettuato nei mesi di marzo, giugno, settembre e dicembre 1997 su fondo roccioso (0, 1, 15 e 40 m) nelle praterie di *Posidonia oceanica* (10 m) e sui fondi mobili circalitorali (50 m). I campioni erano rappresentati dal grattaggio di 400 cm² su roccia, da 10 fasci di *Posidonia oceanica* e da superfici di 1.000 cm² sui fondi mobili.

Risultati e conclusioni

I principali ecosistemi bentonici attorno all'Isola di Gorgona sono i popolamenti macroalgali su roccia, le praterie di *Posidonia oceanica* e i fondi mobili circalitorali colonizzati da rodoliti. Le praterie di *Posidonia oceanica* sono distribuite lungo l'intera

isola, presentando una maggiore estensione nella porzione sud orientale.

In totale sono state identificate 233 specie macroalgali, di cui 32 Chlorophyta, 47 Fucophyceae e 154 Rhodophyta. I popolamenti bentonici più interessanti nelle acque superficiali sono risultati le cornici a *Lithophyllum byssoides* (Lamarck) Foslie, ampiamente distribuite a Cala Maestra e in alcune cavità della costa orientale, e le cinture a *Cystoseira amentacea* Børy var. *stricta* Montagne.

I fondi rocciosi infralitorali sono colonizzati da popolamenti fotofili dominati da Fucophyceae, tra le quali sono particolarmente abbondanti *Stypocaulon scoparium* (Linnaeus) Sauvageau, *Dictyota dichotoma* (Hudson) J.V. Lamouroux e *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy. Le aree meno esposte alla luce presentano popolamenti a *Corallina elongata* J. Ellis *et* Solander, *Valonia utricularis* (Roth) C. Agardh e *Bryopsis* spp.

Le scogliere circalitorali sono caratterizzate da popolamenti coralligeni costituiti da uno strato di corallinacee incrostanti colonizzate da specie sciafile come *Flabellia petiolata* (Turra) Nizamuddin, *Halimeda tuna* (J. Ellis *et* Solander) J.V. Lamouroux, *Palmophyllum crassum* (Naccari) Rabenhorst e *Peyssonnelia* spp. Rhodophyta stagionali, come *Chrysymenia ventricosa* (J.V. Lamouroux), *Sebdenia dichotoma* Berthold e *Kallymenia feldmannii* Codomier, sono comuni nel periodo estivo.

Sui rizomi di *Posidonia oceanica* dominano le Rhodophyta introdotte *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R.E. Norris e *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston mentre sulle foglie il popolamento epifita è caratterizzato da corallinacee incrostanti (*Hydrolithon farinosum* (J.V. Lamouroux) Penrose *et* Y.M. Chamberlain e *Pneophyllum fragile* Kützing) e piccole specie erette, come *Cladosiphon cylindricus* (Sauvageau) Kyilin, *Sphacelaria cirrosa* (P.H. Roth) C. Agardh e *Giraudia sphacelarioides* Derbès *et* Solier.

Fondi a corallinacee libere sono presenti alla base delle scogliere nella parte occidentale dell'isola oltre i 45-50 metri di profondità. Le melobesie offrono un substrato di impianto per un popolamento reofilo dominato da Fucophyceae, come *Phyllariopsis brevipes* (C. Agardh) Henry *et* South, *C. zosteroides* C. Agardh, *Sporochnus pedunculatus* (Hudson) C. Agardh, *Sargassum hornschuchii* C. Agardh e *Arthrocladia villosa* (Hudson) Duby.

La flora algale di Gorgona presenta un'alta diversità, anche in rapporto alle piccole dimensioni dell'isola (8 km circa di sviluppo costiero). La presenza di un ampio popolamento a corallinacee libere, inoltre, rappresenta un aspetto particolarmente interessante da considerare nell'ambito di ulteriori studi e nelle decisioni gestionali.

Bibliografia

CINELLI F., PARDI G., PAPI I., BENEDETTI-CECCHI L. (1995) - Mappatura delle praterie a *Posidonia oceanica* (L.) Delile intorno alle isole minori dell'Arcipelago Toscano. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.,* **102**: 93-104.

PARDI G., PAPI I., PIAZZI L., CINELLI F. (1993) - Benthic marine flora in the Tuscan Archipelago. A second contribution: Isle of Gorgona. *G. Bot. Ital.,* **127**: 797-819.

PIAZZI L., PARDI G., CINELLI F. (1995) - Osservazioni floristiche e corologiche su un popolamento a *Phyllariopsis brevipes* (C. Agardh) Henry & South della secca di cala Scirocco (Isola di Gorgona, Arcipelago Toscano). *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.,* **349**: 455-470.

PIAZZI L., PARDI G., CINELLI F. (1996) - Ecological aspects and reproductive phenology of *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston (Ceramiaceae, Rhodophyta) in the Tuscan Archipelago (Western Mediterranean). *Cryptogamie, Algol.,* **17**: 35-43.

PIAZZI L., PARDI G., CINELLI F. (1999) - Algal vertical zonation and seasonal dynamics along a subtidal cliff on Gorgona Island (Tuscan Archipelago, Italy). *Plant Byosistems,* **1**: 3-13.

SARTONI G., BODDI S. (1992) - Morphological observations on some fleshy crustose algae of the Island of Gorgona (Tuscan Archipelago). *G. Bot. Ital.,* **126**: 521-530.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 86-96

A. Cau, R. Cannas

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 - 09126 Cagliari, Italia.

L'OTTIMIZZAZIONE DELL'INVESTIMENTO RIPRODUTTIVO NEI TELEOSTEI: STRATEGIE E TATTICHE

THE OPTIMIZATION OF THE REPRODUCTIVE EFFORT IN TELEOSTEAN FISHES: STRATEGIES AND TACTICS

Abstract

In spite of the importance for management, life history parameters such as growth and size at first maturity are known for less than 7,5% of the piscine species; however it is well known that fishes present many reproductive strategies that differ in the pattern of allocation of time and resources to reproduction. Furthermore, in response to environmental circumstances, fishes will tend to modulate these strategies with a series of tactical responses. According to the Winemiller's model, Teleosts present all the three endpoint strategies: "equilibrium", "opportunistic" and "periodic", but the large majority of them should be classified as relative periodic strategists. Recently, several studies have pointed out the effects of fishing on life-history patterns finding out that compensations for higher adult mortality differ among the diverse strategies with the neoteleosts (mainly periodists) characterized by a greater resilience to fishing mortality. Moreover, the recent application of new molecular genetics methodologies has proven to be indispensable to a closer investigation of the mating system of species.

Key-words*: marine fish, marine ecology, life-history, reproduction.*

Introduzione

"La riproduzione è l'asse portante intorno al quale ruota la biologia di ogni specie" (Meien, 1939), essa ha un costo talvolta molto elevato che può essere misurato, in termini biologici, considerando lo "sforzo riproduttivo" vale a dire la quantità d'energia destinata alla riproduzione. Di fronte al costo della riproduzione le specie valutano quale sia il meglio per loro nelle diverse condizioni: se investire molta energia nel processo riproduttivo presente e come conseguenza avere una minor aspettativa per le riproduzioni future, oppure se ripartire il costo energetico in ogni atto riproduttivo e così avere una maggiore aspettativa nel futuro, maggiori energie da destinare alla crescita somatica e migliori prospettive di sopravvivere. L'investimento ottimale potrà variare secondo le diverse condizioni ambientali, ma potrà essere definito come quell'investimento che permette di massimizzare il successo riproduttivo e al contempo minimizzare i costi, attuale e futuro, dell'atto riproduttivo. Le diverse specie di Teleostei tenderanno ad ottimizzare lo sforzo riproduttivo utilizzando diverse strategie e tattiche riproduttive, descritte e discusse qui di seguito.

I pesci Teleostei

Secondo le stime più recenti esistono almeno 26.588 specie diverse di Teleostei (Froese *et al.*, 2002) che rappresentano circa metà di tutte le specie di Vertebrati (Wootton, 1990). Alcune di queste specie sono d'interesse "peculiare" per l'uomo: molte sono pescate per il consumo alimentare, altre sono usate come specie ornamentali in acquari, alcune sono oggetto di pesca sportiva, poche usate per l'allevamento in acquacoltura o come mangime per altre specie d'allevamento. Complessivamente 7.010 specie, pari al 28% del totale, sono utilizzate dall'uomo (Froese *et al.*, 2002).

La maggior parte delle conoscenze sulla biologia, ecologia, fisiologia, ed etologia dei Teleostei sono state ricavate da studi su specie commerciali; in realtà dati completi sui cicli vitali, con la costruzione di curve di crescita e la determinazione delle taglia di prima maturità sessuale, sono noti non per tutte le specie sfruttate ma per meno di 2000 (Froese *et al.*, 2000). Infine mancano dati di qualsiasi tipo per la maggior parte delle altre specie (il restante 72%).

Eppure i Teleostei rappresentano un buon modello per studiare i cicli vitali e i loro modelli di variazione in risposta a diversi stimoli o condizionamenti. Le numerosissime specie vivono in un'estrema varietà di habitat e presentano diversissimi adattamenti e sorprendenti specializzazioni nella morfologia, fisiologia e comportamento. Molte di queste specie, inoltre, sono sottoposte ad un forte condizionamento ambientale dovuto al prelievo da pesca. Da cui la duplice importanza di studiare i cicli vitali sia in una prospettiva di adattamento evolutivo che per le molte implicazioni di questi studi nella gestione delle popolazioni e per la conservazione delle specie. Uno sfruttamento razionale degli stocks ittici deve, infatti, basarsi su una dettagliata e precisa conoscenza della biologia, della natura e ampiezza dei cambiamenti imposti dallo sfruttamento alle diverse fasi del ciclo vitale, in modo da adeguare le strategie di gestione alle diverse risposte delle specie e delle popolazioni locali.

Cicli biologici e stili di vita nei Teleostei

La vita di ogni organismo è delimitata entro un preciso arco temporale che ha inizio con la nascita e termina con la morte e in cui è possibile individuare tre fasi principali: una fase giovanile immatura caratterizzata dall'attività prevalente della crescita e maturazione, una fase adulta matura concentrata sulla riproduzione e una fase adulta post-riproduttiva senescente con significato biologico difficilmente spiegabile. Nelle diverse specie esiste un'estrema variabilità della durata assoluta e relativa di queste diverse fasi, anche rispetto agli investimenti energetici destinati a ciascuna di esse.

Tra i Teleostei esistono stili di vita molto diversificati (Breder e Rosen, 1966; Balon, 1975). Esistono pesci che hanno una vita breve e raggiungono precocemente la maturità sessuale, altri che sono longevi e raggiungono molto tardi la maturità sessuale. Esistono specie semelpare, che si riproducono una sola volta nella vita quindi muoiono immediatamente, e specie iteropare, che si riproducono più volte nell'arco della vita in stagioni distinte o continuativamente. La maggior parte dei Teleostei sono gonocorici con fecondazione esterna, ma non mancano i pesci con fecondazione interna e organi copulatori, gli ermafroditi sequenziali (13 famiglie) o gli ermafroditi sincroni (ad esempio gli Aulopiformi, il ciprinodonte *Rivulus marmoratus* e alcune specie di Serranidae) (Warner, 1978; Wooton, 1990). La maggioranza delle specie sono ovipare, ma esistono anche ovovivipari e vivipari con diverso grado di dipendenza degli embrioni dalla madre. Pochissimi hanno riproduzione partenogenetica (ben documentata da Moore (1984) e Vrijenboek (1984) nei due generi di ciprinodontidi vivipari *Poecilia* e *Poeciliopsis*), ma richiedono lo sperma di specie vicine per attivare lo sviluppo delle uova. La deposizione può avvenire facendo aderire le uova al substrato, entro nidi, cavità, sulla vegetazione o addirittura trasportando i piccoli sul corpo o entro cavità (bocca, tasche incubatrici) (Balon, 1975). Alcune specie prestano cure parentali di diverso tipo alla prole (il 22% delle famiglie di Teleostei), prevalentemente cure parentali maschili, ma nella maggioranza delle specie le uova non sono accudite in nessun modo.

Complessivamente rispetto ai Vertebrati Terrestri e agli Elasmobranchi la maggior parte dei Teleostei si specializzano più nella quantità che nella qualità della progenie

che producono, dando vita a molte uova di piccole dimensioni piuttosto che a poche uova di grandi dimensioni (Wootton, 1990).

La riproduzione: le limitazioni del mondo reale

Ogni organismo ha un solo scopo ultimo durante la sua esistenza: riprodursi per perpetuare se stesso. Questo compito viene assolto solo se riesce ad essere rappresentato geneticamente nella generazione successiva. Utilizzando una metafora possiamo immaginare gli organismi come concorrenti di un gioco che sfida la natura, in cui il successo non è giudicato da quanto grande è la vincita, ma piuttosto da quanto tempo il concorrente riesce a resistere in gioco. Gli individui resistono al gioco se lasciano discendenti e così contribuiscono al pool genico formato dalla generazione successiva. Un individuo perde se non riesce a riprodursi. Una popolazione nel suo complesso perde quando si estingue, intesa l'estinzione come il fallimento riproduttivo degli individui di quella popolazione (Wootton, 1990).

Se un pesce deve essere rappresentato geneticamente nella prossima generazione, in un qualche momento della sua vita deve cominciare a destinare risorse per la riproduzione. La condizione ideale (una sorta di macchina riproduttiva perfetta) sarebbe rappresentata da un pesce che si riproduce appena possibile (appena nato), si riproduce continuamente dando vita ad un numero enorme di discendenti di grandi dimensioni, che siano seguiti con attente cure parentali. Inoltre il pesce in questione dovrebbe vivere in eterno senza mai sperimentare competizione con altri.

In realtà ogni organismo vive in un mondo finito, con risorse limitate, principalmente l'energia disponibile e il tempo a disposizione, che deve distribuire oculatamente.

Ogni animale oltre che riprodursi deve anche sviluppare, mantenere e proteggere una struttura, il corpo somatico, che è responsabile per i meccanismi di trasformazione del cibo in progenie. Questa struttura impone dei costi in termini di energia e nutrienti che sono destinati al corpo somatico piuttosto che alla progenie. L'energia, infatti, viene destinata a tre principali utilizzi: mantenimento, crescita somatica e produzione di gameti. Tra questi il mantenimento, con il nuoto come voce preponderante, è quello che incide maggiormente sui costi. Quindi solo il surplus energetico eccedente le necessità di mantenimento può ripartito tra crescita e riproduzione.

Inoltre, ogni organismo deve quanto meno tripartire il tempo a sua disposizione, in primo luogo impegnandosi a mangiare e procurarsi il cibo, cercando di sfuggire ai predatori o a condizioni abiotiche sfavorevoli, quindi occupandosi di tutte le attività connesse alla riproduzione ed infine riposando.

Il suo successo riproduttivo dipenderà alcune scelte importanti: da dove e quando si riproduce e dalle risorse (quante e quali) destinate alla riproduzione (rispetto a quelle impiegate per il mantenimento e la crescita).

Risposte ai cambiamenti ambientali: strategie e tattiche riproduttive

Un problema cruciale è di determinare quali fattori ambientali influenzano, in modo prevedibile, il numero di discendenti che un individuo produce nella sua vita e di definire come risponde il singolo individuo rispetto al variare delle condizioni ambientali nel distribuire le sue risorse. Le sue scelte hanno effetti sulla sopravvivenza e sulla riproduzione, determinando il successo riproduttivo degli individui ed in ultima analisi la loro fitness.

Una caratteristica dei vertebrati è che tendono a tamponare gli effetti dei cambiamenti ambientali con una varietà di meccanismi omeostatici, i teleostei non sono da

meno e possono mostrare notevole flessibilità nelle risposte ai cambiamenti ambientali in caratteri come la crescita, età di prima maturità sessuale e durata massima di vita essenzialmente mediante due processi.

In primo luogo il singolo individuo già presente nella popolazione può mostrare plasticità fenotipica, cioè rispondere cercando di mitigare gli effetti del cambiamento ambientale adattando la sua fisiologia e comportamento, con conseguenze immediate per il tasso di crescita, di riproduzione o di sopravvivenza. Il genotipo di un individuo definirà l'intervallo di variabilità fenotipica che un tratto potrà esprimere. L'ambiente determinerà l'espressione di quel tratto; le variazioni nella sua espressione in risposta a cambiamenti ambientali sono dette risposte tattiche di un individuo a quei cambiamenti. Queste tattiche possono essere considerate anche come risposte omeostatiche che minimizzano il costo dei cambiamenti. I cambiamenti fenotipici non determineranno un cambiamento nelle frequenze alleliche delle popolazioni.

Il secondo meccanismo prevede che esistano genotipi meglio adattati di altri al cambiamento ambientale, che saranno selezionati positivamente e saranno rappresentati in una percentuale maggiore nella generazione successiva con cambiamenti nelle frequenze alleliche e genetipiche nella popolazione, questo determina una risposta evolutiva.

Occorre, quindi distinguere nettamente e definire compiutamente la strategia rispetto alla tattica.

Una strategia riproduttiva può essere definita come un programma su base genetica (regola decisionale) che determina l'ottimale distribuzione dell'energia e del tempo tra sforzo somatico e riproduttivo di un organismo per ogni determinato ambiente o condizione contingente. Questa strategia funziona attraverso un meccanismo (fisiologico, neurologico o dello sviluppo) che individua appropriati segnali e mette in atto, tra le diverse alternative possibili, la regola strategica adatta alla contingenza (tattica) (Gross, 1996).

La tattica è l'espressione, ovvero il fenotipo che risulta da una data strategia ed è associata a caratteristiche comportamentali e fisiologiche e dei cicli vitali e possono in questo essere descritte e distinte.

La plasticità fenotipica è una risposta tattica degli individui al loro incontro con l'ambiente; il cambiamento genotipico è una risposta strategica a livello di popolazione (pool genico) ma guidato da differenze adattative tra gli individui.

Mentre l'adattamento fenotipico può avvenire nello spazio di una generazione, l'adattamento genetico avviene tra le generazioni.

Nel corso dell'evoluzione dei Teleostei sono state selezionate diverse modalità riproduttive, tra queste non è possibile individuare quella ottimale in assoluto ma sempre in riferimento ad un determinato ambiente o condizione. La modalità di riproduzione ottimale sarà quella che tende ad assicurare la sopravvivenza della discendenza (ovvero la persistenza nel tempo del *taxon*) e contemporaneamente ad ottimizzare lo sfruttamento delle risorse. In altri termini le diverse strategie hanno sia costi che benefici, l'optimum sarebbe di minimizzare i primi e massimizzare i secondi assicurando il maggior successo riproduttivo possibile (massima fitness).

Adattamenti riproduttivi

In generale, le specie cercano di riprodursi nelle fasi ambientali più favorevoli; se le caratteristiche ambientali presentano un andamento ciclico la riproduzione sarà concentrata solo quando l'ambiente offre risorse ecologiche di migliore qualità sia per il

fenomeno riproduttivo in sé che per i discendenti. Di fronte alla variabilità ambientale le specie si adattano, con l'obbiettivo di persistere nel mezzo.

A questo proposito possiamo osservare che, al passare del tempo, le caratteristiche ambientali possono rimanere costanti, variare imprevedibilmente, variare ciclicamente e prevedibilmente.

Quando l'ambiente si può definire stabile o variabile in modo prevedibile, troviamo specie iteropare, caratterizzate da elevata longevità ed età di maturità tardiva, spesso contraddistinte da bassa fertilità e conseguente scarso sforzo riproduttivo. In questi ambienti si ritrovano le specie contraddistinte da cure parentali delle uova fecondate o delle larve, queste ultime generalmente di grandi dimensioni. Le specie che popolano questi ambienti conoscono bene il mezzo in cui vivono e si sono adattate ad una vita calcolata, possibilmente senza rischi. L'ambiente assicura la sopravvivenza e non mostra importanti variazioni, dando sicurezza per il futuro. Viene comunque realizzate un'attenta pianificazione della discendenza in modo da evitare la sovrapopolazione che potrebbe influenzare irreversibilmente la disponibilità delle risorse future.

In un ambiente imprevedibile e instabile è conveniente produrre molti figli e usare tutto quello che si ha a disposizione in quel momento, dato che la bassa probabilità di sopravvivenza non permette di programmare o prevedere cosa succederà neanche nel breve termine. In questi ambienti si ritrovano specie in cui la maturità sessuale è raggiunta precocemente (anche durante il primo anno di vita), contraddistinte da alti sforzi riproduttivi e conseguentemente una vita breve. L'accelerato ritmo di produzione di discendenti, unitamente all'accorciamento delle fasi ontogenetiche del ciclo vitale, determina il deterioramento prematuro dei meccanismi di riparazione biologica, e quindi la morte precoce. È abituale la semelparità, la specie organizza la sua vita con un unico obbiettivo di avere discendenti prima possibile utilizzando le risorse alimentari primariamente per la riproduzione; ha quindi ritmi di accrescimento bassi e associati a determinati momenti del ciclo annuale dell'ambiente (Lorencio Granado, 1996).

In un'interpretazione antropocentrica in ambienti stabili la qualità di vita e il benessere permettono di guardare al futuro con ottimismo, pianificare la vita e assicurare i discendenti. Al contrario, quando c'è instabilità non serviranno a nulla sofisticate pianificazioni biologiche; produrre molti discendenti, durante il poco tempo che si vive, è l'unica garanzia per non sparire.

I due adattamenti descritti corrispondono a due alternative estreme della relazione tra la biologia delle specie e l'ambiente dette "*strategia r*" per le specie che vivono in ambienti instabili e "*strategia K*" per quelli di ambienti stabili prevedibili (MacArthur e Wilson, 1967), ma possiamo anche incontrare situazioni intermedie e variabili in tutto lo spettro compreso tra questi due estremi, con differenze tra le diverse condizioni a volte difficilmente identificabili.

Nei pesci Teleostei sono state, inoltre, osservate condizioni particolari che difficilmente possono essere adattate al modello dicotomico prima descritto. Per esempio, quando la mortalità giovanile è molto elevata, esistono specie che piuttosto che attuare una scelta di semelparità preferiscono ritardare il raggiungimento della maturità sessuale, ridurre lo sforzo riproduttivo e aumentare la longevità, secondo un modello di vita che è stato chiamato del "bet-hedging" (della scommessa non compromettente) (Stearns, 1992). Conseguentemente, il continuum r-k è inadeguato per discutere le implicazioni delle configurazioni dei diversi stili di vita nei Teleostei, dato che due soli parametri e una dimensione sono insufficienti per la comprensione dei trade-offs basilari dei loro cicli vitali.

I loro differenti stili di vita, piuttosto che un continuum tra i due estremi r e k, possono essere descritti utilizzando il modello tridimensionale elaborato da Winemiller (1992) che incorpora i tre principali componenti demografici della fitness cioè quei parametri demografici che riflettono il modo in cui i pesci devolvono energia alla riproduzione: età di maturità sessuale, fecondità e comparsa/durata della vita riproduttiva. L'età di maturità riflette il ritardo nel trasferire l'investimento energetico dalla crescita alla riproduzione. La fecondità per singolo atto riproduttivo rappresenta l'investimento diretto di energia ai discendenti. Le cure parentali (come stima della probabilità di sopravvivenza della prole) riflettono l'investimento indiretto di energia in termini di accresciuta sopravvivenza dei figli. Riportando i valori di questi parametri in un grafico viene descritta una superficie adattativa dei trade-offs che definisce le possibili configurazioni dei cicli vitali nei Teleostei, dove gli estremi sono definiti da tre strategie in cui si ha l'ottimizzazione di un componente a spese degli altri due; tra gli estremi esisteranno poi diverse strategie entro un continuum variabile.

Sono descritte tre strategie estreme:

1. La strategia *opportunista* (caratterizzata da maturazione precoce, piccola taglia, bassa fecondità) che massimizza la capacità di colonizzazione in ambienti che cambiano frequentemente o stocasticamente in scale temporali e spaziali relativamente brevi; è la tradizionale strategia r contraddistinta da un rapido turnover.
2. La strategia *periodica* (caratterizzata da maturazione tardiva, alta fecondità, piccola taglia) è favorita in ambienti con variazioni su larga scala o cicliche. In ambienti che variano stagionalmente, la selezione favorirà il ritardo della maturazione in modo che gli adulti, prima di riprodursi, sopravvivano e superino i periodi sfavorevoli per i loro stadi giovanili. Saranno prodotti molti piccoli discendenti in momenti che coincidono con periodi prevedibili di condizioni favorevoli alla crescita e alla sopravvivenza degli immaturi (strategia del bet-hedging).
3. La strategia *d'equilibrio* (caratterizzata da maturazione tardiva, grande taglia, bassa fecondità) è favorita in ambienti con poca variabilità dell'habitat e forti interazioni biotiche dirette e indirette; è la tradizionale strategia k, con grandi investimenti parentali in discendenti individuali. Pur essendo molto costosa per i genitori rende presumibilmente i giovanili più competitivi, aumenta le capacità di sopravvivenza in un ambiente affollato, con risorse limitate o con pericoli incombenti e aumenta le capacità di difesa dai predatori.

E' da notare come la maggior parte delle specie di importanza commerciale sono associate con la strategia periodica.

Non solamente possono essere descritte modalità riproduttive diverse per le diverse specie, ma persino nell'ambito della stessa specie sono descritte strategie diverse o più di un di stile di vita anche nell'ambito dello stesso sesso.

Confrontando i Teleostei con gli altri gruppi tassonomici, appare evidente come i pesci occupino la maggior parte della superficie adattativa, presentando esempi di molteplici e diversificate strategie riproduttive, anche di quelle estreme. Al contrario mammiferi, uccelli, anfibi, rettili e altri invertebrati sembrano principalmente disporsi lungo il tradizionale continuum r-K (Winemiller, 1992).

Risposte ai cambiamenti ambientali: l'effetto della pesca sui cicli biologici

La pesca è un grande esperimento, per quanto involontario, degli effetti del cam-

biamento ambientale sui cicli biologici. Impone, infatti, una mortalità che di solito è taglia selettiva determinando un'immediata risposta da plasticità fenotipica e nel lungo periodo, se alcuni genotipi sono selezionati per la loro maggiore sensibilità alla pressione di pesca, una risposta evolutiva. Conoscere la natura e l'ampiezza di queste risposte nelle popolazioni sfruttate può avere importanti implicazioni per la gestione e la definizione degli stocks per adottare strategie di gestione appropriate alle risposte delle diverse popolazioni o specie (Wootton, 1990).

Comunemente le specie ittiche marine sono considerate contraddistinte da una "alta" resilienza alla pesca, cioè con una notevole capacità di recupero in seguito allo sfruttamento, grazie alla loro elevata fecondità media e alla notevole capacità di dispersione larvale. In realtà, non sempre le specie molto feconde sono necessariamente resilienti, come d'altra parte l'ampia capacità di dispersione è spesso solo teorica e non realizzabile in pratica. In generale, la capacità di una specie a sopportare la pressione di pesca dipenderà dalla sua abilità di venire incontro alle perdite causate dal prelievo con cambiamenti compensatori nella sopravvivenza, crescita e fecondità.

Per capire quali effetti possano essere prodotti dallo sfruttamento commerciale bisognerebbe confrontare popolazioni sfruttate e non sfruttate, compito che non sempre è agevolmente realizzabile. Nella maggior parte degli studi comparativi finora realizzati, inoltre, viene riportato un solo valore di un tratto del ciclo vitale che può corrispondere al valore medio delle popolazioni oppure essere il risultato di su un singolo caso studiato, assumendo essenzialmente che la variabilità intraspecifica sia insignificante rispetto a quella interspecifica; questa semplificazione può limitare la nostra visione evoluzionistica del processo, o condurre ad un'errata interpretazione di quanto osservato.

Per ovviare a questi inconvenienti, Rochet *et al.* (2000) nel tentativo di definire l'ampiezza degli effetti della pesca sui cicli vitali hanno preso in considerazione sei parametri dei cicli vitali (età alla maturità, taglia alla maturità, fecondità, sopravvivenza adulta, taglia adulta, dimensione delle uova) per 84 popolazioni di 49 specie che variano tra loro per l'intensità della pressione di pesca che sperimentano. I risultati di questo studio mostrano come la pesca incida significantemente su quasi tutti i tratti del ciclo biologico ed evidenziano come i pesci compensino per le accresciute mortalità adulte anticipando ed accelerando l'investimento riproduttivo nel corso della vita individuale. Confrontando diverse popolazioni sottoposte a diverse pressioni di pesca si osserva come il maggiore sfruttamento determini una riduzione del tempo di sopravvivenza, dell'età alla maturità (fino al 23%), del volume del singolo uovo (fino al 37%) e al contempo aumenti la fecondità per singolo atto riproduttivo e la lunghezza alla maturità. Gli stessi Autori hanno evidenziato come diversi Ordini rispondano diversamente alla pesca, soprattutto se si confrontano i valori della fecondità alla maturità. In particolare, Clupeiformi e Protacantopterigi, piccoli pesci opportunisti che investono tutto nella riproduzione a costo della propria crescita, hanno un basso potenziale di compensazione della riproduzione in seguito alla mortalità da pesca e quindi una bassa resilienza: per queste specie si registrano scarse o nulle variazioni nella fecondità alla maturità al variare della pressione di pesca. Altrettanto vulnerabili risultano le specie d'equilibrio, contraddistinte da una strategia di tipo k, specie longeve con maturità ritardata e bassa fecondità, che saranno fortemente influenzate dall'aumentata mortalità da pesca e compenseranno scarsamente. Al contrario la maggior parte dei neoteleostei, e tra questi Pleuronettiformi e Gadiformi, si dimostrano più resilienti alla pesca, compensano la maggiore mortalità adulta con un'accresciuta fecondità alla maturità grazie ad un maggiore potenziale di modulazione fenotipica nella destinazione delle risorse alla crescita e alla riproduzione.

Complessivamente le specie più vulnerabili sono quelle il cui identikit può essere così riassunto: hanno grande taglia, sono longeve, hanno crescita lenta, hanno maturità sessuale ritardata, un complesso comportamento sociale, eventualmente possono essere anche molto feconde (producendo $> 10^4$ uova/anno), hanno un grande valore commerciale e vivono in aree costiere o difficilmente regolamentabili (Sadovy, 2001).

Jennings *et al.* (1998) suggeriscono di usare un dato largamente disponibile, ottenibile senza ricorso a complessi studi di dinamica di popolazione, il parametro $L\infty$ (strettamente correlato con la taglia massima osservata) come buon indicatore della risposta alla pesca, in una previsione *a priori* sulla suscettibilità degli stocks.

Il caso del merluzzo: prospettive genetiche nello studio delle strategie riproduttive nei Teleostei

I pesci hanno alcuni dei più complessi sistemi d'accoppiamento conosciuti nel regno animale ma i modelli di comportamento riproduttivo e di successo riproduttivo sono poco conosciuti per la maggior parte delle specie ittiche marine giacché questi organismi vivono in un mezzo in cui è normalmente difficile fare osservazioni dirette. Inoltre, la maggior parte delle specie ha fertilizzazione esterna rendendo difficile definire i modelli di paternità.

Solo di recente, l'applicazione della genetica molecolare ha permesso di approfondire lo studio della biologia riproduttiva di molte specie. Il loro impiego ha consentito di documentare e provare comportamenti riproduttivi che erano stati sospettati in diverse specie mediante osservazioni ecologiche: di risalire ai modelli di paternità in un gran numero di taxa, di stimare i contributi relativi alla paternità di maschi che adottano strategie alternative, di provare l'esistenza d'accoppiamenti multipli in specie vivipare con incubazione interna e di descrivere una gran varietà di cure alloparentali, inclusi furti di uova o parassitazione delle fecondazioni in specie nidificatrici (DeWoody e Avise, 2001). Questi studi sono importanti non solo perché hanno provato inequivocabilmente la esistenza di questi comportamenti ma anche perché hanno fornito i primi dati quantitativi sulla loro incidenza in natura.

L'applicazione di queste tecniche si è dimostrata importante anche nella studio di alcune specie altamente sfruttate, permettendo di acquisire informazioni utili al disegno di piani razionali di gestione. Per esempio, studi genetici molecolari hanno permesso di approfondire la biologia riproduttiva del merluzzo (*Gadus morhua*) per il quale era stato originariamente descritto un sistema di accoppiamento promiscuo (Breder e Rosen, 1966). Studi di paternità basati su analisi dei microsatelliti del DNA (Bekkenvold *et al.*, 2002) hanno mostrato che il merluzzo non è un riproduttore di massa promiscuo, ma mostra una struttura di accoppiamento complicata. Il successo riproduttivo è altamente distorto tra i maschi, con i maschi di maggiori dimensioni che sono padri della maggior parte dei discendenti. In ogni caso, i maschi di merluzzo sperimentano gerarchie riproduttive in cui la dominanza è raramente completa; sebbene un maschio di solito domini sugli altri, gli stessi studi genetici mostrano come il contributo spermatico di diversi maschi sia presente nella maggior parte delle deposizioni (sui 2/3 del totale).

Nel contesto evolutivo questo tipo di comportamento riproduttivo ha importanti implicazioni per l'ecologia di popolazione e la struttura genetica. Infatti, quando i maschi mostrano marcate differenze nel loro successo riproduttivo, con un numero limitato di maschi che è in grado di fecondare un grande numero di femmine, l'ampiezza geneticamente effettiva della popolazione (Ne) è decisamente inferiore rispetto

alla popolazione censita (N). La pesca, incidendo con prelievi taglia-selettivi sugli individui di maggiori dimensioni (forse gli stessi che contribuiscono ad Ne), potrebbe alterare le gerarchie di dominanza e le modalità riproduttive della specie con possibili effetti evolutivi a lungo termine.

In conclusione, appare evidente come nei pesci esistono infatti sorprendenti diversità nei modi di riprodursi, sia tra specie sia all'interno delle singole specie, tanto che alcuni Autori hanno affermato che "la variabilità del comportamento riproduttivo sia piuttosto la regola che non l'eccezione" (Henson e Warner, 1997). In verità, anche quello che apparentemente è difficilmente spiegabile o caotico può trovare, prima o dopo, un significato; considerando che "il caos è solo la misura della nostra ignoranza" (Henry Poincaré) appare evidente la necessità di continuare ed approfondire gli studi con tutti gli strumenti e le tecniche a disposizione. Continuare a studiare la biologia e i modelli riproduttivi delle specie è un aspetto importante anche per le enormi implicazioni nella gestione della pesca. A questo proposito le nuove tecniche di genetica molecolare possono rappresentare seri e validi strumenti per scoprire caratteristiche altrimenti sconosciute o non identificabili con le consuete osservazioni ecologiche.

Summary

Teleost fishes comprise 26,588 extant species, about 7,000 of which are used by humans for food, sports or the aquarium trade. However, life history parameters such as growth and size at first maturity, which are important for management, are known for less than 2,000 species (Froese *et al.*, 2002). A sound reason for studying this taxon is that fishes offer a good model to examine both intra- and inter-specific variability of life history. In addition, for management purposes, many commercially exploited populations have been monitored offering a huge set of data to analyse.

In this paper we mainly focus on reproduction, "the axis about which the biology of species revolves" (Meien, 1939). Teleost fishes show an impressive diversity of reproductive patterns and "variation may be more the rule than the exception" (Henson & Warner, 1997). To be represented genetically in the next generation, which is the ultimate aim of each individual, a fish at some time in its life must begin to allocate resources to reproduction; its reproductive success will depend on where and when it reproduces and on the resources it allocates to reproduction. In fishes, many reproductive strategies that differ in the pattern of allocation of time and resources to reproduction have been described. In response to environmental circumstances, a fish will tend to modulate these strategies with a series of tatics that represent a homeostatic response tending to maximize its lifetime production of offspring and to minimise the cost of these changes.

Life-history theory has been developed to analyse the relationship between the characteristics of an environment and the life-history patterns of populations experiencing that environment. It is widely accepted that the traditional r-K continuum (MacArthur e Wilson, 1967) is an inadequate model for the comprehension of diverse life-history strategies in fishes. On the contrary, the Winemiller's three-dimensional demographic model (Winemiller, 1992) can best describe the broad spectrum of life histories exhibited by Teleosts. While most higher taxa tend to be dominated by only one or two strategies, teleost fishes present all the three endpoint strategies: "equilibrium" (large investment in relatively few individual offspring, favoured in environments with low variation in habitat quality and strong direct and indirect biotic interactions), "opportunistic" (small size and rapid maturation, favoured in environments that change frequently or stochastically on relatively small temporal and spatial scales) and "periodic" (pulsed production of large numbers of small offspring, favoured in environments having large-scale cyclic o spatial variation). Among these endpoint strategies there will be a number of strategies in a variable continuum; however, the large majority of teleost fishes would be classified as relative periodic strategists (small eggs and larvae, large batch fecundities, and fairly synchronized reproductive seasons).

As we are interested in preserving and managing marine populations it is extremely important to determine the responses of fishes to changing environments, to better define the nature of responses and to calculate the extent of buffering homeostatic mechanisms. In particular, we are concerned with defining the effects of fishing: the capacity of a population to support a fishery will depend on its ability to meet the losses caused by the fishery by compensatory changes in survivorship, growth and fecundity. But not all species and populations have identical responses. To find out intra- and inter-specific variability, Rochet *et al.* (2000) analysed by a

comparative method the effects of fishing on life history traits and life history strategies of 84 populations of 49 species submitted to various fishing pressures. His study shows that an increasing fishing pressure decreases age at maturity and egg size, and increases fecundity at maturity, the slope of the fecundity-length relationship and relative size at maturity. He found also that these compensations for higher adult mortality differ among life history strategies. In fact, Clupeiformes and protacanthopterygii (small opportunistic fishes) compensate less in reproduction than other groups, while neoteleosts (mainly periodists) are associated with a greater flexibility in resource allocation to growth and reproduction that facilitates greater resilience to fishing mortality. Unfortunately, rigorous assessments of vulnerability are rarely possible, because reliable mortality and life history data are usually not available for many species. But the Jennings *et al.* (1998), using data that are widely available and without recourse to complex studies of population dynamics, suggest that the examination of a relatively simple component of life history, such as the theoretical maximum size Linf (which is closely correlated with observed maximum size) can indicate the response to fishing, representing an a priori indication of susceptibility of exploited stocks. Drawing a picture of the most vulnerable species Sadovy (2001) indicates that among widespread, commercially valuable, marine fishes, the relatively large, long-lived and slow-growing, with late sexual maturation, and sometimes complex social behaviours can be considered those at major risk.

Recently, molecular markers have extensively been used to study reproductive patterns. For instance, Bekkevold *et al.* (2002) showed the usefulness of applying these new methodologies. He pointed out that assumptions about "random mating" are often non valid when the mating system of a species is subject to closer investigations. Molecular analyses demonstrate that the cod (*Gadus morhua*) is not a promiscuous mass spawner, but exhibits a complicated mating structure with reproductive success is highly skewed among males with larger males siring larger proportions of offspring. As fishing imposes a mortality on a population that is usually strongly size selective, this new form of mortality could have unsuspected effects on the size-correlated dominance hierarchy in the reproductive strategy of the cod.

In conclusion, keeping on studying the biology and the reproductive patterns of the species is an important aspect of fishery science due to their enormous implications in the management issue, the new molecular genetic technologies can represent serious and valid tools to discover characteristics otherwise neglect or undetectable by other ecological studies.

Bibliografia

BALON E.K. (1975) - Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. *J. Fish. Res*. Bd Can., **32**: 821-64.

BEKKEVOLD D., HANSEN M.M., LOESCHCKE V. (2002) - Male reproductive competition in spawning aggregations of cod (*Gadus morhua* L.) *Molecular Ecology,* **11**: 91-102.

BREDER C.M. JUNIOR, ROSEN D.E. (1966) - *Modes of reproduction in Fishes*. Natural History Press, New York.

DEWOODY J.A., AVISE J.C. (2001) - Genetic perspectives on the natural history of fish mating systems. *The Journal of Heredity,* **92** (2): 167-172.

FROESE R., PALOMARES M.L.D., PAULY D. (2000) - *Estimation of Life History Key Facts of Fishes* World Wide Web electronic publication, http://www.fishbase.org/download/keyfacts.zip, version of 14.2.2000.

FROESE, R., PAULY D. (2002) - FishBase. World Wide Web electronic publication www.fishbase.org. version may 2002.

GROSS M.R. (1996) - Alternative reproductive strategies and tatics: diversity within sexes. *Tree,* **11** (2): 92-98.

HENSON S.A., WARNER R.R. (1997) – Male and female alternative reproductive behaviors in fishes: a new approach using intersexual dynamics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.,* **28**: 571-592.

HUTCHINGS J.A., BISHOP T.D., MCGREGOR-SHAW C.R. (1999) - Spawning behaviour of Atlantic cod, *Gadus morhua*: evidence of mate competition and mate choice in a broadcast spawner. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* **56**: 97-104.

JENNINGS S., REYNOLDS J.D., MILLS S.C. (1998) - Life history correlates of responses to fisheries exploitation. *Proc. R. Soc. Lond B,* **265**: 333-339.

LORENCIO GRANADO C. (1996) - *Ecologia de Peces.* Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, Spain: 353 pp.

MACARTHUR R.H., WILSON E.O. (1967) – *The theory of Island Biogeography.* Princeton University Press, Princeton N.Y.

MEIEN V.A. (1939) - On the annual cycle of ovarian changes in teleosts. *IXV AN SSSR,* **3**.
MOORE W.S. (1984) - Evolutionary ecology of unisexual fishes. In: Turner B.J (ed), *Evolutionary genetics of Fishes*, Plenum, New York: 329-98.
ROCHET M.-J. CORNILLON P.A. SABATIER R. E PONTIER D. (2000) - Comparative analysis of phylogenetic and fishing effects in life history patterns of teleost fishes. *Oikos*, **91** (2): 255-270.
SADOVY Y. (2001) - The threat of fishing to highly fecund fishes. *Journal of Fish Biology,* **59** (Suppl. A): 90-108.
STEARNS St. (1992) – *The evolution of life histories*. Oxford University Press, USA: 249 pp.
VRIJENHOEK R.C. (1984) The evolution of clonal diversity in *Poecilopsis*, In: Turner B.J. (ed), *Evolutionary genetics of fishes*, Plenum, New York: 399-429.
WARNER R.R. (1978) - The evolution of hermaphroditism and unisexuality in aquatic and terrestrial vertebrates. In: Reese e Lighter (eds), *Contrast in Behaviour*, J. Wiley, New York: 77-101.
WINEMILLER K. (1992) - Life-history strategies and the effectiveness of sexual selection. *Oikos,* **63** (2): 318-327.
WOOTTON R.J. (1990) - *Ecology of Teleost Fishes*. Chapman and Hall, London: 404 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 97-101

L. Bramanti, G. Magagnini, G. Santangelo

Dipartimento di Etologia, Ecologia, Evoluzione, Università di Pisa,
Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.

CICLO VITALE E RIPRODUZIONE DI ORGANISMI BENTONICI MARINI: LA STRATEGIA DI RECLUTAMENTO DEL CORALLO ROSSO (*CORALLIUM RUBRUM* L. 1758)

*LIFE CICLE AND REPRODUCTION OF MARINE BENTHIC ORGANISMS: RED CORAL (*CORALLIUM RUBRUM *L. 1758) RECRUITMENT*

Abstract

This paper focalizes on the recruitment processes and the mortality on artificial substrata of an overexploited Mediterranean octocoral: Corallium rubrum*. Data about red coral are compared with those of other benthic filter feeders:* Anomia *sp. and* Serpula *spp.*

Key-words*: recruitment, red coral, life cicle*, Anomia, Serpula.

Introduzione

Il ciclo vitale di ogni organismo comprende differenti fasi, di durata diversa nelle varie specie (Babcock e Mundy, 1996), di cui quella riproduttiva costituisce il momento più significativo.

I cicli vitali della maggior parte degli invertebrati bentonici marini comprendono sia una fase di dispersione che una in cui l'organismo è sedentario o sessile. Generalmente la fase dispersiva coincide con la fase larvale, ed è l'unico periodo in cui simili organismi sono capaci di grandi spostamenti (Olson, 1985). In tali cicli vitali la fase larvale rappresenta un periodo piuttosto breve rispetto alla fase successiva (adulta) e ciò è particolarmente vero in specie il cui ciclo è molto lungo.

Le strategie riproduttive e, soprattutto, il tipo di larva prodotta influenzano la capacità di dispersione e le modalità di reclutamento. Esse rivestono perciò un'importanza fondamentale nella determinazione della struttura di età delle popolazioni bentoniche marine.

La modalità di nutrizione delle larve determina la durata della loro vita planctonica e, di conseguenza, la distanza che riescono a percorrere prima della metamorfosi. Le larve lecitotrofiche, che si nutrono sfruttando le sostanze nutritive embrionali, dispongono, prima dell'abbandono della vita planctonica e della metamorfosi, di un periodo abbastanza breve, e quindi la loro capacità di dispersione risulta relativamente modesta: in casi simili si avrà quindi un'alta densità di individui giovani insediati vicino agli adulti (Hurlbut, 1991). Le larve planctotrofiche, al contrario, permangono allo stato planctonico a lungo, nutrendosi di altri planctonti e sviluppandosi tanto da arrivare, al momento della metamorfosi, a poter rispondere a stimoli specifici, necessari per individuare l'ambiente più idoneo per l'insediamento. In questi casi non solo il potenziale dispersivo è alto, ma anche l'insediamento "mirato" darà luogo a forme particolari di reclutamento.

Il termine "recruitment" indica l'apporto di nuovi individui, originati mediante riproduzione, ad una popolazione naturale (Caley *et al.,* 1996) Il termine "recruit" indica l'individuo che appartiene alla prima classe di età. Il reclutamento rappresenta la fase finale di una serie di fasi che iniziano con la comparsa della larva, si continuano

poi con il periodo planctonico seguito dall'eventuale scelta del substrato, dall'insediamento, la metamorfosi e le fasi iniziali dello sviluppo giovanile (Keough, 1986).

Nel nostro Dipartimento si conducono da diversi anni ricerche sulla biologia di popolazione di *Corallium rubrum* (Abbiati *et al.,* 1992; Santangelo *et al.*, 1999; Santangelo e Abbiati, 2001). In quest'ambito si è pensato di condurre una ricerca sulla strategia di reclutamento di questo prezioso ottocorallo. Più particolarmente, ci siamo proposti di indagare le dinamiche del reclutamento di una popolazione di *C. rubrum*, prendendo in considerazione i fattori profondità e tempo che si riteneva potessero influenzare appunto il processo di reclutamento.

Allo scopo, infine, di confrontare le diverse dinamiche di reclutamento presenti negli invertebrati bentonici marini con quella di *Corallium rubrum*, sono stati esaminati i dati riguardanti due organismi appartenenti a phyla differenti: anomie e serpulidi.

Il mollusco bivalve anomia (*Anomia* sp.) possiede una conchiglia inequivalve, sottile, trasparente e molto variabile per forma e colorazione. Si nutre per filtrazione ed è tra i colonizzatori precoci del substrato.

I policheti serpulidi (*Serpula* spp.) sono organismi sessili che si nutrono per mezzo di un apparato filtratore. Tipici dei substrati a coralligeno sono fra i primi colonizzatori e rivestono notevole importanza all'interno della comunità in quanto biocostruttori.

Materiali e metodi

La specie studiata

Il Gorgonario *Corallium rubrum* L. ovvero il corallo rosso, è specie coloniale arborescente molto nota soprattutto per aspetti commerciali. Questa specie è presente nei popolamenti sciafili di substrato duro del Mediterraneo ed è tipica del coralligeno di grotte semi-oscure (Pérès e Picard, 1964). Il suo range di distribuzione verticale va da una profondità di circa 25 m ad una di circa 300 m. Si tratta di una specie iteropara, la riproduzione è sessuale e la fecondazione è interna. Larve liberamente natanti (planule) vengono emesse già formate. Ogni colonia adulta origina da una singola planula.

Area di studio

La popolazione di *Corallium rubrum* esaminata si trova irregolarmente distribuita lungo una falesia che si estende, parallelamente al profilo costiero, per una decina di chilometri nel tratto di mare compreso tra le località di Antignano e Quercianella (Livorno). Sulla base di studi delle frequenze alleliche questa popolazione è risultata distinta da altre popolazioni limitrofe (Abbiati *et al*., 1993). L'area di studio è costituita da un tratto di questa falesia compreso tra la Torre di Calafuria e la Torre del Romito (43°27'N, 10°19'E) ad una profondità compresa tra i 20 ed i 40 metri e caratterizzato da tratti di parete verticale ben esposti alla luce alternati ad anfratti.

La popolazione da noi studiata è costituita prevalentemente da colonie delle classi più giovani, con un'età massima che non supera i 10 anni. Il tasso di mortalità è particolarmente elevato negli anni successivi al terzo. Le numerose colonie di piccola taglia svolgono un ruolo determinante nell'assicurare la sopravvivenza del popolamento, producendo oltre il 90% delle planule.

Metodo di campionamento

La ricerca è stata impostata secondo un modello multifattoriale ortogonale di ANOVA. I fattori presi in considerazione, ciascuno con 2 livelli, sono Tempo (T1 e T2) e Profondità (25 m e 35 m).

8 piastrelle di marmo bianco, ognuna delle dimensioni di 90×120×4 mm, sono state posizionate a ciascuna delle due profondità alla fine di maggio. Si è scelto di disporre le piastrelle qualche tempo prima dell'inizio del periodo riproduttivo del corallo (luglio) per permettere la formazione su di esse di una patina batterica che rende la superficie più adatta all'insediamento larvale (Keough e Raimondi, 1996).

Le piastrelle sono state campionate fotograficamente con cadenza mensile. Il campionamento fotografico è stato scelto perchè le ridotte dimensioni dei recruits di *Corallium rubrum* ne impediscono il conteggio visivo *in situ*, ed inoltre questo metodo permette di non rimuovere i substrati artificiali, i quali possono essere utilizzati per il proseguimento degli studi.

E' stata utilizzata una NIKONOS V dotata di un obiettivo 35 mm con tubo di prolunga IKELITE 3:1 che consente l'inquadratura, tramite una cornice in acciaio fissata all'obiettivo, di una superficie esattamente uguale all'area di ciascuna piastrella. Il sistema di illuminazione è costituito da un flash ISOTTA 33 TTL.

Analisi dei dati

I dati sono stati analizzati secondo un modello multifattoriale di ANOVA. I fattori presi in considerazione sono il tempo e la profondità. Il Tempo costituisce un fattore fisso, ortogonale alla profondità. Presenta due livelli: Tempo 1 (ottobre) e Tempo 2 (agosto). La Profondità è un fattore fisso ed ortogonale al tempo. Presenta due livelli: Profondità 1 (25 m) e Profondità 2 (35 m). Per ciascuno dei due tempi sono state considerate 4 piastrelle diverse a ciascuna profondità per mantenere l'indipendenza dei dati, assunzione essenziale per l'utilizzo delle tecniche di ANOVA (Underwood, 1997). Prima di effettuare l'analisi è stato eseguito il test di Cochran per verificare l'omogeneità delle varianze.

Il campionamento mensile permette di seguire il destino di ogni singolo individuo insediato sulle piastrelle, ottenendo così dati sulla storia di ciascun individuo. Dalla lettura delle piastrelle è stato inoltre possibile registrare anche dati riguardanti la dinamica del reclutamento e la sopravvivenza di altri organismi che vi si insediano: *Anomia* sp. e *Serpula* spp.

Tab. 1 - ANOVA. La tabella mostra un effetto significativo del fattore Tempo e del fattore Profondità. L'interazione tra i due fattori non è risultata significativa.

ANOVA. Table shows a significant effect of factor Time and factor Depth. Interaction did not resulted significant.

Sorgenti Variabilità	g.l.	SQ	F	p	denominatore per F
Tempo	1	2,2123	4,80	0,0478	Residuo
Profondità	1	5,2706	11,57	0,0053	Residuo
Tempo X Profondità	1	0,0258	0,06	0,8160	Residuo
Residuo	12	0,4555			
		Test di Cochran	C = 0,168, p>0,05		
		Trasformazione	Ln (x+1)		

Risultati

L'analisi statistica (ANOVA) del reclutamento di *Corallium rubrum* ha evidenziato un effetto significativo della profondità ($p = 0{,}0053$) e del tempo ($p = 0{,}0478$) sulla densità del reclutamento e sulla sopravvivenza degli individui insediati (Tab. 1). Alla profondità di 35 metri la densità di reclutamento ($x = 3{,}6/dm^2$) risulta significativamente minore ($p = 0{,}0053$) di quella a 25 metri ($x = 8{,}3/dm^2$). Il numero di individui presenti sulle piastrelle risulta maggiore al tempo iniziale (ottobre) rispetto al tempo finale (agosto).

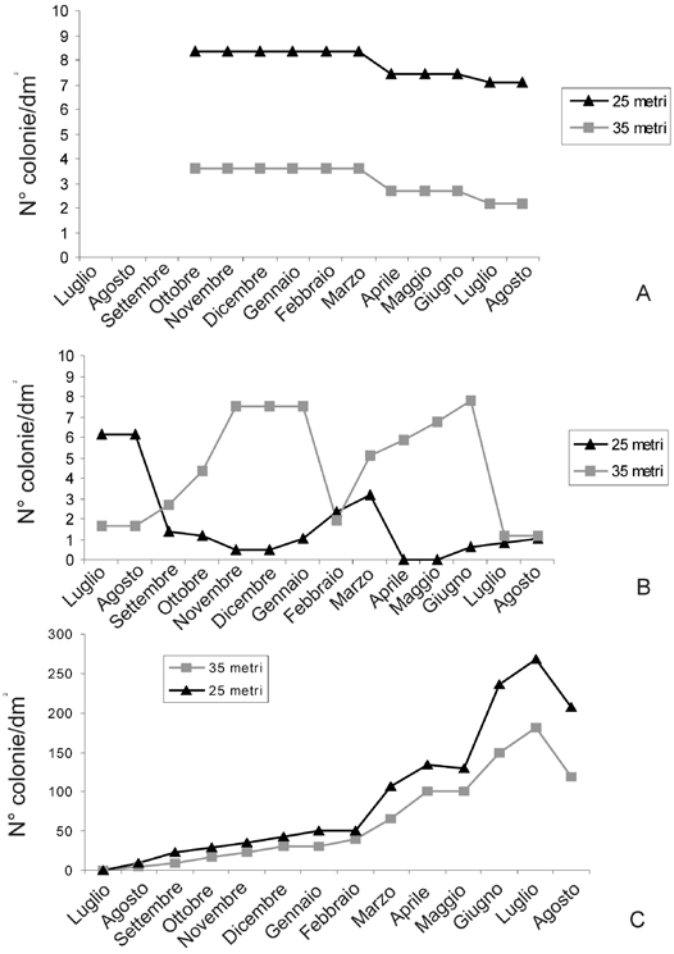


Fig. 1 - Insediamento e sopravvivenza. La linea si grigia si riferisce alla profondità di 35 m. la linea nera alla profondità di 25 m. La densità si riferisce al numero di individui per dm^2 A: *Corallim rubrum*. B: *Anomia sp.* C: *Serpula spp*.

Settlement and survivorship. Grey line is for 35 m depth, black line for 25 m, depth. Density indicates number of individuals/dm² A: Corallium rubrum*. B:* Anomia sp. *C:* Serpula spp.

Il campionamento mensile ha permesso di analizzare in maniera più dettagliata l'andamento dell'insediamento e della sopravvivenza degli individui di *C. rubrum*. È stato possibile individuare un periodo di insediamento (luglio-settembre) con il numero massimo di individui insediati in ottobre, a cui segue un intervallo di tempo (ottobre - marzo) in cui il numero di individui insediati rimane invariato. Tra marzo ed aprile alcuni individui muoiono ad entrambe le profondità. Nel periodo seguente a questa prima mortalità (aprile-giugno) il numero di individui rimane inalterato e tra giugno e luglio si registra un'altra diminuzione del numero di individui che rimane poi inalterato fino al successivo periodo di insediamento (Fig. 1 A).

Le modalità di reclutamento di *Corallium rubrum* sono state confrontate con quelle di *Anomia* sp. e *Serpula* spp.: i risultati mostrano che il reclutamento, in entrambi gli organismi, non è ristretto ad un periodo limitato come in *C. rubrum*, ma avviene durante tutto l'arco dell'anno anche se con modalità differenti.

Nel caso di *Anomia* sp. (Fig. 1 B) si riscontra una netta differenza fra gli andamenti temporali del reclutamento alle due profondità. Per la profondità di 25 m si può notare un primo picco di densità a luglio a cui segue un calo fino al mese di dicembre, quando la densità ricomincia ad aumentare per raggiungere un secondo picco tra marzo ed aprile. Il secondo picco è seguito da un calo repentino che porta alla totale assenza di individui sulle piastrelle nel mese di maggio. Da giugno gli individui ricominciano a comparire, anche se ad agosto sono in numero minore rispetto allo stesso mese dell'anno precedente. Differente è l'andamento alla profondità di 35 m: la densità aumenta lentamente e raggiunge il massimo a novembre per poi rimanere inalterata nei tre mesi successivi. A gennaio si registra un crollo della densità che poi aumenta gradualmente. Tale aumento raggiunge il suo massimo a giugno. Fra giugno e luglio la densità subisce un altro netto calo e si mantiene costante fino ad agosto (Fig. 1 B).

Nel caso di *Serpula* spp. (Fig. 1 C) ogni mese nuovi individui arrivano sulle piastrelle aggiungendosi a quelli già presenti. L'andamento è molto simile ad entrambe le profondità anche se si può notare una densità maggiore alla profondità di 25 m (Fig. 1 C).

Conclusioni

Nella popolazione di *Corallium rubrum* da noi presa in esame il periodo di insediamento larvale, cominciato alla fine di luglio, si è concluso entro il mese di settembre.

In base ai risultati dell' ANOVA, l'effetto dei fattori Tempo e Profondità sulla dinamica del reclutamento di *Corallium rubrum* è risultato significativo ($p=0,0478$; $p=0,0053$). Per quanto riguarda il fattore Tempo ciò è dovuto ad una mortalità che colpisce gli individui durante i primi mesi di vita: i polipi appena insediati non hanno completato la costruzione dello scheletro calcareo che li protegge e potrebbero pertanto essere più vulnerabili a fenomeni di predazione e competizione. Per quanto riguarda il fattore Profondità, si nota una differenza significativa, nel primo anno, tra l'insediamento a 25 metri ed a 35 metri ($p=0,0053$). Alla profondità maggiore, infatti, la densità di settlers è inferiore. Ciò potrebbe essere dovuto al fatto che le due profondità si trovano a cavallo del termoclino: la differenza di temperatura potrebbe perciò essere determinante.

Per descrivere l'andamento della mortalità è stato utilizzato un approccio basato sulla "life history" dei singoli individui. Questo tipo di analisi, basata sull'osservazione del numero di individui presenti ogni mese su ciascuna piastrella durante il primo anno di vita, ha permesso di evidenziare due episodi di mortalità, ad entrambe le profondità, durante questo periodo. L'analisi mensile delle piastrelle ha permesso di registrare l'andamento dell'insediamento e della mortalità di altri organismi presenti su di esse: *Anomia* sp. e *Serpula* spp. E' stato così possibile mettere a confronto tre diverse strategie

di reclutamento nel corso di un ciclo annuale: quella di *C. rubrum*, che recluta una sola volta, quella di *Anomia* sp., che colonizza il substrato ad ondate e che viene perciò definita "pulsante", e quella di *Serpula* spp., i cui individui continuano ad arrivare in tutte le stagioni, e che viene pertanto definita "continua". Ci si propone di proseguire e sviluppare questa ricerca allo scopo di raccogliere ulteriori informazioni sull'accrescimento e sulle dinamiche del reclutamento di *Corallium rubrum*, utili anche per la gestione di questa specie che rischia il sovrasfuttamento a causa del suo alto valore commerciale.

Summary

This paper refers about a study on recruitment and mortality trends of a red coral (*Corallium rubrum* L.) population dwelling on a coastal rocky shore near Livorno. A multifactorial ANOVA model was followed to investigate factors affecting recruitment density. The factors were Depth, with two levels, and Time, with two levels. The study was carried on by examining artificial substrata placed in the original site of this population: marble tiles were placed at two depths (25 and 35 m) and photographically sampled monthly. The effect of both the factors on recruitment density resulted to be significant. Recruitment and mortality trends were also compared with those of other benthic filter feeders: *Anomia* sp. and *Serpula* spp. The research then showed 3 different recruitment strategies: red coral recruits once in a year, *Anomia* sp. reproduces and recruits several times in the same period (pulsing recruitment), *Serpula* spp., finally, colonize tiles continously all over the year.

Ringraziamenti

Si ringrazia la ditta Evangelisti Marmi per aver fornito i substrati artificiali, la Guardia Costiera di Livorno per l'appoggio logistico e lo Scatolificio La Torre per il mezzo nautico.

Bibliografia

ABBIATI M., G. BUFFONI, G. CAFORIO, G. DI COLA, G. SANTANGELO (1992) - Harvesting, predation and competition effects on a red coral population. *Neth. J. Sea Res.,* **30**: 219-228.

ABBIATI M., SANTANGELO G., NOVELLI S. (1993) - Genetic variation within and between two populations of the coral *Corallium rubrum*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **95**: 245-250.

BABCOCK R., MUNDY C. (1996) - Coral recruitment: consequences of settlement choice for early growth and survivorship in two scleractinians. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **206**: 179-201.

CALEY M.J., CARR M.H., HIXON M.A., HUGES T.P., JONES G.P., MENGE B.A. (1996) - Recruitment and the local dynamics of open marine populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.,* **27***:* 477-500.

HURLBUT C.J. (1991) - Larval substratum selection and postsettlement mortality as determinants of the distribution of two bryozoans. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **147**: 103-119.

KEOUGH M.J. (1986) - The distribution of a bryozoan on a seagrass blades: settlement growth, and mortality. *Ecology*, **67** (4): 847-857.

KEOUGH M.J., RAIMONDI P.T. (1996) - Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic films: effects of large-scale variations in films. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **207**: 59-78.

OLSON R.R. (1985) - The consequence of short-distance larval dispersal in a sessile marine invertebrate. *Ecology*, **66** (1): 30-39.

PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau Manuel de bionomie bentique de la Mer Méditeranée. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **47**: 1-137.

SANTANGELO G., BONGIORNI L., GIANNINI F., ABBIATI M., BUFFONI G. (1999) - Analisi di struttura di due popolamenti di corallo rosso di habitat differenti. In: F. Cicogna, G. Bavestrello, R. Cattaneo-Vietti (eds), *Biologia e tutela del corallo rosso e di altri ottocoralli del Mediterraneo*. Min. Pol. Agr., Roma: 23-43.

SANTANGELO G., ABBIATI M. (2001) - Red coral: conservation and management of an overexploited Mediterranean species. *Acquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.,* **11**: 253-259.

UNDERWOOD A.J. (1997) - *Experiments in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 102-112

P. Carbonara, G. Costantino, G. Giovine[1], G. Lembo, M.T. Spedicato, A. Machias[2]

COISPA Tecnologia e Ricerca s.c.r.l., Via dei Trulli, 18/20 - 70045 Torre a Mare, Bari, Italia.
coispa@coispa.it
[1]Dip. di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.
[2]Institute of Marine Biology, 71003 Iraklio, Crete, Greece.

SOME ASPECTS OF THE LIFE HISTORY OF *POLYPRION AMERICANUS* (SCHNEIDER, 1801) ALONG THE COASTS OF THE NORTH WESTERN IONIAN SEA

ASPETTI DEL CICLO VITALE DI POLYPRION AMERICANUS *(SCHNEIDER, 1801) LUNGO LE COSTE DELLO IONIO NORD-OCCIDENTALE*

Abstract

Along the Italian coasts the knowledge on the biology of the cosmopolitan and long-living wreckfish Polyprion americanus *(Schneider, 1801) is very limited. In this paper data collected in the North Ionian Sea on reproductive cycle and growth are reported. Life cycle of* P. americanus *is characterised by an epi-pelagic phase lasting less than 2 years followed by a demersal habit. Adult wreckfish lives in deeper water (mainly around 600 m), preferably on rocky bottoms. Spawning occurs in autumn-winter season and the studied stock seems to mature earlier than the Atlantic one (7-8 years and 88.5-92 cm in total length vs 8-10 years and 90-98 cm in total length). The Von Bertalanffy growth parameters (L_∞ =134,01 cm; K= 0,116; t_0= –2,157) for the whole cycle indicated a rather slow growth, that appeared conversely very high for the epi-pelagic phase.*

Key-words: Polyprion americanus*, Ionian sea, reproduction, growth.*

Introduction

The wreckfish *Polyprion americanus* (Schneider, 1801) is a cosmopolitan fish that occurs on both sides of the Atlantic Ocean, in the southern Indian Ocean, in the western South Pacific (southern Australia and New Zealand) (Sedberry *et al*., 1999), and in the Mediterranean (Tortonese, 1975). Along the Italian coasts this species is distributed in all the seas, except in the Middle and Northern Adriatic. Wreckfish inhabits rocky bottoms and also muddy grounds at depth from 40 to 420 m, but more frequently it is found in waters deeper than 300 m (Tortonese, 1975; Fischer *et al*., 1987). The occurrence of *P. americanus* in the adult stage has also been observed on the rocky bottoms characterised by cave, crevices and by the deep coralligenous biocenosis off the northwestern Sicily from Cape Milazzo to the Egadi Islands (Bombace, 1972). In South Adriatic, Kirincic and Lepetic (1955) reported the capture of wreckfish from 400 to 700 m depth, even on muddy bottoms, with a higher frequency between 500 and 600 m. In the Southern Sardinian Seas the presence of this species was observed between 500 and 720 m (Cau, 1980).

The presence of pelagic juvenile individuals (10 cm length) was reported by Lo Bianco (1909) in summer (June) in the Gulf of Naples. Kirincic and Lepetic (1955) recorded the occurrence of juvenile wreckfish (20-25 cm length), associated with *Naucrates ductor* along the coasts of the Eastern South Adriatic Sea. Occasionally wreckfish is caught during fishing of *Coryphaena hippurus* by FAD (Fish Aggregation Device) systems that seem to be effective in promoting the recruits aggregation (Deutero *et al*., 1999). Similar efficacy seems to be due also to buoy systems, as observed in the Ligurian Sea (Relini *et al*., 1994).

At present, little is known of the life history of this long lived deep-water demersal species characterised by an extended pelagic juvenile phase (Roberts 1989, Sedberry *et al*., 1999). In the demersal phase wreckfish presents a slow growth rate and is usually recruited to fishery at an advanced age (Sedberry *et al*., 1999). Conversely, the epi-pelagic phase is characterised by remarkable growth performances, as demonstrated by experimental individual rearing (Papandroulakis *et al*., 2002). The species attains large sizes (100 kg) that usually occurred in the biggest depths of its occurrence (>350 m; Sedberry *et al*., 1995; Anonymous, 2001). Recently published data consisted of its reproduction mode (Roberts, 1989); fishery, age and growth in the western Atlantic coast populations (Sedberry *et al*., 1999); and population structure (Sedberry *et al*., 1996). Machias *et al*. (2003) has contributed to clarify some aspects of the settlement in the Mediterranean.

The knowledge on the life history, as well as on the biology and ecology of this species along the Italian seas is still fragmentary and few data exist on reproductive cycle and growth.

This paper aims to contribute at increasing knowledge on some aspects of the life history of the species, such as growth and reproduction, using data collected along the coasts of the North Western Ionian Sea, in the frame of the EU research project "State of the stocks of the European wreckfish (*Polyprion americanus*)".

Materials and methods

The adult specimens of wreckfish were sampled in the North Western Ionian Sea (Fig. 1) at depth from 400 to 700 m, using bottom long line. The juveniles in the epi-pelagic phase were caught at the same capture site of the adults using FAD-like (Fishing Aggregation devices) system.

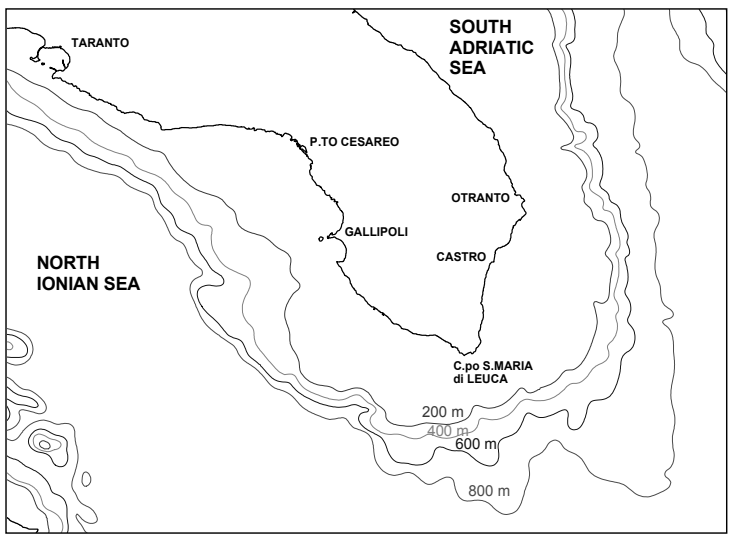


Fig. 1 - Study area (Salento Peninsula, Apulia Region). The isobaths of 200, 400, 600 and 800 m are shown.

Area di studio (Penisola Salentina, Regione Puglia) con indicazione delle isobate di 200, 400, 600 e 800 m.

The morphometric measures (total length; total and eviscerated weights; gonad weight) were taken at laboratory and sex determined. The sex-ratio was expressed as the number of females versus the total number of sexed individuals (F/F+M). A weighed subsample from the anterior, the middle and the caudal part of the gonads was fixed in 10% neutral buffered (0.1M phosphate buffer, pH 7.2) formalin, for subsequent histological analyses after macroscopic staging. The Gonadosomatic (GSI=gonad weight/eviscerated body weight×100) indices of 34 females and 24 males were calculated. For the histological analysis gonad pieces were dehydrated in alcohol and embedded in paraffin wax. Tissue blocks were mounted on a rotary microtome and sectioned at a thickness of 5-7 μm. Two histological stains were used: hematoxylin and eosin and Mallory's triple stain.

Sagittae (left and right) were removed, measured using an ocular micrometer (Fig. 8), embedded in a block of clear epoxy resin and sectioned along a dorso-ventral plane through the kernel, using a single high-concentration diamond wheel on a Buehler Isomet low-speed saw. One face of the section was polished before with silicone carbide paper and then with aluminium powder at the end of the process, until a thickness of about 350 μm was reached. The sections were then covered with glycerol drop and examined under a dissecting microscope with reflected and transmitted light. Counting was performed by two readers projecting the image onto a monitor. Globally 60 sagittae were clearly or enough clearly readable by both the readers. As the monthly samples did not cover the whole year, the marginal increment analysis could not give robust validation, thus we assumed the annual nature of rings, as documented by Sedberry *et al*. (1999) for *P. americanus* and by Francis *et al*. (1999) for *P. oxygeneios*.

The relationships among the different morphometric characters of the body and of the otolith were estimated on the ln-transformed data (overall). The linear regression analysis was performed according to the least square method (Draper e Smith, 1966).

The Von Bertalanffy growth function was used to describe growth. The fitting was estimated applying an iterative process initiated using guess parameters, so that the differences between observed and expected (theoretical) value were minimised. An index of the interpolation goodness was represented by the lowest mean square error (MSE).

Results

The adult individuals were mainly caught around 600 m depth on rocky bottoms characterised by the presence of *Lophelia pertusa* (Madreporaria).

The overall size interval was from 15.5 to 131 cm in total length, with an average of 76.3 cm (Tab. 1). The overall total body weight ranged from 75 g to 34.7 kg, with an average of 9.8 kg. The average length of females and males were rather similar (82.5 *vs*. 83.7 cm) as well as their average weight (11 *vs*. 11.4 kg). The most frequent length class (Fig. 2) was 50-55 cm and all the individuals larger than 50 cm were demersal. Although females attained a larger maximum size than males, the low limit of the overlapping length range was very close (Tab. 1). The value of the sex-ratio (0.62) showed an overall slightly prevalence of females, but it was not significantly different (χ^2 value=4.154; $p<0.01$, 1 d.f.) from 0.5. However, when the length classes are considered it is possible to evidence that females were more numerous from 45 to 70 cm. From 70 to 80 cm the males were prevailing as well as from 100 to 115 cm. The sex-ratio was in favour of females from 85 to 100 cm and from 120 cm onwards.

Tab. 1 - Minimum (min) maximum (max) and mean Total Length (TL in cm) and Weight (TW in g) for the overall number of *P. americanus* measured by sex. (N: number of specimens; s.d.: standard deviation; C.V.: coefficient of variation in percentage). The overlap length range for females and males and the sex-ratio value are also reported.

Lunghezza Totale (TL in cm) e Peso Totale (TW in g) minimi (min), massimi (max) e medi relativi a tutti gli esemplari misurati, per sesso, di P. americanus. *(N: numero di individui; s.d.: deviazione standard; C.V.: coefficiente di variazione in percentuale).*

	TL (cm)						TW (g)					Overlap range TL (cm)
	N	min	max	mean	s.d.	C.V. (%)	min	max	mean	s.d.	C.V. (%)	
Overall	89	15.5	131.0	76.3	27.81	36.4	75	34700	9819	8520	86.8	
Females	48	50.0	131.0	82.5	23.15	28.1	2100	34700	10991	8626	78.5	**51-121**
Males	30	51.0	121.0	83.7	21.98	26.3	2300	27800	11358	7744	68.2	
Sex-ratio (F/F+M)	**0.62**											

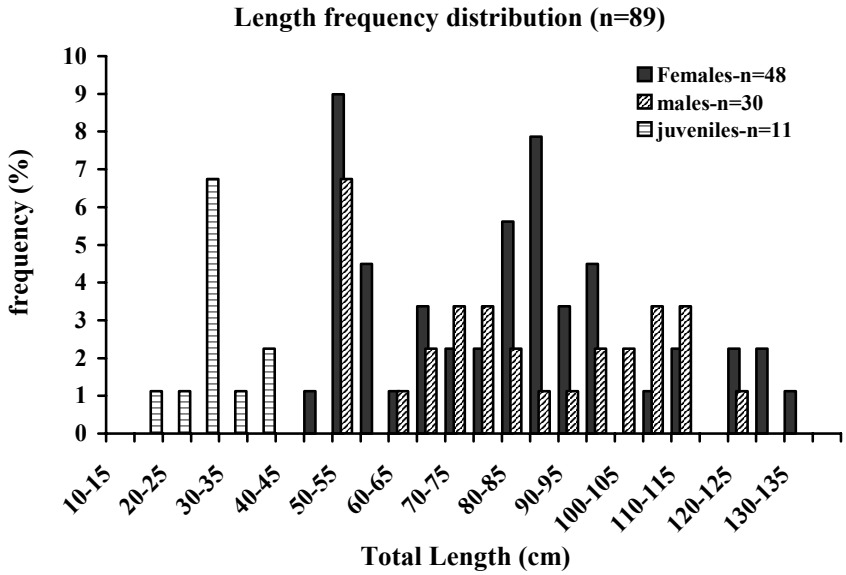


Fig. 2 - Length frequency distribution (in percentage), distinguishing females, males and juveniles.
Distribuzione di lunghezza-frequenza (in percentuale) di femmine, maschi e giovanili.

The equations of the morphometric relationships (Tab. 2) show that growth in length was approximately isometric to the growth in weight (slope = 2.881). A significant ($p < 0.05$) correlation coefficient was estimated for the relationships.

Tab. 2 - Morphometric relationships. (Legend: TL=Total Length; TW=Total Weight; EW=Eviscerated Weight; r=correlation coefficient).
Relazioni morfometriche. (Legenda: TL=Lunghezza Totale; TW=Peso Totale; EW=Peso Eviscerato; r=coefficiente di correlazione).

Equation	r
$TW=0.02736*TL^{2.881}$	0.999
$TL=3.5051*TW^{0.346}$	0.999
$EW=0.98852*TW^{0.992}$	0.9998

The monthly evolution of the Gonadosomatic index (IGS) for "adult" females (larger than 4 kg total weight) showed the minimum value in March, after this month a slight increase, that became more conspicuous from July to August, was observed (Fig. 3). Unfortunately females were not caught at all in February, when the highest value of male GSI (Fig. 4) was observed. After this month the male GSI decreased, reaching the minimum in April. Successively, if the value of June is excluded, a slight increase was appreciated till to August.

Immature females with all the oocyte population in previtellogenesis occurred throughout the sampling months, representing 41.7% of the sample (Tab. 3). Females showing both previtellogenic (in the late perinucleolus stage), and vitellogenic oocytes at the stage of the lipid vesicles and primary yolk granuli in the outer cortex (Fig. 5) occurred from the end of April to August. Females with oocytes at a more advanced maturation stage (yolked oocytes and a thick zona radiata, Fig. 6) were mainly observed in August, while post-spawning females occurred in March and April.

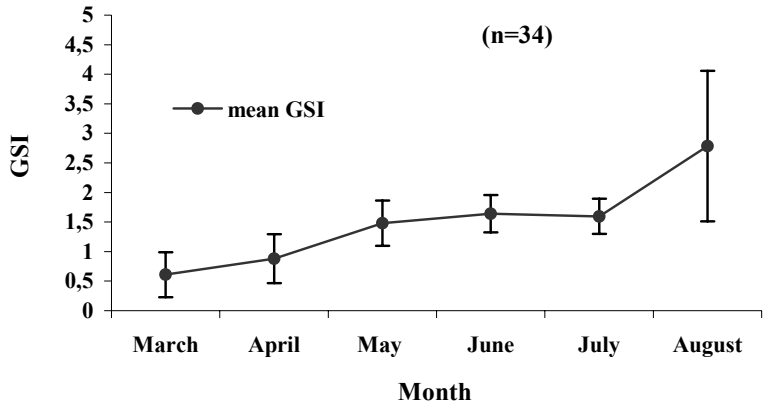


Fig. 3 - Mean monthly gonadosomatic (GSI) indices of adult females. The bars indicate the standard deviation.
Indice Gonado-somatico medio mensile delle femmine adulte. Le barrette indicano la deviazione standard.

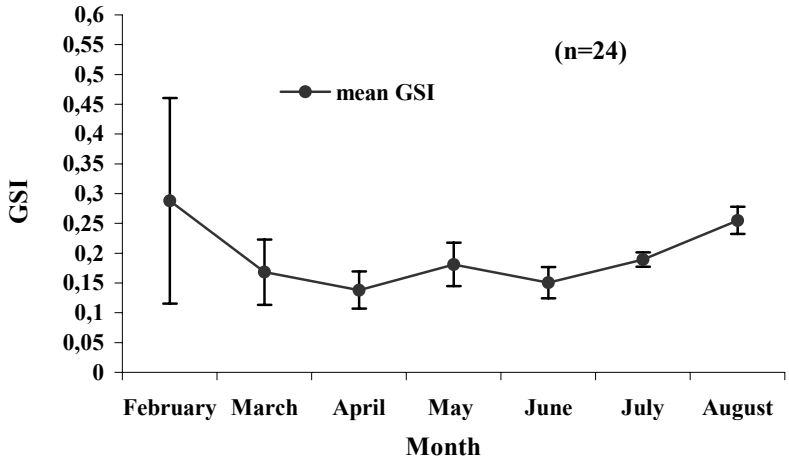


Fig. 4 - Mean monthly gonadosomatic (GSI) of adult males. The bars indicate the standard deviation.

Indice Gonado-somatico medio mensile dei maschi adulti. Le barrette indicano la deviazione standard.

Tab. 3 - Occurrence (percentage) of the different maturation stages of gonads observed in the samples of females (n=48) and males (n=30). Total length and total weight ranges are also reported.

Frequenza (percentuale) dei diversi stadi di maturazione gonadica osservati nei campioni di femmine (n=48) e maschi (n=30). E' inoltre riportato il range della lunghezza totale e peso totale.

	Maturation stage	Occurrence (%)	Total length range (cm)	Total weight range (kg)
Females	**Immature**	41.7	50.0-76.5	2.1-7.2
	Early maturation	25.0	78.5-129.0	7.8-33.8
	Maturing	18.6	85.0-125.5	10.0-31.0
	Post-spawning	14.6	87.0-131.0	9.9-34.7
Males	**Immature**	33.3	51.0-76.5	2.3-7.1
	Maturing	13.3	82.0-100.0	8.8-15.6
	Spermiating	13.3	74.5-114.0	6.5-23.0
	Post-spawning	40.0	72.0-121.0	6.0-27.8

Immature males (Tab. 3) occurred in all the sampled months (February-August), while maturing males were present in July and August. In February and March still spermiating (Fig. 7) males were found and post-spawning males occurred from April to the early July.

The smallest female in maturation was 78.5 cm (7.8 kg), while the smallest male that had reached maturation was 72 cm (6 kg) in total length, that means at an age of 5 and 4 years, respectively.

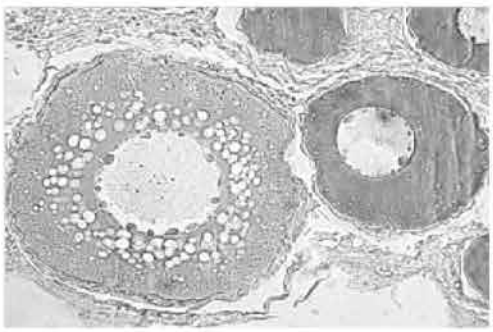


Fig. 5 - Ovary section of a wreckfish 87.5 cm length (TW=10.6 kg; capture date: June 2000). Previtellogenic (more than 10 nucleoli) and early vitellogenic (lipid vesicles and primary yolk granuli) oocytes are represented. Hematoxylin and eosin staining.

Sezione di ovario di un individuo di 87.5 cm di lunghezza totale (Peso Totale=10.6 kg; data di cattura: giugno 2000). Sono presenti oociti previtellogenici (con più di 10 nucleoli) e in fase iniziale della vitellogenesi (vescicole lipidiche e granuli primari del tuorlo). Colorazione con ematossilina-eosina.

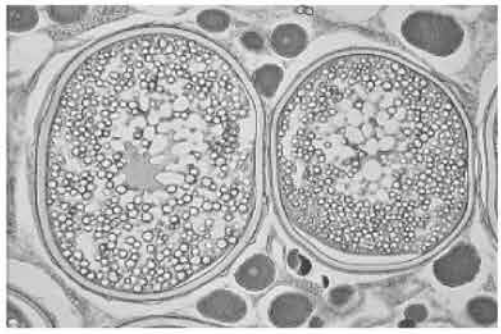


Fig. 6 - Ovary section of a wreckfish 95 cm length (TW=14.7 kg; capture date: August 2000). Vitellogenic (advancend yolk granuli) with a thick zona radiata are represented. Hematoxylin and eosin staining.

Sezione di ovario di un individuo di 95 cm di lunghezza totale (Peso Totale=14.7 kg; data di cattura agosto 2000). Sono presenti oociti vitellogenici (granuli del tuorlo in fase avanzata) con evidente zona radiata. Colorazione con ematossilina-eosina.

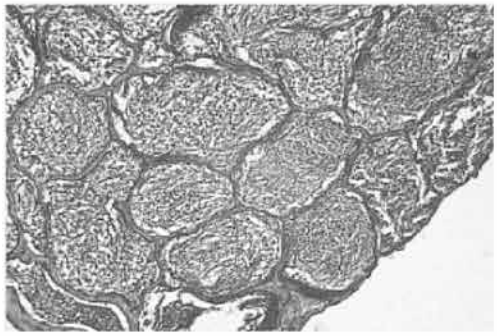


Fig. 7 - Section of the testis of a fluent male 80 cm length (TW=8.9 kg; capture date: March 2001). Lobuli filled with spermatozoa are represented. Mallory staining.

Sezione della gonade di un maschio fluente di 80 cm di lunghezza totale (Peso Totale=8.9 kg; data di cattura: marzo 2001). Sono presenti lobuli con spermatozoi. Colorazione tricromica di Mallory.

The relationships of the otolith morphometric characteristics and between these and body size (Tab. 4) showed significant correlation coefficients ($p<0.05$). Growth of the otolith resulted proportional to growth in total length of the fish. Specimens ranged in

Tab. 4 - Relationships among otolith morphometric characteristics (OTL=Otolith Total Length; OTW=Otolith Total Width; EOTW=Emi-Otolith Total Width; in mm) and fish Total Length (TL) in mm.

Relazioni fra i diversi caratteri morfometrici degli otoliti (OTL=Lunghezza Totole Otolite; OTW=Ampiezza Totale Otolite; EOTW=Ampiezza Totale dell'Emi-Otolite; in mm) e la Lunghezza Totale (TL) degli individui in mm.

Equation	r
$TL=16.1285*OTL_{(AP)}^{1.284}$	0.982
$TL=33.6775*OTW_{(VD)}^{1.381}$	0.980
$OTW_{(VD)}=2.1008*EOTW_{(CD)}^{0.952}$	0.990

age from about 0^+ years (Fig. 9) to 22 years (a female 129 cm in total length). Although our data did not allow a separate estimation of the growth curve by sex, we found that the larger fish among females were 20 and 22 years old, while the larger among males were 14-18 years old, the age interpretation being more difficult for the older individuals due to the annuli narrowing (Fig. 11). The youngest wreckfish (1^+ years old) in the demersal phase was an immature female 50 cm in total length caught at the beginning of September 2000 (Fig. 10). The capture of a 15.5 cm (75 g) wreckfish at the end of April and the maintaining in captivity for 2 months highlighted a very fast growth (increment of 440% of the weight).

The parameters of the Von Bertalanffy growth function were: $L_\infty=134$ cm; $K=0.116$; $t_0=2.157$ (MSE=190.7; Pauly $\phi'=3.32$).

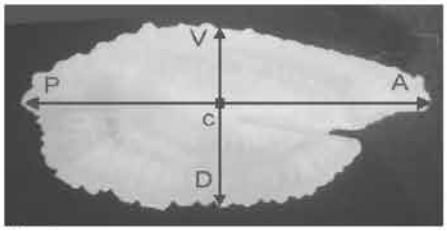


Fig. 8 - Whole sagitta of *P. americanus*. The scheme of measurements is shown: center of the kernel (C), otolith length (AP), otolith width (VD) and emi-otolith width (CD).

Sagitta di P. americanus. *E' indicato lo schema di misurazione in toto: nucleo (C), lunghezza otolite (AP), ampiezza otolite (VD) e ampiezza dell'emi-otolite (CD).*

Fig. 9 - Otolith section under transmitted light of a 0+ years wreckfish captured on July 2000 (TL=28 cm; TW=408 g).

Sezione di otolite di un individuo di età 0+ catturato in luglio 2000 (TL=28 cm; TW=408 g). Osservazione in luce trasmessa.

Fig. 10 - Otolith section under transmitted light of a 1+ year immature female captured on September 2000 (TL=50 cm; TW=2.1 kg).

Sezione di otolite di una femmina immatura di età 1+ catturata in settembre 2000 (TL=50 cm; TW=2.1 kg). Osservazione in luce trasmessa.

Fig. 11 - Otolith section under reflected light of a 18 years maturing female captured on April 2000 (TL=121.5 cm; TW=26.7 kg).

Sezione di otolite di una femmina in maturazione di 18 anni catturata in aprile 2000 (TL=121.5 cm; TW=26.7 kg). Osservazione in luce trasmessa.

Conclusions

The collected samples allowed the estimation of relationships among the different morphometric characters (total length; weights) over a wide range of sizes. It is interesting to note that the average size of these fish could be compared to that reported by Kirincic and Lepetic (1955) for the South Adriatic, in an area not geographically far from that we investigated. Females reached a larger size than male, as reported for wreckfish from other areas (Kirincic and Lepetic, 1955; Roberts, 1989). However, the overlapping range of the lengths showed no separation of size between males and females. The sex-ratio (0.62) was not significantly different from 0.5, but a slight prevalence of females was reported, differently from the observations of Roberts (1989) and Wyanski (1994) that found values in favour of males (0.46 and 0.34 respectively). Probably these differences in sex-ratio are due to the influence, in our samples, of the small sexed fish (50-60 cm), the majority of which was female.

The results of the reproductive analysis evidenced that during the summer months spawning females did not occur, but only some females with ovaries in secondary growth phase. In the same period the GSI increased slightly and did not reach the values reported by Wyanski (1994) for both sexes. Moreover, few developing males were observed, whilst still spermiating males were found on February and March. In the spring season (March-April) also post-spawning both females and males were recorded. Although our sampling time was unable to cover the late autumn-winter season, due to the unfavourable meteorological conditions that did not allow the fishing, our results indirectly can confirm that the spawning time for wreckfish should take place in the late autumn-winter season. On the other side, also the catch of a live juvenile 15.5 cm in total length in April and the occurrence of juveniles wreckfish in summer time suggest that *P. americanus* is a late autumn-winter spawning fish. This outcome is contrasting with previous report from Mediterranean which indicated a summer spawning season (Fisher et al., 1987) and the occurrence of eggs, attributed to wreckfish, in July (Spartà, 1939). Conversely, our results appeared more comparable to those of Sedberry (1996) for the North-West Atlantic as well as to the findings of Roberts (1989) for *P. americanus* of New Zealand.

The Von Bertalanffy growth parameters we estimated evidenced an overall low growth pattern and are substantially in accordance with those of Sedberry *et al*. (1999), which are characterised by a comparable Pauly ϕ' parameter (3,23). The estimated growth pattern of *P. americanus* in the Ionian Sea confirmed a faster growth rate and a lower longevity compared to that of the congener *P. oxygeneios*. However, wreckfish caught in the investigated area seems to mature earlier than the Atlantic one (7-8 years and 88.5-92 cm in total length *vs.* 8-10 years and 90-98 cm in total length) and much earlier if compared to *P. oxygeneios* (10-13 years).

Riassunto

Polyprion americanus è specie cosmopolita distribuita in entrambi gli emisferi. Lungo le coste Italiane è presente in tutti i mari, eccetto che nell'Alto e Medio Adriatico.

I giovanili di *P. americanus* hanno comportamento pelagico e spesso si possono ritrovare all'ombra di relitti galleggianti o sotto i "cannizzi". Gli adulti, invece, sono demersali e sono più frequenti a profondità maggiori di 500 m.

Nonostante l'ubiquità di questa specie, le informazioni sul ciclo vitale, sulla biologia riproduttiva e sull'accrescimento sono molto scarse, in particolare per il Mediterraneo.

Nell'ambito del programma di ricerca "State of the stocks of European Wreckfish (*Polyprion americanus*)" (Progetto della Commissione Europea 98/041) sono stati analizzati 89 individui, catturati tra 400 e 700 m di profondità lungo le coste meridionali italiane. Su ciascun individuo sono state rilevate le seguenti misure biometriche: lunghezza totale, peso totale, peso eviscerato, peso delle gonadi. Inoltre, sono stati prelevati campioni di tessuto gonadico, per le analisi istologiche, e gli otoliti, per la lettura dell'età. Le stime della relazione lunghezza-peso (PT = peso totale; LT = lunghezza totale) hanno evidenziato i seguenti risultati: $PT = 0.0274 * LT^{2.8812}$, $r^2 = 0.998$. Per quanto riguarda la riproduzione, l'andamento degli indici gonadosomatici, così come l'analisi istologica delle gonadi, sembrano indicare, per questa specie, un unico periodo riproduttivo collocabile in tardo-autunno-inverno. La lettura di sezioni sottili (350 μm) di 60 sagitte appartenenti a individui con lunghezza compresa tra 26 e 131 cm, ha permesso una stima dei parametri di accrescimento secondo l'equazione di Von Bertalanffy: $L_\infty = 134.01$ cm; $K = 0.116$; $t_0 = -2.157$.

References

ANONYMOUS (2001) - State of the stocks of the European wreckfish (*Polyprion americanus*). *Final Report. EU project 98/041*: 54 pp.

BOMBACE G. (1972) – Ittiofauna e produzione terziaria del coralligeno di substrato duro della costa settentrionale di Sicilia. *Quad. Lab. Tecnol. Pesca*, **3** (1-4): 23-37.

CAU A. (1980) – Secondo contributo alla conoscenza dell'ittiofauna batiale dei mari circostanti la Sardegna Meridionale (Osteichthyes). *Quad. Civ. Stn. Idrobiol. Milano*, **8**: 39-44.

DEUTERO S., MERELLA P., MORALES-NIN B., MASSUTÌ E., ALEMANY F. (1999) – Fish Communities associated with FADs. *Sci Mar*., **63** (3-4): 199-207.

DRAPER N.R., SMITH H. (1966) - Applied regression analysis. *J. Wiley & Sons, Inc.* London.

FISCHER W., BAUCHOT M.L., SCHNEIDER M. (1987) - Fiche FAO d'identification des espèces pour les besoins de la peche. (Rev. 1). Méditerranée et Mer Noire (Zone de peche 37). *FAO Roma*: 1529 pp.

FRANCIS M.P., MULLIGAN K.P., DAVIES N.M. (1999) – Age and growth estimates for New Zealand hapuku, *Polyprion oxygeneios*. *Fish. Bull*., **97**: 227-242.

KIRINCIC J., LEPETIC V. (1955) – Recherches sur l'ichthyobenthos dans les profondeurs de l'Adriatique méridionale et possibilitè d'exploitation au moyen de palangres. *Acta Adriat*., **7**: 3-113.

LO BIANCO S. (1909) – Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del Golfo di Napoli. *Mitth. Zool. Stat. Neapel*., **19** (4): 513-763.

MACHIAS A., SOMARAKIS S., PAPADROULAKIS N., SPEDICATO M.T., SUQUET M., LEMBO G., DIVANACH P. (2003) - Settlement of the wreckfish (*Polyprion americanus*). *Marine Biology*, **142**: 45-52.

PAPANDROULAKIS N., SUQUET M., SPEDICATO M.T., MACHIAS A., DIVANACH P. (2002) - Feeding rates, growth performance and maturation status of wreckfish (*Polyprion americanus*) kept in captivity. *EAS Special Publication No. 32*: 413.

RELINI M., ORSI RELINI L., RELINI G. (1994) – An offshore buoy as a FAD in the Mediterranean. *Bull. Mar. Sci*., **55** (2-3): 1099-1105.

ROBERTS C.D. (1989) – Reproductive mode in the percomorph fish genus *Polyprion* Oken. *J. Fish. Biol*., **34**: 1-9.

SEDBERRY G.R. (1995) – Aspects of the biology and management of the wreckfish *Polyprion americanus*, in the western north Atlantic. Proc. Int. Con. 13 Semana das Pescas, 15-21 Mars, Horta, Açores, Secretaria Regional da Agricoltura e Pescas: 105-116.

SEDBERRY G.R., CARLIN J.L., CHAPMAN R.W., ELEBY B. (1996) – Population study in the pan oceanic wreckfish, *Polyprion americanus* (Teleostei: Polyprionidae), as indicated by mtDNA variation. *J. Fish. Biol*, **49** (Suppl. A).

SEDBERRY G.R., ANDRADE C.A., CARLIN J.L., CHAPMAN R.W., LUCKHURST B.E., MANOOCH C.S., MENEZES G., THOMSEN B., ULRICH G.F. (1999) – Wreckfish, *Polyprion americanus* in the North Atlantic: Fisheries, Biology, and Management of a widely distributed and long-lived fish. *American Fisheries Society Symposium*, **23**: 27-50.

SPARTÀ A. (1939) – Contributo alla conoscenza dello sviluppo nei Percidi. *R. Comitato Talassografico Italiano*, **259**: 10 pp.

TORTONESE E. (1975) – *Fauna d'Italia. Osteichthyes*. Ed. Calderini, Bologna, **11**.

WYANSKI D.M. (1994) – The reproductive biology of wreckfish, *Polyprion americanus*, off the Southeastern United States. Marmap contract (n°50-WCNF-0-06002): 6 pp.

The data reported in this paper were collected within the EU project (98/041) "State of the stocks of the European wreckfish (*Polyprion americanus*)" supported by the European Commission.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 113-118

M. Carcupino, A.R. Taddei[1], G. Corso, M. Mazzini[1], P. Franzoi[2]

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.
[1] Dip. Sci. Ambientali, Università della Tuscia, Viterbo, Italia.
[2]Dip. Sci. Ambientali, Università "Ca' Foscari", Venezia, Italia.

STRUTTURA E FUNZIONE DELLA TASCA INCUBATRICE E DEL CORION NELLE STRATEGIE RIPRODUTTIVE DEI SIGNATIDI

SIGNIFICANCE OF THE MALE BROOD POUCH AND EGG CHORION STRUCTURE IN THE REPRODUCTIVE STRATEGIES OF SYNGNATHIDS

Abstract

This paper reports data on the morphology organization and ultrastructure of both brood pouch skin and eggshell in three Syngnathidae species, i.e. Nerophis ophidion*,* Syngnathus abaster *e* Hippocampus guttulatus*. The aim is to study and verify the relationship between the paternal body and the developing embryos in three different kinds of brood pouch. In* Nerophis *species the incubation area consists of a naked ventral surface of the male body, on which the eggs are attached by means a mucus material. In* Syngnathus *species the incubating area is an inverted pouch characterized by two skin folds which isolate the eggs from the external environment. In* Hippocampus *species the brood pouch is a blind-end closed marsupium.*

Key-words: *pipefishes, seahorses, paternal care, brood pouch, eggshell.*

Introduzione

Le "cure parentali" sono una qualsiasi forma di comportamento dei genitori atta ad aumentare la probabilità di sopravvivenza della prole (Potts, 1984). Un solo genitore o entrambi possono assistere i propri piccoli. Sebbene la maggior parte dei pesci mostri fecondazione esterna e non eserciti alcun tipo di cure nei riguardi di gameti e/o uova fecondate, molte famiglie di Teleostei, sia marini che dulciacquicoli, hanno sviluppato indipendentemente degli atteggiamenti atti ad aumentare la fitness della progenie (Potts, 1984). Nel 61% dei Teleostei che mostrano cure parentali, è il maschio che se ne occupa (Potts, 1984). Le forme di assistenza possono essere numerose e varie, ma quelle dei Singnatidi sono considerate tra le più peculiari e specializzate. I maschi di questi pesci trasportano e proteggono le uova fecondate in un'area specializzata del loro ventre, chiamata area o tasca incubatrice, che può essere più o meno complessa dal punto di vista anatomico.

In questo lavoro è stata esaminata la morfologia e l'ultrastruttura dell'area incubatrice e del corion delle uova di *Nerophis ophidion*, *Syngnathus abaster* e *Hippocampus guttulatus* (Teleostei, Singnathidae), allo scopo di definire i rapporti che intercorrono tra corpo paterno ed embrioni. Nelle specie appartenenti al genere *Nerophis*, l'area incubatrice è una zona nuda della superficie ventrale del corpo del maschio sulla quale le uova, quasi interamente esposte all'ambiente esterno, restano adese per mezzo di una sostanza mucoso-simile, probabilmente secreta dalla femmina all'atto della deposizione. Nelle specie del genere *Syngnathus,* l'area incubatrice assume l'aspetto di una tasca all'interno della quale le uova, protette da due pliche cutanee, sono isolate dall'ambiente esterno. Infine nelle specie del genere *Hippocampus*, la tasca incubatrice è una sorta di marsupio a fondo cieco e comunicante con l'esterno mediante una piccola apertura. In tutte le specie comunque le uova restano adese o protette nella tasca incubatrice finchè i piccoli non diventano autonomi e vengono quindi rilasciati (Ahnesjö, 1989; Vincent *et al*., 1992).

Materiali e metodi

Maschi adulti delle tre specie esaminate (*Nerophis ophidion*, *Syngnathus abaster* e *Hippocampus guttulatus*) sono stati catturati nel mare di Alghero (Sardegna) e nella laguna di Venezia, durante la primavera e l'estate (periodo riproduttivo) degli anni 1999-2000. Dai maschi sono state prelevate porzioni dell'area incubatrice e uova fecondate, ad eccezione di *H. guttulatus* in cui le uova mature sono state prelevate direttamente dagli ovari. I campioni ottenuti sono stati trattati con metodiche di routine per l'osservazione al microscopio ottico ed elettronico a scansione (SEM) ed a trasmissione (TEM).

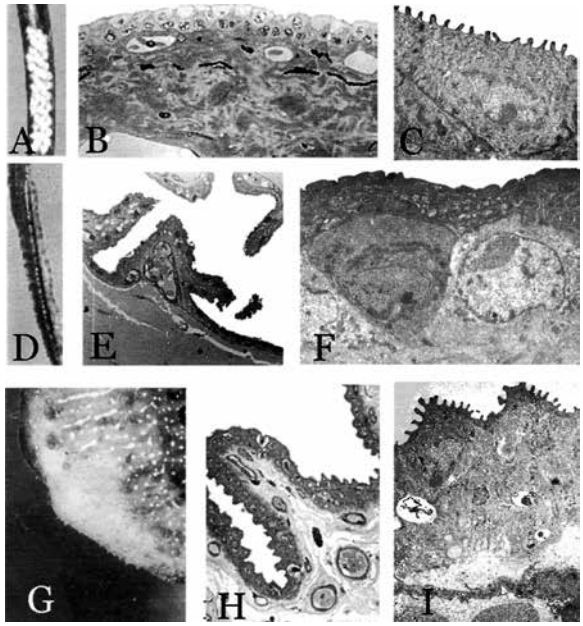


Fig. 1 - a. Area incubatrice di *N. ophidion.* b. Cute dell'area incubatrice. c. Cellula a filamenti. d. Tasca incubatrice di *S. abaster.* e. Cute dell'area incubatrice. f. Cellula a cloruro. g. Marsupio di *H. guttulatus.* h. Cute del marsupio. i. "Flame-cone cell" modificata.

a. Incubating area of N. ophidion*. b. Incubating area skin. c. Filament-containing cell. d. Brood pouch of* S. abaster*. e. brood pouch skin. f. Chloride cell. g. Marsupium of* H. guttulatus*. h. Marsupium skin. i. Modified "flame-cone cell".*

Risultati

Morfologia ed ultrastruttura della area incubatrice

N. ophidion

La cute dell'area incubatrice, illustrata nel suo aspetto d'insieme in Fig. 1a, mostra una organizzazione molto simile a quella delle restanti parti del corpo. E' caratterizzata da un'epidermide spessa, bistratificata e non sollevata in pieghe. L'epidermide appare costituita essenzialmente da cellule cubiche a filamenti, tipiche dell'epidermide dei Teleostei. Il derma, di aspetto compatto, è invece più vascolarizzato rispetto a quello

delle restanti parti del corpo. Nella porzione più superficiale infatti sono riconoscibili numerosi vasi sanguigni di piccolo calibro (Figg. 1b, c)

S. abaster

La cute della tasca incubatrice, raffigurata in Fig. 1d, mostra una organizzazione più complessa rispetto a quella della specie precedente. L'epidermide appare più sottile e sollevata in pieghe. Tra le cellule epidermiche tipiche, sono riconoscibili cellule simili alle cellule a cloruro delle branchie ed il derma si presenta maggiormente vascolarizzato (Figg. 1e, f).

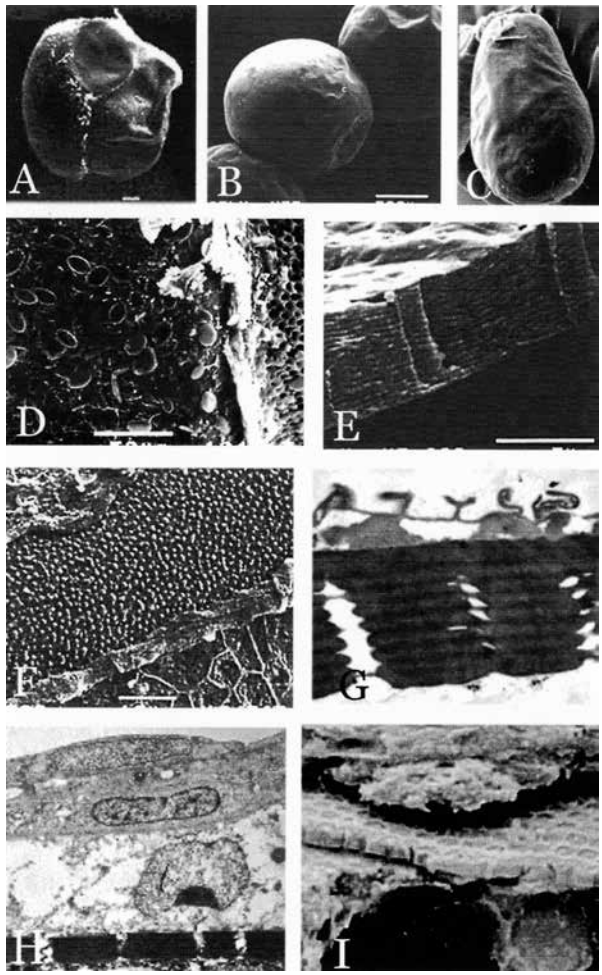


Fig. 2 - a. Uova in *toto* di *N. ophidion*. b. *S. abaster*. c. *H. guttulatus*. Superficie esterna (d) e sezione (e) del corion di *N. ophidion*. Superficie esterna con diatomee (f) e sezione trasversale (g) del corion di *S. abaster*. Sezioni al TEM (h) ed al SEM (i) del corion di *H. guttulatus*.

a. Egg and eggshell of N. ophidion. *b.* S. abaster. *c.* H. guttulatus. *External surface (d) and section (e) of the* N. ophidion *eggshell. External surface with diatoms (f) and cross section (g) of the* S. abaster *eggshell. TEM section (h) and SEM section (i) of the* H. guttulatus *eggshell.*

H. guttulatus

La cute del marsupio, il cui aspetto è mostrato in Fig. 1g, è più complessa delle precedenti. L'epidermide appare ancora più sottile e ripiegata in profonde pliche. Tra le cellule a filamenti si riconoscono delle grosse cellule secernenti, simili alle "flame-cone cells" e il derma appare estremamente vascolarizzato (Figg. 1h, i).

Morfologia e ultrastruttura del corion delle uova

N. ophidion

Le uova prelevate dalla area incubatrice del maschio hanno la superficie esterna rivestita di abbondante muco (Fig. 2a). Questo consente l'adesione delle uova al corpo paterno e conferisce alla loro superficie un aspetto diverso a seconda dei diversi punti di contatto. Infatti le uova, deposte in più file sulla superficie ventrale del tronco del maschio, entrano in contatto tra loro, con la parete del corpo paterno e con l'ambiente esterno. Nella zona di contatto tra uova adiacenti, il muco appare compatto; nella zona di contatto con l'epidermide della area incubatrice, il muco assume la forma delle cellule epidermiche stesse, mentre nella zona esposta all'acqua, sul muco aderiscono numerosi microrganismi (Fig. 2d). Il corion è di circa 6 μm di spessore ed osservato al SEM ed al TEM appare composto da tre strati. Lo strato interno è multilamellare (20 lamelle circa) (Fig. 2e) ed attraversato da poricanali; gli strati intermedio ed esterno sono molto sottili. In alcune sezioni, strutture riconducibili a microrganismi acquatici sono riconoscibili anche nello spessore del corion.

S. abaster

Le uova prelevate dalla tasca incubatrice hanno forma sferica e diametro di circa 1.5 mm (Fig. 2b). La superficie è rivestita di un sottile strato di muco, sul quale restano impresse le impronte delle cellule epidermiche della tasca. La superficie del corion, al disotto del muco, appare caratterizzata da piccole strutture globose di forma irregolare ma distribuite uniformemente sull'intera superficie (Fig. 2f). Il corion è di circa 3 μm di spessore ed in sezione appare costituito da tre strati: uno interno preponderante e multilamellare, uno intermedio molto sottile ed uno esterno che si solleva a formare le strutture globose osservate al SEM (Fig. 2g).

H. guttulatus

Le uova prelevate dall'ovario hanno forma a pera, con diametro maggiore di circa 2 mm (Fig. 2c). L'aspetto degenerativo delle cellule follicolari che ancora circondano le uova dimostra lo stato di avanzata corionogenesi (Fig. 2h). La superficie del corion al disotto dello strato follicolare mostra una trama esagonale, con un grosso microporo al centro di ogni esagono (Fig. 2i). In sezione il corion appare molto sottile (circa 0.80 μm) e costituito da tre strati: uno interno multilamellare attraversato da poricanali, corrispondenti ai micropori superficiali, uno intermedio molto sottile e denso agli elettroni ed uno esterno corrispondente alla trama esagonale esterna.

Conclusioni

I risultati ottenuti in questo lavoro supportano l'ipotesi già formulata da Carcupino *et al.* (2002) di una diversa funzione nei tre diversi tipi di area incubatrice.

L'area incubatrice di *N. ophidion*, agirebbe da poco più di un mero substrato sul quale la femmina depone le uova. Infatti, la vascolarizzazione dermica potrebbe favorire solo scarsi scambi di gas respiratori tra i tessuti dell'area incubatrice e la limitata zona della uova a contatto con il corpo paterno. La tasca incubatrice di *S. abaster*, oltre ad avere una maggiore capacità protettiva, avrebbe anche una migliore capacità di regolare

gli scambi gassosi, e inoltre, svolgerebbe l'importante funzione di mantenere costante la pressione osmotica del liquido interno alla tasca. E' stato infatti dimostrato che variazioni della pressione osmotica all'interno della tasca incubatrice possono essere letali per gli embrioni (Azzarello, 1991). In questa specie, a carattere eurialino e con tasca incubatrice semichiusa, l'ingresso accidentale di acqua a concentrazione osmotica differente è una eventualità che può verificarsi frequentemente. La regolazione osmotica da parte di cellule dell'epidermide con caratteristiche citologiche tipiche delle cellule implicate nella regolazione degli ioni (Carcupino *et al*., 1997) diventa quindi essenziale. Infine, il marsupio di *H. guttulatus*, oltre alle già citate funzioni protettiva e respiratoria svolgerebbe una funzione trofica nei confronti degli embrioni in sviluppo. Infatti, la presenza delle cellule secernenti, associate ad un epitelio estremamente sottile e sollevato in pieghe, nonché l'abbondante vascolarizzazione dermica, conferiscono alla cute di quest'area una funzione pseudoplacentale. Tale funzione è inoltre supportata dalla letteratura, nella quale è riportato che nelle specie del genere *Hippocampus*, dopo la schiusa i piccoli, con il sacco del tuorlo completamente assorbito, permangono all'interno del marsupio per un ulteriore periodo di tempo (Roule, 1931). Al contrario, nelle specie del genere *Nerophis,* i piccoli alla schiusa hanno ancora residui del sacco del tuorlo ben evidenti. Ciò dimostrerebbe che in *Hippocampus* il tuorlo non è l'unica fonte di nutrimento necessaria agli embrioni per completare il loro sviluppo.

Summary

This paper reports data on the morphology organization and ultrastructure of both brood pouch skin and eggshell in three Syngnathidae species, i.e. *Nerophis ophidion*, *Syngnathus abaster* e *Hippocampus guttulatus*. The aim is to study and verify the relationship between the paternal body and the developing embryos in three different kinds of brood pouch. In *Nerophis* species the incubation area consists of a naked ventral surface of the male body, on which the eggs are attached by means a mucus material. In *Syngnathus* species the incubating area is an inverted pouch characterized by two skin folds which isolate the eggs from the external environment. In *Hippocampus* species the brood pouch is a blind-end closed marsupium.

Brood pouch fragments and laid eggs have been analysed by light and electron microscopy. In *N. ophidion* both incubating skin area and the eggshell do not show any specialization. In particular, the skin is similar to that of the main body, even though it shows abundant dermic vascularization. Analogously, the eggshell structure is similar to that found in other teleosts, but with a reduced thickness of about 6 µm.

In *S. abaster* the brood pouch skin is characterized by a thinner and folded epidermis and an increased vascularization. Moreover, mitochondria-rich cells, similar to the gill chloride cells, can be observed among typical epithelial cells of the fish skin. The eggshell is morphologically similar to that of *N. ophidion*, but the thickness is reduced to about 2 µm.

In *H. guttulatus* the marsupium skin appears more specialized, with a thinner and more folded epidermis and a remarkable vascularization. The eggshell is significantly reduced in thickness to about 0.8 µm.

The results are discussed in the light of both functional significance of the brood pouch and the different reproductive strategies of the studied species.

Bibliografia

AHNESJÖ I. (1989) - Sex-role reversal in two pipefish (Syngnathidae) species: paternal care and male limitation of female reproductive success. *Acta Universitatis Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science,* **233**: 1-33.

AZZARELLO M.Y. (1991) - Some questions concerning the Syngnathidae brood pouch. *Bulletin of Marine Sciences,* **49**: 741-747.

CARCUPINO M., BALDACCI A., MAZZINI M., FRANZOI P. (1997) - Morphological organization of the male brood pouch epithelium of *Syngnathus abaster* Risso (Teleostea: Syngnathidae): before, during and after egg incubation. *Tissue & Cell,* **29**: 21-30.

CARCUPINO M., BALDACCI A., MAZZINI M., FRANZOI P. (2002) - Functional significance of the male brood pouch in the reproductive strategies of pipefishes and seahorses: morphological and

ultrastructural comparative study on three anatomically different pouches. *Journal of Fish Biology,* **61**: 1465-1480.

POTTS G.W. (1984) - Paternal behaviour in temperate marine Teleosts with special references to the development of nest structures. In: Potts G.W., Wotton R.J. (eds), *Fish reproduction: Stretegies and tactics.* Academic Press, New York: 223-244.

ROULE L. (1931) - *Les poissons et le monde vivant des eaux. Tome IV: Le œufs et le nids.* Paris, Librarie Delagrave.

VINCENT A.C.J., AHNESJÖ I., BERGLUND A., ROSENQVIST G. (1992) - Pipefishes and seahorses: are they all sex role reversed? *Trends in Ecology and Evolution,* **7**: 237-241.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 119-126

D. Cuccu, F. Damele, M.C. Follesa, M. Murenu, A. Cau

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.

ASPETTI BIOLOGICI DI *ELEDONE CIRRHOSA* (CEPHALOPODA OCTOPODA) NEI MARI CIRCOSTANTI LA SARDEGNA

ON THE BIOLOGY OF ELEDONE CIRRHOSA *(CEPHALOPODA OCTOPODA) IN THE SEAS SURROUNDING SARDINIA*

Abstract

Data on the biology of Eledone cirrhosa *(Cephalopoda Octopoda), collected in the Sardinian Sea during 9 trawl surveys carried out from 1997 to 2001, are presented. In relation to the sexual maturity, reached in spring-summer as in the rest of the Mediterranean basin, we found that when eggs were at their maximum size and lost the reticular system* Eledone *specimens were far from the fishing areas. Furthermore, even if the most part of individuals spawns at summer at the age of two years, we found a variable percentage of individuals that did not fully develop their gonads until the next year, forming a third group of bigger-sized 3 years old specimens. This finding is in accordance to and supported by the growth curves for the* Eledone *of large size that attribute to them an age of 3 years instead of two as for the mean adult population which spawn and dead at the age of 22 months.*

Key-words*: Cephalopoda,* Eledone cirrhosa, *biology, Sardinian Sea.*

Introduzione

Il moscardino *Eledone cirrhosa* (Lamarck, 1798) specie comune in tutto il Mediterraneo e nell'Atlantico nord orientale rappresenta un'importante risorsa commerciale della pesca demersale. E' stata oggetto di studio di molti autori di diverse aree del Mediterraneo che hanno riferito in particolare sulla biologia, ecologia e dinamica di popolazione sia nel bacino occidentale (Mangold–Wirz, 1963; Moriyasu, 1983a, 1983b; Palumbo e Würtz, 1984; Baino *et al*., 1988; Moriyasu, 1988; Belcari *et al*., 1990a, 1990b; Agnesi *et al*., 1998) che in quello orientale (Lefkaditou e Papacostantinou, 1995; Tursi *et al*., 1995).

Non esistono invece studi relativi ai mari circostanti la Sardegna, pertanto in questo lavoro si analizza la popolazione rinvenuta nell'area sarda, riferendo sul ciclo riproduttivo, sull'accrescimento e sulla longevità della specie con un particolare approfondimento della maturità sessuale femminile.

Materiali e metodi

I dati considerati provengono da 9 campagne di pesca a strascico stagionali (5 estive e 4 autunnali) effettuate nei mari circostanti la Sardegna dal 1997 al 2001 nell'ambito dei programmi di ricerca nazionali (Relini, 1998) ed internazionali (Bertrand *et al*., 2000). Nell'anno 2001 i campionamenti hanno avuto frequenza mensile per comprendere tutto l'anno solare. Di ogni individuo analizzato sono stati determinati la lunghezza dorsale del mantello al mezzo cm inferiore (LM), il peso totale con precisione al grammo, il sesso e lo stadio di maturità delle gonadi. La maturità sessuale è stata determinata attraverso l'analisi macroscopica delle gonadi secondo due scale a tre stadi (Mangol-Wirz, 1963; Moriyasu, 1988).

Sulla base degli intervalli di lunghezza delle uova suggeriti da Mangol-Wirz (1963) per le uova piccole, medie e grandi, lo stadio 2 delle femmine, rappresentato da ovari in via di maturazione, è stato convenzionalmente suddiviso nei tre sottostadi 2A (1,8-3,5 mm), 2B (3,6-5,3 mm) e 2C (5,4-7 mm). E'stato inoltre calcolato l'indice gonado somatico (RGS) secondo Moriyasu (1988). La taglia al 50% di maturità sessuale è stata calcolata per i maschi allo stadio 3 (testicoli grandi e spermatofore all'interno della tasca del Needham) e per le femmine allo stadio 2C.

Per la stima dei parametri di crescita secondo il modello di von Bertalanffy, si è proceduto alla scomposizione delle distribuzioni taglia - frequenza nelle loro componenti mediante la routine MPA (Modal class progression analysis) ed alla successiva stima dei valori di $L\infty$ e K attraverso la metodica Linking of means di FISAT (Gayanillo *et al*., 1996). Per il calcolo del t_0 si è tenuto conto di uno sviluppo embrionale di circa 4 mesi a cui corrisponderebbe una taglia di circa 3 mm (Mangold *et al*., 1971).

Risultati

Nelle acque considerate *Eledone cirrhosa* ha mostrato un ampia distribuzione batimetrica (30-670 m) tuttavia la maggior frequenza si è riscontra tra i 100 e i 200 m.

L'osservazione macroscopica delle gonadi ha permesso di identificare da febbraio ai primi di agosto maschi maturi allo stadio 3 che già a partire da marzo-aprile rappresentano più del 50% della popolazione (Fig. 1). Per le femmine l'attribuzione dello stadio di maturità è risultata più problematica non avendo mai rinvenuto uova lisce e maggiori di 7 mm di lunghezza.

In particolare in primavera estate (Fig. 1), sono stati osservati ovari in via di sviluppo con uova di lunghezza variabile tra 2 e 6,5 mm ancora provviste del sistema reticolare caratteristico dello stadio intermedio 2 (Mangol-Wirz, 1963). A partire da giugno, pur rilevando sempre uova reticolate e di dimensioni variabili, molti ovari, che appaiono giallastri ed abbastanza voluminosi, presentano attaccati alle loro pareti gli ovidotti e le ghiandole annesse, caratteristiche attribuibili secondo Moriyasu (1988) allo stadio di maturità 3. In alcuni casi inoltre si è osservata nel loro interno la presenza di spermatangi, segno dell'imminente deposizione.

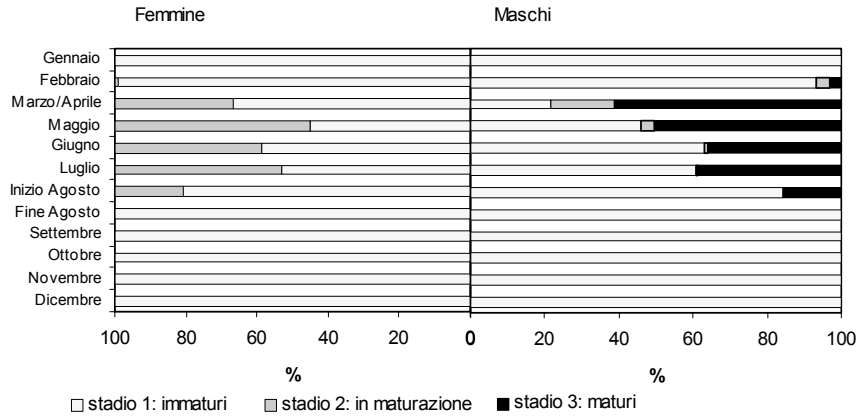


Fig. 1 – Andamento annuale della maturità sessuale nei maschi e nelle femmine di *Eledone cirrhosa*. *Annual trend of sexual maturity for males and females of* Eledone cirrhosa.

L'indice gonado-somatico medio di queste femmine è risultato pari a 7±3, valore indicato per la maturità (Moriyasu, 1988; Belcari *et al*., 1990).

L'analisi più dettagliata dello stadio intermedio 2 in relazione alle dimensioni delle uova ha messo in evidenza tre diversi gradi di sviluppo della gonade in cui è osservabile un sequenziale aumento dei valori medi dei parametri registrati culminante nello stadio 2C (Tab. 1).

Tab. 1 – Valori medi e deviazione standard della lunghezza mantello (LM), del peso totale (PT) della lunghezza uova (Luo) del rapporto gonado-somatico (RGS) e della % di femmine con spermatangi allo stadio di maturità 2.

Mean and sd values of mantle length (LM), total weight (PT) egg length (LTuo) gonadosomatic index (RGS), and of sperm sacs % for females at stage 2.

Stadio intermedio 2	A 44%	B 23%	C 33%
LM	9 ± 1	10 ± 2	11,4 ± 2
PT	123 ± 25	214 ± 78	283 ± 84
RGS	1,7 ± 0,7	5 ± 2	10 ± 3
Luo	2,8	4,5 ± 0,5	6 ± 0,5
% spermatangi		0,8	5

Mentre maschi completamente maturi sono stati rinvenuti a partire da 5,5 fino a 13 cm di LM, femmine con gonadi prossime alla maturità sono state riscontrate in un intervallo di taglia compreso tra 6,5 e 17 cm. Il calcolo della taglia di maturità al 50% ha fatto registrare una Lunghezza Mantello di 6 e di 8 cm rispettivamente per i maschi e per le femmine (Fig. 2).

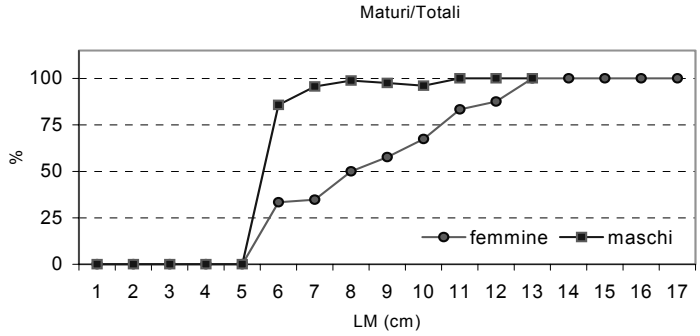


Fig. 2 – Taglia al 50% di maturità sessuale nei maschi e nelle femmine di *Eledone cirrhosa*.

Length at 50% of sexual maturity in both sexes of Eledone cirrhosa.

Nell'ambito della stagione riproduttiva è stata individuata tuttavia una percentuale variabile (3-13% nelle femmine, 1-4% nei maschi) di individui che pur avendo raggiunto e superato la taglia di prima maturità sessuale presentavano gonadi ad uno

stadio di immaturità senza alcuna caratteristica di sviluppo o di regressione post-riproduttiva.

L'analisi temporale della struttura demografica della popolazione nel periodo estivo di ogni anno mette in evidenza le reclute ($1{,}5 \leq LM \leq 5$) nate nell'autunno precedente e la coorte degli adulti (LM 6-11 cm nei MM e 6-13 cm nelle FF) che si appresta alla riproduzione (Fig. 3).

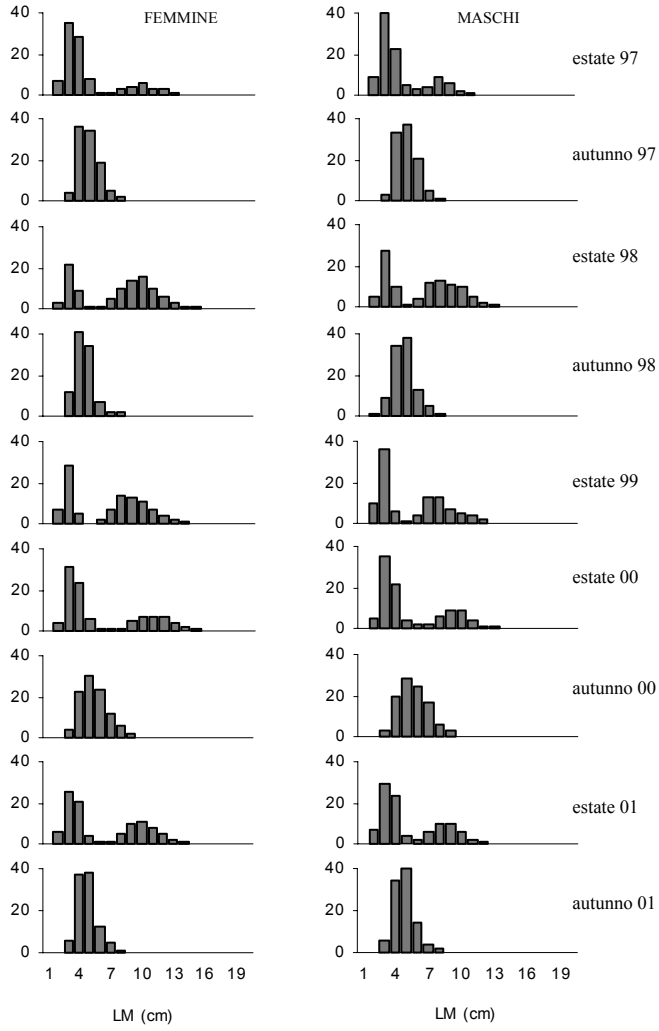


Fig. 3 – Struttura di taglia stagionale ('97-'01) dei maschi e delle femmine di *Eledone cirrhosa*.
Seasonal size structure for males and females of Eledone cirrhosa from 1997 to 2001.

E' presente inoltre costantemente una coda esigua di individui adulti più grandi della media (LM = 14-17 cm nelle femmine e LM = 12-13 cm nei maschi) apprezzabili

percentualmente se si analizza la sola coorte degli adulti soprattutto nelle femmine in cui rappresenta in media il 5±3%.

Per entrambi i sessi è possibile tuttavia notare come la percentuale annuale dei "più grandi" sia molto simile e sempre inferiore alla quota degli individui adulti immaturi riscontrati l'anno precedente (Tab. 2).

Il confronto della struttura di taglia delle femmine adulte di due anni consecutivi mette in evidenza come la condizione di immaturità interessi diverse classi di taglia e come l'ampiezza degli intervalli osservati sia correlabile allo spostamento verso destra delle taglie maggiori (Fig. 4).

Tab. 2 – Percentuali degli adulti immaturi e dei "più grandi" rinvenute nel periodo estivo dei 5 anni di indagine nei due sessi di *Eledone cirrhosa*.

Percentage of immature adults and of "larger" adults of Eledone cirrhosa *found in summer during the 5 years of study.*

Femmine	1997	1998	1999	2000	2001
Immaturi LM> 7 cm	6	7	13	11	3
LM >13		5	2	10	4
Maschi					
Immaturi LM≥ 6 cm	1,5	1	1	4	2
LM >12		0,5	1	2	1

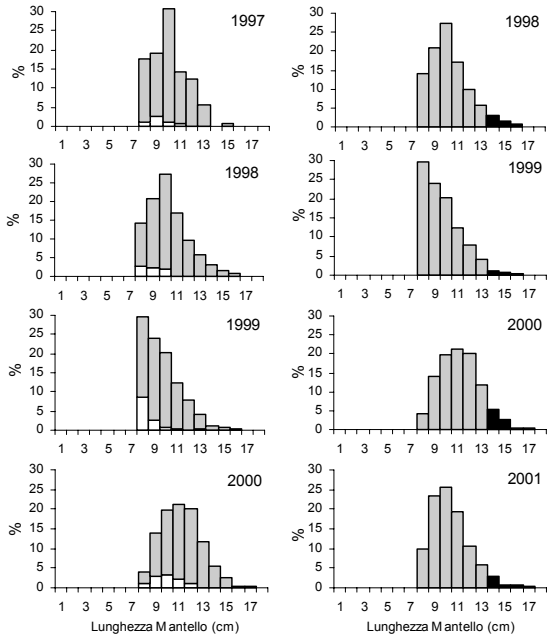


Fig. 4 – Coorte delle femmine adulte di *Eledone cirrhosa*. Vengono indicate in bianco le percentuali degli individui immaturi ed in nero quelle dei più grandi.

Cohort of female adults of Eledone cirrhosa. *Percentage of immature in white and of larger specimens in black.*

Sulla base di questa correlazione è possibile ammettere che gli individui adulti immaturi abbiano la possibilità di riprodursi al terzo anno di vita. Ciò viene confermato anche dalle curve di crescita che stimano per questi individui un'età di circa tre anni mentre per il resto della popolazione un ciclo vitale medio di circa 2 anni (Fig. 5).

Dalla stima dei parametri di crescita emerge inoltre che le femmine oltre che raggiungere taglie superiori ai maschi hanno anche un accrescimento leggermente più lento se si confrontano i valori di K (Tab. 3).

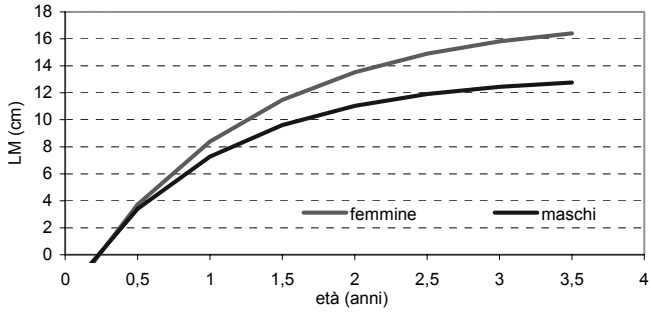


Fig. 5 – Curve di crescita nei due sessi di *Eledone cirrhosa*.
Growth c*urves for both sexes of* Eledone cirrhosa.

Tab. 3 – Parametri di crescita nei due sessi di *Eledone cirrhosa.*
Growth parameters for both sexes of Eledone cirrhosa.

	LM ∞	K	t_0
Femmine	17,59	0,82	0,24
Maschi	13,28	0,99	0,2

Conclusioni

Per i mari circostanti la Sardegna si può affermare che così come nel resto del bacino occidentale del Mediterraneo la maturità sessuale ed il reclutamento di *Eledone cirrhosa* si registrano in primavera-estate quindi anticipatamente rispetto a quanto avviene nel bacino orientale (Mangold-Wirz, 1963; Mangold *et al*., 1971; Moryasu, 1988; Sanchez e Martin, 1993; Lefkaditou e Papacostantinou, 1995; Tursi *et al*., 1995; Agnesi *et al*., 1998).

Alcuni aspetti della maturità sessuale nei due sessi come la precocità temporale e di taglia dei maschi coincidono con quanto noto in letteratura (Relini *et al.*, 1999).

Per le femmine, la complessità emersa dall'analisi dello sviluppo delle gonadi porta ad affermare che la maturità sessuale venga raggiunta in maniera più graduale rispetto ai maschi ed attraverso più tappe di cui l'ultima da noi osservata (2C) dovrebbe precedere di poco la maturità vera e propria in cui le uova pronte per la deposizione sarebbero più grandi e prive del sistema reticolare.

Tale passaggio, se si considera che gli spermatangi possono rimanere vitali per circa 6 settimane (Mangold *et al*., 1971) e che nei mesi successivi non si osservano gonadi mature o in via di maturazione, dovrebbe presumibilmente avvenire in maniera veloce entro il mese di agosto.

È probabile quindi che nelle acque sarde l'allontanamento dalle aree di pesca verso zone più sicure per la deposizione (Mangold-Wirz, 1963) avvenga ancor prima che l'ultima fase di sviluppo sia compiuta e ciò giustificherebbe l'assenza totale di femmine con uova grandi e lisce nella serie di dati analizzata.

L'analisi demografica e di maturità sessuale porta a confermare la semelparità della specie con mortalità post-riproduttiva (Mangold *et al*., 1971) ed a collocare temporalmente questi eventi al 2° anno di vita. Ciò è avvalorato anche dall'analisi delle curve di crescita di von Bertalanffy che, descrivendo l'intero intervallo delle lunghezze campionate, confermano per la specie un ciclo vitale di circa 22 mesi dalla schiusa dell'uovo mentre per le taglie più grandi stimano un'età di circa 3 anni.

La presenza di individui eccezionalmente più grandi, già evidenziata da altri autori (Mangol-Wirz, 1963; Lefkaditou e Papacostantinou, 1995; Tursi *et al*., 1995) e messa in relazione all'alternanza di due cicli vitali ad accrescimento rapido e lento (Boyle, 1983), trova nei dati sardi una correlazione con il rinvenimento costante nella stagione estiva di adulti immaturi. Sembra infatti plausibile ammettere che gli individui che per ragioni ancora sconosciute non si riproducono nel 2° anno di vita come il resto della popolazione adulta, continuando ad accrescersi vadano a costituire nell'estate successiva la porzione dei "più grandi" caratterizzante il 3° gruppo d'età.

Nonostante il fenomeno sia più marcato nelle femmine, la correlazione osservata è riscontrabile anche nei maschi per i quali le basse percentuali di adulti immaturi giustificherebbero la sporadica presenza nel periodo estivo di individui "più grandi" e quindi la difficile lettura della 3ª coorte.

Summary

Data on the biology of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda Octopoda) collected in the Sardinian Sea during nine trawl surveys carried out from 1997 to 2001 are presented. As in the rest of the west Mediterranean basin, the breeding period and the recruitment occur in the spring – summer, earlier than in the east basin. Ripe gonads in males were found in late spring and the size at 50% of maturation in males and females were 6 cm and 8 cm ML respectively. Between June and August the females have an enlarged ovary with sperm sacs. Eggs yet were striated and not at the their maximum size. Considering that sperm sacs can be active for about 6 weeks and in the following months we cant observe any ripe or near ripe gonads, we can think that eggs loose their reticular system within August and that happens when the females move away from the fishing areas to spawn. The analysis of demographic structure and sexual maturity of the population confirmed that *E. cirrhosa* is a semelparous species with post-reproductive mortality in the second year of life. In each summer, in addition to the recruits and the adults approaching reproduction, we have always found a small fraction of specimens whose size was much larger than the adults' average (ML=14-17 cm in females and ML=12-13 cm in males). We think these specimens, unlikely the rest of the adult population, do not reproduce in the second year of life. They keep on growing and originate a third group larger-sized specimens. On the basis of these findings we produced a von Bertalanffy growth curve whose parameters were: ML_{∞}=17.59 and 13.28, K=0.82 and 0.99, t_0= 0.24 and 0.2, in females and males, respectively.

Bibliografia

AGNESI S., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. (1998) – Biologia e dinamica di popolazione di *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda, Octopoda) nel Tirreno centrale. *Biol. Mar. Medit*., **5** (2): 336-348.

BAINO R., MANNINI P., VOLPI C. (1988) – Predictive use of length-weight regression in *Eledone cirrhosa. Rapp. Comm. int. Mer Medit*., **32** (2): 254.

BELCARI P., BIAGI F., FEDI E. (1990a) – Relazione taglia–peso in *Eledone cirrhosa* (Lam., 1798). *Oebalia*, **16** (Suppl. 2): 591-594.

BELCARI P., FEDI E., SARTOR P. (1990b) – Analysis of the sexual devolopment of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda, Octopoda) in the northern Tyrrhenian Sea through two maturity indices. *Rapp. Comm. int. Mer Medit.,* **32** (1): 241 pp.

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) – An international bottom trawl survery in the Mediterranean: the MEDITS programme. In: Bertrand J. A. and Relini G. (eds), *Demersal resources in the Mediterranean*, Proceedings of the Symposium held in Pisa, 18-21 march 1998. Actes de colloques, IFREMER, Plouzané, **26**: 76-93.

BOYLE P.R. (1983) – *Eledone cirrhosa.* In: P.R. Boyle (ed), *Cephalopod life cycles*, Academic Press, **1**: 365-386.

GAYANILLO F.C., SPARRE P., PAULY D. (1996) – The FAO-ICLARM Stock Assessment tools (FISAT). User's guide. *FAO Computerized Information Series (Fisheries)*, **6**: 186 pp.

LEFKADITOU E., PAPACOSTANTINOU C. (1995) – Distribution, growth and maturity of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda: Octopoda) in the Thracian Sea (eastern Mediterranean). *Rapp. Comm. int. Mer Medit.,* **34**: 247 pp.

MANGOLD WIRZ K. (1963) – Biologie des Céphalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie Milieu,* **13** (Suppl.): 57-81.

MANGOLD K., BOLETZKY S.V., FRÖSCH D. (1971) - Reproductive biology and embryonic development of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda: Octopoda). *Mar. Biol.*, **8**: 109-117.

MORIYASU M. (1983a) – Détermination des stades de maturation sexuelle des mâles d' *Eledone cirrhosa* Lam. du golfe du Lion. *Rapp. Comm. int. Mer Medit.,* **28** (5): 283-284.

MORIYASU M. (1983b) – Étude biométrique de la croissance d' *Eledone cirrhosa* (Lam. 1978, Cephalopoda Octopoda) du golfe du Lion. *Oceanol. Acta,* **6** (1): 35-41.

MORIYASU M. (1988) – Analyse de la maturation sexuelle d'*Eledone cirrhosa* (Cephalopoda: Octopoda) du golfe du Lion. *Aquat. Living Resour*., **1**: 59-65.

PALUMBO F., WÜRTZ M. (1984) – Osservazioni sulla distribuzione e riproduzione di *Eledone cirrhosa* (Lam. 1798) (Cephalopoda, Octopoda) in mar Ligure. *Nova Thalassia,* **6** (Suppl.): 721-723.

RELINI G. (1998) – Valutazione delle Risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit.,* **6** (Suppl. 1): 737-746.

SANCHEZ P., MARTIN P. (1993) – Population dynamics of the exploited cephalopod species of the Catalan Sea (NW Mediterranean). *Sci. Mar*., **57** (2-3): 153-159.

TURSI A., D'ONGHIA G., LEFKATIDOU E., MAIORANO P., PANETTA P. (1995) – Population biology of *Eledone cirrhosa* (Mollusca, Cephalopoda) in the north Aegean sea (eastern Mediterranean sea). *Vie Milieu,* **45** (2): 139-145.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 127-137

A. Potoschi, P. Battaglia, G. Rossi, M. Triscari*

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina,
Salita Sperone, 31 - 98166 Sant'Agata, Messina, Italia.
*Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Messina, Italia.

STUDIO SULLA CRESCITA E SU ALCUNI ASPETTI BIOLOGICI DI *HYGOPHUM BENOITI* (COCCO, 1838), PISCES, MYCTOPHIDAE

GROWTH AND BIOLOGICAL ASPECTS OF HYGOPHUM BENOITI *(COCCO, 1838), PISCES, MYCTOPHIDAE*

Abstract

1605 specimens of Hygophum benoiti *(Cocco, 1838), Pisces Myctophidae, were sampled along the shores of the sicilian coast of the Strait of Messina. Sex ratio resulted 2:1 in favour of males. Observation of otoliths microstructure characterized a maximum of 9 incremental growth sequences (IGS) equivalent to 9 months of life. Sexual maturity size was stimated 37 mm LS, corresponding to an age between third and fourth month. The presence of samples with mature gonads during the whole sampling, sets the specie among those with a continuous reproductive cycle.*

Key-words: Hygophum benoiti*, otoliths, microstructure, age, reproductive biology.*

Introduzione

Hygophum benoiti è una specie batifila presente in tutto il Mediterraneo e nell'Atlantico centro-settentrionale e non supera le dimensioni di 60 mm di LS.

Il suo ritrovamento, insieme ad altri Mictofidi, nei contenuti stomacali di specie come *Xiphias gladius, Thunnus* sp., *Trachurus* sp.*, Scomber* sp.*, Todarodes* sp., *Stenella* sp., testimonia l'importanza che questa ed altre specie batifile assumono all'interno del sistema trofico marino (Gjφsaeter e Kawaguchi, 1980).

Come altri Mictofidi, ha la consuetudine di compiere migrazioni verticali (Goodyear *et al.*, 1972), confermate peraltro da studi sull'ecologia dell'alimentazione (Scotto di Carlo *et al.,* 1982). Le migrazioni sarebbero compiute nei primi 1.000 m della colonna d'acqua (Linkowski, 1996), con variazioni stagionali, geografiche ed ontogeniche (Badcock e Merret, 1976; Nafpaktitis *et al.*, 1977; Paxton, 1967).

Campagne di campionamento sulla distribuzione verticale dei Mictofidi, effettuate con reti del tipo Isaacs-Kidd midwater trawl, hanno ben evidenziato le quote batimetriche frequentate da questa specie durante le migrazioni circadiane (Linkowski, 1991).

Una traccia di questo comportamento è visibile, osservando microscopicamente la microstruttura degli otoliti, nei quali è ormai nota la variabilità subita dalla cristallizzazione dell'aragonite durante i cambiamenti di livello (Campana e Neilson, 1985; Linkowski, 1991, 1993, 1996; Radtke, 1984).

La variazione batimetrica in alcune specie batifile, oltre ad essere codificata negli otoliti, è anche correlata alle fasi lunari, che hanno sempre costituito una sorta di orologio biologico, ai cui tempi sono subordinate parecchie specie ittiche (Campana, 1984; Campana e Neilson, 1985; Linkowski, 1991, 1996; Gartner 1991).

Linkowski (1996) mette in relazione alle fasi lunari l'alternanza dei periodi a crescita costante e rallentata, anche se Clarke (1973) definisce irregolare il ciclo nictemerale di *H. benoiti*. Infatti, all'inizio ed alla fine del ciclo lunare, questa specie non

compie migrazioni verso gli strati superficiali e quasi l'intera popolazione rimane al di sotto dei 400 metri, mentre durante la metà del ciclo, vicino alla fase della luna piena, una gran parte della popolazione risale negli strati superiori e soltanto una piccola frazione rimane a grande profondità.

Alla luce di queste più recenti interpretazioni va senza dubbio rivalutata l'età di alcuni Mictofidi, determinata attraverso l'alternanza delle bande ialine ed opache negli otoliti, intesa come periodo di crescita stagionale (Zurbrigg e Scott, 1972; Gjosaeter, 1973; Halliday, 1970; Potoschi e Andaloro, 1980; Potoschi, 1983; Young *et al*., 1988; Potoschi *et al*., 1992, 2000).

Tenendo conto dei risultati ottenuti da Linkowski (1996) sulla stessa specie e su altri "lanternfishes" della famiglia Myctophidae, abbiamo ritenuto opportuno rivalutare le tappe e la regolarità degli incrementi di crescita, attraverso l'osservazione della microstruttura degli otoliti, e stimare la durata dell'intero ciclo vitale di *H. benoiti*, correlando lo sviluppo della specie ad alcuni aspetti della biologia riproduttiva.

Materiali e metodi

Il materiale utilizzato per questo studio proviene dalla raccolta periodica di esemplari rinvenuti spiaggiati, in quasi tutti i mesi dell'anno, lungo la costa siciliana dello Stretto di Messina, che offre tale opportunità (Genovese *et al*., 1971; Berdar *et al*., 1983) grazie al complesso regime idrologico di quest'area (Mazzarelli, 1909; Vercelli, 1925).

Anche se l'intensità di questo fenomeno negli ultimi anni è senza dubbio diminuita (Berdar *et al*., 1989), da gennaio 1998 a febbraio 2002, in maniera poco costante, solitamente pochi individui al giorno, sono stati raccolti 1.605 esemplari, che qualche decennio fa potevano essere rinvenuti spiaggiati anche in una sola giornata favorevole (Berdar *et al*., 1977).

Su ogni individuo è stata rilevata la lunghezza standard (LS) in mm ed il peso totale (PT) in grammi.

Sono state prelevate a fresco le gonadi, per l'identificazione del sesso, confermata dalle piastre sopra-caudale (maschi) e sotto-caudale (femmine) (Donato *et al*., 1977). La maturità dell'ovario e del testicolo è stata valutata secondo la scala a 5 stadi di Holden e Raitt (1974).

Su ogni esemplare, sono stati prelevati gli otoliti, che, ben puliti, sono stati conservati in alcool 70%. Di ogni coppia di otoliti, uno è stato utilizzato per l'osservazione al microscopio stereoscopico e l'altro per quella al microscopio ottico e, successivamente, al microscopio elettronico a scansione (S.E.M.).

Prima delle osservazioni al microscopio stereoscopico con luce incidente, gli otoliti sono stati immersi in una soluzione di benzoato di metile per circa 6-12 ore. Gli ingrandimenti utilizzati sono stati nell'ordine di 40-60, necessari a visualizzare le bande opache e ialine.

Per le osservazioni al microscopio ottico, su un vetrino portaoggetti, tra il suo centro e il margine esterno, aiutandosi con un ago a punta molto sottile, è stata fatta aderire una piccola goccia di resina Eukitt, sulla quale è stato posizionato un otolite. Così incollato, l'otolite è stato successivamente levigato con una serie di dischi di carta abrasiva al carburo di silicio di diversa grana (800/1200/2000) per smerigliatura ad umido, montati in un lapidello petrografico (mod. Remet LS2), provvisto di un assottigliatore micrometrico.

Quest'ultimo sistema permette di determinare lo spessore finale della sezione che,

per visualizzare gli anelli di crescita giornalieri, deve essere ridottissimo conservando comunque l'integrità della struttura.

La levigatura è stata effettuata fino al raggiungimento del piano sagittale che passa per il centro dell'otolite. La lucidatura delle sezioni è stata eseguita con panni lucidanti e l'aggiunta di polvere di allumina di 5 micron e, come ultima fase, polvere di allumina di 0,05 micron (Radtke, 1984, 1989).

Questo metodo ha permesso di analizzare gli otoliti al microscopio ottico, dotato di sistema di archiviazione di immagini utilizzando una camera digitale Axiocam MRC ed obiettivi da 10× a 63× a secco.

Gli stessi preparati sono stati puliti con xilolo, leggermente decalcificati con EDTA 0,2 M e sciacquati in acqua distillata (Nishimura e Yamada, 1984). Ogni vetrino è stato ridotto come dimensione per essere a sua volta montato su uno stub (portacampioni in alluminio) e successivamente metallizzato con oro. Il campione così preparato è stato osservato con un S.E.M. tipo Leo 420, accoppiato ad uno spettrometro a dispersione di energia ISIS-Link (S.E.M.+EDX), principalmente per sfruttare l'alta qualità delle immagini e per fornire un supporto alle ossevazioni effettuate al microscopio ottico.

L'accrescimento della specie è stato valutato attraverso il conteggio delle tracce contenute nelle sequenze incrementali di crescita, dette "IGS" (Incremental Growth Sequences), che costituiscono le zone di accrescimento dell'otolite, alternate alle zone di rallentamento di cristallizzazione, dette "Bands" (Campana e Neilson, 1985). La lettura di tali tracce, che, sulla base della più recente letteratura, sono considerate deposte con frequenza mensile, è stata affiancata dalla rilevazione dei segni di crescita giornalieri, contenuti nelle IGS.

Alle lunghezze medie dei gruppi omogenei per età è stato applicato il modello di crescita di Von Bertalanffy (1938): $LS = L_{\infty}(1\text{-}e^{-k(t-t0)})$.

La relazione taglia-peso è stata calcolata utilizzando la formula: $PT = a * LS^{b}$.

Risultati

L'occasionalità dei ritrovamenti non ha permesso di ottenere ogni mese un sufficiente numero di campioni, malgrado la raccolta sia durata un periodo abbastanza lungo (49 mesi). Complessivamente il campionamento ha fornito un'eterogeneità di taglia, rappresentativa dell'intera popolazione. Gli individui raccolti (1.605) hanno fatto registrare una LS compresa tra i 12,10 mm ed i 58,90 mm; la taglia minima rilevata rappresenta per la specie uno stadio di post-metamorfosi utile a descrivere l'accrescimento fin dalle prime tappe della vita (Taning, 1918; Tortonese, 1956).

La distribuzione percentuale delle classi dimensionali (Fig. 1) fa notare come le taglie comprese tra i 35 mm ed i 48 mm di LS, sono le più rappresentate per entrambi i sessi. Nella stessa figura si può osservare che la sex ratio è a predominanza maschile con il 62,49% su 37,13% delle femmine, fissando un rapporto di 2:1. Nei nostri campioni è presente pure uno 0,38% di individui indeterminati sessualmente.

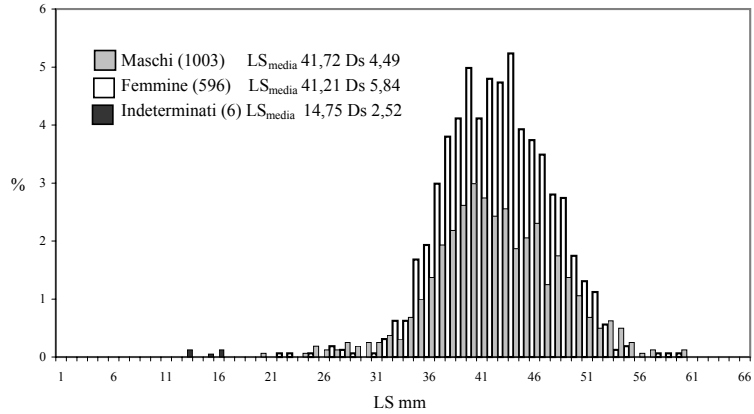


Fig. 1 - Distribuzione lunghezza/frequenza per sesso.
Frequency length distribution by sex.

Nella Fig. 2 (a, b, c) vengono evidenziate le immagini relative alle osservazioni effettuate con i 3 tipi di microscopio utilizzati. In queste si può vedere che le zone a struttura diversificata sono già ben definite allo stereomicroscopio (2.a), mentre invece bisogna raggiungere 400/800 ingrandimenti per poter individuare gli anelli che formano ogni sequenza incrementale di crescita (IGS) (2.b). Una ulteriore e fine osservazione effettuata al S.E.M. testimonia come ci sia un ritmo variabile di cristallizzazione della struttura minerale dell'otolite. Infatti la distinzione fra IGS e Bands mostra che queste ultime rappresentano un momento in cui gli incrementi subiscono un brusco rallentamento (2.c).

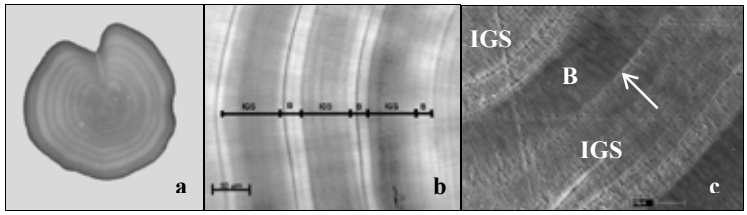


Fig. 2 - Immagine allo stereomicroscopio di un otolite di *H. benoiti* (LS=52,40 mm) (a); sezione sagittale dello stesso otolite con il particolare della distribuzione delle IGS e delle Bands (b); fotografia al SEM della sezione sagittale con l'individuazione della zona di transizione di una Band tra due IGS (c).
Image at the stereomicroscopy of the otoliths of H. benoiti *(SL = 52,40 mm) (a); sagittal section of otolith with particular of the distribution of the IGS and of the Bands (b); SEM micrograph of the sagittal section of otolith with the zone of transition of a Band between two IGS (c).*

In Tab. 1 riportiamo il numero degli incrementi di crescita rilevati all'interno delle diverse IGS, confrontato con quello di Linkowski (1996), fino alla quarta IGS.

I valori ottenuti non fanno emergere significative differenze, ma anzi avvalorano la correlazione tra i giorni che compongono le differenti fasi lunari ed il numero di

incrementi giornalieri, valutati come periodo a mineralizzazione più regolare. Infatti, secondo le osservazioni di Linkowski (1996), il numero di anelli conteggiati nelle IGS, rappresenta i giorni in cui la specie risale, lasciando segni evidenti di una crescita ciclica nella struttura degli otoliti. Nel periodo in cui *H. benoiti* permane in profondità, nella microstruttura degli otoliti non viene registrato alcun segno di assimilazione costante di sali di calcio, determinando zone a crescita irregolare e differenziata, ma non ciclica (Bands).

Analizzando i valori medi relativi al numero di incrementi giornalieri, si può vedere che questi ultimi aumentano all'aumentare dell'età, evidenziando un cambiamento di comportamento migratorio con l'invecchiamento.

Tab. 1 - Valori minimi, massimi e medi del numero di tracce giornaliere conteggiate in ogni IGS.
Minimum, maximum and mean values of the number of daily increments calculated in each IGS.

Età IGS	N° IGS esaminati	Range tracce giornaliere	N° media	95% Conf. Min-Max
Linkowski 1996				
1	46	6 - 16	11,85	11,19-12,51
2	34	10 - 19	14,38	13,61-15,15
3	18	12 - 18	15,11	14,05-16,17
4	6	17 - 18	17,17	15,34-19,00
Presente lavoro				
1	1605	6 - 16	11,26	8,76-13,76
2	1599	8 -19	13,40	10,93-15,87
3	1581	11 - 23	15,57	12,95-18,19
4	1451	10 - 24	16,95	13,55-20,35
5	923	11 - 27	17,50	13,83-21,17
6	353	11 - 25	18,13	13,99-22,27
7	87	12 - 30	19,50	13,43-25,57
8	15	16 - 26	21,00	17,00-25,00
9	8	19 - 28	23,00	17,53-28,47

In Tab. 2 vengono riportati i ranges ed i valori medi di LS e PT rilevati per classi di età. In questa è possibile osservare che il maggior numero di individui campionati è distribuito principalmente tra la 3ª e la 7ª classe di età, con valori di LS compresi tra 33,24 e 51,28 mm ed un peso corrispondente compreso tra 0,59 e 2,15 gr.

Tab. 2 – Valori medi di lunghezza e peso per classi di età.
Mean length and weight values for age classes.

Età mesi IGS	N°	Range LS mm	Media LS mm	Dev. St.	Range PT gr	Media PT gr	Dev. St.
1	6	12,1 - 19,0	14,75	2,5209	0,05 - 0,06	0,05	0,0052
2	18	20,8 - 27,6	25,04	1,8305	0,13 - 0,33	0,23	0,0482
3	130	26,8 - 36,9	33,24	2,1708	0,29 - 0,82	0,59	0,1485
4	528	34,0 - 41,6	37,97	1,6065	0,48 - 1,25	0,89	0,1658
5	570	39,3 - 46,4	42,86	1,5880	0,91 - 1,69	1,26	0,2052
6	266	44,9 - 51,5	47,53	1,3001	1,21 - 2,18	1,66	0,2379
7	72	49,5 - 54,1	51,28	1,1807	1,70 - 2,65	2,15	0,2811
8	7	53,1 - 56,3	54,43	1,3187	2,13 - 2,77	2,51	0,2059
9	8	54,0 - 58,9	56,98	1,8858	2,69 - 3,15	2,91	0,1488

Ai valori medi di LS abbiamo applicato il modello di crescita di Von Bertalanffy, a sessi combinati, i cui parametri e la relativa rappresentazione grafica vengono riportati in Fig. 3.

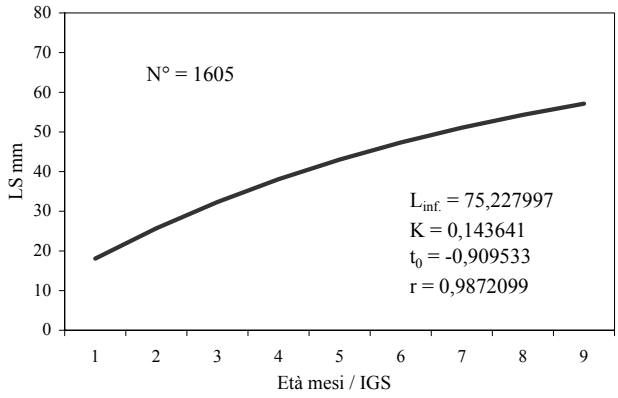


Fig. 3 - Curva e parametri di crescita dell'equazione di Von Bertalanffy.
Von Bertalanffy curve and growth parameters.

In Tab. 3 sono stati calcolati gli incrementi morfometrici e ponderali per ogni classe di età. Dai dati ottenuti si può notare che ad un veloce incremento iniziale in lunghezza, corrisponde un incremento costante in peso.

Tab. 3 – Incrementi medi in lunghezza e peso per classi di età.
Mean increase in length and weight for age classes.

Età mesi IGS	N°	Incremento LS mm	Incremento PT gr
1	6		
2	18	10,29	0,18
3	130	8,20	0,36
4	528	4,73	0,30
5	570	4,89	0,37
6	266	4,67	0,40
7	72	3,75	0,49
8	7	3,15	0,36
9	8	2,55	0,40

A completamento dello studio sulla crescita abbiamo anche calcolato i parametri della relazione lunghezza-peso, che vengono riportati, con la rappresentazione della rispettiva curva, nella Fig. 4.

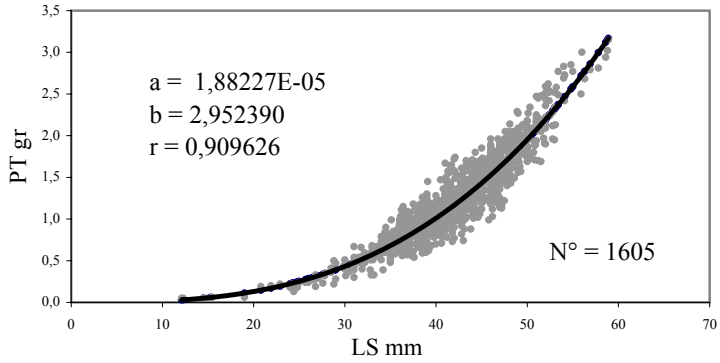


Fig. 4 – Curva e parametri della relazione taglia-peso.
Curve and parameters of lenght-weight relationship.

L'analisi della distribuzione del sesso definisce un rapporto di 2:1 a vantaggio dei maschi per le classi di età numericamente più rappresentate (Fig. 5).

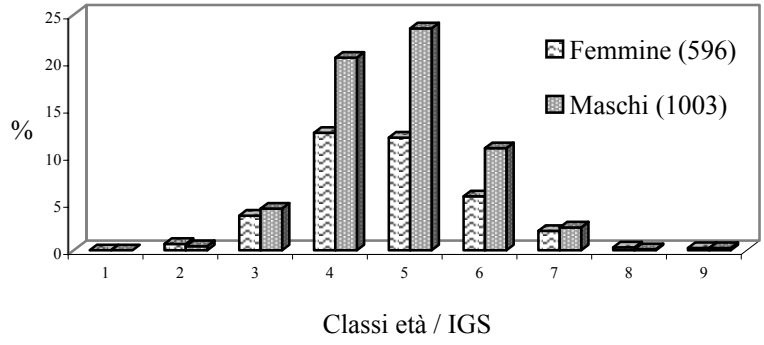


Fig. 5 - Distribuzione dei sessi per classi di età.
Age classes distribution by sex.

L'osservazione a fresco delle gonadi e l'attribuzione dello stadio maturativo ha fatto registrare la presenza di gonadi mature (IV stadio) a partire dalla classe dimensionale di 37 mm.

Quanto detto, correlato con le classi di età definisce la maturità sessuale di questa specie a partire dalla comparsa negli otoliti del IV IGS corrispondente a quattro mesi di vita per i maschi e del III IGS per le femmine (Fig. 6).

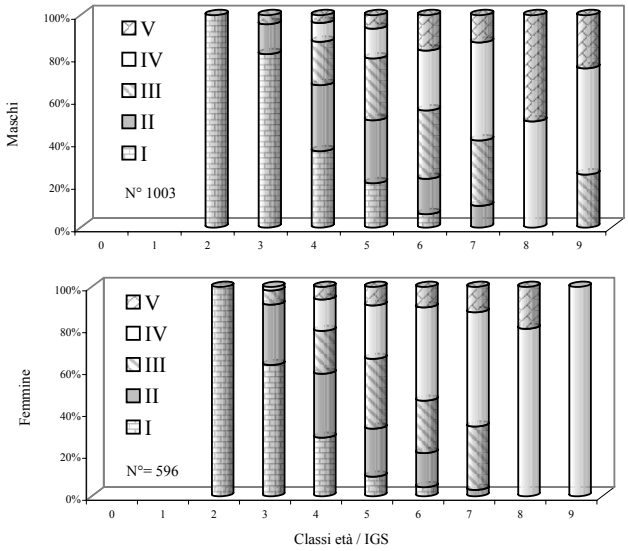


Fig. 6 - Distribuzione degli stadi maturativi delle gonadi per sesso e per età.
Maturity stages distribution of the gonads by sex and age.

Conclusioni

Un campionamento, di oltre quattro anni, nonostante abbia dato risultati di raccolta discontinui nel tempo, ha permesso di caratterizzare la specie in alcuni aspetti biologici, che possono essere qui di seguito elencati come obiettivi raggiunti in questo lavoro:

Le classi dimensionali analizzate, comprendendo esemplari con dimensioni minime (12,10 mm) di postmetamorfosi e massime di 58,9 mm, rappresentano sufficientemente la popolazione esaminata.

Nel lotto di popolazione studiato la distribuzione dei sessi ha fissato un rapporto di 2:1 a vantaggio dei maschi.

La maturità sessuale è raggiunta in appena 4 mesi di vita, sia nei maschi che nelle femmine, con gonadi mature a partire dai 37 mm di LS.

Il ritrovamento di individui con gonadi mature, per tutto il periodo del campionamento, ha permesso di catalogare la specie tra quelle aventi un ciclo riproduttivo quasi continuo.

Le periodiche migrazioni verticali, fanno registrare cambiamenti significativi nella modalità di cristallizzazione durante la deposizione degli incrementi ciclici di crescita negli otoliti. Pertanto, rispetto a precedenti lavori su alcuni mictofidi, in cui era stata stimata un'età compresa tra 4 e 9 anni, la rivalutazione delle tappe di crescita di *H. benoiti* eseguita in questo lavoro, ha permesso di definire per la specie un ciclo vitale di 9/10 mesi.

L'aumento del numero di incrementi giornalieri nelle IGS formatesi durante le ultime tappe di vita, non rispetta la regolarità iniziale, dimostrando che in questa fase la specie assume un comportamento migratorio più spiccato.

La crescita della specie, definita anche con il modello di Von Bertalanffy e con la relazione taglia-peso, può essere considerata ad andamento regolare e continuo durante il suo limitato periodo di vita.

La brevità del ciclo vitale è controbilanciata dall'estensione del ciclo riproduttivo che offre una natalità tale da garantire un periodico rinnovamento alla specie.

Bisogna infine considerare lo spiaggiamento un fenomeno che, ancora oggi, permette di dare un contributo sostanziale alla raccolta ed allo studio degli aspetti eto-ecologici e biologici di alcune specie batifile che, senza questa particolare opportunità, potrebbero essere campionate solo attraverso campagne oceanografiche mirate allo scopo.

Summary

The lanternfish *Hygophum benoiti* (Cocco, 1838) is distributed in Mediterranean Sea and in North and Central Atlantic Ocean; as other species of genera Myctophidae, has habit to carry out vertical migrations. A sign of this behaviour is checkable in otoliths' microstructure, in which the crystallization of aragonite changes during bathimetric fluctuations. Temporary changes of bathimetric level in Myctophidae have temporal rhythm related to lunar cycle.

Therefore the growth of *H. benoiti*, was estimated through the counting of rings or the wide of cyclic zones, subdivided in incremental growth sequences (IGS), with a regular crystallization, and zone with a temporary slackening of crystallization (Bands), to determine effective duration of life cycle.

1605 specimens of *H. benoiti*, were collected along of the sicilian coast of the Strait of Messina, thanks to a peculiar phenomenon that markes this area: the shore stranding of deep-water marine organisms.

Otoliths were observed by light microscopy and scanning electron microscopy (SEM) to count daily increments in IGS and to estimate longevity of *H. benoiti*, calculated in 9-10 months. Sex ratio resulted 2:1 in favour of males.

The examination of gonads' maturity stage characterized first sexual maturity length at 37 mm of LS, that is reached during the fourth month of life, corresponding at 4th IGS.

The number of growth daily increments increases during the last stages of life, not respecting the initial periodicity, because of a most accentuated migratory behaviour.

The finding of specimens with mature gonads, during the entire sampling period, allowed to list *H. benoiti* among the species that have an almost continuous reproductive cycle, that counterbalances the brevity of life.

Bibliografia

BADCOCK J., MERRET N.R. (1976) – Midwater fishes in the eastern North Atlantic. I. Vertical distribution and associated biology in 30°N, 23°W, with developmental notes on certain myctophids. *Prog. Oceanogr.,* **7**: 3-58.

BERDAR A., CAVALIERE A., CAVALLARO G., GIUFFRÈ G., POTOSCHI A. (1983) – Lo studio degli organismi spiaggiati nello stretto di Messina negli ultimi due secoli. *Naturalista Sicil*., S. 4, **7** (1-4): 3-17.

BERDAR A., CAVALLARO G., GIUFFRÈ G., POTOSCHI A. (1977) – Contributo alla conoscenza dei pesci spiaggiati lungo il litorale dello Stretto di Messina. *Mem. Biol. Mar. Ocean.,* **7** (5-6): 77-87.

BERDAR A., BERDAR N., COSTA F. (1989) – Diminuzione di ittiofauna meso e batipelagica spiaggiata nello Stretto di Messina. *Mem. Biol. Mar. Ocean.,* **17**: 43-60.

CAMPANA S.E. (1984) – Lunar cycles of otolith in the juvenile starry flounder *Platichthys stellatus. Marine Biology,* **80**: 239-246.

CAMPANA S.E., NEILSON J.D. (1985) – Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.,* **42**: 1014-1032.

CLARKE T.A. (1973) – Some aspects of the ecology of lanthernfishes (Myctophidae) in the Pacific Ocean near Hawaii. *Fish. Bull. U.S.*, **71** (2): 401-434.

DONATO A., CONTINI A., GIANNETTO S., BERDAR A. (1977) – Esame biometrico di una popolazione di *Hygophum benoiti* Cocco e ritrovamento di alcuni esemplari di *Hygophum hygomi* Lutken (Pisces: Myctophidae*). Riv. Biol. Norm. Patol.*, **3** (3): 133-146.

GARTNER J.V. JR (1991) - Life histories of three species of lanternfishes (Pisces: Myctophidae) from the eastern Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, **111**: 11-20.

GENOVESE S., BERDAR A., GUGLIELMO L. (1971) - Spiaggiamenti di fauna abissale nello Stretto di Messina. *Atti Soc. Peloritana Sci. Fis. Mat. Nat.,* **17**: 331-370.

GJΦSAETER J., KAWAGUCHI K. (1980) – A review of the world resources of mesopelagic fishes. *F.A.O. Fish. Tech. Paper*, **193**: 1-151.

GJΦSAETER J. (1973) – Age, growth and mortality of the Myctophid fish, *Benthosema glaciale* (Reinhardt), from Western Norway. *Sarsia*, **52**: 1-14.

GOODYEAR R.H., ZAHURANEC B.J., PUGH W.L., GIBBSRH J.R. (1972) – Ecology and vertical distribution of Mediterranean midwater fishes. *Mediter. Biol. Stud. Final. Rep.,* **1** (3): 91-229.

HALLIDAY R.G. (1970) – Growth and vertical distribution of the Glacier Lanternfish, *Benthosema glaciale,* in the Northwestern Atlantic. *Journ. Fish. Res. Bd Canada*, **27** (1): 105-115.

HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) – Manual of fisheries science. Part 2. Methods of resources investigation and their application. *FAO Fish. Tech. Pap*., **115**: 1-214.

LINKOWSKI T.B. (1991). – Otolith microstructure and grown patterns during the early life history of lanternfishes (family Myctophidae). *Can. J. Zool*., **69**: 1777-1792.

LINKOWSKI T.B., RADTKE L.R., LENZ. P.R. (1993) – Otolith microstructure, age and growth of two species of *Ceratoscopelus* (Osteichthyes: Myctophidae) from the eastern North Atlantic. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **167**: 237-260.

LINKOWSKI T.B. (1996) – Lunar rhythms of vertical migrations coded in otolith microstructure of North Atlantic lanternfishes, genus *Hygophum* (Myctophidae). *Mar. Biol.,* **124**: 495-508.

MAZZARELLI G. (1909) – Gli animali abissali e le correnti sottomarine dello Stretto di Messina. *Riv. Mens. Pesc. Idrobiol.,* **2**: 177-218.

NAFPAKTITIS B.G., BACKUS R.H., CRADDOCK J.E., HAEDRICH R.L., ROBISON B.H., KARNELLA C. (1977) – Family Myctophidae. *Mem. Sears Fdn. Mar. Res.,* **1** (7): 13-265.

NISHIMURA A., YAMADA J. (1984) – Age and growth of larval and juvenile walleye pollock, Theragra chalcogramma (Pallas), as determined by otholith daily growth increments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **82**: 191-205.

PAXTON R.J. (1967) – Biological note on southern California Lanthernfishes (Family Mictophidae). *Calif. Fish. Game*, **53**: 214-217.

POTOSCHI A., ANDALORO F. (1980) – Età ed accrescimento in *Myctophum punctatum* (Raf. 1810). *Mem. Biol. Mar. Ocean*., **10**: 435-436.

POTOSCHI A. (1983) – Accrescimento morfometrico e ponderale, età e riproduzione nel teleosteo batifilo *Myctophum punctatum* (Raf. 1810). *Mem. Biol. Mar. Ocean.,* **8**: 149-165.

POTOSCHI A., CAVALLARO G., CEFALI A., BRUNO R. (1992) – Biologia e distribuzione di *Lampanyctus crocodilus* (Risso,1810) sui fondi Batiali del Tirreno meridionale. *Oebalia*, (Suppl.) **17**: 93-99.

POTOSCHI A., CAVALLARO M., BATTAGLIA P. (2000) – Stima della crescita e note biologiche di *Hygophum benoiti* (Cocco, 1838). Pisces: Myctophidae. 61° Congresso UZI, 24-28/09/2000, S. Benedetto del Tronto: 70 pp.

RADTKE R.L. (1984) – Cod fish otholiths: Information storage structures. *Flod. Rapp*., **1**: 273-297.

RADTKE R.L. (1989) – Strontium-Calcium concentration ratios in fish otoliths as enviromental indicators. *Comp. Biochem. Physiol*., **92**: 189-193.

SCOTTO DI CARLO B., COSTANZO G., FRESI E., GUGLIELMO L., IANORA A. (1982) – Feeding ecology and standing mechanism in two lanternfishes, *Hygophum benoiti* and *Myctophum punctatum*. *Mar. Ecol.*, **9**: 13-24.

TANING A.V. (1918) – Mediterranean Scopelidae. *Rep. Dan. Oceanogr. Exped. Mediterr*., **2** (Biol.), (A. 7): 1-158.

TORTONESE E. (1956) – Iniomi, Plectognathi *in* Uova, larve e stadi giovanili di Teleostei. *Fauna e Flora del Golfo di Napoli*, **38**: 889-977.

VERCELLI F. (1925) – Crociere per lo studio dei fenomeni nello Stretto di Messina. Parte I. Il regime delle correnti e delle maree nello Stretto di Messina. *Ferrari*, Venezia: 209 pp.

VON BERTALANFFY L. (1938) – A quantitative theory of organic growth. *Human Biol.,* **10** (2): 23-32, 181-213.

YOUNG J.W., BULMAN C.M., BLABER S.J.M., WAYTE S.E. (1988) – Age and growth of the lanternfish *Lampanyctodes hectoris* (Myctophidae) from eastern Tasmania, Australia. *Mar. Biol*., **99**: 569-576.

ZURBRIGG R.E., SCOTT W.B. (1972) - Evidence for expatriate populations of lanternfish *Myctophum punctatum* in the Northwest Atlantic. *Journ. Fish. Res. Bd. Canada,* **29**: 1679-1683.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 138-145

F. Riccato, R. Fiorin, A. Franco, P. Franzoi, A. Libertini*,

F. Pranovi, P. Torricelli

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Venezia, Campo della Celestia, 2737/b - 30122 Venezia, Italia.
*CNR - Istituto di Biologia del Mare, Venezia, Italia.

POPULATION STRUCTURE AND REPRODUCTION OF THREE PIPEFISH SPECIES (PISCES, SYNGNATHIDAE) IN A SEA GRASS MEADOW OF THE VENICE LAGOON

ASPETTI DEMOGRAFICI E RIPRODUTTIVI DI TRE SPECIE DI PESCI AGO (PISCES, SYNGNATHIDAE) IN UNA PRATERIA A FANEROGAME SOMMERSE DELLA LAGUNA DI VENEZIA

Abstract

*Three species of pipefish (*Syngnathus abaster*,* S. typhle *and* Nerophis ophidion*) occur in a sea grass meadow of the Venice Lagoon. In both species of genus* Syngnathus *the sexual maturity can be reached at 3-4 months of age, and the breeding season extends from April to October. After incubation in the paternal brood pouch, new-borns colonize the sea grass meadow. In* N. ophidion *the breeding season is about 8-9 months; from eggs planktonic larvae hatch, characterized by primordial fins. These larvae become demersal at 3-4 months old and 10 cm long.*

Key-words: *syngnathid, population structure, gonadosomatic index, sea grass.*

Introduction

Pipefishes (Syngnathidae) are an important fish assemblage component of vegetated coastal and estuarine habitats (Howard and Koehn, 1985; Campolmi *et al.*, 1996). The reproductive biology of pipefishes has been investigated because they exhibit male parental care: females pass the eggs from the oviduct into a special structure placed on male body; after fecundation males carry and care the embryos throughout the gestation period (Berglund *et al.*, 1986). The organization of male brood area varies between genera from a simple ventral region to which eggs are loosely attached without any protecting plates or covering membranes, as in the genus *Nerophis*, to an incubating structure with different degrees of closure, as the inverted brood pouch of the genus *Syngnathus* (Dawson, 1986). Differences are also evident in early life cycles, which are probably related to the different structure of the brood area. *Nerophis* larvae are characterized by pectoral and primordial fins, and they freely float in superficial water for about 3-4 months. When individuals are about 10-11 cm (TL) long, they metamorphose in completely developed juveniles. By contrast, juveniles of *Syngnathus* are completely formed when they are released from the paternal pouch (D'Ancona, 1933).

In temperate marine coastal environments, many pipefishes are characterized by short life spans, and long reproductive periods with repeated spawning (Howard and Koehn, 1985; Tomasini *et al*., 1991). However, aspects of the life cycle of many syngnathid species are still superficially known (Campbell and Able, 1998; Dawson, 1986). In particular, comparatively little is known about pipefish ecology in the Adria-

tic Sea (Franzoi *et al*., 1993). In this study population structure and reproductive ecology of three pipefish species (*Syngnathus abaster* Risso, 1827; *S. typhle* Linnaeus, 1758 and *Nerophis ophidion* Linnaeus, 1758) occurring in a sea grass meadow of the Venice Lagoon were investigated.

Materials and methods

Sampling was performed in a sea grass meadow (mainly *Cymodocea nodosa*) located in the northern part of the Venice Lagoon (45°26'050 N, 12°23'560 E). Water depth varied from 50 cm, at low-tide, and 1.5 m during high tide. Water temperature ranged between 5°C in February and 27°C in August, while salinity fluctuated between 28 and 37‰.

Sampling was carried out 16 times at monthly intervals from January to December 2001, (fortnightly in April, May, July, and September). Fish samples were collected using an 8 meters long beach-seine with 2 mm mesh size, making each time four 15 meters long trawls. All individuals were sorted according to species, their weight (TW; ±0.1 mg), sex (immature, male or female) and size (total length, TL, and standard length, SL; ±1 mm), were recorded. Because the genus *Nerophis* lacks caudal fin, only TL measures were taken from *Nerophis ophidion* specimens. Age interpretation was based on the tracking of monthly length-frequency distributions. Males of genus *Syngnathus* were sexed by the presence of the brood pouch (even if not completely made-up) while on the other hand males and females of *Nerophis ophidion* were distinguished on the base of secondary sexual characters (Berglund *et al*., 1986). In females, gonads were weighted (GW; ±0.1 mg) in order to calculate a gonadosomatic index (GSI=GW/TW). Embryos in male brood pouch were counted, and their development stage recorded according to Tomasini *et al*. (1991).

Results

Totally more than 2000 pipefish specimens were captured, belonging mainly to three species: *Syngnathus typhle*, *S. abaster* and *Nerophis ophidion*. Also individuals of *Syngnathus taenionotus* Canestrini, 1871 (n=8), *S. acus* Linnaeus, 1758 (n=6), *Hippocampus hippocampus* Linnaeus, 1758 (n=3), *H. guttulatus* Cuvier, 1829 (n=3) and *Nerophis maculatus* Rafinesque, 1810 (n=1) were recorded. In the sampling area, pipefishes occurred only from April to October (Fig. 1), during the growing period of the sea grass meadow. During winter months pipefishes probably move to warmer, deeper water (Franzoi *et al*., 1993).

Syngnathus abaster Risso, 1827 (Black-striped pipefish)

Population structure. A total number of 515 specimens were collected. Monthly length-frequency distributions were performed on standard length data (Fig. 2), because many specimens had a damaged caudal fin tip. The occurrence of two age classes, 0+ and 1+, was evident. In April were sampled only 1+ individuals, ranging between 7.5 and 12.5 cm of SL. Recruitment of young-of-the-year (YOY; with a SL lesser than 5.5 cm) started in May; individuals bigger in size, aged 1+, were still present and ranging between 10.5 and 14 cm of SL. In June, a new YOY mode was evident while some 0+ individuals both males and females, with size ranging between 6.5 and 8.5 cm of SL and probably born in April, resulted early sexually differentiated. The 1+ cohort was composed of a few individuals which were very large in size (Fig. 2). In July, August and September the population was almost totally composed by individuals born

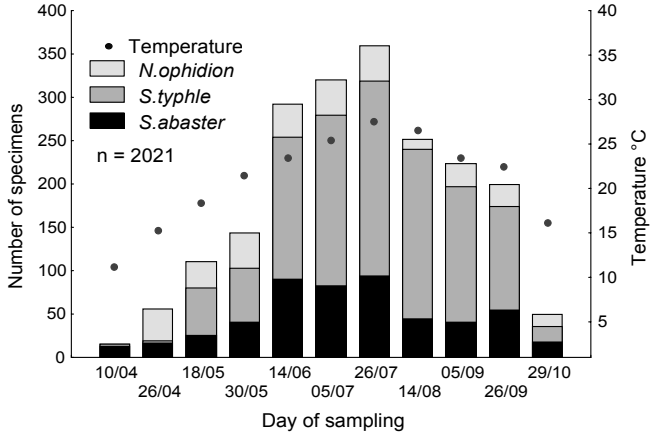


Fig. 1 - Number of pipefish specimens captured and water temperature from April to October 2001.
Numero di individui catturati durante ogni campionamento da aprile ad ottobre 2001 e temperatura dell'acqua.

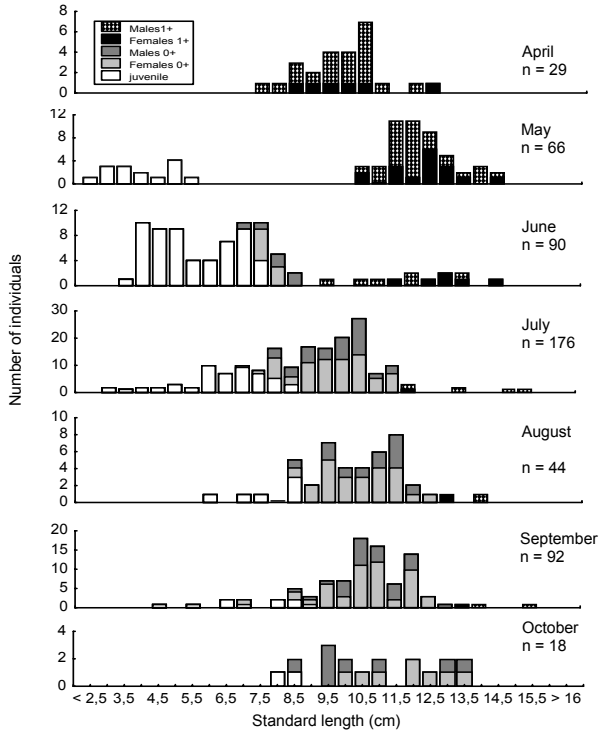


Fig. 2 – Absolute length-frequency distributions of *Syngnathus abaster* caught throughout the study, separated by sex and age group.
Distribuzioni di frequenza delle lunghezze standard di Syngnathus abaster *separate per sesso ed età.*

during the year, and only six individuals aged 1+ were caught. Recruitment of YOY continued in July, but was negligible in August and absent in September.

Reproduction. S. abaster males with brood pouches containing embryos occurred from April to September. In Fig. 3a is reported the average number of embryos (± standard deviation) contained in male brood pouches, separately for age classes. In April males aged 1+ showed a brood pouch either not completely developed nor full. In May the number of embryos increased reaching a peak in July, then declined in September. 0+ males with completely developed brood pouch appeared in June. In July, 0+ males showed completely formed brood pouches and filled with embryos. The reduced average number of embryos incubated per male was due to the little size of their pouches. The average brood fecundity of males aged 0+ increased in August and then decreased until October. In August, the brood pouch size and the average number of incubated embryos of 0+ males was comparable with those observed on the beginning of the reproductive period for the 1+ males (Fig. 3a). The monthly values of female GSI increased from April to June, and then broke down from August. From July the pool of mature females seems to be constituted only by 0+ specimens (Fig. 3b).

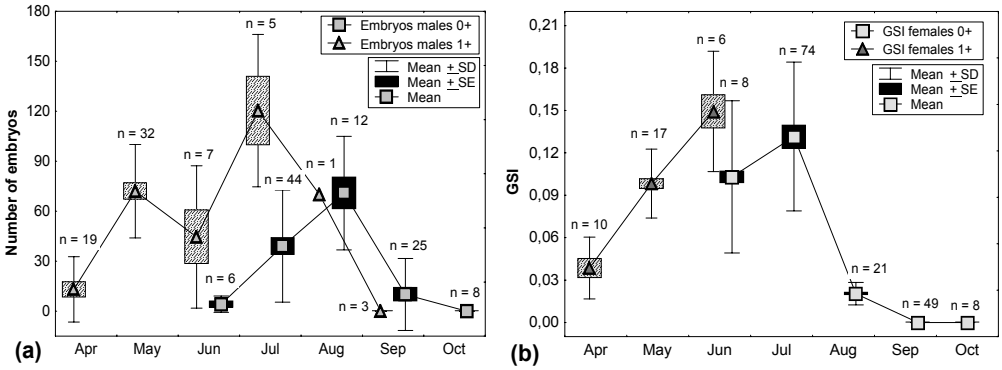


Fig. 3 – Syngnathus abaster: (a) temporal variation of the number of embryos in the brood pouches of 0+ and 1+ males; (b) temporal variation of the GSI in 0+ and 1+ females.

(a) Andamento temporale del numero di embrioni contenuti nelle tasche incubatrici di maschi 0+ e 1+; *(b) andamento temporale dell'indice gonadosomatico in femmine 0+ e 1+.*

Syngnathus typhle Linnaeus, 1758 (Broad-nose pipefish)

Population structure. Totally, 1200 *S. typhle* specimens were collected. Almost all individuals aged 0+ (Fig. 4). Only two specimens, aged 1+, were caught in April. Recruitment was evident from May to September, when different modes of YOY are recognizable. In June some young males (age 0+) (12.5-15 cm SL) began to develop the brood pouch, and in July these males become active spawners. In the sampling months that followed, the interpretation of age and growth from length-frequency data was confounded by the prolonged time over which new broods occur, and because of the contribution in reproduction of YOY themselves.

Reproduction. Few males aged 1+ with full brood pouches were observed in April and May (Fig. 5a). The average number of embryos in the brood pouch of 0+ males reaches a peak in July, and then it declines until September. The female GSI shows a peak in July (Fig. 5b), and then it decreases until October.

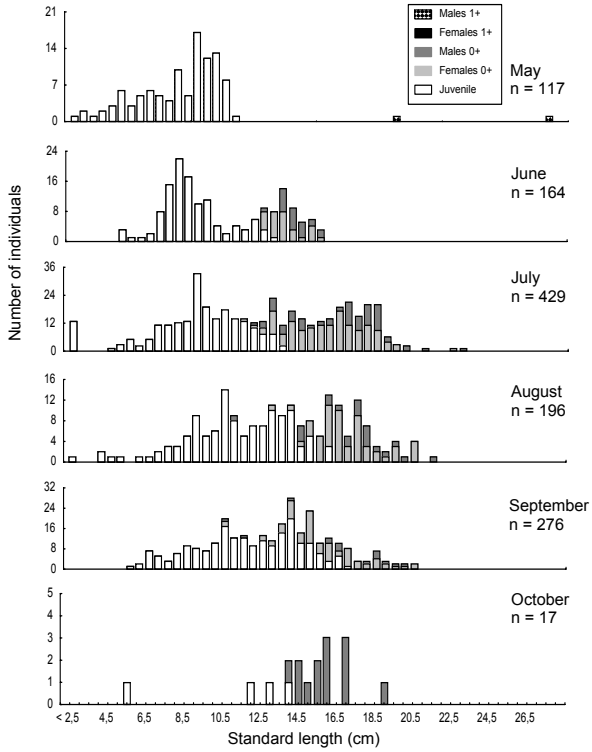


Fig. 4 – Absolute length frequency distributions of *Syngnathus typhle* caught throughout the study, separated by sex and age group.
Distribuziaoni di frequenza delle lunghezze standard di Syngnathus typhle *separate per sesso ed età.*

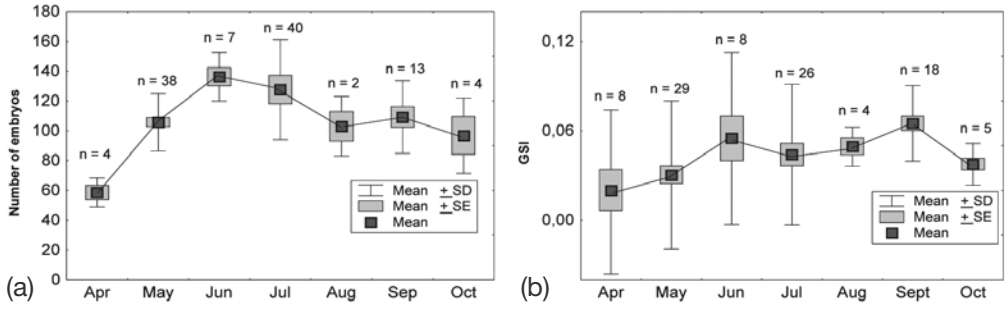


Fig. 5 – Syngnathus typhle: (a) temporal variation of the number of embryos in the brood pouches of 0+ and 1+ males; (b) temporal variation of the GSI in 0+ and 1+ females.
(a) Andamento temporale del numero di embrioni contenuti nelle tasche incubatrici di maschi 0+ e 1+; *(b) andamento temporale dell'indice gonadosomatico in femmine 0+ e 1+.*

Nerophis ophidion Linnaeus, 1758 (Straight-nose pipefish)

Population structure. *N. ophidion* was the less abundant pipefish species (n=306 specimens) in the sampling area. This species displays an evident sexual dimorphism, with females bigger and more coloured than males (Berglund *et al*., 1986). During the sampling period the biggest male captured was 23.1 cm (TL) while the biggest female was 26.7 cm (TL). In April, sexually undifferentiated individuals were captured together with males bearing eggs and big sized mature females (Fig. 6). In the next spring and summer months mainly mature females and brooding males were sampled. On the whole sampling period, only four individuals shorter than 10 cm were captured (Fig. 6).

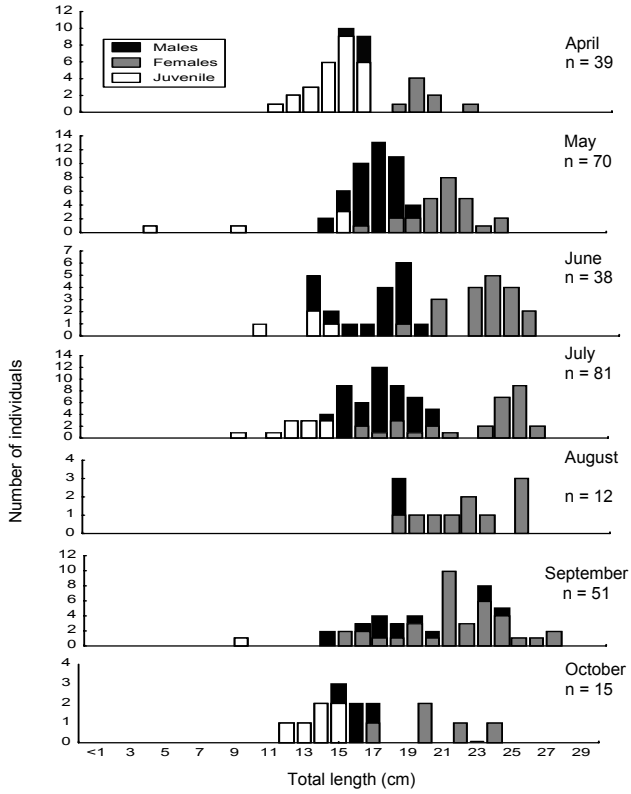


Fig. 6 – Absolute length-frequency distributions of *Nerophis ophidion* caught troughout the study, separated by sex.

Distribuzioni di frequenza delle lunghezze totali di Nerophis ophidion*, separate per sesso.*

Reproduction. Males carrying eggs occurred from April to October (Fig. 7a). Male brood size is more than doubled from April to June, and then male fecundity values remain relatively high until the end of the sampling period. Female GSI showed a similar pattern, with higher values from June to October (Fig. 7b).

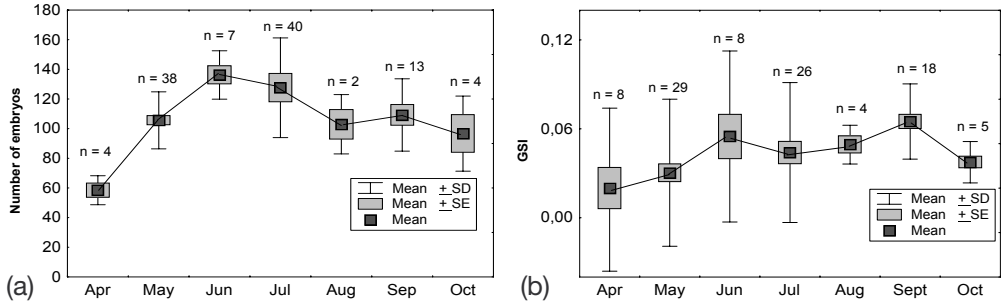


Fig. 7 – *Nerophis ophidion*: (a) temporal variation of the number of embryos in males; (b) temporal variation of the GSI in females.
(a) *Andamento temporale del numero di embrioni portatati dai maschi*; (b) *andamento temporale dell'indice gonadosomatico nelle femmine.*

Conclusions

Syngnathus abaster, *S. typhle* and *Nerophis ophidion* have been found together in the shallow vegetated habitat of the Venice Lagoon during their reproductive season. The study area was colonized by pipefishes from April, when water temperature was around 15°C. Higher abundances were observed from June to August; in these months the plentiful vegetative growth of the sea grass meadow (Sfriso and Ghetti, 1998) and the high water temperature (over 20°C) supplies a refuge from predation and high food availability for young pipefishes (Franzoi *et al*., 1993).

For both *Syngnathus* species reproduction begins in spring and the recruitment of juveniles starts from May: small sized specimens of *S. abaster* and *S. typhle* sampled in the study area were only 16-18 mm long (TL). In both species, some individuals reached sexual maturity when they were three or four months old. Early maturity has been recorded also in other small-sized estuarine fish species, as *Aphanius iberus*, *Gambusia affinis*, and *Fundulus heteroclitus* (Fernandez-Delgado *et al.*, 1988). In *Syngnathus* species the recruitment due to 0+ individuals does not seem to be very consistent in quantitative terms, although it can be important in terms of offspring quality (Tomasini *et al.*, 1991). *Nerophis ophidion* adopts a different reproductive strategy, in comparison with *Syngnathus* species. The reproductive season was prolonged until October, when breeding males and females were still observed. This long breeding period can be related with the planktonic habits of *N. ophidion* larvae and juveniles. In the sampling period only few specimens less than 10 cm (TL) were captured, suggesting that recruitment into the vegetated habitat takes place when individuals reach this size.

However, studies on wider spatial and temporal scales are required to expand upon our understanding of life cycle and population ecology of these pipefish species.

Riassunto

Otto specie di singnatidi (*Syngnathus abaster, S. typhle, S. acus, S. taenionotus, Nerophis ophidion, N. maculatus, Hippocampus hippocampus, H. guttulatus*) sono state rinvenute in una prateria a fanerogame marine della laguna di Venezia. Di queste, tre specie (*Syngnathus abaster, S. typhle* e *Nerophis ophidion*) presentavano elevate densità nei mesi compresi tra aprile e ottobre 2001. Nelle due specie del genere *Syngnathus* è stato osservato come alcuni individui raggiungano la maturità sessuale dopo soli 3-4 mesi di vita, e partecipino attivamente alla

riproduzione. La stagione riproduttiva si prolunga per circa 6 mesi, corrispondenti al periodo di maggior sviluppo vegetativo della prateria sommersa. Dalle uova conservate nelle tasche schiudono giovanili completamente formati che intraprendono vita demersale. *N. ophidion* mostra invece una stagione riproduttiva estesa su 8-9 mesi; i maschi di questa specie portano le uova adese al corpo senza la protezione di pliche cutanee. Dopo la schiusa le larve conducono vita planctonica fino al raggiungimento di una taglia di circa 10 cm, quando i giovanili assumono un habitus demersale.

References

BERGLUND A., ROSENQVIST G., SVENSSON I. (1986) - A matechoice, fecundity and sexual dimorphism in two pipefish species (Syngnathidae). *Behav. Ecol. Sociobiol*., **19**: 301-307.

CAMPBELL B.C., ABLE K.W. (1998) - Life history characteristics of the northern pipefish, *Syngnathus fuscus*, in southern New Jersey. *Estuaries*, **21**: 470-475.

CAMPOLMI M., FRANZOI P., MAZZOLA A. (1996) - Observations on pipefish (Syngnathidae) biology in the Stagnone Lagoon (West Sicily). *Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanograf*., **21**: 205-209.

D'ANCONA U. (1933) - Fauna e flora del golfo di Napoli. Pubblicazione stazione zoologica di Napoli, **38**: 281-298.

DAWSON C.E. (1986) - Syngnathidae In: P.J.P. Whitehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds), *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, **2**: 628-639.

FERNANDEZ-DELGADO C., HERNANDO J.A., HERRERA M., BELLIDO M. (1988) - Age, growth and reproduction of *Aphanius iberus* (Cuv. And 997 Val., 1846) in the lower reaches of the Guadalquivir River (south-west Spain). *Freshwater biology,* **20**: 227-234.

FRANZOI P., MACCAGNANI R., ROSSI R., CECCHERELLI V.U. (1993) - Life cycles and feeding habits of *Syngnathus taenionotus* and *S. abaster* (pisces, syngnathidae) in a brackish bay of the Po' river delta (Adriatic sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **97**: 71-81.

HOWARD R.K., KOEHN J.D. (1985) - Population dynamics and feeding ecology of pipefish (syngnathidae) associated with eelgrass beds of Western Port, Victoria. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.,* **36**: 361-370.

SFRISO A., GHETTI P.F. (1998) - Seasonal variation in biomass, morphometric parameters and production of sea grasses in the lagoon of Venice. *Aquatic Botany*, **61**: 207-223.

TOMASINI J.A., QUIGNARD J.P., CAPAPE C., BOUCHEREAU L. (1991) - Facteurs du success reproductif de *Syngnathus abaster* Risso 1826 (Pisces, Teleostei, Syngnathidae) en milieu lagunaire mediterraneen (lagune de Mauguio, France). *Acta Œcologica*, **12**: 331-335.

The present work was financed by Co.Ri.La. project "Lo studio della biodiversità per un equilibrio fra conservazione e sfruttamento in laguna di Venezia".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 146-151

F. Azzini, C. Cerrano, S. Puce*, G. Bavestrello*

Dip. per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova,
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
*Dip. di Scienze del Mare, Università di Ancona, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.

INFLUENZA DELL'AMBIENTE SULLA STORIA VITALE DI *EUDENDRIUM RACEMOSUM* (GMELIN, 1791) (CNIDARIA, HYDROZOA) IN MAR LIGURE

ENVIRONMENTAL INFLUENCE ON THE LIFE HISTORY OF EUDENDRIUM RACEMOSUM (*GMELIN, 1791*) *(CNIDARIA, HYDROZOA) IN THE LIGURIAN SEA*

Abstract

In the temperate seas a large number of species of hydrozoans is present in the environment only in limited periods of the year and show a very restricted reproductive period. In this work we have compared the life hystory of the hydroid Eudendrium racemosum (*Gmelin, 1791*) *(Cnidaria, Hydrozoa) living on the rocky bottom of the Portofino Promontory (Ligurian Sea), with those of two populations of the same species in polluted habitats: the S. Margherita harbour and an underwater outflow of a treatment of waste water. Our data put in evidence that the physical parameters, like temperature and solar irradiance, are important in the regulation of the seasonal cycle of* E. racemosum *but that they act sinergically with biological factors, like competition, trophic availability and predation.*

Key-words: *life cycles, abiotic factors, Hydrozoans, marine benthos, Ligurian Sea.*

Introduzione

Nei mari temperati la maggior parte delle specie di idrozoi è riscontrabile nell'ambiente solo in determinati periodi dell'anno e presenta ancor più limitati periodi di fertilità (Coma *et al.,* 2000). I cicli stagionali sono molto più pronunciati in specie di acque poco profonde dove le differenze stagionali sono maggiori.

Da questo punto di vista, uno degli ambienti meglio studiati del Mediterraneo è la falesia del Promontorio di Portofino (Mar Ligure) dove, tra 0 e 25 m, sono state raccolte 90 specie di idrozoi.

Di queste, circa un terzo (27) sono presenti tutto l'anno mentre le restanti presentano un ciclo stagionale. Di quelle stagionali 41 sono presenti prevalentemente nei mesi invernali e 22 in quelli estivi (Boero e Fresi, 1986). Studi più approfonditi, condotti su singole specie, hanno suggerito che gli organismi stagionali possano superare il periodo avverso sotto forma di corpi di resistenza quali idrorize o planule quiescenti (Boero *et al*., 1986).

I meccanismi implicati nel determinare i periodi di attività, di maturazione dei gameti e di quiescenza delle specie a ciclo vitale stagionale non sono del tutto chiariti. Esperimenti compiuti in laboratorio a temperatura costante hanno mostrato che alcune specie hanno un ritmo circannuale di crescita endogeno che però può essere modificato alterando i vari fattori ambientali (Brock, 1979).

E' stata inoltre ipotizzata un'influenza della temperatura dell'acqua nel determinare

i cicli stagionali di abbondanza di organismi, sostenuta da esperimenti di laboratorio che hanno evidenziato che la crescita delle colonie di alcune specie è più elevata oltre un certo livello di temperatura (Fulton, 1962, 1963; Kinne e Paffenhofer, 1966). Al contrario, ci sono dati che mostrano come temperature elevate possano alterare il metabolismo di specie invernali (Arillo *et al*., 1989).

D'altra parte, la diretta implicazione della temperatura nei cicli osservati in natura non sembra del tutto soddisfacente dato che, per esempio nelle specie invernali, la temperatura all'inizio del ciclo è nettamente più elevata di quella documentata alla fine (Boero e Fresi, 1986). Altre ricerche hanno messo in evidenza come la temperatura giochi un ruolo sinergico con la quantità di radiazione luminosa (Rossi, 1964; Bavestrello e Arillo, 1992).

Wedler (1975) riporta che, al largo della California, una delle maggiori cause della variazione stagionale nelle comunità di idrozoi è il flusso di acque dal continente durante la stagione piovosa: esso fa diminuire la salinità e fa aumentare il tasso di sedimentazione. La sedimentazione può limitare la crescita delle popolazioni di idrozoi che vivono sul substrato e può anche impedire l'insediamento delle larve.

Alcune delle specie più caratteristiche della falesia del Promontorio di Portofino sono quelle appartenenti al genere *Eudendrium.* In particolare *E. glomeratum* Picard, 1951 e *E. racemosum* sono abbondanti rispettivamente durante le stagioni invernale ed estiva ma, mentre per *E. glomeratum* la dinamica di popolazione è stata descritta con notevole dettaglio (Boero *et al*., 1985), la specie estiva non è stata altrettanto accuratamente studiata.

In questo lavoro abbiamo descritto la dinamica della popolazione di *E. racemosum* della falesia del Promontorio di Portofino confrontandolo con quella di due popolazioni presenti in due aree vicine marcatamente antropizzate: i pontili del porto di S. Margherita Ligure e lo sbocco sottomarino di un depuratore.

Materiali e metodi

Le raccolte dei campioni sono state effettuate in immersione per individuazione diretta degli esemplari e sono avvenute mensilmente da gennaio 2001 a febbraio 2002.

Le colonie raccolte e conservate in sacchetti separati, sono state trasportate in laboratorio in contenitori pieni d'acqua di mare e successivamente fissate in formalina neutralizzata al 4%.

Gli esemplari sono stati osservati allo stereo microscopio analizzando i seguenti parametri: area della colonia, percentuale di polipi con gonofori, sesso dei gonofori.

È stata valutata la superficie di ciascuna colonia proiettando su un foglio la sagoma della colonia stessa e successivamente, tramite l'utilizzo di una tavoletta digitalizzatrice GRAPHTEC KD 4300, ne è stata calcolata l'area in mm^2.

Le raccolte sono state effettuate in due stazioni caratterizzate da diversi tipi di inquinamento e, per confronto, in un ambiente naturale:

- Molo interno al Porto di S. Margherita Ligure, profondità 1 m. Zona caratterizzata da inquinamento dovuto principalmente a idrocarburi. Habitat a scarsa competizione caratterizzato principalmente da ctamali, sui quali le colonie di *Eudendrium* vivono come epibionti, giovani mitili e spugne calcaree.
- Sbocco di un depuratore subacqueo, profondità 23 m. Zona caratterizzata da un

notevole apporto organico. Le colonie di *E. racemosum* costituiscono la quasi totalità del popolamento bentonico presente sulle strutture artificiali.

- Falesia rocciosa del Promontorio di Portofino, profondità 5-10 m. Zona ad elevata competizione. Il popolamento è caratterizzato da alghe rosse, balani, altre specie di idrozoi e spugne incrostanti.

Risultati

Sulla falesia di Portofino *Eudendrium racemosum* mostra un chiaro ciclo estivo comparendo in maggio e degenerando in dicembre con massimi di abbondanza tra giugno e ottobre, mesi nei quali maturano i gameti. Questo ciclo conferma le osservazioni di Boero e Fresi (1986) ed è congruente con la fotofilia dimostrata dalla specie in esperimenti di laboratorio (Rossi, 1964).

Nelle altre due aree esaminate la specie, al contrario, è presente tutto l'anno senza evidenti fasi di degenerazione. Nell'area portuale si osservano due periodi di fertilità, invernale ed estivo. Il primo è più breve e le colonie fertili mostrano un limitato numero di gonofori, mentre il secondo è più prolungato e le colonie sviluppano un più elevato numero di polipi fertili.

Nell'area del depuratore le colonie hanno dimensioni maggiori, rispetto agli altri siti esaminati, il periodo riproduttivo coincide con quello della falesia di Portofino, dove si raggiunge il 100% di colonie fertili nel mese di ottobre (Fig. 1).

In tutte le popolazioni esaminate la maturazione dei gonofori maschili precede di circa un mese la comparsa di quelli femminili.

I dati relativi alle dimensioni e alla fertilità delle colonie raccolti nelle tre stazioni sono stati confrontati con gli andamenti dell'irradianza a livello della superficie del mare e con quelli della temperatura delle acque superficiali rilevata nella zona di campionamento (Tab. 1).

Tab. 1 – Coefficienti di correlazione (r) tra i parametri delle colonie e quelli ambientali.
Correlation coefficient (r) of the colonies parameters vs environmental parameters.

	Irradianza (cal/cm^2/h)				**Temperatura (° C)**			
	Area delle colonie		**Colonie fertili**		**Area delle colonie**		**Colonie fertili**	
Falesia	0,640	$p < 0.05$	0,663	$p < 0.01$	0,911	$p < 0.01$	0,911	$p < 0.01$
Porto	0,118	ns	0,303	ns	0,480	ns	0,000	ns
Depuratore	0,445	ns	0,346	ns	0,624	$p < 0.05$	0,762	$p < 0.01$

Questo confronto ha mostrato che il ciclo della popolazione di Portofino sembra regolato dalla variazione stagionale nella temperatura dell'acqua. L'influenza di questo parametro si attenua nella popolazione del depuratore e si annulla in quella del Porto. Inoltre, la popolazione di Portofino sembra correlata, anche se in misura minore con la quantità di irradianza, parametro che non influenza il popolamento del Porto e del depuratore.

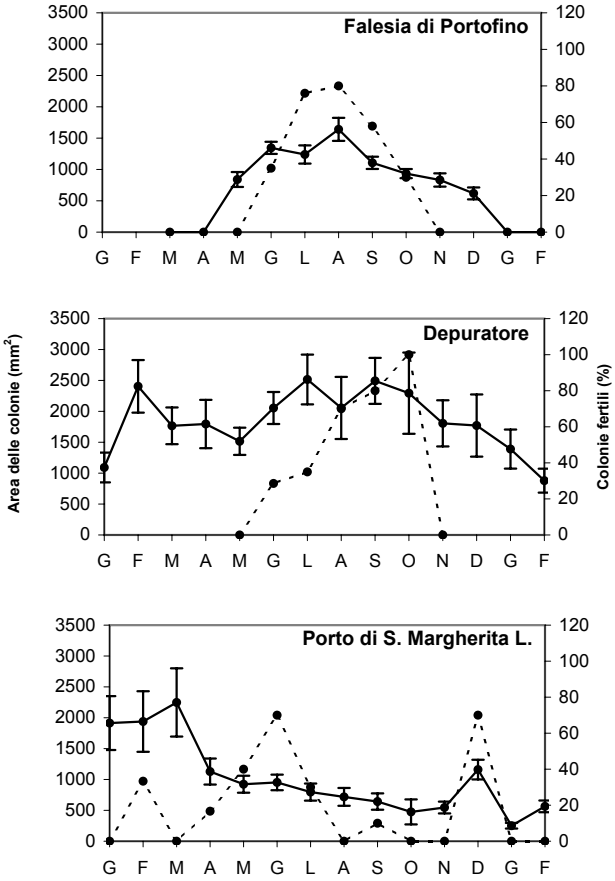


Fig. 1 – Andamento stagionale delle superfici medie delle colonie (± SE) (linee continue) e della percentuale di colonie fertili (linea tratteggiata) nelle tre stazioni studiate.

Seasonal trend of the average surface of the colonies (± SE) (continuous lines), and of the percentage of the fertile colonies in the three studied sites (stroked lines).

Conclusioni

Il principale risultato di questa ricerca è la dimostrazione che popolazioni di una stessa specie di idroide, viventi in aree contigue presentano storie vitali profondamente modificate. A differenza di quanto osservato nell'ambiente naturale della falesia di Portofino, *Eudendrium racemosum* allo sbocco del depuratore mostra un ciclo molto più esteso, con una modesta riduzione della taglia delle colonie in un limitato periodo invernale e nessun periodo di totale assenza delle colonie. Questa tendenza raggiunge il massimo nella popolazione portuale dove non è stato possibile evidenziare nessun fenomeno di ciclicità. Anche dal punto di vista della maturazione dei gameti la popolazione del depuratore assomiglia al controllo in ambiente naturale, mentre la popolazione portuale presenta due periodi di fertilità, uno principale estivo ed uno secondario invernale. E' interessante notare che quest'ultimo periodo è stato riscontrato due volte (inverno 2001- 2002) nell'intervallo delle osservazioni.

Il confronto dei parametri relativi alla taglia e alla fertilità delle colonie con i fattori ambientali generalmente ritenuti coinvolti nel determinare la ciclicità delle specie di *Eudendrium* - temperatura dell'acqua ed irradianza - (Arillo *et al*., 1989; Bavestrello e Arillo, 1992) ha suggerito che tali parametri incidano significativamente sulla popolazione stagionale di controllo. La popolazione del depuratore appare più debolmente correlata con la temperatura dell'acqua mentre nessuna correlazione è presente con la quantità di irradianza. Nella popolazione portuale non è stato possibile mettere in evidenza nessuna correlazione con i parametri ambientali considerati.

Questi dati mettono chiaramente in luce che i parametri fisici sono coinvolti nel determinare i cicli degli idrozoi in ambiente naturale, ma che, probabilmente agiscono sinergicamente con altri parametri biologici quali, ad esempio, la disponibilità trofica, la predazione e la competizione per il substrato. È stato recentemente osservato (Puce *et al.,* 2002) che *E. racemosum* è in grado di sfruttare direttamente la sostanza organica particellata tramite l'attitudine a rovesciare il proprio ipostomio a tromba al di sopra dei tentacoli: in questo modo l'endoderma dell'ipostomio è in grado di raccogliere le particelle sospese.

Idroidi come *Plumularia setacea* mostrano storie vitali differenti in funzione dell'ambiente in cui vivono: quando le colonie sono epibionti di altri idroidi presentano crescita e riproduzione costanti durante tutto l'anno, mentre quando crescono su substrato duro evidenziano un ristretto periodo riproduttivo e una spiccata stagionalità. Le differenze possono, dunque, essere determinate sia dalla stretta relazione con altri organismi sia dalla variabile disponibilità di risorse trofiche (Hughes, 1986). D'altra parte, la presenza di molte specie di idrozoi diminuisce in primavera quando, nonostante l'aumento di disponibilità trofica, si verifica anche un aumento della competizione da parte delle alghe. Queste specie sono più abbondanti nel periodo autunnale e invernale, sfruttando il rimescolamento e la risospensione tipici di questa stagione e approfittando della riduzione dei popolamenti algali.

Summary

The life history of three populations of the hydroid *Eudendrium racemosum* was studied in the Tigullio Gulf (Ligurian Sea). A population lives in a natural habitat, on the rocky cliff the Portofino Promontory while the two others in polluted habitats: the S. Margherita harbour and the underwater outflow of a treatment of waste water.

The natural population shows a summer cycle, from May to December with maturation of gonozooids from June to October. The population of the outflow of the water treatment is present all the year round without periods of degeneration. Nevertheless the period of gonozooids maturation is similar to that of the Portofino population. The population of the harbour is present all the year round and shows two different reproductive period in winter and in summer.

The comparison of these trends with those of water temperature and solar irradiance shows a good correlation in the natural population, a slight correlation in the population of the outflow of water treatment and no correlation in that of the harbour.

These data put in evidence that the physical parameters, like temperature and solar irradiance, are important in the regulation of the life cycle of *E. racemosum,* but that they act sinergically with biological factors, like competition, trophic availability and predation.

Bibliografia

ARILLO A., BAVESTRELLO G., BOERO F. (1989) - Circannual cycle and oxygen consumption in *Eudendrium glomeratum* (Cnidaria, Anthomedusae): studies on shallow water population. *P.S.Z.N. Mar. Ecol.,* **10**: 289-301.

BAVESTRELLO G., ARILLO A. (1992) - Irradiance, temperature and circannual cycle of *Eudendrium glomeratum* Picard (Hydrozoa, Cnidaria). *Boll. Zool.*, **59**: 45-48.

BOERO F., CHESSA L., CHIMENZ C., FRESI E. (1985) - The Zonation of Epiphytic Hydroids on the Leaves of Some *Posidonia oceanica* (L.) Delile Beds in the Central Mediterranean. *Mar. Ecol.*, **6** (1): 27-33.

BOERO F., BALDUZZI A. BAVESTRELLO G., CAFFA B., CATTANEO-VIETTI R. (1986) - Population dynamics of *Eudendrium glomeratum*(Cnidaria: Anthomedusae) on the Portofino Promontory (Ligurian Sea). *Mar. Biol.,* **92**: 81-85.

BOERO F., FRESI E. (1986) - Zonation and evolution of a rocky bottom hydroid community. *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli I: Mar. Ecol.,* **5**: 93-118.

BROCK H. (1979) - Differential sensitivity to temperature steps in the circannual rhythm of hydranth longevity in the marine cnidarian *Campanularia flexuosa. Comp. Biochem. Physiol.,* **64A**: 381-390.

COMA R., RIBES M., GILI J.-M., ZABALA M. (2000) – Seasonality in costal benthic ecosystem. *Trends Ecol. Evol.,* **15** (11): 448-453.

FULTON C. (1962) - Environmental factors influencing the growth of *Cordylophora. J. exp. Zool.,* **151**: 61-78.

FULTON C. (1963) - Proline control of the feeding reaction of *Cordylophora. J. gen. Physiol.,* **46**: 823-837.

HUGHES R.G. (1986) – Differences in the growth, form and life history of *Plumularia setacea* (Ellis and Solander) (Hydrozoa: Plumulariidae) in two contrasting habitats. *Proc. R. Soc. Lond. B,* **288**: 113-125.

KINNE O., PAFFENHOFER G. (1966) - Growth and reproduction as a function of temperature and salinity in *Clava multicornis* (Cnidaria, Hydrozoa). *Helgoländer wiss. Meeresunters,* **13**: 62-72.

PUCE S., CERRANO C., AZZINI F., BAVESTRELLO G. (2002) – Morphofunctional adaptation to suspension-feeding in *Eudendrium* (Cnidaria, Hydrozoa). *It. J. Zool*., **69**: 301-304.

ROSSI L. (1964) - Fattori ecologici ed accrescimento in colonie di *Eudendrium racemosum* (Gmelin). *Boll. Zool.,* **31**: 891-905.

WEDLER E.(1975) - Ökologische Untersuchungen an Hydroiden des Felslitorals von Santa Marta (Kolumbien). *Helgoländer wiss. Meeresunters,* **27**: 324-363.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 152-158

A. Franco, R. Fiorin, S. Malavasi, P. Franzoi, P. Torricelli

Dipartimento di Scienze Ambientali, Campo della Celestia, Castello 2737/b - 30122 Venezia, Italia.

SPATIAL AND TEMPORAL VARIATION IN REPRODUCTIVE AND SOMATIC INVESTMENT OF *ZOSTERISESSOR OPHIOCEPHALUS* (PISCES, GOBIIDAE) IN THE VENICE LAGOON

VARIAZIONE SPAZIO-TEMPORALE DELL'INVESTIMENTO RIPRODUTTIVO E SOMATICO IN ZOSTERISESSOR OPHIOCEPHALUS *(PISCES, GOBIIDAE) IN LAGUNA DI VENEZIA*

Abstract

*Spatial and temporal variation in somatic and reproductive investment (liver-somatic index, condition factor, and gonado-somatic index - GSI -, respectively) were studied in females, parental males and small males of the grass goby (*Zosterisessor ophiocephalus*, Pisces, Gobiidae) within the Venice lagoon. Different patterns in the trade-off between somatic and reproductive investment are evident for each type of reproducer. In the Central basin the species showed higher somatic and reproductive investment than in the Southern basin as well higher female relative fecundity and earlier reproductive season, in response to different environmental conditions. The presence during the reproductive period of small/young males with higher GSI than larger males could be explained by the presence of alternative reproductive tactics in males of this species. Moreover the precocious maturation and the trade-off between early and late reproduction in females suggested that the environmental features of the Venice lagoon favour an early reproduction (r-strategy) in the species.*

Key-words: *condition factor, gonadosomatic index, fecundity, Venice lagoon.*

Introduction

The grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Pallas, 1811), is a cavity nester species abundant in the Venice lagoon in soft bottoms associated with seagrass beds. During the breeding season (from March to June; Ninni, 1938), two types of breeding males, adopting different reproductive tactics, have been recognised: larger/older males (which show a typical secondary sexual trait, that is the elongation of the second dorsal fin rays) burrow and defend a nest to attract and monopolise females, whereas younger/smaller males parasitise the reproductive effort of the nesting males (Mazzoldi *et al.*, 2000; Torricelli *et al.*, 2000). The aim of this work is to study spatial and temporal variations of somatic and reproductive investments (measured as indices of hepatic and flesh reserves, and gonadic mass, respectively) in the grass goby and to compare these patterns among females, parental males and small males. Temporal trends have been investigated along an annual cycle, while spatial variation of these parameters has been studied by comparing two areas of the Venice lagoon, characterised by different habitat conditions. Moreover, the relationships between the reproductive effort and the size/age of reproducers were investigated.

Materials and methods

Samples were collected from two areas of the Venice lagoon: the Southern and the Central basin (Fig. 1). These are shallow water areas (with maximum depth of 1.2 m) which differ in their habitat features. The Southern basin (S) is characterised by the

presence of a structured seagrass meadow, while the Central one (C) by more heterogeneous environmental conditions, with seagrass, macroalgal cover and salt marsh areas (Libralato *et al.*, 2002). Collections were made monthly, from October 1999 to November 2000 in S and from February 2000 to February 2001 in C, by means of fyke nets. The fike nets are traditional passive gear used in shallow water by the local fishermen, and consist of a barrier of about 60 m long that guides the fish towards four or more cone shaped unbaited traps. Specimens, preserved at –20°C, were measured for body standard length (SL, ±0.1cm) and total wet weight (TW, ±0.1g). Gonads, liver and eviscerated weights (respectively: GW, LW, ±0.001g; EW, ±0.1g) were measured to calculate the following investment indices: 1) the liver-somatic index (LSI = 100 × LW/TW), as measure of the amount of hepatic reserves; 2) the condition factor ($K = EW/(SL)^3$), index of fatness and then of flesh reserves; 3) the gonado-somatic index (GSI = 100 × GW/TW), as estimate of the reproductive effort. An additional index of reproductive investment was calculated for mature females (with GSI ≥ 5%; Franco *et al.,* 2002) caught in April (the core of the breeding season), by considering their relative fecundity (Fr = nr/TW, where nr = number of ripe eggs in the ovaries) (Svardson, 1949). Monthly subsamples of individuals, from March to November 2000 (excluding May and October) were aged by reading otoliths.

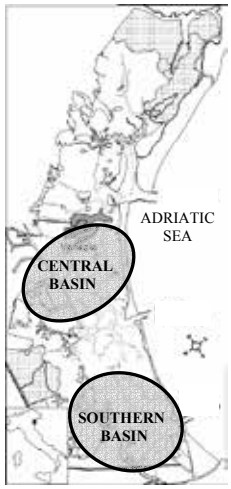


Fig. 1 - Sampled areas in the Venice lagoon.
Aree di campionamento nella laguna di Venezia.

Temporal and spatial variations in LSI, K and GSI were investigated separately for the three groups (females, f, parental males, M, and small males, m). As the second dorsal fins were often damaged, the two type of males were discriminated on the basis of body size (M with SL > 11 cm; m with SL ≤ 11 cm), considered as correlate of the type of male reproductive tactic, according to Torricelli *et al.* (2000). The distribution of the three studied groups (as number of m, M and f) among monthly samples from S and C is reported in Tab. 1. Spatial differences in reproductive investment were also studied by comparing Fr of similar sized mature females between the two areas. Paired comparisons of the monthly values between S and C were made by using Mann-Whit-

ney U test, while the relationships between GSI and SL in males and females were investigated during the breeding season (in particular in March and April) by means of Spearmann correlation test.

Tab. 1 - Distribution of females (f), small males (m) and parental males (M) (as number of individuals) among the monthly samples taken from the two basins (S, C).
Distribuzione di femmine (f), maschi piccoli (m) e maschi parentali (M) (numero di individui) tra i campioni mensili raccolti nei due bacini (S, C).

S:	Oct.'99	Nov.	Dec.	Jan.'00	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Sep.	Nov.
f	75	60	47	45	42	14	44	73	28	52	19
m	31	27	11	12	11	0	4	31	7	7	14
M	44	36	10	4	5	7	11	16	39	59	22
C:	Feb.'00	Mar.	Apr.	Jun.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.'01	Feb.	
f	5	28	142	139	78	21	55	106	9	144	
m	0	10	9	58	11	2	9	25	5	20	
M	7	60	60	67	50	42	63	72	26	24	

Results

Somatic indices (LSI and K) showed similar temporal trends in the three groups, even though females and small males had more pronounced fluctuations along the annual cycle than parental males. Both LSI and K decreased from November until April, with LSI showing a stronger decreasing pattern, while during summer both indices increased, reaching their maximal values at the beginning of autumn (September-October) (Fig. 2).

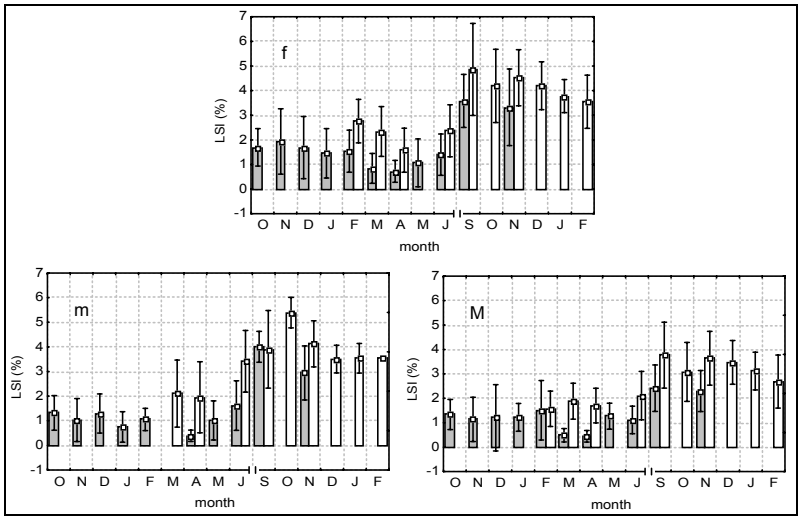


Fig. 2 - Temporal variation (October 1999-February 2001) of LSI (mean ± SD) in females (f), parental males (M) and small males (m) from the Central (empty bar) and the Southern (solid bar) basin.
Andamento temporale (ottobre 1999-febbraio 2001) del LSI (media±SD) in femmine (f), maschi parentali (M) e maschi piccoli (m) dei bacini centrale (bianco) e meridionale (grigio).

Temporal pattern of gonad investment differed both between sexes and between male types. Females showed a strong and sudden increase of GSI during March/April (the spawning season), while out of this period GSI mantained low levels. By contrast, both parental and small males, after the post-spawning decrease of June, increased testes mass rapidly during autumn and maintained these levels throughout the winter to increase again during March and April (Fig. 3).

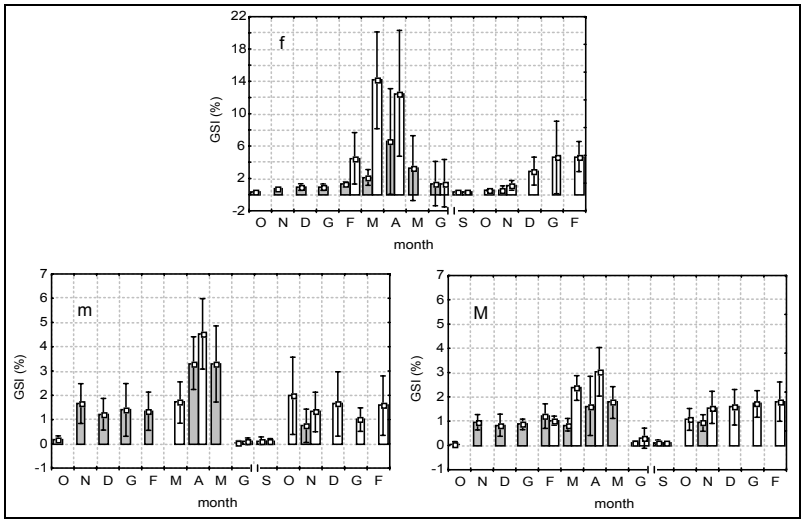


Fig. 3 - Temporal variation (October 1999-February 2001) of GSI (mean±SD) in females (f), parental males (M) and small males (m) from the Central (empty bar) and the Southern (solid bar) basin.
Andamento temporale (ottobre 1999-febbraio 2001) del GSI (media±SD) in femmine (f), maschi parentali (M) e maschi piccoli (m) dei bacini centrale (bianco) e meridionale (grigio).

The somatic and reproductive indices (K, LSI and GSI) from C were in most cases significantly higher than those from S, especially in females and parental males (Mann-Whitney U test: $p<0.05$ in 5 out 6 cases). The highest reproductive investments of females from C was confirmed also by the estimated values of relative fecundity, which were significantly higher in C than in S ($n=27$, $Z=-2.60$, $p<0.01$) (Fig. 4). Moreover, in females and parental males from C the GSI peaked one month before (in March for females and April for males) with respect to S (where maximum GSI peak is in April for females and May for males).

Male GSI was positively correlated to SL in March (Spearmann correlation test: $n=73$, $r=0.48$, $p<0.001$), with larger and older (age=1+-3+) males having higher GSI. In April smaller and younger (age=0+-1+) males with relatively higher GSI appeared, making the correlation between GSI and size negative ($n=83$, $r=-0.42$, $p<0.001$) (Fig. 5). As regards mature females by April, GSI was significantly and negatively correlated to SL ($n=112$, $r=-0.32$, $p<0.001$) (Fig. 5). A negative relationship was detected also between relative fecundity and age ($n=20$, $r=-0.65$, $p<0.01$), with mature females belonging to the 0+/1+ age class showing higher reproductive investments.

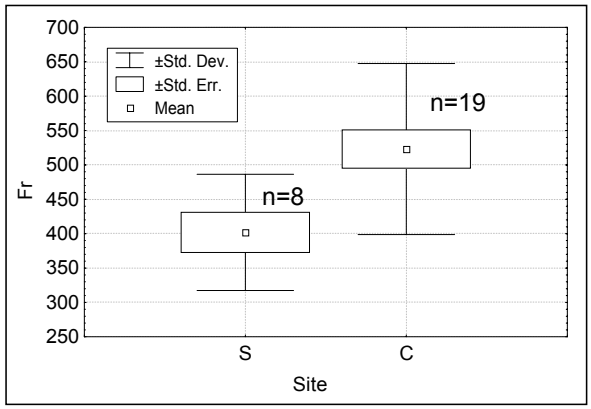


Fig. 4 - Comparison of relative fecundity of similar sized mature females (Fr) among sites.
Confronto di fecondità relativa di femmine mature di taglia simile (Fr) tra stazioni.

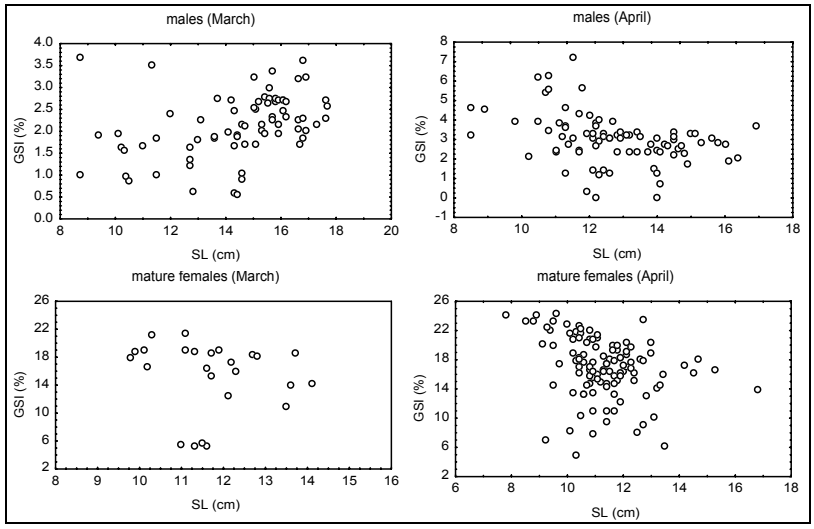


Fig. 5 - Relationships between reproductive investments (GSI) and body size (SL) of males and mature females in March and April.
Relazioni tra investimento riproduttivo (GSI) e taglia (SL) di maschi e femmine mature in marzo e aprile.

Conclusions

The results of the present work suggest that in the grass goby there is a season dependent trade-off between growth and reproduction. During spring, when reproduction occurs, both hepatic and flesh reserves decrease, whereas from late summer to the beginning of the winter they show an increase probably due to an increasing feeding

activity. In males the relatively lower energy invested in gonads (about 6% of their body mass) allows the breeding individuals a gradual gonadic investment which occurs through the autumn and the winter. By contrast females, which invest larger amounts of energy in gonads (about 24% of their body mass), seem to strongly increase their ovaries mass within a relatively shorter time just before the onset of the spawning season. Spatial comparisons showed that in the Central basin both reproductive and somatic investment, as well female relative fecundity, are significantly higher than in the Southern one. This leads to the interesting hypothesis that this species adopts a different life history strategy depending on the level of heterogeneity and/or stability of the habitats dominating the different areas of the lagoon, even though the influence of other abiotic factors cannot be disregarded.

Results on relationships between age/size and male reproductive investment agree with the presence in this species of alternative reproductive tactics (parasitic spawning) adopted by the small males belonging to the first age class (Mazzoldi *et al.*, 2000). As regards females, our results suggest a highly precocious reproduction being the age of maturity 0+/1+. This finding strongly differs from that found out in other geographic areas (such as the Black Sea and the Sea of Azov) where maturity is reached at 2 years (Miller, 1986). Further, our results indicate a trade-off between early and late reproduction (Stearns, 1992) in females, since younger/smaller females show both higher GSI and higher relative fecundity than older/larger females. Both these results strongly suggest that the peculiar environmental features of the Venice lagoon tend to favour an early reproduction (r-strategy).

Riassunto

Le variazioni spazio-temporali degli investimenti somatico e riproduttivo sono state studiate in femmine, maschi parentali e maschi piccoli di *Zosterisessor ophiocephalus* (Pisces, Gobiidae) nella laguna di Venezia. Nei tre tipi di riproduttori sono evidenti fluttuazioni di diversa entità nel "trade-off" tra investimento somatico e riproduttivo nel corso dell'anno. Nel bacino centrale della laguna la specie ha mostrato maggiori investimenti riproduttivi e somatici, e, nelle femmine, valori più alti di fecondità relativa e precocità riproduttiva, rispetto a quello meridionale, probabilmente in risposta alle diverse condizioni ambientali. La presenza di maschi piccoli con GSI superiori rispetto ai grandi è da interpretare alla luce delle tattiche alternative osservate in questa specie. Inoltre la precocità nel raggiungimento della maturità sessuale femminile nella laguna veneta e i maggiori investimenti riproduttivi nelle femmine di piccola taglia rispetto a quelle più grandi suggeriscono che le caratteristiche ecologiche della laguna favoriscono l'instaurarsi di strategie vitali di tipo "r" nella specie esaminata.

References

FRANCO A., MALAVASI S., PRAVONI F., FRANZOI P., TORRICELLI P. (2002) - Preliminary data on gonadal development and fecundity in the Grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Pallas, 1811) from the Venice lagoon (northern Italy). *Acta Adriatica*, **43**: 43-48.

LIBRALATO S., PASTRES R., PRANOVI F., RAICEVICH S., GRANZOTTO A., GIOVANARDI O., TORRICELLI P. (2002) - Comparison between the energy flow networks of two habitats in the Venice Lagoon. *Mar. Ecol. PSZN*, **23**: 1-9.

MAZZOLDI C., SCAGGIANTE M., AMBROSIN E., RASOTTO M. (2000) - Mating system and alternative mating tactics in the grass goby (*Zosterisessor ophiocephalus*). *Mar. Biol.*, **137**: 1041-1048.

MILLER P.J. (1986) - Gobiidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.-L, Hureau J.-C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO: 1085 pp.

NINNI E. (1938) - I *Gobius* dei mari e delle acque interne d'Italia. (Marine and freshwater Italian

species of the genus *Gobius*). *Mem. R. Com. Talass. Ital.*, **217**: 1-169.
STEARNS S.C. (1992) - Trade-offs. In: Stearns S.C. (ed), *The evolution of life histories*, Oxford University Press: 72-90.
SVARDSON G. (1949) - Natural selection and egg number in fish. *Fish. Bd. Sweden, Inst. Freshwater Res. Drottningholm, Rept.,* **29**: 115-122.
TORRICELLI P., MALAVASI S., NOVARINI N., PRANOVI F., MAINARDI D. (2000) - Elongation of fin rays in parental males of *Zosterisessor ophiocephalus* (Pisces, Gobiidae). *Env. Biol. Fish.*, **58**: 105-108.

The present work was financed by Co.Ri.La. project “Lo studio della biodiversità per un equilibrio fra conservazione e sfruttamento in laguna di Venezia”.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 159-167

C. Nonnis Marzano, G. Corriero, L. Scalera Liaci

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.

DISTRIBUZIONE E CICLO VITALE DI *HALICHONDRIA PANICEA* (PORIFERA, DEMOSPONGIAE) NEL LAGO DI LESINA

DISTRIBUTION AND LIFE CYCLE OF HALICHONDRIA PANICEA *(PORIFERA, DEMOSPONGIAE) IN THE LAKE OF LESINA*

Abstract

Distribution and life cycle of Halichondria panicea *(Porifera, Demospongiae) from the Lake of Lesina (Apulia, Southern Italy) are described over a period of two years. The sponge is widely distributed in the central part of the basin with high values of substrate covering. Its presence however is rather uneven, going through short phases of disappearance.* H. panicea *reproduces sexually and it is a viviparous species. Oocytes, embryos and larvae have been observed for a long period in the sponge body with marked differences from year to year. The lowest values of spicule size (length and width) have been found in newly formed specimens; then spicules grow gradually until the disappearance of the population.*

Key-words: *sponges, sexual reproduction, brackishwater environment.*

Introduzione

Gli ambienti lagunari ospitano, come è noto, una fauna bentonica paucispecifica, caratterizzata da elevati valori di biomassa e tipicamente costituita da specie a breve ciclo vitale, capaci di ricolonizzare l'ambiente in seguito ai frequenti eventi di estinzione causati da crisi distrofiche, anomalie termiche, aline ecc. Tale scenario è ampiamente condiviso anche in ambito mediterraneo, dove è supportato da osservazioni in prevalenza riferite alle principali componenti dello zoobenthos di fondo mobile (molluschi bivalvi e gasteropodi, anellidi policheti). Tuttavia, molto più generiche e contraddittorie sono le informazioni relative a quei phyla meno conosciuti per gli ambienti lagunari, come quello dei poriferi. Per questi organismi infatti la letteratura relativa al Mediterraneo si riferisce prevalentemente a bacini caratterizzati da un'ampia comunicazione con il mare aperto (Stagnone di Marsala, Sicilia nord-occidentale; Insenatura della Strea di Porto Cesareo, costa occidentale della Puglia, Laguna di Venezia), dove la spongofauna costituisce popolamenti ad elevata ricchezza specifica ed abbondanza relativa (Sarà, 1960; Corriero, 1989; Mercurio, 2000; Corriero *et al.,* dati non pubblicati), persistenti nel tempo (Corriero, 1984; 1989; Corriero *et al.,* 1984; 1996b) e caratterizzati da specie a lungo ciclo vitale (Mercurio *et al*., 2001; Corriero *et al*., dati non pubblicati). Meno noto è invece il quadro relativo ai biotopi a ridotto ricambio idrico e marcate oscillazioni ambientali: per questi ambienti la letteratura fornisce esclusivamente dati faunistici che evidenziano i bassi valori di ricchezza specifica della spongofauna (Cognetti *et al.,* 1981; Scalera *et al*., 2001; Nonnis Marzano *et al.*, in stampa).

Quest'indagine, svolta nell'ambito del progetto COFIN 1999 "Produzione, cambiamento e vulnerabilità di sistemi acquatici di transizione", affronta lo studio di *Halichondria panicea* (Pallas), una delle spugne più diffuse nei sistemi mesoalini della regione atlanto-mediterranea (Vethaak *et al*., 1982; Corriero *et al.,* dati non pubblicati).

La ricerca ha avuto lo scopo di studiare la distribuzione e l'abbondanza di una popolazione mediterranea di questa demospongia e di descriverne le principali caratteristiche del ciclo vitale.

Materiali e metodi

Descrizione della specie e dell'area di studio

Halichondria panicea (Pallas, 1766) (ordine: Halichondrida; famiglia: Halichondriidae) (Fig. 1A). Demospongia caratterizzata da forma variabile (incrostante; massiva con camini osculari; ramificata, con corti processi anastomizzati alla base), consistenza friabile e colore che varia dal giallo al grigio-verde o arancio-rosa. Scheletro costituito da sole macrosclere (oxee) di lunghezza compresa fra 170 e 480 μm circa e larghezza da 2 a 14 μm, con disposizione disordinata (halichondroide), tipica del genere (Fig. 1B). Distribuzione: Mediterraneo, coste occidentali e orientali del Nord-Atlantico, Mar Baltico e Mare del Nord.

L'indagine è stata condotta presso il Lago di Lesina (FG), un lago costiero salmastro dell'estensione di circa 50 km^2, che comunica con il mare aperto mediante un canale artificiale stretto e lungo localizzato nel settore occidentale del bacino (Fig. 2). Il lago ospita una comunità macrozoobentonica caratterizzata da 55 specie, con una notevole abbondanza di forme filtratrici, tipiche di substrati duri (Nonnis Marzano *et al.*, in stampa; Nonnis Marzano *et al*., dati non pubblicati). *H. panicea* è presente con esemplari massivi, di forma variabile e di colore arancio o verde chiaro, che si insediano sui principali tipi di substrato presenti, come substrati duri organogeni, vegetali, incoerenti (Nonnis Marzano *et al.*, dati non pubblicati).

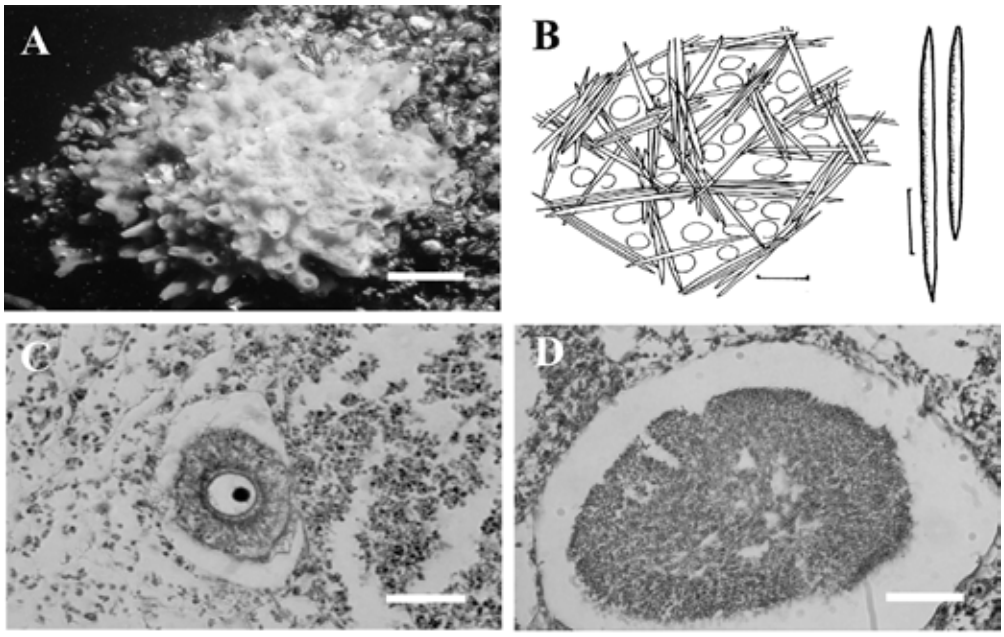


Fig. 1 – *H. panicea*: A=esemplare fotografato in ambiente naturale (barra=2 cm); B=rappresentazione della struttura scheletrica e dettaglio delle oxee (barre=100 μm) (da van Soest *et al.,* 1990); C=ovocita (barra=25 μm); D=larva (barra=65 μm).

H. panicea: *A=underwater image of the sponge (scale bar=2 cm); B=skeleton structure and oxeas (on the right) (scale bars=100 μm) (from van Soest* et al., *1990); C=oocyte (scale bar=25 μm); D=larva (scale bar=65 μm).*

Fasi di campionamento e metodiche di laboratorio

Nel mese di maggio 2000 è stata effettuata un'indagine su larga scala volta a valutare la distribuzione e l'abbondanza di *H. panicea* nell'ambiente indagato. A tale scopo sono stati fissati 8 transetti lungo la direttrice est-ovest del bacino, per ciascuno dei quali sono state individuate 3 stazioni (Fig. 2). In ogni stazione, la presenza della spugna è stata rilevata in immersione mediante *visual census* su tutti i substrati presenti, all'interno di superfici di circa 100 m^2. Allo scopo di valutare l'abbondanza della specie, stime di ricoprimento sono state effettuate su superfici di 1 m^2 (1 misura con replica per ogni stazione) delimitate da un quadrato in PVC suddiviso mediante fili di nylon in 25 settori quadrangolari equivalenti. Tale indagine è stata ripetuta con le stesse modalità anche negli anni successivi (maggio 2001, maggio 2002).

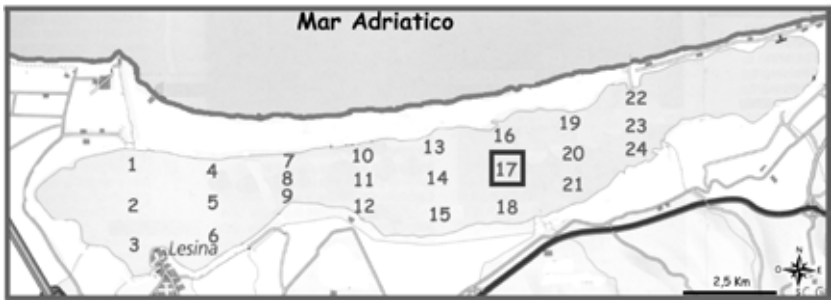


Fig. 2 - Lago di Lesina (FG), indagini su larga scala: ubicazione delle stazioni. Nel riquadro, la stazione in cui è stato studiato il ciclo vitale della spugna.
Lake of Lesina (Apulia, Southern Italy), large-scale surveys: location of the sampling stations. Life cycle of the sponge was studied at station 17, evidenced in the map.

Lo studio del ciclo vitale di *H. panicea* in relazione all'andamento dei principali parametri idrologici è stato condotto tra settembre 2000 e maggio 2002, con frequenza approssimativamente mensile, nella stazione in cui è stata registrata la massima abbondanza della specie (stazione 17) (Fig. 2), su substrati duri organogeni. La presenza della spugna è stata verificata in immersione; contestualmente è stata condotta una stima dei valori di densità della popolazione e delle dimensioni medie degli esemplari su una superficie di 1 m^2 (con replica). Questo metodo ha consentito di rilevare la presenza di esemplari di taglia (diametro) superiore o uguale a 5 mm circa. Le misure di temperatura dell'acqua, salinità e ossigeno disciolto sono state effettuate mediante sonda multiparametrica Idronaut Ocean Seven 501.

Per lo studio del ciclo riproduttivo e delle dimensioni spicolari si è proceduto al prelievo di 10 esemplari di spugna, successivamente fissati in una soluzione acquosa di formalina (4%). In laboratorio, frammenti di tessuto prelevati da ciascun esemplare erano lavati, trattati con acido fluoridrico all'1% per 30 minuti allo scopo di eliminare le spicole silicee, disidratati e inclusi in paraffina. Venivano quindi allestite su vetrino sezioni di 5 μm di spessore, colorate con blu di toluidina. Al microscopio ottico si procedeva all'identificazione degli elementi riproduttivi, dei quali si misurava il diametro utilizzando una lente micrometrica. Preparati spicolari erano allestiti mediante dissoluzione di frammenti di tessuto di spugna in acido nitrico (60%) fumante, lavaggio

con acqua, disidratazione in etanolo e montaggio con balsamo del Canada. Lo studio delle dimensioni spicolari veniva condotto misurando, mediante oculare micrometrico, lunghezza e larghezza di 50 spicole per ogni esemplare.

Risultati

Distribuzione

Nel maggio 2000 *H. panicea* è stata rinvenuta in 12 delle 24 stazioni di indagine (frequenza = 50%), con valori massimi di ricoprimento del substrato prossimi al 50% su substrati duri, inferiori all'1% su substrati vegetali ed incoerenti (Tab. 1).

Tab. 1 – Distribuzione di *H. panicea* nel Lago di Lesina.
Distribution of H. panicea *in the Lake of Lesina.*

	Stazioni																							
Data	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**
mag-00	*	0	0	0	0	0	0	I	*	0	I	0	I	II	I	*	II	*	*	I	0	0	0	0
mag-01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mag-02	*	0	0	0	0	0	0	I	I	0	II	*	II	II	III	*	IV	II	I	II	0	0	0	0

Stazioni con presenza di substrati duri

Ricoprimento del substrato: *= ≤ 1%; I= >1 ≤ 25%; II= >25 ≤ 50%; III= >50 ≤ 75%; IV= >75%

Nel maggio 2001 la specie non è stata rinvenuta in nessuna delle 24 stazioni di rilevamento.

Nel maggio 2002 *H. panicea* è stata rinvenuta in 13 delle 24 stazioni (54,2%), con valori massimi di ricoprimento superiori al 75% su substrati duri, inferiori all'1% su substrati vegetali ed incoerenti (Tab. 1).

Tab. 2 – Valori dei parametri idrologici rilevati nella stazione 17 durante il periodo d'indagine.
Values of hydrologic parametres measured at station 17 during the study period.

	Parametri ambientali		
Data	**T (°C)**	**S (‰)**	**O_2 (ppm)**
set-00	**21,4**	**30,4**	**8,4**
ott-00	**20,6**	**31,9**	**10**
nov-00	**13,4**	**23**	**8,5**
dic-00	**10,8**	**23,8**	**9,9**
feb-01	**10,3**	**17,6**	**12,1**
mar-01	**13,5**	**14,4**	**12**
apr-01	**14,9**	**14,7**	**9,8**
mag-01	**19,6**	**16**	**9,7**
giu-01	**24,4**	**16,6**	**10,1**
lug-01	**27,5**	**18,8**	**10**
ago-01	**29,7**	**21,6**	**7,5**
set-01	**20,7**	**25,8**	**8,9**
ott-01	**21,2**	**26,7**	**8,2**
nov-01	**13,3**	**25**	**8,8**
gen-02	**10,6**	**20,5**	**11,5**
mag-02	**20,7**	**21,2**	**8,8**

Parametri idrologici

I valori di temperatura dell'acqua, salinità e ossigeno disciolto rilevati nella stazione 17 durante il periodo d'indagine sono riportati in Tab. 2. La temperatura mostra un valore minimo (10,3°C) a febbraio 2001 e un massimo (29,7°C) ad agosto dello stesso anno. La salinità varia entro un range compreso fra il 14,4‰ (marzo 2001) e il 31,9‰ (ottobre 2000). Il valore minimo di ossigeno disciolto (8,2 ppm) è stato misurato ad ottobre 2001, il massimo (12,1 ppm) a febbraio 2001.

Ciclo vitale

La Fig. 3A riporta l'andamento dei valori di densità e delle dimensioni medie di *H. panicea* rilevati nella stazione 17.

La spugna non è stata rinvenuta nei mesi di maggio e settembre 2001. Durante il periodo d'osservazione, la densità ha mostrato un valore medio di 27,8 ± 10,1 esemplari/m^2, con un minimo di 16,6 ± 10 (agosto 2001) ed un massimo di 42,5 ± 27,3 (ottobre 2001). L'incremento mensile medio del diametro degli esemplari è risultato pari a 2,3 ± 2,4 cm, con un massimo di 8 cm osservato ad agosto 2001 (Fig. 3A).

Complessivamente, i valori di densità più elevati e le dimensioni minime degli esemplari si osservano nei mesi immediatamente successivi agli eventi di scomparsa della popolazione. In seguito tale andamento è soggetto ad una progressiva inversione di tendenza.

H. panicea è una specie vivipara.

Durante il periodo di studio, nel mesoilo della spugna sono stati rinvenuti ovociti, embrioni e larve (Fig. 1C, D) spesso coesistenti nel medesimo esemplare. Non sono stati osservati esemplari con cisti spermatiche. Gli ovociti presentano diametro variabile tra 15 e 45 μm. Embrioni e larve misurano da 150 a 300 μm in diametro massimo. Le larve, di tipo parenchimella, sono fittamente ricoperte da ciglia e nei periodi di massima produzione si dispongono a grappolo nel mesoilo. Non sono stati rinvenuti elementi riproduttivi asessuali sulla superficie degli esemplari osservati (gemme) o forme di resistenza al loro interno (gemmule). Nel complesso, esemplari con elementi riproduttivi sono stati rinvenuti in 9 osservazioni mensili su 16 (Fig. 3B). In particolare, durante il primo anno di indagine la produzione di elementi sessuali è risultata pressoché continua, con una pausa nel periodo primaverile. Nel corso del secondo anno il pattern riproduttivo ha evidenziato un andamento differente: nell'autunno 2001 la spugna non ha elaborato elementi sessuali, nel maggio 2002 invece la riproduzione è risultata molto intensa (Fig. 3B).

La massima frequenza di esemplari con ovociti (100%) è stata riscontrata nei mesi di ottobre e dicembre 2000, febbraio, giugno e luglio 2001. La massima frequenza di esemplari con embrioni e/o larve (100%) è stata invece riscontrata ad ottobre 2000 (Fig. 3B).

Le dimensioni spicolari della spugna hanno evidenziato una notevole variabilità temporale (Fig. 3C). I valori più bassi di lunghezza e larghezza delle oxee sono stati registrati nell'estate e all'inizio dell'autunno 2001, nei mesi successivi agli eventi di scomparsa della popolazione (giugno, luglio e ottobre). Le dimensioni maggiori sono state osservate a marzo 2001 (lunghezza = 320,8 ± 31,7 μm; larghezza = 6,8 ± 1,7 μm) (Fig. 3C).

Non è stata riscontrata alcuna correlazione tra il ciclo vitale della spugna e l'andamento dei parametri idrologici misurati.

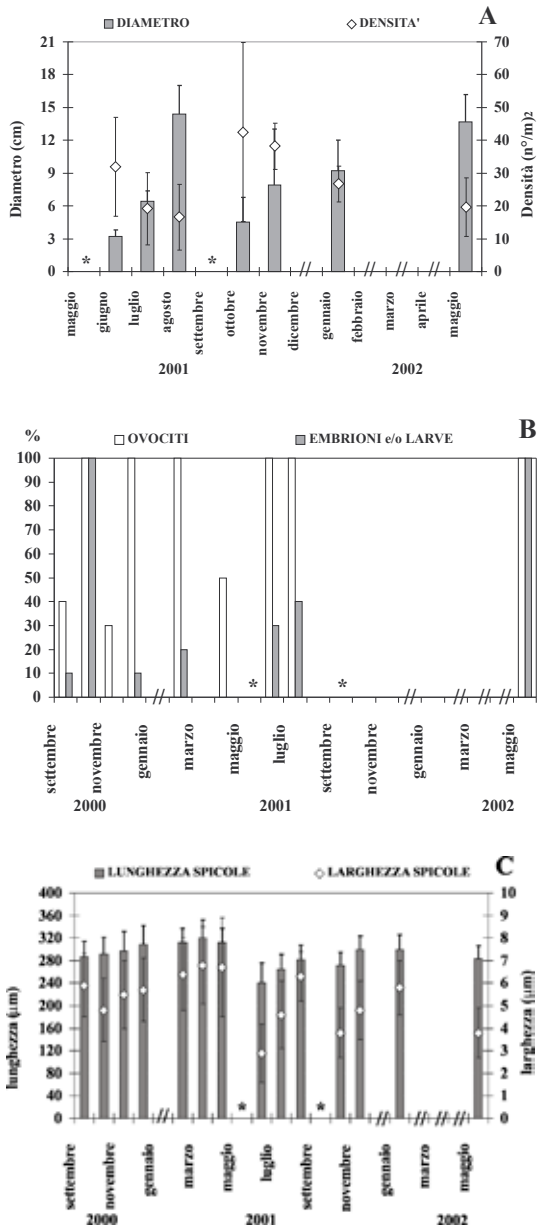


Fig. 3 – *H. panicea*: A=variazione mensile del diametro massimo e della densità degli esemplari nel periodo di indagine; B=variazione mensile della frequenza di esemplari con elementi riproduttivi (ovociti ed embrioni e/o larve); C=variazione mensile della lunghezza e della larghezza delle spicole. *=mesi in cui non sono stati rinvenuti esemplari; //=dato non rilevato.

H. panicea: *monthly variation of maximum diameter and density (A), frequency of specimens with reproductive elements (B), spicules length and width (C). *=absence of sponges; // = data lacking.*

Conclusioni

Sebbene il ciclo vitale di *H. panicea* sia stato oggetto in passato di numerosi studi (Vethaak *et al.*, 1982; Barthel, 1991; Witte *et al.,* 1994; Schönberg e Barthel, 1997), mai prima d'ora erano state svolte indagini su popolazioni mediterranee di questa specie.

Lo studio del processo riproduttivo della popolazione di *H. panicea* del Lago di Lesina ha evidenziato una prolungata fase di elaborazione di ovociti, embrioni e larve, il mancato rinvenimento di gameti maschili, probabilmente in relazione alla brevissima fase di spermatogenesi (non individuabile con strategie di campionamento mensili) e un'elevata variabilità interannuale. Nel corso dei primi dodici mesi d'indagine, l'elaborazione di ovociti, embrioni e larve è risultata molto intensa e pressoché continua nel tempo, con una breve pausa primaverile. Durante il secondo anno il fenomeno ha evidenziato una minore intensità, con una prolungata fase di stasi autunnale.

La popolazione, caratterizzata da un'ampia diffusione all'interno del biotopo, ha mostrato ampie fluttuazioni dei valori di abbondanza, con due distinti eventi di mortalità massiva: il primo in tarda primavera (maggio 2001), il secondo nel settembre dello stesso anno. Tali eventi si sono manifestati con la scomparsa dall'area centrale del lago (stazione 17), per un periodo di un mese, di tutti gli esemplari individuabili mediante visual census (diametro $\geq$ 5 mm). Nel maggio 2001 inoltre, la spugna non è stata rinvenuta in nessuna delle 24 stazioni d'indagine distribuite sulla superficie di tutta la laguna. La scomparsa di *H. panicea* dalla laguna non sembra essere correlata a valori estremi o anomali, rispetto alle medie stagionali, dei parametri idrologici misurati (T, S, O_2), né ad oscillazioni particolarmente ampie ed improvvise degli stessi.

Lo scenario descritto nel corso di questo studio mostra numerose analogie rispetto a quanto riportato dalla letteratura per popolazioni cospecifiche dei sistemi mesoalini del Nord Europa (Vethaak *et al.*, 1982; Barthel, 1991; Witte *et al.,* 1994; Schönberg e Barthel, 1997), dove *H. panicea* è una specie caratteristica che può raggiungere elevati valori di biomassa. In questi ambienti la spugna evidenzia caratteri di specie opportunista, in grado di colonizzare differenti tipologie di substrato, ad alto potenziale riproduttivo, rapida crescita ed elevata mortalità annuale. Simili caratteristiche sono descritte anche per popolazioni nordamericane di *H. bowerbanki,* Burton e *Halichondria* sp., strettamente affini ad *H. panicea* (Wells *et al*., 1964; Fell e Jacob, 1979; Fell e Lewandrowski, 1981). Nel Mare del Nord *H. panicea* ha un ciclo vitale di durata pluriennale, anche se sono ben noti importanti eventi di mortalità stagionale, generalmente in corrispondenza del periodo invernale, che comportano significativi decrementi della densità e della biomassa della spugna (Barthel, 1991). In ambienti costieri della Carolina del Nord, *H. bowerbanki* è soggetta durante l'estate ad elevata mortalità che comporta, nel mese di agosto, l'estinzione della popolazione (Wells *et al*., 1964), con successiva ricolonizzazione alla fine di settembre, grazie probabilmente al reclutamento larvale da popolazioni limitrofe di mare aperto (Wells *et al.*, 1964).

Il pattern osservato nel Lago di Lesina presenta spiccate analogie con quello descritto per *H. bowerbanki* nella Carolina del Nord. Anche a Lesina infatti, l'ipotesi più plausibile per spiegare il processo di ricolonizzazione dell'ambiente da parte della spugna sembra essere quella del reclutamento mediante larve. Le larve proverrebbero dall'esterno dell'ambiente, o dalla stessa popolazione, elaborate precedentemente alla sua scomparsa. La prima ipotesi è la meno probabile, in considerazione dell'elevato confinamento del Lago di Lesina, della breve durata (48 ore) della fase larvale di questa specie (Amano, 1986), nonché della regolarità osservata nel processo di colonizzazione. La seconda ipotesi, viceversa, consentirebbe di spiegare l'elevato e pressoché

continuo investimento riproduttivo osservato nella popolazione di Lesina rispetto a quelle conspecifiche nordeuropee (Barthel, 1991; Witte *et al.*, 1994). Restano comunque da comprendere le cause che determinano l'improvvisa scomparsa della spugna e per quale motivo queste non agiscano anche sulla fase larvale. Non è tuttavia da escludere una terza ipotesi, che prevede la ricolonizzazione clonale da parte della spugna. La possibilità di una strategia asessuale con produzione di corpi di resistenza (come film cellulari sul substrato, non visibili mediante *visual census*) è supportata da numerosi "case studies" riferiti sia a specie dulciacquicole che tipicamente lagunari (Fell, 1993).

In accordo con quanto riportato dalla letteratura, anche nel Lago di Lesina *H. panicea* mostra un rapido accrescimento. Va tuttavia rilevato che nelle spugne, a causa dei frequenti eventi di fusione tra esemplari diversi, le stime di accrescimento possono essere soggette a sensibili errori. Il brusco incremento di circa 8 cm in diametro medio osservato tra luglio e agosto 2001 è probabilmente imputabile a questo fenomeno, già segnalato in letteratura per una popolazione di *Halichondria* sp. delle coste nordatlantiche (Fell e Jacob, 1979).

L'attività spicologenetica della popolazione studiata, infine, mostra un andamento fortemente semplificato rispetto a quanto noto per popolazioni di *H. panicea* del Mar Baltico soggette ad andamento ciclico nell'elaborazione di spicole (Schönberg e Barthel, 1997), ma coerente con il ciclo vitale della popolazione. I valori minimi di lunghezza e larghezza delle oxee sono stati osservati all'inizio del processo di ricolonizzazione dell'ambiente. In seguito le spicole si accrescono gradualmente fino a raggiungere dimensioni medie comparabili a quelle caratteristiche della specie (Vethaak *et al.*, 1982; Schönberg e Barthel, 1997).

Summary

In the Lake of Lesina (Apulia, Southern Italy) *Halichondria panicea* (Porifera, Demospongiae) is characterized by a rich population, distributed over a wide surface. However, the presence of the sponge is not continuous since no specimens were found in two months (May and September 2001) over about two years of study. A long period of production of oocytes, embryos and larvae was observed, with marked yearly differences. Even though at present the occurrence of external larval recruitment cannot be excluded, it is postulated that the maintenance of the sponge population is due to larval recruits released by the population itself before its disappearance. Spicule dimensions described a quite regular cycle during the study period, with small oxeas characterizing the youngest specimens of *H. panicea* observed when the sponge recovered after its disappearance.

Ringraziamenti

Si ringraziano i Sig.ri Michele Cappelli e Michele Augello per l'assistenza prestata nel lavoro sul campo.

Bibliografia

AMANO S. (1986) – Larval release in response to a light signal by the intertidal sponge *Halichondria panicea. Biol. Bull.,* **171**: 371-378.

BARTHEL D. (1991) – Population dynamics of the sponge *Halichondria panicea* (Pallas) in Kiel Bight. In: Colombo G. *et al*. (eds), *Marine Eutrophication and Population Dynamics*, proceedings of the 25th EMBS, Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark: 203-209.

COGNETTI G., DE ANGELIS C.M., ORLANDO E., BONVICINI PAGLIAI A.M., COGNETTI VARRIALE A.M., CREMA R., MARI M., MAURI M., TONGIORGI P., ZUNARELLI VANDINI R. (1981) – Situazione ecologica delle lagune di Orbetello: sintesi dei risultati di due anni di ricerche. *Quad. Lab. Pesca*, **3**: 233-247.

CORRIERO G. (1984) - Note sul popolamento di Poriferi dello Stagnone di Marsala (Sicilia). *Nova Thal.*, **6**: 213-223.

CORRIERO G. (1989) - The sponge fauna from the Stagnone di Marsala (Sicily): taxonomic and ecological observations. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **53**: 101-113.

CORRIERO G., PANSINI M., SARÀ M. (1984) - Sui Poriferi dell'insenatura della Strea a Porto Cesareo (Lecce). *Thal. Salentina*, **14**: 3-10.

CORRIERO G., SCALERA LIACI L., MERCURIO M. (1996b) - Il popolamento a Poriferi della Riserva Marina di Porto Cesareo. *Riass. 57° Congr. Naz. UZI*, *San Benedetto del Tronto (AP)*: 28 pp.

FELL P.E. (1993) – Porifera. In: Adiyodi K.G., Adiyodi R.G. (eds), *Reproductive biology of invertebrates.* John Wiley and Sons Ltd, New York, **1**: 1-25.

FELL P.E., JACOB W.F. (1979) – Reproduction and development of *Halichondria* sp. in the Mystic Estuary, Connecticut. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole*, **156**: 62-75.

FELL P.E., LEWANDROWSKI K.B. (1981) – Population dynamics of the estuarine sponge *Halichondria* sp., within a New England eelgrass community. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **55**: 49-63.

MERCURIO M. (2000) – *Distribuzione, ecologia e sperimentazione di tecniche di restocking della fauna a poriferi presso l'insenatura della Strea di Porto Cesareo (LE)*. Tesi di Dottorato in Scienze Ambientali, Università degli Studi di Bari.

MERCURIO M., SCALERA LIACI L., CORRIERO G. (2001) – La fauna a poriferi del bacino della Strea di Porto Cesareo. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 403-412.

NONNIS MARZANO C., ROMANAZZI V., MERCURIO M., GHERARDI M., PANETTA P., SCALERA LIACI L., CORRIERO G. (2002) – Composizione tassonomica e distribuzione del macrobenthos della laguna di Lesina: valutazione critica della bibliografia e aggiornamento dei dati. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 533-537.

SARÀ M. (1960) – Osservazioni sulla composizione, ecologia e differenziamento della fauna di Poriferi di acqua salmastra. *Estr. Ann. Ist. Mus. Zool. Univ. Napoli*, **12** (1): 1-10.

SCALERA LIACI L., NONNIS MARZANO C., LONGO C., GHERARDI M., GRISTINA M. (2001) - Il macrozoobenthos del sistema lagunare di Karavasta (Albania). *Riass. 62° Congr. Naz. UZI*, *Sanremo (IM)*: 50 pp.

SCHÖNBERG C.H.L., BARTHEL D. (1997) – Inorganic skeleton of the demosponge *Halichondria panicea*. Seasonality in spicule production in the Baltic Sea. *Mar. Biol*., **130** (2): 133-140.

VAN SOEST R.W.M., DIAZ M.C., POMPONI S.A. (1990) – Phylogenetic classification of the Halichondrids (Porifera, Demospongiae). *Beaufortia*, **40** (2): 15-62.

VETHAAK A.D., CRONIE R.J.A., VAN SOEST R.W.M. (1982) - Ecology and distribution of two sympatric, closely related sponge species, *Halichondria panicea* (Pallas, 1766) and *H. bowerbanki* Burton, 1930 (Porifera, Demospongiae), with remarks on their speciation. *Bijdragen tot de Dierkunde*, **52** (2): 82-102.

WELLS H.W., WELLS M.J., GRAY I.E. (1964) – Ecology of sponges in Hatteras Harbor, North Carolina. *Ecol.,* **45**: 752-767.

WITTE U., BARTHEL D., TENDAL O. (1994) – The reproductive cycle of the sponge *Halichondria panicea* Pallas (1766) and its relationship to temperature and salinity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **183**: 41-52.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 168-175

D. Prevedelli, R. Simonini

Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia,
Via Campi, 213/D – 41100 Modena, Italia.

DIFFERENZE NELLA LIFE HISTORY DI TRE POPOLAZIONI DI *OPHRYOTROCHA JAPONICA* (POLYCHAETA, DORVILLEIDAE)

DIFFERENCES IN THE LIFE HISTORY OF THREE POPULATIONS OF OPHRYOTROCHA JAPONICA *(POLYCHAETA, DORVILLEIDAE)*

Abstract

The life history of three populations collected in the harbors of Leghorn, Ravenna and Taranto of the alloctonous species Ophryotrocha japonica *was studied. Many differences, expecially in reproductive and demographic characteristics, exist. These differences may be due to an adaptation to local conditions or indipendent introductions from different localities.*

Key-words*: life history, population dynamic, Polychaeta,* Ophryotrocha japonica.

Introduzione

Ophryotrocha japonica pur se stata segnalata di recente lungo le coste italiane risulta ampiamente distribuita. Infatti è stata trovata a Livorno, Ravenna, Taranto La Spezia, Orbetello e Chioggia (Simonini, 2002). La densità delle popolazioni è elevata in tutte le località. *O. japonica* è una specie alloctona. Infatti fino al 2001 questa specie era stata segnalata soltanto in alcuni ambienti portuali delle coste asiatiche e americane dell'Oceano Pacifico (Åkesson, comunicazione personale). *O japonica* è stata identificata sulla base delle caratteristiche morfologiche e per incrocio con ceppi standard precedentemente classificati dal prof. Bertil Åkesson dell'Università di Göteborg. Non sono stati pubblicati né la descrizione né studi riguardanti il ciclo biologico di *O. japonica* che, ad oggi, è stata esclusivamente citata come nome nudo da Pleijel e Eide (1996).

In questo lavoro sono state analizzate le caratteristiche della life history e della demografia di tre popolazioni di *O. japonica* provenienti dai porti di Taranto, Ravenna e Livorno. Le popolazioni utilizzate in questo lavoro sono interfertili tra loro ed anche con quelle del Pacifico.

Materiali e metodi

L'esperimento è stato condotto su 30 coppie per ogni popolazione alle condizioni di 24°C, fotoperiodo 12 ore di luce: 12 ore di buio e dieta spinaci. In *O. japonica* dopo circa venti giorni dalla schiusa gli individui raggiungono la lunghezza di circa 13 segmenti setigeri e quindi è possibile distinguere i maschi dalle femmine e procedere alla formazione di coppie.

Le coppie sono state controllate due volte alla settimana: ad ogni controllo l'acqua veniva parzialmente cambiata e una volta alla settimana si somministrava il cibo. Ad ogni controllo venivano verificate la presenza e le dimensioni dei due animali e di eventuali manicotti di uova. Quando questi erano presenti si procedeva al conteggio delle uova. Per ognuna delle popolazioni considerate sono state misurate al microsco-

pio ottico almeno 30 uova. Una volte conteggiate, le uova venivano eliminate. Quando il maschio moriva prima della femmina veniva sostituito con un nuovo maschio in modo da non alterare i dati relativi alla fecondità e alla percentuale di schiusa.

L'accrescimento è stato valutato ad ogni deposizione mediante il conteggio dei segmenti setigeri. L'esperimento è proseguito fino alla morte naturale di tutte le femmine.

Analisi dei dati

Le differenze tra popolazioni riguardanti età alla schiusa, età alla maturità, durata della vita, fecondità totale, dimensioni alla maturità, dimensioni massime, dimensioni delle uova, numero di uova per deposizione e numero di deposizioni sono state analizzate mediante analisi della varianza (ANOVA). I parametri demografici sono stati calcolati seguendo le metodiche riportate in Caswell (2000) e Prevedelli e Simonini (2001a)

Risultati

Ciclo biologico

In tutte le popolazioni le larve schiudono a 2-3 setigeri, la sex ratio è di 1:1 e le cure parentali sono svolte da entrambi i genitori. Anche l'età alla schiusa è molto simile. Infatti tutti gli animali schiudono dopo circa 7-8 giorni. Tutte le altre caratteristiche presentano differenze più o meno marcate tra le tre popolazioni (Tab. 1).

Tab. 1 - *Ophryotrocha japonica.* Caratteristiche del ciclo biologico delle tre popolazioni studiate (media±d.s.).
Ophryotrocha japonica. *Characteristics of biological cycle of the studied populations (mean±s.d.).*

O. japonica			
	Livorno	Ravenna	Taranto
Età alla schiusa	7.5±1.38	7.8±1.17	8.2±1.72
Età alla maturità	34.9±3.5	50.8±2.8	44.2±5.2
Durata della vita	217.3±61.9	173.7±28.9	196.4±51.3
Dimensioni femmine alla maturità	17.1±1.1	18.6±0.9	17.5±1.0
Dimensioni femmine adulte	27±3.6	22±1.6	23±1.7
Dimensioni maschi adulti	20±1.9	22±1.4	18±1.1
Numero di deposizioni	8.8±3.6	5.7±2.1	8.6±3.1
Intervallo tra 2 deposizioni	18.8±8.4	15.3±7.6	15.2±5.3
Uova per deposizione	205±115.8	135±53.7	85±36.2
Diametro delle uova	147±6.9	158±9.0	159±6.8
Fecondità totale	1796±875	772±432	755±379
Investimento riproduttivo	5.7	3.1	3.0

L'età a cui viene raggiunta la maturità è diversa nelle tre popolazioni. Gli animali della popolazione di Ravenna maturano mediamente in 50.8 giorni, quelli di Taranto in 44.2 giorni e quelli di Livorno dopo soltanto 34.9 giorni ($P<0.001$).

La durata media della vita è diversa nelle tre popolazioni: gli animali di Livorno vivono in media 217 giorni, quelli di Taranto e Ravenna 196 e 174 giorni rispettivamente ($P=0.002$).

In tutte le popolazioni di questa specie la fase adulta dura molto più a lungo di quella embrionale (8 giorni in tutte le popolazioni) e giovanile e rappresenta il 71-84% della durata complessiva della vita.

Le femmine di Livorno e Taranto raggiungono la maturità a 17 e 17.5 segmenti setigeri rispettivamente, mentre quelle di Ravenna maturano a 18.6 segmenti setigeri ($P<0.001$) (Tab. 1). Differenze importanti sono state osservate anche a livello morfologico: infatti le femmine adulte di Ravenna e Taranto hanno in media 23 e 22 setigeri rispettivamente, mentre quelle di Livorno hanno in media 27 segmenti setigeri (Tab. 1) ($P<0.001$). Nei maschi le differenze tra le popolazioni sono meno marcate: i maschi più piccoli sono quelli di Taranto, i più grandi quelli di Ravenna. ($P<0.001$) (Tab. 1).

Nella popolazione di Livorno esiste uno spiccato dimorfismo sessuale: le femmine sono infatti molto più grandi dei maschi ($P<0.001$). Il dimorfismo si mantiene seppure in forma più attenuata anche nella popolazione di Taranto ($P<0.001$) mentre nella popolazione di Ravenna gli animali dei due sessi hanno le stesse dimensioni ($P=0.122$).

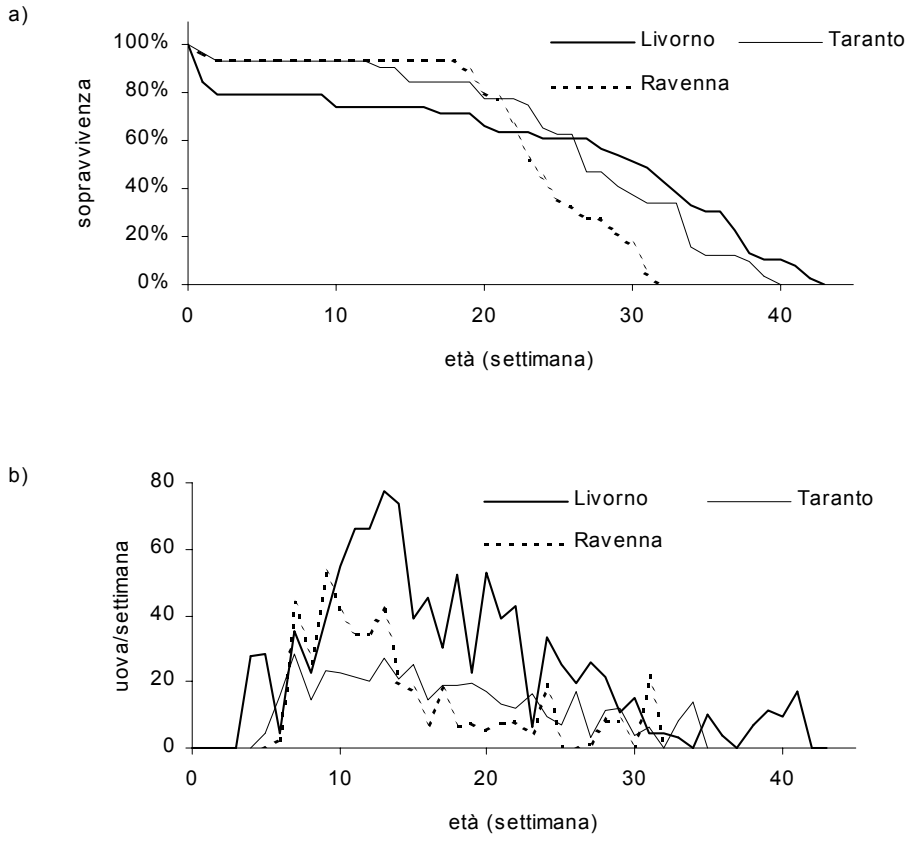


Fig. 1 – *Ophryotrocha japonica*. Sopravvivenza (a) e fecondità (b) età-specifica nelle tre popolazioni studiate.

Ophryotrocha japonica. *Survival (a) and fecundity (b) in the three population considered.*

Riproduzione

Le femmine di Livorno e Taranto depongono in media 8.8 e 8.6 manicotti nel corso della vita, mentre le femmine di Ravenna ne depongono solo 5.7 ($P<0.001$) (Tab. 1). Forti differenze nel numero di eventi riproduttivi sono state osservate anche a livello di ogni singola popolazione.

La frequenza con cui gli animali depongono è diversa nelle tre popolazioni (Tab. 1). Le femmine di Ravenna e Taranto depongono ad intervalli di circa 15 giorni, mentre le femmine di Livorno depongono a distanza di circa 19 giorni. ($P<0.001$).

In tutte le popolazioni il numero di uova per evento riproduttivo è molto variabile (Tab. 1). Le femmine di Taranto depongono in media 85 uova con un minimo di 15 e un massimo di 192. La popolazione di Ravenna depone in media 135 uova con un minimo di 16 e un massimo di 310. La popolazione più feconda è quella di Livorno che depone in media 205 uova con un minimo di 12 e un massimo di 560 ($P<0.001$).

Le uova misurano circa 158 μm nella popolazione di Ravenna e 159 μm in quella di Taranto, le femmine di Livorno depongono uova che misurano 147 μm ($P<0.001$) (Tab. 1).

Una femmina di Livorno depone in media 1796 uova mentre quelle di Taranto e Ravenna depongono in media 755 e 772 uova rispettivamente ($P<0.001$) (Tab. 1).

In tutte le popolazioni l'investimento riproduttivo è molto elevato: la popolazione di Livorno produce uova per un volume di 5,6 mm^3 contro i 3,0 e 3,1 mm^3 prodotti dalle popolazioni di Taranto e Ravenna rispettivamente (Tab. 1).

Demografia

Le curve di sopravvivenza età specifica delle tre popolazioni sono riportate in Fig. 1a. In tutte le condizioni sperimentali le percentuali di schiusa sono elevate. I profili delle curve di sopravvivenza delle popolazioni di Taranto e Ravenna sono molto simili fino alla 24ª settimana poi la sopravvivenza della popolazione di Ravenna diminuisce molto più rapidamente di quella di Taranto. La durata massima della vita è di 39 settimane nella popolazione di Taranto e 31 settimane in quella di Ravenna. Nella popolazione di Livorno, la sopravvivenza rimane superiore al 60% fino alla 27ª settimana, poi declina molto lentamente: gli animali più longevi vivono 42 settimane.

L'andamento della fecondità età-specifica è rappresentato in Fig. 1b. La popolazione di Livorno comincia a deporre alla 4ª settimana, quella di Taranto alla 5° settimana e quella di Ravenna alla 6ª settimana. La popolazione di Livorno è anche in assoluto la più feconda: a partire dalla 4ª settimana, infatti la fecondità aumenta fino a raggiungere il picco massimo di 78uova/femmina/settimana alla 13ª settimana. La fecondità comincia poi a declinare ma alcune femmine depongono fino alla morte. Nella popolazione di Ravenna il picco di massima fecondità di 53 uova /femmina/ settimana è relativo alla 9ª settimana ed il periodo riproduttivo si conclude intorno alla 26ª settimana. La popolazione di Taranto è la meno feconda: il picco di massima fecondità di 28 uova /femmina/ settimana è relativo alla 7ª settimana di vita. Le femmine smettono di riprodursi dopo 34 settimane.

I dati settimanali relativi alla sopravvivenza e alla fecondità intesa come numero effettivo di discendenti dei tre ceppi di *O. japonica* hanno permesso di ottenere le life tables e di calcolare i parametri demografici relativi alle tre popolazioni. Sono stati calcolati l'aspettativa di vita alla nascita (e^0), il tempo di generazione (T), il tasso fondamentale di riproduzione (R_0) e il tasso di crescita della popolazione (λ).

L'aspettativa di vita alla nascita e^0 è molto simile nelle tre popolazioni mentre il tasso netto di riproduzione, il tempo di generazione e il tasso di crescita della popolazione sono molto diversi (Tab. 2).

Tab. 2 - *Ophryotrocha japonica.* Valori dei parametri demografici delle tre popolazioni studiate.
Ophryotrocha japonica. *Values of demographic parameters in the studied populations.*

O. japonica			
	Livorno	Ravenna	Taranto
Aspettativa di vita	24.7	23.4	26.3
Tasso netto di riproduzione	706	361	349
Tempo di generazione	16.1	12.6	15.4
Tasso di crescita della popolazione (λ)	2.26	1.82	1.83

Conclusioni

Nelle tre popolazioni di *O. japonica* molti dei tratti delle life history si differenziano con conseguenze importanti sulla demografia e la fitness di ogni popolazione.

Il tempo e la taglia alla maturità sono, almeno parzialmente, correlate. Infatti le femmine che si accrescono più lentamente sono le ultime a riprodursi Nelle popolazioni di Livorno e Taranto esiste una sorta di dimorfismo sessuale basato sulle dimensioni che invece non è stato osservato nella popolazione di Ravenna.

Nelle tre popolazioni esaminate la fecondità intesa sia come numero totale di uova deposte in media da ogni femmina che come numero di eventi riproduttivi è molto diversa. Tuttavia il numero di deposizioni è molto variabile anche a livello di ogni popolazione: ci sono coppie che si riproducono molto frequentemente e molto a lungo ed altre che si riproducono soltanto 2 o 3 volte poi, pur continuando a vivere, smettono di riprodursi o allungano enormemente gli intervalli tra due deposizioni successive. La popolazione di Livorno, che è quella più longeva, presenta il maggior numero di deposizioni anche se gli intervalli tra due riproduzioni successive sono mediamente i più lunghi.

Nelle tre popolazioni si differenziano anche i diametri delle uova che, nella popolazione di Livorno, sono molto più piccole. Molti autori ritengono che le dimensioni delle uova di ogni specie costituiscano una caratteristica che non si modifica in relazione a variazioni dei parametri ambientali e che sia correlata alla percentuale di schiusa e alla probabilità di sopravvivenza delle larve; le dimensioni delle uova infatti costituiscono uno dei parametri più frequentemente utilizzati nello studio delle life history degli invertebrati marini (Qian e Chia, 1991). Tuttavia è stato osservato che le dimensioni delle uova possono variare in seguito a variazioni dei parametri ambientali nei copepodi (Brambilla, 1982) e negli echinodermi (Thompson, 1982) ed anche in alcune specie di policheti (Qian e Chia 1991; Prevedelli e Zunarelli 1998). In *O. japonica* il numero di uova prodotto da ogni popolazione è correlato alle dimensioni. Infatti la popolazione di Livorno, più feconda, produce uova più piccole rispetto alle altre due. Le popolazioni di Taranto e Ravenna che producono uova delle stesse dimensioni hanno la stessa fecondità. Esiste un trade-off tra numero e dimensioni degli ovociti (Stearns, 1992) che il confronto tra popolazioni ha messo in evidenza. Molti studi precedenti indicano che le dimensioni delle uova spesso sono correlate alle dimensioni dei discendenti alla nascita (Marsh, 1986; Williamson e Bull, 1989). Inoltre alcuni lavori sperimentali hanno messo in evidenza correlazioni tra le dimensioni delle uova e la sopravvivenza o la velocità di crescita dei discendenti (Williamson e Bull, 1989). In *O. japonica* le dimensioni delle uova sembrano correlate alla sopravvivenza e quindi alla percentuale di schiusa. Infatti nella popolazione di Livorno, che produce le uova

più piccole, è più bassa rispetto alle altre. Nella popolazione di Livorno la maggiore fecondità non dipende soltanto dal minore diametro delle uova. Infatti in questa popolazione l'investimento riproduttivo è quasi doppio rispetto alle altre.

Le caratteristiche morfometriche e riproduttive differenziano soprattutto la popolazione di Livorno che raggiunge più velocemente la maturità sessuale, vive più a lungo e ha dimensioni maggiori. L'insieme di queste caratteristiche concorre a determinare una fecondità maggiore. Le popolazioni di Taranto e Ravenna sembrano più simili, hanno uova dello stesso diametro, la stessa fecondità e uguale investimento riproduttivo. Le differenze tra queste popolazioni riguardano essenzialmente il numero di uova deposte ad ogni evento riproduttivo: la popolazione di Ravenna ha meno eventi riproduttivi ma ad ogni deposizione libera un numero maggiore di uova mentre la popolazione di Taranto depone un minor numero di uova in più episodi riproduttivi. In queste due popolazioni sembra esistere il trade-off tra riproduzione presente e riproduzioni future (Stearns, 1992).

In molte specie di invertebrati marini ed in particolare di policheti sono state osservate differenze nella fecondità sia del singolo individuo che della popolazione ma queste differenze generalmente sono state messe in relazione a differenze nei parametri ambientali e specialmente alla temperatura e alla dieta (Qian e Chia, 1991; Prevedelli e Zunarelli Vandini, 1998, 1999; Prevedelli e Simonini, 2000, 2001 a,b). In questo lavoro però tutte le popolazioni sono state tenute alle stesse condizioni sperimentali e quindi le differenze osservate non possono essere attribuite alle condizioni dell'ambiente. Differenze a livello riproduttivo sono state descritte in popolazioni della specie congenerica *O. labronica* che Bacci (1978) ha definito "razze sessuali". In questa specie tra popolazioni geograficamente distinte è addirittura presente isolamento riproduttivo su base etologica (Lanfranco e Rolando, 1981).

Le differenze nelle caratteristiche delle life history osservate nelle tre popolazioni analizzate portano a forti differenze delle caratteristiche demografiche L'analisi demografica ha evidenziato che la popolazione di Livorno ha un tasso di crescita λ decisamente superiore a quello di Taranto e Ravenna. Complessivamente le popolazioni di *O. japonica* presentano valori di λ molto simili a quelli calcolati per *O. diadema* (Akesson, 1982) e *O. labronica* (Prevedelli e Simonini, 2001) ma decisamente superiori a quelli di tutte le altre specie opportuniste fino ad ora studiate (Levin *et al.*, 1986). Le differenze tra le specie opportuniste studiate fino ad ora ed *O. japonica* riguardano essenzialmente le dimensioni del corpo. Dal confronto delle tre popolazioni di *O. japonica* emergono notevoli differenze nel ciclo biologico, nella life history e nella demografia. E' molto probabile che l'estrema selettività degli ambienti portuali e salmastri possa favorire la frammentazione delle specie in popolazioni geneticamente differenziate adattate alle condizioni presenti nelle diverse località (Cognetti, 1982, 1992). Sembra improbabile che *O. japonica* sia una specie cosmopolita sfuggita a ricerche precedenti: tutte le specie di *Ophryotrocha* trovate lungo le coste italiane sono state analizzate sia a livello morfologico che riproduttivo fin dagli anni '50. (La Greca e Bacci, 1962; Robotti, 1979; Lanfranco e Rolando, 1981; Rolando, 1982; Premoli e Sella, 1995; Prevedelli e Zunarelli Vandini, 1998). L'ampia distribuzione di *O. japonica* sia nelle lagune che nei porti, e alcune caratteristiche del suo ciclo biologico, suggeriscono che questa specie sia stata introdotta di recente o attraverso il traffico marittimo o attraverso l'importazione di specie utilizzate per l'acquacoltura. Le marcate differenze osservate tra le tre popolazioni di questa specie, possono dipendere o da adattamenti a situazioni ambientali diverse, oppure potrebbero derivare da introduzioni indipendenti da località o in tempi diversi.

Summary

This paper examines the life history and demography of three populations of *Ophryotrocha japonica* an alien species that for until 2001 had only been reported in harbour environments along the Asian and American coasts of the Pacific. The populations analysed came from the Italian harbors of Leghorn and Ravenna and from the brackish Mar Piccolo of Taranto. The three strains are inter-fertile both with one another and with their Pacific counterparts. Notwithstanding among populations were found morphological, reproductive and demographic differences. In Leghorn and Taranto populations there is a sort of sexual dimorphism based on body size that is not present in the Ravenna strain. The most important differences concern the reproductive characteristics. Indeed, fecundity, eggs size and reproductive investment varies greatly between populations. The differences in the life history determine very important consequences for the demography and fitness of the populations, and may depend on the species' adaptation to different environment or may be the result of independent introduction from different localities or at different times.

Bibliografia

ÅKESSON B. (1982) - A life table study on three genetic strains of *Ophryotrocha diadema* (Polychaeta, Dorvilleidae). *Int. J. Invert. Reprod*., **5**: 59-69.

BHAUD M. (1988) - Influence of temperature and food supply on development of *Eupolymnia nebulosa* (Montagu, 1818) (Polychaeta: Terebellidae). *J. exp. mar. Biol. Ecol*., **118**: 103-113.

BRAMBILLA D.J. (1982) - Seasonal variation of eggs size and number in a *Daphnia pulex* population. *Hydrobiologia*, **97**: 233-248.

CASWELL H. (2000) - *Matrix population models*. 2nd edition Sinauer, Sunderland, MA, USA: 722 pp.

COGNETTI G. (1982) - Adaptive strategies of brackish-water fauna in pure and polluted water. *Mar. Poll. Bull*., **13**: 247-250.

COGNETTI G. (1992) - Colonization of stressed coastal environments. *Mar. Poll. Bull*., **24**: 12-14.

LA GRECA M., BACCI G. (1962) - Una nuova specie di *Ophryotrocha* delle coste tirreniche (Annelida, Polychaeta). *Boll. Zool.*, **29**: 13-14.

LANFRANCO M., ROLANDO A. (1981) - Sexual races and reproductive isolation in *Ophyotrocha* labronica La Greca and Bacci (Annelida, Polychaeta). *Boll. Zool.,* **48**: 291-294.

LEVIN L.A, CASWELL H., DEPATRA K.D., CREED E.L. (1987) - Demographic consequences of larval development mode: planktotrophy vs. lecithotrophy in *Streblospio benedicti*. *Ecology*, **68**: 1877-1886.

MARSH E. (1986) - Effects of egg size on offspring fitness and maternal fecundity in the orangethroat darter *Etheostoma spectabile* (Pisces: Percidae). *Copeia,* **1986**: 18-30.

PLEIJEL F., EIDE R. (1996) - The phylogeny of the genus *Ophryotrocha* (Dorvilleidae: Eunicidae: Polychaeta). *J. nat. History,* **30**: 647-659.

PREMOLI M.C., SELLA G. (1995) - Sex economy in benthic polychaetes. *Ethol. Ecol. Evolut*., **7**: 27-48.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2000) - Effects of salinity and two food regimes on survival, fecundity and sex ratio in two groups of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae). *Mar. Biol*., **137**: 23-29.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2001a) - Effects of diet and laboratory rearing on demography of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta, Dinophilidae). *Mar. Biol*., **139**: 929-935.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2001b) - Effects of temperature on life history and demography of *Ophryotrocha labronica* (Polychaeta: Dorvilleidae). *Vie Milieu*, **51**: 173-180.

PREVEDELLI D., ZUNARELLI VANDINI R. (1998) - Effect of diet on reproductive characteristics of *Ophryotrocha labronica* (Polychaeta: Dorvilleidae*). Mar. Biol*., **132**: 163-170.

PREVEDELLI D., ZUNARELLI VANDINI R. (1999) - Survival, fecundity and sex ratio of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae) under different dietary conditions. *Mar. Biol*., **133**: 231-236.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2002) - Relationship between body size and population growth rate in two opportunistic polychaetes. *J. Mar. Biol. Ass. UK,* **82**: 403-408.

QIAN P.Y., CHIA F.S. (1991) - Fecundity and egg size are mediated by food quality in the polychaete worm *Capitella* sp. *J. exp. mar. Biol. Ecol.,* **148**: 11-25.

ROBOTTI C. (1979) - Electrophoresis of proteins in three populations of *Ophryotrocha labronica.*

Experientia, **35**: 596-597.
ROLANDO A. (1982) - Sexual condition in a population of *Ophryotrocha robusta (Annelida, Polychaeta) from Genova. Atti Soc tosc Sci nat (B),* **89**: 145-152.
SIMONINI R. (2002) - Distribution and ecology of the genus *Ophryotrocha* in Italian harbours and lagoons. *Vie Milieu,* **52**: 59-65.
STEARNS S.C. (1992) - *The evolution of life histories*. Oxford Univ. Press, NY, USA: 249 pp.
THOMPSON R.J. (1982) - The relationship between food ration and reproductive effort in the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis. Oecologia,* **56**: 50-57.
WILLIAMSON I., BULL C.M. (1989) - Life history variation in a population of the Australian frog *Ranidella signifera*: egg size and early development. *Copeia*, **1989**: 349-356.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 176-182

G. Sara, G.P. Gasparini[1], C. Morri[2], C.N. Bianchi[2], F. Cinelli

Dip. Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Univ. di Pisa, Via Volta, 6 - 56100 Pisa, Italia.
[1]CNR - Istituto per lo studio dell'Oceanografia Fisica, Forte S.Teresa - 19036 Pozzuolo di Lerici, La Spezia, Italia.
[1]Dip.Te.Ris., Dipartimento Studio Territorio e Risorse, Univ. di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.

RECLUTAMENTO DI GORGONIE DOPO UN EPISODIO DI MORIA DI MASSA IN MAR LIGURE ORIENTALE

GORGONIAN RECRUITMENT AFTER MASS MORTALITY EVENT IN EASTERN LIGURIAN SEA

Abstract

In the late Summer of 1999, an extensive mortality event of epibenthic organisms was observed in the Ligurian Sea; gorgonians were among the most damaged by the event. After this episode the gorgonian recovery from the mortality has been monitored. Three target species were identified: Paramuricea clavata *(Risso),* Eunicella singularis *(Esp.) and* Leptogorgia sarmentosa *(L.). In this paper we present preliminary results of three species recruitment. Recorded temperature data show no anomalies in the period under study. The species show different recruitment pattern which does not seem related with how strongly the species were damaged by mortality event.*

Key-words*: gorgonians, mass mortality, recruitment, Ligurian Sea.*

Introduzione

Nella tarda estate del 1999 un grave episodio di mortalità massiva ha interessato tutto il Mar Ligure, dal Golfo del Leone a Livorno. La mortalità ha coinvolto organismi appartenenti a *phyla* diversi quali spugne, cnidari e briozoi (Cerrano *et al.*, 2000; Perez *et al.,* 2000; Santangelo *et al.*, 2000; Garrabou *et al.*, 2001; Harmelin, 2001) ed è stata messa in relazione con un'anomalia termica registrata in Mar Ligure e nell'alto Tirreno durante lo stesso periodo; nel periodo in questione la temperatura dell'acqua ha raggiunto valori più alti di 2-4 °C rispetto alla media ed il termoclino ha raggiunto profondità maggiori di quelle usuali (Cerrano *et al.*, 2000).

Le gorgonie sono state tra le specie più colpite, e poiché queste hanno un ruolo determinante nelle biocenosi coralligene (Weinberg, 1980; Ros *et al.*, 1985; Harmelin, 1994; Bianchi *et al.,* 1995) e giocano un ruolo importante nei processi di trasferimento d'energia tra le comunità bentoniche e pelagiche (Gili e Coma, 1998), l'ingente moria potrebbe avere importanti conseguenze sui popolamenti bentonici.

Eventi episodici di disturbo, come l'anomalia termica verificatasi nel 1999, possono influenzare fortemente la struttura e la dinamica degli ecosistemi marini: la comprensione delle conseguenze di questi fenomeni necessita di serie storiche e periodi di monitoraggio sufficientemente lunghi in base ai cicli vitali delle specie dominanti.

In seguito al fenomeno di mortalità massiva, lungo la riviera spezzina è iniziata un'attività di monitoraggio a lungo termine delle specie di gorgonacei più numerose nell'area: *Paramuricea clavata*, *Eunicella singularis* e *Leptogorgia sarmentosa*; di queste solamente le prime due sono state colpite dalla moria mentre la terza non sembra averne risentito. L'attività di monitoraggio prevede la registrazione della densità di popolazione (n° di colonie/m^2) e la loro distribuzione in classi di taglia, il rilevamento

della dimensione delle colonie e dello stato di salute delle facies, in base alla percentuale di colonia sana ed, infine, la stima del tasso di reclutamento per determinare la velocità di recupero delle popolazioni colpite.

Parallelamente si procede alla raccolta di dati meteomarini per meglio descrivere il fenomeno nell'ambito della climatologia della regione.

In questo lavoro vengono brevemente riferiti i primi dati, con particolare attenzione alla presenza di colonie di nuovo insediamento, per descrivere e quantificare il reclutamento delle tre specie esaminate nel periodo immediatamente successivo all'evento di moria.

Materiali e metodi

L'area di campionamento si trova presso le isole del Tino e del Tinetto poste sul versante occidentale del Golfo di La Spezia (Fig. 1). Le due isole sono caratterizzate

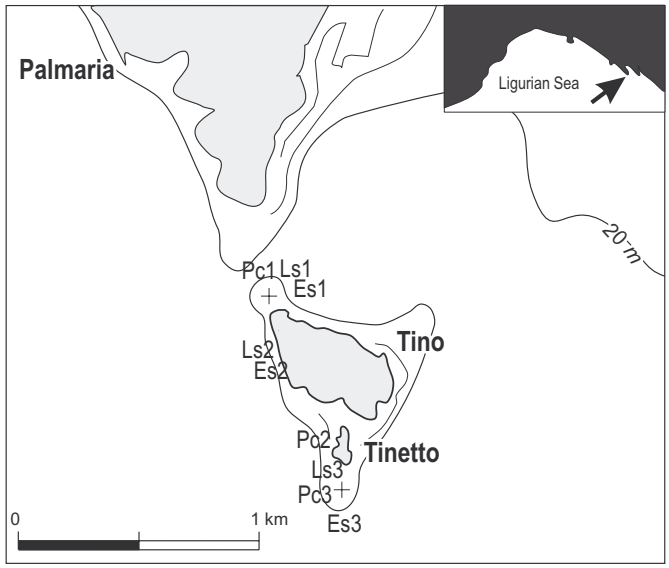


Fig. 1 – Localizzazione geografica dell'area di studio; le sigle mostrano la posizione dei siti di campionamento.
Paramuricea clavata: Secca del Tino-Pcl, Isola del Tinetto-Pc2, Secca del Tinetto-Pc3;
Eunicella singularis: Secca del Tino-Esl, Falesia del Tino-Es2, Secca del Tinetto-Es3;
Leptogorgia sarmentosa: Secca del Tino-Lsl, Falesia del Tino-Ls2; Secca del Tinetto-Ls3
Geographical setting of the study area; letters show locations of study sites.
Paramuricea clavata: Tino Shoal-Pcl, Tinetto Island-Pc2, Tinetto Shoal-Pc3;
Eunicella singularis: Tino Shoal-Es1, Tino Island-Es2, Tinetto Shoal-Es3;
Leptogorgia sarmentosa: Tino Shoal-Lsl, Tino Island-Ls2, Tinetto Shoal-Ls3

da falesie verticali sul versante ovest, mentre degradano lentamente sul versante est e sono circondate da un fondale fangoso che raggiunge la profondità massima di 25 metri ed è caratterizzato da un'abbondante sedimentazione.

Per ogni specie sono stati scelti, nei dintorni delle isole, tre siti casuali, tra quelli caratterizzati da popolamenti a gorgonacei (Mistri e Ceccherelli, 1993; Mistri, 1995; Cocito *et al.*, 1997) all'interno dell'intervallo batimetrico compreso tra i 20 ed i 25 metri di profondità.

Presso la punta nord dell'isola del Tino è presente una secca in prossimità della quale sono stati localizzati un sito per ogni specie (*Pc1*, *Es1* e *Ls1*). Il versante ovest dell'isola del Tino è formato da una parete con pendenze comprese tra i 45° ed i 90° e dove sono localizzati un sito per *Eunicella singularis* (*Es2*) ed uno per *Leptogorgia sarmentosa* (*Ls2*). Il versante occidentale dell'isola del Tinetto invece è una falesia quasi verticale con facies a *Paramuricea clavata* (*Pc2*).

L'estremo meridionale del complesso roccioso è costituito dalla secca del Tinetto, la sella tra la secca e l'isola è costituita da una franata con *Leptogorgia sarmentosa* (*Ls3*), il versante occidentale da una falesia verticale con *Paramuricea clavata* (*Pc3*) e la punta sud degrada lentamente con facies a *Eunicella singularis* (*Es3*).

Nei siti descritti sono stati effettuati rilevamenti visivi da un operatore subacqueo utilizzando come area di riferimento un quadrato di 1 m di lato. In ogni sito sono state effettuate tre repliche casuali ed il campionamento è stato effettuato due volte l'anno in estate ed in inverno a partire dall'estate 1999.

I dati che sono stati riportati riguardano la percentuale di reclute presenti nella popolazione, considerando come reclute le colonie di dimensioni inferiori a 5 centimetri di altezza.

L'analisi della varianza (ANOVA) a tre vie è stata utilizzata per verificare l'ipotesi che non esistano differenze significative nella percentuale di reclute delle tre specie presenti nei tre siti e non esistano variazioni nell'evoluzione temporale del reclutamento.

I siti sono stati considerati fattori casuali ed i tempi come fattori fissi, siti e tempi sono ortogonali tra loro. L'omogeneità della varianza è stata testata tramite il test di Cochran. Quando sono state riscontrate differenze significative per i parametri analizzati, è stato effettuato un test a posteriori (SNK test) che esegue confronti multipli tra le medie (con $\alpha = 0.05$) per individuare i valori responsabili della variabilità osservata (Underwood, 1997).

Risultati

Nel periodo di studio *Eunicella singularis* ha mostrato un'attività riproduttiva più intensa delle altre due specie esaminate, raggiungendo picchi di reclutamento del 40% per sito (65% il singolo rilevamento) sul totale della popolazione. La percentuale massima di reclute di *Paramuricea clavata* è stata rilevata, per sito, pari al 22% (42% il singolo rilevamento), mentre non ha superato il 7% (20% il singolo rilevamento) la percentuale di reclute di *Leptogorgia sarmentosa*. Il diverso tasso di reclutamento è confermato dall'ANOVA a tre vie (Tab. 1) che mostra differenze significative tra la percentuale di reclute delle specie esaminate esistono; il test SNK indica che le differenze sono a carico di *Eunicella singularis* i cui valori si discostano da quelli delle altre due specie.

La diversa localizzazione dei siti non sembra influire sul reclutamento; al contrario, l'evoluzione temporale del reclutamento delle specie mostra differenze significative che, dal test SNK, risultano essere ancora a carico di *Eunicella singularis*. Quest'ultima ha un andamento temporale del tasso di reclutamento che si discosta da quello di *Leptogorgia sarmentosa* e *Paramuricea clavata*.

Tab. 1 - Analisi della varianza delle percentuali di reclute in relazione alle specie, siti di campionamento e periodo di rilevamento.
Analyses of variance of percentage of recruits in relation to species, survey sites and survey time.

	df	MS	F	P
Specie	2	$1.3\ 10^6$	69,94	**
Sito	2	$1.7\ 10^6$		NS
Tempo	6	$3.3\ 10^6$	4,96	**
Specie x Sito	4	$8.1\ 10^6$		NS
Specie x Tempo	12	$4.7\ 10^6$		NS
Sito x Tempo	12	$1.3\ 10^6$		NS
Specie x Sito x Tempo	24	$9.8\ 10^6$	2,29	**
Residual	126	$8.0\ 10^6$		

Cochran test NS

La Fig. 2 (a, b) mostra l'evoluzione temporale del tasso di reclutamento delle tre specie: *Leptogorgia sarmentosa* e *Paramuricea clavata* hanno picchi di reclutamento nel 1999 e nel 2001, mentre nel 2000 il reclutamento risulta molto basso o assente. *Eunicella singularis* invece mostra picchi di reclutamento anche nell'estate 2000 (Fig. 2 c).

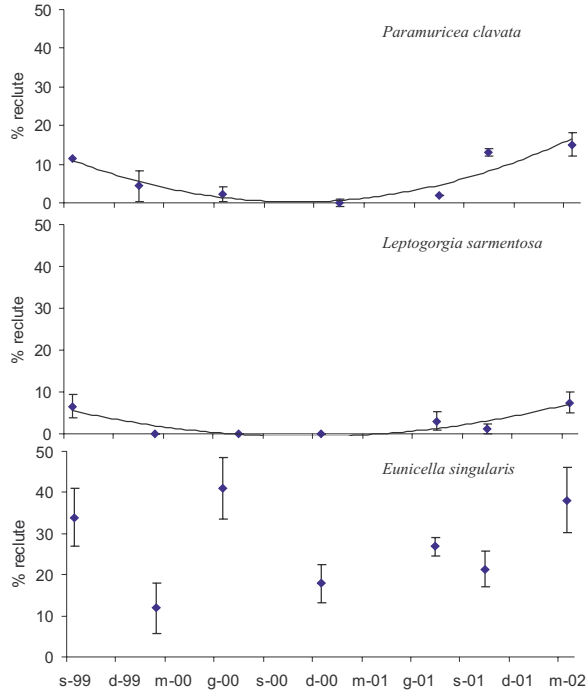


Fig. 2 – Percentuale di reclute per metro quadrato delle tre specie. Sull'asse X sono riportate le date di campionamento.
Percentage of the recruitment m^{-2}. On the X axis are date of survey.

Conclusioni

Dall'analisi dei dati di temperatura superficiale del mare risulta che il periodo in esame ha valori estivi ancora superiori alla media di circa 1°C ma l'andamento del termoclino è in sintonia con la climatologia della regione, raggiungendo la profondità media di 20 metri con una temperatura di circa 22°C (Gasparini *et al.,* dati non pubblicati). Non sono stati registrati condizioni di temperatura che possano riguardare le gorgonie oggetto di studio infatti, dal momento che vivono al limite del termoclino, non vengono influenzate da cambiamenti che intervengono nella fascia più superficiale ma da possibili aumenti di profondità e durata del termoclino, come avvenne nel 1999 (Cerrano *et al.,* 2000). Nel periodo in esame un lieve aumento estivo di temperatura, rispetto alla media stagionale, è stato registrato in superficie, ma non ha interessato gli strati inferiori dove le gorgonie vivono.

Non sono state registrate differenze significative tra il tasso di reclutamento delle varie specie in alcuno dei siti studiati, quindi ha avuto poca influenza la diversa morfologia del fondo ed esposizione alla circolazione.

I dati preliminari che vengono presentati formano una serie storica ancora troppo breve per fornire dati esaurienti riguardo il tasso di reclutamento delle specie studiate.

Dalle prime osservazioni riguardo l'andamento temporale del reclutamento (Fig. 2), *Eunicella singularis* mostrerebbe un ciclo di reclutamento annuale, la situazione è più oscura per quanto riguarda *Leptogorgia sarmentosa* e *Paramuricea clavata* che mostrano due picchi di reclutamento nell'estate 1999 e 2001. Dalla letteratura *Paramuricea clavata* risulta avere un ciclo riproduttivo annuale (Coma *et al.,* 1995), quindi la riduzione di reclute nel 2000 potrebbe essere motivata dall'estesa perdita del cenenchima vivo avvenuta a causa della moria dell'anno precedente (Cerrano *et al.,* 2000); in effetti, negli organismi coloniali, la capacità riproduttiva è correlata direttamente con la quantità di tessuto vivo (Hughes e Cancino, 1985) e questo può aver influito sul reclutamento di *Paramuricea clavata*.

Le informazioni su *Leptogorgia sarmentosa* ricavabili dalla letteratura riguardano soprattutto la crescita e la produzione secondaria (Mistri e Ceccherelli, 1993; Mistri 1995) ma non il reclutamento, che mostra due picchi di reclutamento durante le estati 1999 e 2001. Dal momento che *Leptogorgia sarmentosa* non è stata colpita dalla mortalità del 1999 (Cerrano *et al.,* 2000), potrebbe mostrare un naturale ciclo biennale di reclutamento. La serie storica è però ancora troppo breve per dare delle risposte chiare. Le ipotesi formulate verranno verificate con la prosecuzione del monitoraggio che mira anche alla realizzazione di una serie storica fondamentale per lo studio e la gestione delle popolazioni bentoniche e utile soprattutto per la comprensione di eventi episodici (Francour *et al*., 1994; Astraldi *et al*., 1995; Morri e Bianchi, 2000).

Summary

Gorgonians are important members of hard-substrata benthic communities of the Western Mediterranean where they contribute to increase the overall biodiversity creating new habitats.

In late summer 1999, an extensive mass mortality of invertebrates occurred in the Ligurian Sea and gorgonians were heavily affected. After this episode a monitoring activity started near La Spezia coast, to study the recovery of gorgonian populations. *Paramuricea clavata* (Risso)*, Eunicella singularis* (Esp.) and *Leptogorgia sarmentosa* (L.) have been monitored. For each target species three sites have been randomly chosen, all between 20 and 25 metres of depth. Measurements have been performed by scuba operators using a 1^2 square frame, randomly placed. Measurements have been taken twice a year since 1999. For each frame the percentage of recruits has been recorded, defining recruit as any colony below 5 cm. Recruitment rates of

all three species don't show differences among the various sites suggesting a small influence of substrate and local circulation on recruitment. According to first data *Eunicella singularis* has showed a different pattern of recruitment from *Paramuricea clavata* and *Leptogorgia sarmentosa*. All the conclusions have to be verified using longer time series.

Ringraziamenti

Si ringrazia Francesca Ferdeghini per la revisione critica del testo.

Bibliografia

ASTRALDI M., BIANCHI C.N., GASPARINI G.P., MORRI C. (1995) – Climatic fluctuations, current variability and marine species distributiion: a case study in the Ligurian Sea (north- west Mediterranean). *Oceanologica Acta*, **18** (2): 139-149.

BIANCHI C.N., DORE G., MORRI C. (1995) – *Guida del subacqueo naturalista: Mediterraneo e tropici*. Ed.

CERRANO C., BAVESTRELLO G., BIANCHI C. N., CATTANEO-VIETTI R., BAVA S., MORGANTI C., PICCO P., SARA G., SCHIAPARELLI S., SICCARDI A., SPONGA F. (2000) - A catastrophic mass-mortality episode of gorgonians and other organisms in the Ligurian Sea (Northwestern Mediterranean), Summer 1999. *Ecol. Lett.,* **3**: 284-293.

COCITO S., SGORBINI S., BIANCHI C.N. (1997) – Zonation of a suspension-feeder assemblage on a temperate rocky shoal: the influence of water current and bottom topography. In: Hawkins L.E., Hutchinson S. (eds), *The Response of Marine Organisms to the Environments*. Univ. of Southampton, Southampton: 183-192.

COMA R., RIBES M, ZABALA M., GILI J.M. (995) – Reproduction and cycle of gonadal development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **117**: 173-183.

FRANCOUR P., BOURDERESQUE C.F., HARMELIN-VIVIEN M.L., QUIGNARD J.P. (1994) – are the Mediterranean waters becoming warmer? Information from biological indicators. *Mar. Pollut. Bull.*, **28** (9): 523-526.

GARRABOU J., PEREZ T., SARTORETTO S., HARMELIN J.G. (2001) – Mass mortality event in red coral *Corallium rubrum* populations in the Provence region (France, NW Mediterranean). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **217**: 263-272.

GILI J.M., COMA R. (1998) – Benthic suspension feeders: their paramount role in littoral marine food webs. *Trends Ecol. Evol.,* **13**: 316-321.

HARMELIN J.G. (1994) - Les peuplements de substrats durs circalittoraux. In: Bellan Santini D., Lacaze J-C., Poizat C. (eds), *Les Biocénoses Marines et Littorales de Méditerranée, Synthése, Menaces et Perspectives*. Muséum National d'Histoire Naturelle, Secrétariat de la Faune et de la Flore, Paris: 118-126.

HARMELIN J.G. (In stampa) - Large erect bryozoans as indicators of climate change? Clues from NW Mediterranean assemblages. *Inter. Bryoz. Ass.-12th Conference*, Dublin, 2001 (In stampa).

HUGHES R.N., CANCINO J.M. (1985) - An ecological overview of cloning in Metazoa. In: Jackson J.B.C., Buss L.W., Cook R.E. (eds), *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale Univeristy Press, New Haven: 153-186.

MISTRI M. (1995) – Population structure and secondary production of the Mediterranean octocoral *Lophogorgia ceratophyta* (L. 1758). *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.*, **16**: 181-188.

MISTRI M., CECCHERELLI V.U. (1993) – Growth of the Mediterranean gorgonian *Lophogorgia ceratophyta* (L. 1758) *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.*, **14**: 329-340.

MORRI C., BIANCHI C.N. (2000) – Recent changes in biodiversity in the Ligurian Sea (NW Mediterranean) : is there a climatic forcing? In: Faranda F.M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Structure and processes in the Mediterranean Ecosystem.* Springer Verlag, Milano: 375-384.

PEREZ T., GARRABOU J., SARTORETTO S., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., VACELET J. (2000) – Mortalité massive d'invertébrés marins: un événement sans précédent en Méditerranée nord-occidentale. *C. R. Acad. Sci. Ser. III Life Sci. I,* **323**: 853-865.

ROS J.D., ROMERO J., BALLESTREROS J., GILI E. (1985) - Diving in the blue water. The benthos.

In: Margalef R. (eds), *Western Mediterranean*, Peergamon Press, Oxford: 233-295.
SANTANGELO G., BRAMANTI L., DELITALA M., BUCCI, M., DE MAIO L., CRUSCANTI M., MAGRI M., VERNIANI D. (2000) - Seasonal fluctuations of red coral settlement and recruit mortality increase during September 1999 epibenthic crisis. *Books of Abstracts* CoNISMa, Genova: 271 pp.
UNDERWOOD A.J. (1997) - Experiments in ecology: their logical designs and interpretation using analysis of variance. *Cambridge University Press*, Cambridge.
WEINBERG S. (1980) – Autoecology of shallow-water Octocorallia from Mediterranean rocky substrata. II. Marseille, Côte d'Azur and Corsica. *Bijdr. Dierk.*, **50**: 73-86.

Questo lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto di ricerca SINAPSI e Ambiente Mediterraneo (Accordo di programma CNR-MURST, L 95/95).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 183-189

R. Simonini, D. Prevedelli

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia,
Via Campi, 213/D – 41100 Modena, Italia.

EFFETTO DELLA TEMPERATURA SUL CICLO BIOLOGICO E LA RIPRODUZIONE DI DUE POPOLAZIONI DI *DINOPHILUS GYROCILIATUS* (POLYCHAETA: DINOPHILIDAE)

EFFECT OF TEMPERATURE ON BIOLOGICAL CYCLE AND REPRODUCTION OF TWO POPULATIONS OF DINOPHILUS GYROCILIATUS *(POLYCHAETA: DINOPHILIDAE)*

Abstract

The effects of temperature on biological cycle and reproduction in two populations of the polychaete Dinophilus gyrociliatus *were studied. Temperature affects life cycle and reproduction with different modalities and intensities in the two populations. These features could be due to an adaptation to local conditions that characterize each locality, favoured by the extreme selectivity of harbor environments, by the lack of a dispersal phase and the sib-mating system of* D. gyrociliatus.

Key-words: *life cycle, reproduction, temperature, populations,* Dinophilus gyrociliatus.

Introduzione

Alcuni aspetti delle strategie riproduttive e delle life histories di molti invertebrati marini che vivono nelle zone temperate sono determinati geneticamente, mentre molti altri caratteri sono strettamente dipendenti da parametri ambientali (Christiansen e Fenchel, 1979; Giangrande, 1997; Prevedelli e Simonini, 2000, 2001a, b).

Per valutare le conseguenze a livello individuale e di popolazione della variazione dei principali parametri ambientali, è stato studiato l'effetto della temperatura su ciclo biologico e riproduzione di due diverse popolazioni provenienti da località geograficamente distanti del polichete *Dinophilus gyrociliatus*, considerato un modello di specie iteropara a riproduzione semicontinua con strategia opportunista.

I risultati ottenuti sono riferiti a condizioni di laboratorio nelle quali il cibo era sempre abbondante e la pressione predatoria assente.

Materiali e metodi

Dinophilus gyrociliatus (Polychaeta: Dinophilidae) è un polichete interstiziale cosmopolita, che colonizza ambienti portuali e salmastri. Le femmine adulte (0.8-1.2 mm) depongono capsule ovigere gelatinose e trasparenti, contenenti sia uova piccole dette uova "di tipo maschile" (UM, diametro 40-50 μm) dalle quali si originano di solito i maschi, sia uova grandi chiamate uova "di tipo femminile" (UF, diametro 80-100 μm) che normalmente si sviluppano in femmine. Gli esemplari di *D. gyrociliatus* utilizzati in questo studio provengono originariamente dai porti di Genova e di Ravenna, due località separate da una notevole distanza geografica. Le metodiche di prelievo e di allevamento in laboratorio sono riportate in Prevedelli e Zunarelli Vandini (1999).

Per saggiare gli effetti della temperatura sulle popolazioni considerate, gli animali sono stati esposti a temperature sia inferiori (6 °C, 12 °C e 18 °C) che superiori (30 °C) a quella di allevamento (24 °C).

Per ogni combinazione temperatura/popolazione sono stati utilizzati 50 animali della stessa età (repliche), mantenendo costanti salinità (30-32‰), temperatura (±1 °C) e fotoperiodo (12 h luce/ 12 h buio). Il cibo (1 mg/ml Tetramin Micromin) non era quantitativamente e qualitativamente limitante.

Ogni replica è stata esaminata tre volte alla settimana e una volta alla settimana gli animali sono stati trasferiti in capsule Petri pulite contenenti 0,2 mg/ml di sospensione nutritiva. Durante ogni controllo le UM e le UF presenti in ogni singola replica venivano conteggiate con l'ausilio di uno stereomicroscopio e quindi eliminate.

Per ogni coorte sperimentale sono stati calcolati: età alla schiusa, percentuale di schiusa, età alla maturità, durata della vita, fecondità (considerando soltanto le uova femminili [UF], in quanto il contributo delle uova maschili [UM] date le ridotte dimensioni, è stato ritenuto trascurabile), dimensioni delle uova femminili e maschili (diametro medio e volume calcolato secondo Qian e Chia, 1991), dimensioni delle capsule ovigere (numero di UF presenti all'interno di ciascuna capsula ovigera).

L'investimento nella riproduzione (*IR*) (volume complessivo delle uova prodotte nei due ceppi alle diverse temperature) è stato ottenuto utilizzando i valori della fecondità individuale (*F*) e il volume delle UF (V_{UF}), trascurando le UM, con la formula $IR=F \cdot V_{UF}$.

I valori inversi dei dati individuali relativi ad età alla nascita, età alla maturità e durata della vita alle diverse temperature sperimentali sono stati utilizzati per calcolare la temperatura di soglia inferiore T_l al di sotto della quale lo sviluppo non può compiersi. Le temperature di soglia delle due popolazioni sono state confrontate mediante t-test.

Per evidenziare le differenze tra i gruppi sperimentali riguardo ad età alla schiusa, età alla maturità, durata della vita, fecondità individuale totale, dimensioni delle UF, dimensioni delle UM e dimensioni delle capsule ovigere, è stata utilizzata l'analisi della varianza (ANOVA). L'omogeneità della varianza è stata verificata preventivamente tramite il test di Levene e, quando necessario, i valori sono stati trasformati. In caso di differenze significative ($p<0.05$), è stato effettuato *a posteriori* un test LSD (Least Significative Differences) per i confronti tra le medie. L'analisi dei dati è stata effettuata tramite il programma SPSS.

Risultati

La sopravvivenza, lo sviluppo degli embrioni e il raggiungimento della maturità sessuale sono influenzati dalla temperatura in misura diversa nei due ceppi. Gli animali adulti sopravvivono a tutte le temperature testate. A 6 °C gli embrioni di entrambe le popolazioni non riescono a svilupparsi. A 12 °C soltanto il ceppo di Ravenna riesce a riprodursi, mentre gli individui originari di Genova muoiono prima di raggiungere la maturità sessuale.

Il tempo necessario alla schiusa degli embrioni diminuisce significativamente all'aumentare della temperatura in entrambe le popolazioni. Gli animali del ceppo di Genova schiudono in anticipo rispetto a quelli di Ravenna tranne che a 12 °C. Infatti a 12 °C le femmine del ceppo di Ravenna nascono dopo 24 gg dalla deposizione, quelle di Genova dopo 29 gg (ANOVA; popolazioni: $F=7.25$, $p=0.039$; temperatura: $F=11193.73$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=270.76$, $p<0.001$).

Anche l'età alla maturità diminuisce significativamente all'aumentare della temperatura in entrambi i ceppi. In particolare le femmine di Ravenna a 12 °C impiegano quasi 45 gg, più di quattro volte il tempo necessario per raggiungere la maturità a 30 °C.

La temperatura influenza in maniera differente l'età alla maturità nelle due popolazioni. Le femmine di Genova mantenute a 30 °C raggiungono la maturità sessuale dopo circa 5 gg dallo stadio di zigote mentre gli individui di Ravenna impiegano quasi il doppio; queste differenze tendono a ridursi a 24 °C e a 18 °C; l'eccezione riguarda la temperatura di 12 °C, alla quale gli individui provenienti da Genova muoiono senza riprodursi (ANOVA; popolazioni: $F=562.62$, $p<0.001$; temperatura: $F=8760.54$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=50.94$, $p<0.001$).

La durata della vita viene influenzata dalla temperatura in modo diverso nelle due popolazioni ma in entrambi i ceppi diminuisce all'aumentare della temperatura. Gli animali di Ravenna esposti a 12 °C vivono in media 137 gg mentre alla temperature di 18, 24 e 30 °C la durata media della vita si riduce a circa 41, 34 e 22 gg rispettivamente. Nel ceppo di Genova gli animali mantenuti a 12 °C (48 gg) e 30 °C (10 gg) vivono rispettivamente 1/3 e 1/2 di quelli di Ravenna. Alle temperature intermedie le differenze tra i ceppi sono molto meno marcate e si annullano alla temperatura di 18 °C (ANOVA; popolazioni: $F=16.62$, $p<0.001$; temperatura: $F=943.47$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=5.82$, $p=0.003$).

La temperatura di soglia calcolata per la popolazione di Ravenna (7.0 °C) è significativamente inferiore rispetto a quella di Genova (10.7 °C) (t-test: $t=4.35$; $p=0.024$). Nonostante ciò, la durata relativa delle varie fasi del ciclo biologico è molto simile nelle due popolazioni: infatti il periodo embrionale (sviluppo entro la capsula), giovanile (preriproduttivo a vita libera) e adulto costituiscono rispettivamente il 19-22%, il 18% e il 60-63% della vita in entrambi i ceppi.

In entrambe le popolazioni la fecondità è influenzata dalla temperatura. A 12 °C gli animali di Genova non si riproducono mentre in quelli di Ravenna la fecondità è la più alta in assoluto. Alle temperature intermedie gli individui di Genova sono più fecondi di quelli di Ravenna: la fecondità media è di 62 UF e 65 UF nel ceppo ligure e 49 UF e 51 UF in quello adriatico a 18 e 24 °C rispettivamente. A 30 °C in entrambi i ceppi la fecondità è la più bassa in assoluto (ANOVA; popolazioni: $F=17.71$, $p<0.001$; temperatura: $F=88.09$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=1.24$, $p=0.290$).

Il diametro medio delle UM è compreso tra 40 e 50 μm e non esistono differenze significative tra le due popolazioni. Nella popolazione di Ravenna il diametro delle uova maschili tende a diminuire all'aumentare della temperatura: le UM più grandi sono prodotte a 12 °C, quelle più piccole a 30 °C. Anche nella popolazione di Genova le UM più piccole sono deposte a 30 °C ma quelle più grandi sono prodotte a 24 °C (ANOVA; popolazioni: $F=0.33$, $p=0.569$; temperatura: $F=95.16$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=7.24$, $p<0.001$).

Il diametro medio delle UF prodotte dagli individui di Ravenna (100-110 μm), è significativamente maggiore di quello osservato nella popolazione di Genova (90-100 μm). La temperatura esercita effetti simili a quelli osservati per le UM anche sulle dimensioni delle UF. Nella popolazione di Ravenna il diametro delle UF tende a diminuire all'aumentare della temperatura: le UF più grandi sono prodotte a 12 °C, quelle più piccole a 30 °C. Nella popolazione di Genova le uova più piccole sono prodotte a 30 °C e quelle più grandi a 24 °C (UF: ANOVA; popolazioni: $F=196.57$, $p<0.001$; temperatura: $F=64.16$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=9.53$, $p<0.001$).

In entrambe le popolazioni le dimensioni delle capsule sono influenzate dalla temperatura. Gli individui di Genova producono capsule più grandi di quelli di Ravenna a 18 °C, 24 °C e 30 °C: a 12 °C gli animali di Ravenna producono le capsule più grandi in assoluto mentre a 30 °C gli animali di entrambe le popolazioni producono le capsule in assoluto più piccole (ANOVA; popolazioni: $F=758.46$, $p<0.001$; temperatura: $F=3516.65$, $p<0.001$; popolazioni × temperatura: $F=39.53$, $p=0.008$).

L'investimento riproduttivo è influenzato dalla temperatura in ugual misura nelle due popolazioni. Per entrambi i ceppi l'investimento riproduttivo calcolato a 18 °C e a 24 °C è molto simile (circa 0.03 mm^3) ed è circa quattro volte superiore a quello osservato a 30 °C (0.008 mm^3). L'investimento riproduttivo più elevato in assoluto è stato osservato nella popolazione di Ravenna a 12 °C (0.05 mm^3). In queste condizioni la fecondità più elevata e le maggiori dimensioni delle uova determinano un investimento riproduttivo circa sei volte superiore a quello osservato a 30 °C.

Conclusioni

In *Dinophilus gyrociliatus* il ciclo biologico e la riproduzione si differenziano in relazione alla temperatura e alla provenienza geografica. Solo gli adulti di entrambe le popolazioni riescono a sopravvivere per lungo tempo a 6 °C, ma a temperature tanto basse non sono in grado di riprodursi. La differenza più importante tra i due ceppi riguarda la riproduzione. Infatti, soltanto gli animali provenienti da Ravenna si riproducono a 12 °C. Alle temperature più elevate, ed in particolare a 30 °C, lo sviluppo degli animali appartenenti al ceppo ligure è più veloce di quello del ceppo adriatico. Gli animali provenienti da Ravenna sono generalmente più longevi di quelli originari di Genova e queste differenze sono particolarmente evidenti a 12 °C e 30 °C. Nelle due popolazioni la durata relativa delle varie fasi del ciclo biologico è molto simile, ma la maggiore tolleranza alle basse temperature e la minore velocità di sviluppo del ceppo adriatico fanno sì che la temperatura di soglia di sviluppo stimata per la popolazione di Ravenna sia significativamente più bassa di quella calcolata per Genova. Anche in molte altre specie di policheti opportunisti i parametri ambientali influenzano molte fasi del ciclo biologico (Åkesson, 1976; Åkesson e Costlow, 1978, 1991; Tenore e Chesney, 1985; Levin e Creed, 1986; Grémare *et al.*, 1988; Chu e Levin, 1989; Qian e Chia, 1991; Prevedelli e Zunarelli Vandini, 1998, 1999; Mendéz *et al.*, 2000; Prevedelli e Simonini, 2000, 2001a,b).

La temperatura influenza notevolmente anche la riproduzione, agendo sulla fecondità, sul diametro delle uova, sulle dimensioni delle capsule ovigere e sull'investimento riproduttivo. Alle temperature intermedie la popolazione di Genova è più feconda di quella di Ravenna mentre la situazione si inverte alle temperature estreme di 12 °C e 30 °C. Ciò suggerisce che, sebbene la fecondità sia stata utilizzata come indicatore dello sforzo riproduttivo e come tratto fondamentale della life history degli invertebrati marini, non costituisca un carattere conservato (Christiansen e Fenchel, 1979; Prevedelli e Simonini, 2000, 2001a).

La temperatura e il ceppo di provenienza rivestono un ruolo fondamentale anche nel determinare il numero di uova contenute in ogni capsula ovigera: le capsule più piccole vengono prodotte a 30 °C, quelle più grandi a 12 °C. Inoltre le femmine di Genova producono capsule più grandi di quelle di Ravenna. Anche in questo caso potrebbe esistere un trade-off legato alla quantità di risorse che possono essere "impacchettate" per ogni evento riproduttivo: infatti, ad ogni temperatura, la popolazione che produce uova più grandi le depone in capsule che ne contengono un numero minore. Il grande numero di uova contenuto in ogni capsula nella popolazione di Ravenna a 12 °C potrebbe essere correlato al notevole lasso di tempo che intercorre tra una deposizione e la successiva.

Le dimensioni delle uova di entrambi i tipi variano in relazione alla temperatura: in generale, le UF più piccole vengono deposte alle temperature più alte. Anche in altre specie di policheti sono state osservate differenze delle dimensioni delle uova in

relazione ai parametri ambientali (Chia, 1974; Qian e Chia, 1991; Prevedelli e Zunarelli Vandini, 1998). Anche le dimensioni delle UM deposte dalle femmine originarie di Ravenna tendono a diminuire con la temperatura. Nelle due popolazioni analizzate il diametro delle UM è compreso tra 40 e 50 μm, molto simile a quello riportato da Åkesson e Costlow (1991) per un ceppo della Carolina del Nord (USA). Molto probabilmente queste dimensioni rappresentano la misura minima che permette la nascita di maschi fertili con la minima allocazione di energia al sesso maschile.

E' probabile che la minore temperatura di soglia e la maggiore tolleranza alle temperature saggiate che caratterizzano gli animali di Ravenna rispetto a quelli di Genova

Tab. 1 - *Dinophilus gyrociliatus*. Età alla schiusa, età alla maturità, durata della vita, fecondità (UF), diametro di UM e UF (μm) e dimensioni delle capsule ovigere (UF) (media ± 2E.S.) alle diverse condizioni sperimentali.

Dinophilus gyrociliatus. *Age at hatching, age at maturity, lifespan, fecundity (UF), UM and UF diameter (μm) and size of ovigerous capsules (UF) (mean ± 2S.E.) at different experimental conditions.*

	Genova				Ravenna			
	12°C	18°C	24°C	30°C	12°C	18°C	24°C	30°C
Età alla schiusa	29.0±0.9	6.7±0.1	5.0±0.1	2.8±0.1	24.3±0.1	9.0±0.1	5.7±0.1	4.8±0.1
Età alla maturità	-	12.7±0.2	9.2±0.2	5.1± 0.5	44.7±0.6	17.6±0.3	10.8±0.2	9.8±0.5
Durata della vita	47.8±2.6	42.0±2.6	25.5±2.4	9.6±0.7	137.5±6.6	41.3±3.3	33.8±2.6	22.0±2.1
Fecondità	-	61.8±5.0	64.8±8.9	11.0±4.0	77.6±7.0	49.4±5.5	51.3±6.6	15.7± 3.6
Diametro delle UM	-	42.5±0.6	43.4±1.1	41.3±0.7	48.6±0.5	44.1±0.6	42.1±0.7	41.7±1.0
Diametro delle UF	-	95.5±1.1	97.9±1.8	89.6±1.7	111.0±0.9	108.5±1.1	105.2±1.5	98.0± 1.7
Dimensioni delle capsule	-	5.1±0.1	5.3±0.2	3.5± 0.2	6.2± 0.2	3.7±0.1	3.9±0.1	2.8±0.2

dipendano da un adattamento di *D. gyrociliatus* alle condizioni locali: infatti a Ravenna le temperature minime invernali sono più basse e le escursioni termiche annuali molto più accentuate che a Genova. Gli animali provenienti da Genova non riescono a riprodursi alla temperatura di 12 °C probabilmente perché è prossima alla temperatura di soglia inferiore per lo sviluppo: d'altra parte temperature così basse lungo le coste del Mar Ligure si raggiungono solo per un breve periodo durante l'inverno. La temperatura di soglia superiore è probabilmente poco più alta di 30 °C, perché in entrambe le popolazioni il minore investimento riproduttivo si osserva proprio a questa temperatura, ma, analogamente alla temperatura di soglia inferiore, questa condizione può essere raggiunta solo sporadicamente lungo le coste del Mar Ligure e del Mare Adriatico Settentrionale.

Non tutte le differenze riproduttive osservate tra le due popolazioni sono completamente ascrivibili ad un adattamento locale. Le marcate differenze nella fecondità e nelle dimensioni delle uova osservate alle diverse temperature determinano notevoli differenze nell'investimento riproduttivo, anche se, ad ogni temperatura, l'investimento riproduttivo tra i due ceppi è molto simile. Infatti le dimensioni delle uova sono inversamente proporzionali alla fecondità: le femmine della popolazione di Genova, più feconde, producono uova sensibilmente più piccole di quelle di Ravenna. Questo trade-off tra numero di discendenti prodotti da un individuo e la quantità di risorse investita in ogni discendente è stato dimostrato anche in numerose altre specie di invertebrati (Stearns, 1992). E' perciò probabile che esista una certa plasticità riproduttiva nelle diverse popolazioni.

Lo sforzo riproduttivo di *D. gyrociliatus* è molto elevato: assumendo che il volume medio di una femmina adulta sia di circa 0,02 mm^3 e che la qualità dei tessuti materni sia la stessa di quelli dell'uovo femminile, la quantità di risorse investite nella riproduzione rispetto ai tessuti somatici sarebbe compresa tra il 40% osservato a 30 °C e il 150% calcolato a 18 °C e 24 °C, raggiungendo addirittura il 250% nella popolazione di Ravenna a 12 °C.

Confrontando le due popolazioni alla stessa temperatura emergono da un lato considerevoli differenze nel ciclo biologico e nelle caratteristiche della life history e dall'altro una scarsa variabilità fenotipica all'interno di ogni popolazione.

E' molto probabile che l'estrema selettività degli ambienti portuali abbia favorito la frammentazione della specie in popolazioni geneticamente differenziate adattate alle condizioni presenti nelle diverse località. Questo differenziamento potrebbe essere promosso anche da altri fattori come: 1) l'alto grado di inincrocio; 2) la notevole distanza geografica tra le due popolazioni; 3) la scarsa capacità di dispersione di *D. gyrociliatus*. Anche le popolazioni geograficamente isolate di molti altri policheti sia di habitat interstiziali sia salmastri e portuali mostrano spesso notevoli differenze genetiche (Grassle e Grassle, 1974, 1976; Cognetti e Maltagliati, 2000; Maltagliati *et al*., 2000; Méndez *et al.*, 2000). Dati preliminari riguardo ad altre popolazioni di *D. gyrociliatus* provenienti da Livorno, Taranto, Rimini e Chioggia confermano l'esistenza di notevoli differenze nella maggior parte dei caratteri della life history dei diversi ceppi (Prevedelli e Simonini, dati non pubblicati). Soltanto l'analisi sulla diversità genetica delle diverse popolazioni potrà far luce sulle relazioni esistenti tra la variabilità genetica e quella fenotipica.

Summary

The effects of temperature on life history characteristics of two populations from Ravenna and Genoa of the polychaete *Dinophilus gyrociliatus* were investigated. The tested temperatures (6, 12, 18, 24 and 30 °C) are upper and lower the range of temperature in the natural environment. In the studied populations there are broad differences in timing of development and reproduction. The duration of the various phases of the biological cycle is very similar in both populations, but the Adriatic strain exhibits greater tolerance of low temperatures, slower development rate and lower development threshold temperature in respect of the Genoa population. Temperature and geographical origin have also strong effects on reproductive characteristics. The size of both male and female eggs varies in relation to temperature, the smallest female eggs generally being laid at the higher temperatures. Comparison of the two populations at the same temperature reveals considerable differences in the characteristics of the life history between the two populations. It is very likely that the extreme selectivity of the harbour environments has favoured the fragmentation of the species into genetically differentiated populations that have adapted to the conditions prevailing in the different localities.

Bibliografia

ÅKESSON B. (1976) - Temperature and life cycle in *Ophryotrocha labronica* (Polychaeta, Dorvilleidae). *Ophelia*, **15** (1): 37-47.

ÅKESSON B., COSTLOW J.D. (1978) - Effects of temperature and salinity on the life cycle of *Ophryotrocha diadema* (Polychaeta, Dorvilleidae). *Ophelia*, **17** (2): 215-229.

ÅKESSON B., COSTLOW J.D. (1991) - Effects of constant and cyclic temperatures at different salinity levels on survival and reproduction in *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae). *Bull. Mar. Sci*., **48** (2): 485-499.

CHIA F.S. (1974) - Classification and adaptive significance of developmental patterns in marine invertebrates. *Thalassia jugosl*., **10**: 121-130.

CHRISTIANSEN F.B., FENCHEL T.M. (1979) - Evolution of marine invertebrate reproductive patterns. *Theor. Popul. Biol.*, **16**: 267-282.

CHU J.W., LEVIN L.A. (1989) - Photoperiod and temperature regulation of growth and reproduction in *Streblospio benedicti* (Polychaeta: Spionidae). *Invert. Reprod. Dev*., **15**: 131-142.

COGNETTI G., MALTAGLIATI F. (2000) - Biodiversity and adaptive mechanism in brackish water fauna. *Mar. Poll. Bull*., **40** (1): 7-14.

GIANGRANDE A. (1997). Polychaete reproductive patterns, life cycles and life histories: an overview. *Oceangraf. mar. Biol. A. Rev*., **35**: 323-386.

GRASSLE J.F., GRASSLE J.P. (1974) - Opportunistic life history and genetic systems in marine benthic polychaetes. *J. Mar. Res*., **32**: 253-284.

GRASSLE J.F., GRASSLE J.P. (1976) - Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella* (Polychaeta). *Science*, **192**: 567-569.

GRÉMARE A., MARSH A.G., TENORE K.R. (1988) - Short-term reproductive responses of *Capitella* sp. I (Annelida: Polychaeta) fed on different diets. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **123**: 147-162.

LEVIN L.A., CREED E.L. (1986) - Effect of temperature and food availability on reproductive responses of *Streblospio benedicti* (Polychaeta: Spionidae) with planktotrophic or lecithotrophic development. *Mar. Biol*., **92**: 103-113.

MALTAGLIATI F., PERU A.P., CASU M., ROSSI F., LARDICCI C., CURINI-GALLETTI M., CASTELLI A. (2000) - Is *Syllis gracilis* (Polychaeta: Syllidae) a species complex? An allozyme perspective. *Mar. Biol*., **136**: 871-879.

MÉNDEZ N., LINKE-GAMENICK I., FORBES V.E. (2000) - Variability in reproductive mode and larval development within the *Capitella capitata* species complex. *Invert. Reprod. Dev*., **38** (2): 131-142.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2000) - Effects of salinity and two food regimes on survival, fecundity and sex ratio in two groups of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae). *Mar. Biol*., **137**: 23-29.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2001a) - Effects of diet and laboratory rearing on demography of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta, Dinophilidae). *Mar. Biol*., **139**: 929-935.

PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2001b) - Effects of temperature on life history and demography of *Ophryotrocha labronica* (Polychaeta: Dorvilleidae). *Vie et Milieu*, **51** (4): 173-180.

PREVEDELLI D., ZUNARELLI VANDINI R. (1998) - Effect of diet on reproductive characteristics of *Ophryotrocha labronica* (Polychaeta: Dorvilleidae). *Mar. Biol*., **132**: 163-170.

PREVEDELLI D., ZUNARELLI VANDINI R. (1999) - Survival, fecundity and sex ratio of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae) under different dietary conditions. *Mar. Biol*., **132**: 163-170.

QIAN P.Y., CHIA F.S. (1991) - Fecundity and egg size are mediated by food quality in the polychaete worm *Capitella* sp. *J. exp. mar. Biol. Ecol*., **148**: 11-25.

STEARNS S.C. (1992) - *The evolution of life histories*. Oxford Univ. Press, NY, USA: 249 pp.

TENORE K.R., CHESNEY E. (1985) - The effects of interaction of rate of food supply and population density on the bioenergetics of the opportunistic polychaete, *Capitella capitata* (type 1). *Limnol. Oceanogr*., **30**: 1188-1195.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 190-202

G. Valli, E. Borgese, E. Busetto

Dipartimento di Biologia, Università di Trieste, Via Weiss, 2 - 34127 Trieste, Italia.

CICLO RIPRODUTTIVO DI *NASSARIUS RETICULATUS* (L., 1758), GASTROPODA, PROSOBRANCHIA IN TRE STAZIONI DEL GOLFO DI TRIESTE

REPRODUCTIVE CYCLE OF NASSARIUS RETICULATUS *(L., 1758), GASTROPODA, PROSOBRANCHIA) IN THREE PLACES OF THE GULF OF TRIESTE*

Abstract

The reproductive cycle of Nassarius reticulatus *(Gastropoda, Prosobranchia) in three places in the Gulf of Trieste is here examined: Villaggio del Pescatore, Aurisina Filtri and San Bartolomeo. The reproductive activity is significantly different among the three places: maximum at Aurisina Filtri and minimum at San Bartolomeo. The histological analysis of the gonads shows that reproduction is contemporary for males and females, with maturity and spawning stages occurring in the year's cold months. During summer months, stages of end cycle and beginning of gametogenesis predominate.*

Key-words: Nassarius reticulatus*, Gastropoda, Prosobranchia, reproduction, histology.*

Introduzione

Nassarius reticulatus, animale eurialino ed euritermo, vive nei piani infralitorale e circalitorale, su fondali sabbiosi e fangosi. Il suo areale di distribuzione si estende dalle coste della Norvegia fino al Marocco, alle Canarie e Madeira, al Mare Mediterraneo e Mar Nero (Fretter e Graham, 1962; Poppe e Goto, 1991; Simunovic, 1995). Esso è oggetto di studi, soprattutto, quale bioindicatore d'inquinamento ambientale da organostannici, componenti dei prodotti antivegetativi usati come antifouling per chiglie di natanti e tubature. Questi composti inducono la mascolinizzazione degli organi genitali femminili, fenomeno noto come imposex o pseudoermafroditismo (Stroben *et al.,* 1992; Bryan *et al.,* 1993; Huet *et al.,* 1995; Brick e Deutch 1993; Brick *et al.,* 1996, 1996; Davies *et al.,* 1998). Un minor numero di lavori è incentrato invece sulla biologia generale di *N. reticulatus* ma fondamentali sono le ricerche di Fretter (1941), Fretter e Graham (1962), Payne e Crisp (1989), sull'anatomia, con particolare attenzione per i sistemi riproduttore e digerente; altri studi riguardano il ciclo ed il comportamento riproduttivo (Barnett *et al.,* 1980; Fretter, 1984; Barroso e Moreira, 1998) in diverse stazioni delle coste atlantiche europee. Mancano ricerche sulle popolazioni mediterranee di *N. reticulatus*, ad eccezione di alcune osservazioni in lavori di sistematica e di ecologia (Parenzan, 1970; D'Angelo e Gargiullo, 1978; Poppe e Goto, 1991; Simunovic, 1995; Vio e De Min, 1996). Pertanto è stato avviato uno studio sulla riproduzione e sulla biometria di *N. reticulatus* in tre stazioni del Golfo di Trieste. I risultati dello studio biometrico sono riferiti in un lavoro di Valli *et al.* (2001) mentre qui sono discussi quelli relativi al ciclo riproduttivo.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati in tre stazioni del Golfo di Trieste, dislocate da nord a sud: Villaggio del Pescatore, Aurisina Filtri e San Bartolomeo (Fig. 1). La stazione del Villaggio del Pescatore è caratterizzata da sedimenti sabbiosi e/o pelitico sabbiosi (Brambati e Catani, 1988; Marocco, 1989) e da una prateria a *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson. Tale zona risente degli apporti del fiume Isonzo, del Timavo e dello scarico di acqua calda della centrale termoelettrica di Monfalcone. La stazione di Aurisina Filtri è collocata all'interno del porticciolo, in una zona caratterizzata da calcari mesozoici, lembi di flysch (Brambati e Catani, 1988) e scarse sorgenti di acqua dolce nell'immediato sottocosta (Giaccone e Pignatti, 1967). Il fondale, costituito da sedimenti pelitico-sabbiosi (Brambati e Catani, 1988) è parzialmente ricoperto da una *facies* a *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson. Nella terza stazione, posta all'esterno del porticciolo di San Bartolomeo, il flysch affiora in condizioni pressoché naturali (Brambati e Catani, 1988) ed i depositi detritici sono immersi in una matrice fangosa che sovrasta limi continentali più consistenti. Anche tale zona è caratterizzata da una prateria di *C. nodosa* (Bressan, 1988; Falace, informazione personale) ed è interessata dalla presenza di alcuni rivoli di acqua dolce (De Min e Vio, 1997).

Gli esemplari di *N. reticulatus* sono stati prelevati mensilmente da marzo 1998 a marzo 1999.

Fig. 1 - Il Golfo di Trieste e le stazioni campionate.
The Gulf of Trieste and the sampling places.

Il giorno precedente il campionamento venivano immerse, in ciascuna stazione, tre nasse contenenti, quale esca, individui morti di *Sardina pilchardus*. Dalle centinaia di esemplari catturati ogni mese ne sono stati estratti, con i numeri casuali, 110 per stazione, su cui è stata effettuata l'indagine biometrica. Successivamente, da ciascun subcampione, sono stati estratti 20 animali per lo studio del ciclo riproduttivo. Su ogni

esemplare sono state misurate, con un calibro decimale, l'altezza, il diametro, lo stoma, l'ultimo giro della conchiglia (Fig. 2) e, con una bilancia analitica, è stato rilevato il peso totale sgocciolato. Per le successive analisi gli esemplari sono stati dapprima anestetizzati in acqua di mare e cloruro di magnesio e poi si è proceduto alla rottura delle conchiglie per mezzo di una morsa. Poi le parti molli sono state accuratamente separate dalla conchiglia, pesate e fissate in Bouin per 12 ore. Quindi, le parti molli sono state progressivamente disidratate in alcool, diafanizzate in toluene ed incluse in paraffina, per allestire sezioni spesse 6 μm che sono state colorate in Emallume Carazzi ed eosina-orange. Complessivamente sono state studiate le gonadi di 780 individui.

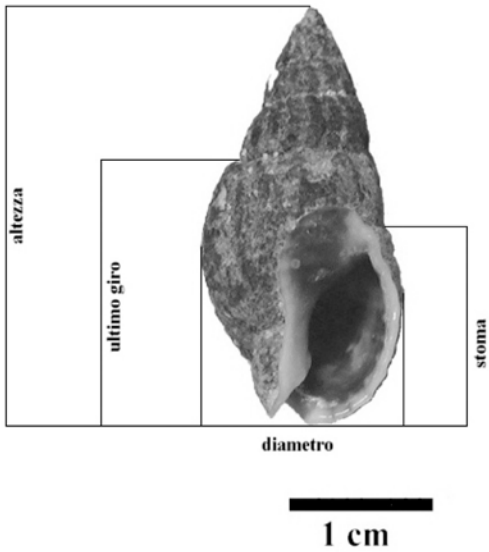


Fig. 2 - Misure biometriche rilevate sulla conchiglia.
Biometric measures detected on the shell.

Lo stadio istologico è stato determinato avvalendosi di una scala di maturità in sei stadi ed è stato calcolato l'indice gonadico di Seed (1980), uno stimatore sintetico della condizione gonadica mensile. Per il suo calcolo gli stadi vengono convertiti in ranghi, secondo la codifica presente in Valli *et al.* (1997/98): il valore dell'indice gonadico mensile può variare da un minimo di 0 (quando tutti gli animali sono in riposo sessuale) ad un massimo di 3 (quando tutti gli individui sono maturi).

I risultati dello studio istologico ed alcuni dati biometrici sono stati saggiati con la metodologia statistica; in particolare, sono state calcolate alcune statistiche generali ed effettuati alcuni test (Kruskal-Wallis, ρ di Spearman, Analisi discriminante stepwise), avvalendosi della libreria Statistica (2001). Inoltre sono state calcolate le percentuali dei sessi con i relativi intervalli fiduciali.

Risultati

N. reticulatus è un animale gonocorico. Le gonadi sono poste, in entrambi i sessi, nella porzione apicale del sacco dei visceri, a livello dell'epatopancreas e, quando

divengono ipertrofiche, tendono a circondarlo e ad infiltrarsi in esso. Esse sono formate da un insieme di follicoli immersi in un tessuto connettivo più o meno sviluppato in relazione inversa alla fase maturativa, ossia quando i follicoli aumentano di volume, il tessuto connettivo regredisce. Per tale motivo si è preferito fissare e sezionare porzioni estese delle parti molli in modo da poter seguire anche lo sviluppo o la regressione di altri organi e tessuti. Si è cioè evitato di isolare e fissare solo le gonadi, in base a distinzioni di colore che sono quasi sempre aleatorie e soggettive. Dall'analisi istologica delle gonadi, è emerso che tutti gli animali studiati erano adulti ed in Tab. 1 sono riportate alcune statistiche generali per ciascuna stazione.

Tab. 1 - Alcune statistiche generali relative agli esemplari delle tre stazioni.
Some general statistics about the samples of the three stations.

Villaggio del Pescatore					
	N	Media	Minimo	Massimo	Dev.St.
Altezza	260	2.108	1.13	3.09	0.297
Diametro	220	1.03	0.62	1.53	0.135
Stoma	220	1.157	0.63	1.61	0.159
Ultimo Giro	260	1.332	0.71	1.93	0.185
Peso Totale	260	1.241	0.24	3.33	0.464
Peso Conchiglia	260	0.72	0.11	1.87	0.269
Peso P. Molli	260	0.345	0.04	1.02	0.165

Aurisina Filtri					
	N	Media	Minimo	Massimo	Dev.St.
Altezza	879	2.132	0.36	3.7	0.825
Diametro	879	1.048	0.35	1.89	0.356
Stoma	879	1.161	0.35	1.92	0.401
Ultimo Giro	879	1.327	0.36	2.29	0.479
Peso Totale	890	1.636	0.05	5.59	1.316
Peso Conchiglia	470	1.068	0.06	3.16	0.723
Peso P. Molli	469	0.518	0.01	1.76	0.409

San Bartolomeo					
	N	Media	Minimo	Massimo	Dev.St.
Altezza	260	1.74	1.06	2.71	0.324
Diametro	220	0.89	0.6	1.89	0.148
Stoma	220	0.979	0.69	1.41	0.148
Ultimo Giro	260	1.089	0.63	1.62	0.2
Peso Totale	260	0.777	0.19	2.11	0.378
Peso Conchiglia	260	0.465	0.02	1.27	0.222
Peso P. Molli	260	0.196	0.02	0.64	0.125

Dall'esame delle sezioni istologiche, classificate secondo la seguente scala di maturità in 6 stadi, emerge che la maturazione dei gamenti procede contemporaneamente nei due sessi:

Stadio 0. E' lo stadio di riposo sessuale e macroscopicamente la gonade non è riconoscibile. Istologicamente, si possono osservare protogoni sparsi nel tessuto con-

nettivo ma non sono visibili i follicoli, oppure questi sono vuoti e non vi è traccia di gametogenesi (Fig. 3A).

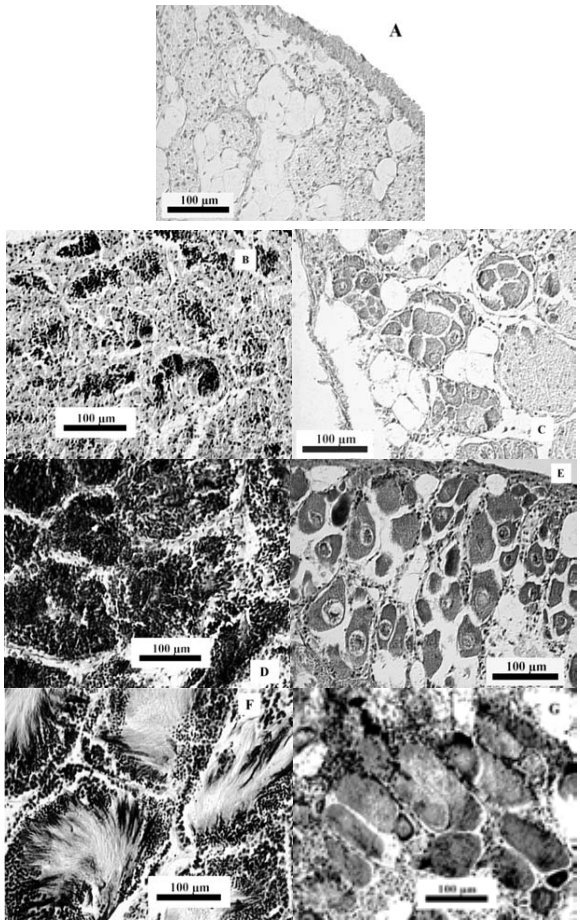


Fig. 3 - *Nassarius reticulatus*. (A) Stadio 0, fotomicrografia di una sezione di gonade in riposo sessuale; (B) Stadio 1, sezione di gonade maschile; (C) Stadio 1, sezione di gonade femminile; (D) Stadio 2, sezione di gonade maschile; (E) Stadio 2, sezione di gonade femminile; (F) Stadio 3, sezione di gonade maschile; (G) Stadio 3, sezione di gonade femminile.

Nassarius reticulatus. *(A) Stage 0, photomicrography of a section of gonad in spent phase; (B) Stage 1, section of a male gonad; (C) Stage 1, section of a female gonad; (D) Stage 2, section of a male gonad; (E) Stage 2, section of a female gonad; (F) Stage 3, section of a male gonad; (G) Stage 3, section of a female gonad.*

Stadio 1. Inizio della gametogenesi. In genere la gonade non è riconoscibile macroscopicamente. Istologicamente si notano piccoli follicoli maschili e femminili, talora più grandi ed appiattiti, variamente dispersi nel connettivo e contenenti cellule germinali nelle fasi iniziali della gametogenesi. I follicoli maschili presentano sperma-

togoni in mitosi, spermatociti in meiosi (Fig. 3B). Analogamente i follicoli femminili contengono oogoni od oociti primari e secondari e qualche oocita in previtellogenesi (Fig. 3C).

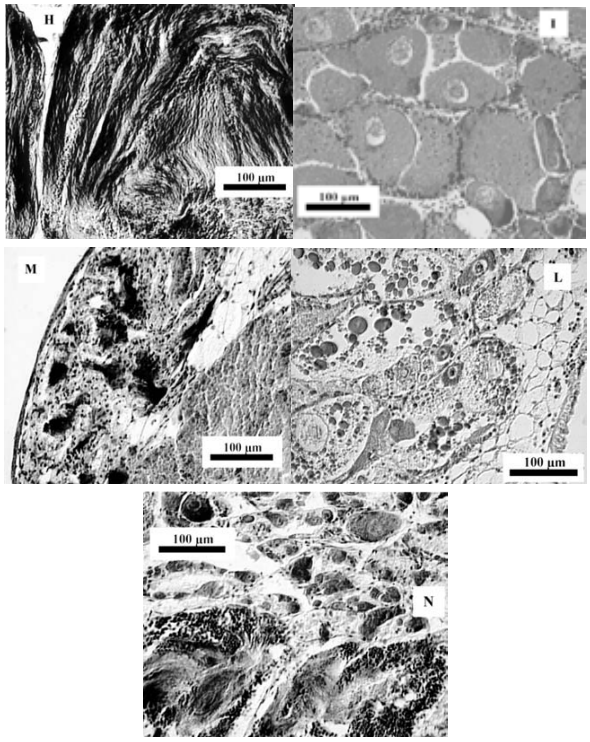


Fig. 3 - *Nassarius reticulatus.* (H) Stadio 4, sezione di gonade maschile; (I) Stadio 4, sezione di gonade femminile; (L) Stadio 5, sezione di gonade maschile; (M) Stadio 5, sezione di gonade femminile; (N) sezione di gonade ermafrodita.

Nassarius reticulatus. *(H) Stage 4, section of a male gonad; (I) Stage 4, section of a female gonad; (L) Stage 5, section of a male gonad; (M) Stage 5, section of a female gonad; (N) section of a hermaphrodite gonad.*

Stadio 2. Gametogenesi avanzata. La gonade è più sviluppata e può essere osservata macroscopicamente soprattutto nelle fasi terminali di questo stadio. Istologicamente, sia il testicolo che l'ovario presentano follicoli contenenti cellule germinali in attiva gametogenesi e sono rilevabili tutti gli stadi di sviluppo, mentre il tessuto connettivo fra i follicoli si riduce (Figg. 3D e 3E).

Stadio 3. Maturità sessuale. Macroscopicamente la gonade è ipertrofica. Istologicamente, sia il testicolo che l'ovario sono formati quasi interamente da follicoli dilatati pieni di gameti maturi, sebbene diverse cellule germinali immature permangano lungo le pareti dei follicoli (Figg. 3F e 3G).

Stadio 4. Emissione dei gameti. Macroscopicamente le gonadi, maschile e femminile, possono presentarsi ipertrofiche o parzialmente svuotate e collassate. Istologica-

mente, i follicoli maschili e femminili contengono gameti in fase iniziale o avanzata dell'emissione. In uno stesso individuo si possono osservare follicoli completamente pieni di gameti maturi accanto ad altri in emissione e ad altri ancora più piccoli con cellule immature (Figg. 3H e 3I).

Stadio 5. Macroscopicamente la gonade è più o meno ridotta. Istologicamente, i testicoli e gli ovari presentano follicoli ridotti e vuoti oppure contenenti gameti in fase più o meno avanzata di riassorbimento. Anche il tessuto connettivo è variamente sviluppato fra i follicoli. Questo stadio può corrispondere alla fine del ciclo, oppure essere seguito da ulteriori e più rapide gametogenesi che condurranno a nuove emissioni (Figg. 3L e 3M).

Nelle Figg. 4, 5 e 6 sono riportati gli istogrammi di frequenza degli stadi istologici per ciascuna stazione.

Stazione del Villaggio del Pescatore. In sintesi dal grafico in Fig. 3 emerge che gli stadi 0 e 5 si possono osservare in tutto il periodo di studio, con frequenze particolarmente elevate nel periodo marzo'98-settembre'98 e gennaio'99-marzo'99. Gli stadi della gametogenesi (stadio 1 e stadio 2) predominano nel periodo da settembre 1998 a dicembre 1998, sebbene percentuali modeste si possano osservare anche in altri mesi. La maturità (stadio 3) e l'emissione dei gameti (stadio 4) sono compresi nei mesi da novembre 1998 a marzo 1999.

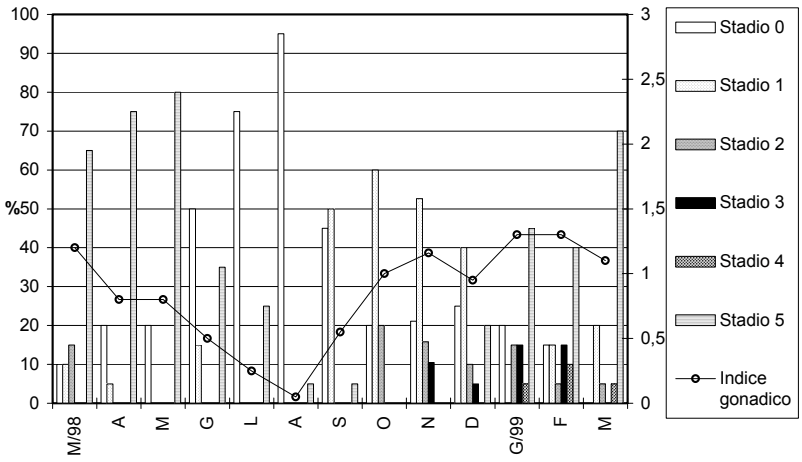


Fig. 4 - Villaggio del Pescatore: frequenza stadi istologici e indice gonadico in *Nassarius reticulatus* da marzo 1998 a marzo 1999.

Villaggio del Pescatore: frequency of the histological stages and gonad index in Nassarius reticulatus *from March 1998 to March 1999.*

Stazione di Aurisina Filtri. Dalla Fig. 5 si rileva che gli stadi 5 e 0 sono entrambi presenti in percentuali più o meno importanti da marzo '98 a luglio '98. Ma, mentre lo stadio 0 è presente in tutto il periodo di studio, salvo marzo '99, lo stadio 5 si ripresenta da dicembre '98 a marzo '99. Individui in maturità sessuale (stadio 3) e/o in emissione dei gameti (stadio 4) si osservano tra marzo '98 e maggio '98 e da novembre '98 a marzo '99.

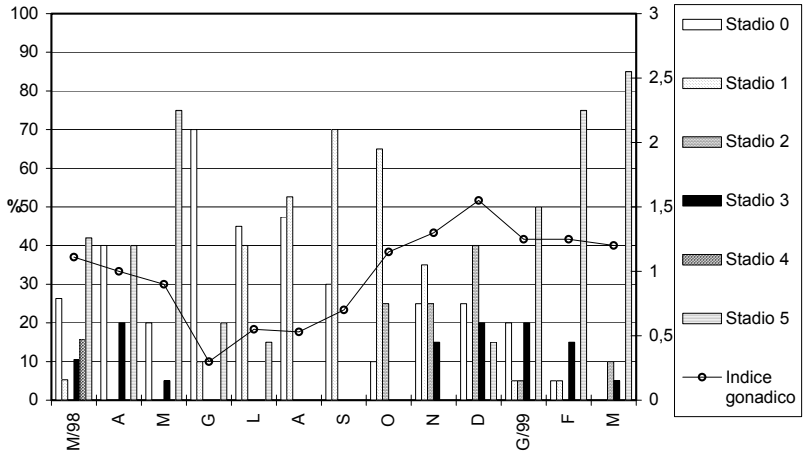


Fig. 5 - Aurisina Filtri: frequenza stadi istologici e indice gonadico in *Nassarius reticulatus* da marzo 1998 a marzo 1999.

Aurisina Filtri: frequency of the histological stages and gonad index in Nassarius reticulatus *from March 1998 to March 1999.*

Stazione di San Bartolomeo. Dalla Fig. 6 si osserva che gli stadi 5 e 0 sono presenti e, per lo più, prevalenti lungo tutto il periodo in esame. Lo stadio 1 si osserva in luglio '98, da settembre '98 a gennaio '99 ed in marzo '99, mentre lo stadio 2 da ottobre '98 a dicembre '98 ed in febbraio '99. Gli stadi 3 e 4 sono stati osservati rispettivamente solo in novembre '98 e marzo '99.

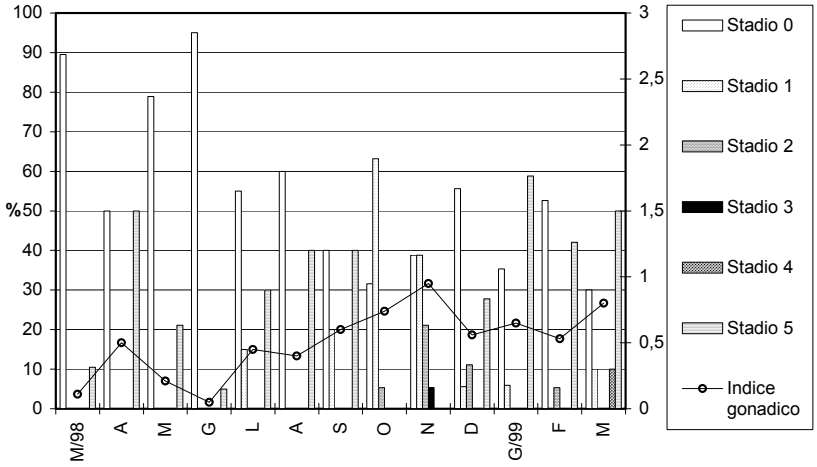


Fig. 6 - San Bartolomeo: frequenza stadi istologici e indice gonadico in *Nassarius reticulatus* da marzo 1998 a marzo 1999.

San Bartolomeo: frequency of the histological stages and gonad index in Nassarius reticulatus *from March 1998 to March 1999.*

Sugli stessi grafici delle Figg. 4, 5 e 6 sono tracciati gli andamenti dell'indice gonadico di Seed. Dal confronto delle tre serie di indici emergono differenze significative (test di Kruskal-Wallis) fra le stazioni Villaggio-San Bartolomeo ($\chi^2 = 5.340$ per $p < 0.05$) ed Aurisina-San Bartolomeo ($\chi^2 = 8.853$ per $p < 0.01$), ma non fra Villaggio ed Aurisina ($\chi^2 = 0.762$ per $p > 0.05$). Si rilevano, inoltre, correlazioni significative fra l'andamento degli indici gonadici della stazione centrale (Aurisina) con quello della stazione del Villaggio (ρ di Spearman $= 0.806$ per $p < 0.01$) e con quello di San Bartolomeo ($\rho = 0.674$ per $p < 0.01$), mentre non appaiono significativamente correlati gli andamenti delle due stazioni più lontane (Villaggio e San Bartolomeo, $\rho = 0.452$ per $p > 0.05$). La stazione di San Bartolomeo è contraddistinta dai valori più bassi dell'indice gonadico. In questa stazione sono stati osservati 11 individui, distribuiti in vari mesi, le cui gonadi sono interessate da sporocisti di Trematoda: in uno soltanto è ancora riconoscibile il sesso (maschile), mentre negli altri si è verificata una completa castrazione parassitaria. Nella stazione Villaggio del Pescatore, invece, è stato osservato un solo individuo affetto dalla stessa parassitosi ed in quella di Aurisina Filtri non ne è stato rilevato alcuno.

In Fig. 7 sono riportate le medie mensili della temperatura per l'intero Golfo di Trieste (Falace, 2001) e sono raggruppati i dati istologici delle tre stazioni in modo da offrire una sintesi dell'evoluzione del ciclo riproduttivo di *Nassarius reticulatus* del Golfo di Trieste. In tal modo si rileva che la gametogenesi (stadi 1 e 2) inizia in giugno e si protrae fino a dicembre; in concomitanza, la temperatura dell'acqua raggiunge i massimi annuali, per poi scendere. In dicembre, la temperatura diminuisce ulteriormente fino a febbraio, mese in cui si registrano i valori minimi annuali. In questo periodo, gli animali raggiungono la maturità sessuale ed iniziano l'emissione dei gameti. A partire da marzo, la temperatura inizia a salire, mentre gli animali proseguono le emissioni, verosimilmente sostenute da ulteriori e più rapide gametogenesi (tali da sfuggire, per lo più, all'osservazione diretta, stante la frequenza mensile del campionamento).

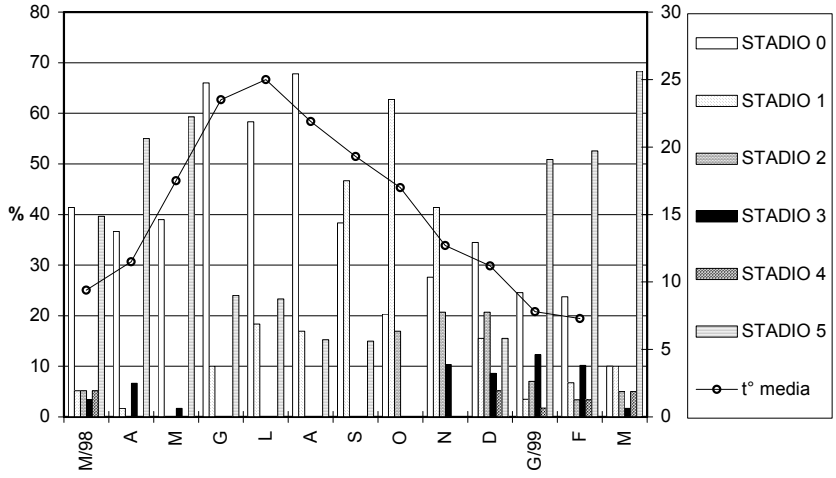


Fig. 7 - Sintesi del ciclo riproduttivo in *Nassarius reticulatus* e temperature medie mensili nel Golfo di Trieste da marzo1998 a marzo 1999.

Synthesis of the reproductive cycle in Nassarius reticulatus *and monthly average temperatures in the Gulf of Trieste from March 1998 to March 1999.*

Tuttavia, importanti aliquote raggiungono lo stadio 5, corrispondente alla fine del ciclo ed altri sono già entrati in riposo sessuale (stadio 0), che prosegue divenendo lo stadio dominante da giugno ad agosto.

Per quanto riguarda il rapporto sessi, nella stazione del Villaggio del Pescatore, il sesso è riconoscibile in 175 esemplari su 260: i maschi sono 63 (36.0%), le femmine 112 (64.0%) e l'intervallo entro cui la percentuale dei maschi può cadere è: $36.0 \pm 2 \times 3.63$ per $p = 0.95$. Invece, nella stazione di Aurisina Filtri, il sesso è riconoscibile in 165 individui su 260: i maschi sono 93 (56.36%), le femmine 72 (43.64%) e l'intervallo fiduciale dei maschi è $56.36 \pm 2 \times 3.86$ per $p = 0.95$. Infine, nella stazione di San Bartolomeo, il sesso è riconoscibile in 114 individui su 260: i maschi sono 19 (16.67%), le femmine 95 (83.33%) e l'intervallo fiduciale $16.67 \pm 2 \times 3.41$ per $p = 0.95$.

Nella stazione di Aurisina Filtri, è stato osservato un singolo individuo ermafrodita (Fig. 3N).

Mediante l'Analisi discriminante stepwise, è stata saggiata l'eventualità di dimorfismo sessuale, utilizzando i dati biometrici degli stessi animali oggetto dell'analisi istologica. La distinzione dei due sessi su base biometrica è però improponibile, almeno con le variabili di più immediata assunzione, perché la probabilità di errore è troppo elevata (42%).

Conclusioni

Dall'esame della letteratura si deduce che il periodo riproduttivo di *N. reticulatus* e la sua durata differiscono nelle diverse stazioni delle coste atlantiche. In particolare Fretter (1984) riporta che *N. reticulatus* si riproduce fra marzo ed agosto presso Plymouth, fra gennaio e maggio presso Kiel, e fra aprile e luglio-agosto presso Isefjord (Danimarca). Allen (1962 in Barnett *et al.,* 1980) osserva che presso Firth of Clyde (Scozia occidentale) la riproduzione avviene fra maggio e luglio; infine Barroso e Moreira (1998) riferiscono che nel Ria de Aveiro (Portogallo) il periodo riproduttivo va da febbraio-marzo a luglio, a seconda dell'anno considerato.

Per quanto riguarda il Golfo di Trieste, il periodo di maturità sessuale (stadi 3 e 4) si estende da novembre a maggio per la stazione di Aurisina Filtri, da novembre a marzo per la stazione del Villaggio del Pescatore e, si limita ai soli mesi di novembre e marzo per quella di San Bartolomeo, località nella quale l'attività riproduttiva ha un'intensità minore rispetto alle altre due stazioni. Va altresì osservato che l'indice gonadico è un parametro sintetico che non esprime univocamente l'attività riproduttiva, infatti lo stadio 5 (che segue lo stadio 4, di emissione) non necessariamente precede lo stadio 0 (riposo sessuale), perché possono intervenire delle gametogenesi più rapide e nuove emissioni se il periodo è favorevole. Pertanto, nel mese successivo, gli animali possono ancora ripresentarsi nello stadio 5, ma gli eventi intervenuti nel periodo intercorso possono sfuggire a causa della frequenza mensile del campionamento. D'altra parte, anche dall'esame degli istogrammi emerge che la riproduzione all'interno della popolazione non è sincrona e uno stesso animale può emettere gameti più volte nell'ambito dello stesso periodo riproduttivo. Quindi un possibile sviluppo di questa ricerca potrebbe essere quello di limitare lo studio ad un periodo più ristretto (fra novembre e maggio) accrescendo, nel contempo, la frequenza dei prelievi.

Il diverso comportamento riproduttivo degli animali delle tre stazioni trova riscontro anche nello studio biometrico di *N. reticulatus* (Valli *et al.,* 2000-2001) che distingue tre differenti popolazioni statistiche. Gli esemplari di Aurisina Filtri, infatti, sono

significativamente più grandi di quelli del Villaggio del Pescatore che, a loro volta, hanno taglia maggiore di quelli provenienti da San Bartolomeo. E' noto che sia i cicli riproduttivi che la crescita sono condizionati da fattori endogeni ed esogeni che ne modulano l'andamento. Le tre stazioni studiate sono, del resto, caratterizzate da condizioni ecologiche differenti (salinità, temperatura, esposizione ai venti dominanti) (Giaccone e Pignatti, 1967; Brambati e Catani, 1988; Bressan, 1988; Marocco, 1989; De Min e Vio, 1997; Falace, comunicazione personale; Fonda *et al.,* comunicazione personale; Stravisi *et al.,* 1999; Stravisi e Bussani, 2000) che esercitano la loro influenza nel determinare tre differenti popolazioni di *N. reticulatus* (Valli *et al.,* 2000-2001).

Fra i fattori esogeni, la temperatura riveste un ruolo importante. Barroso e Moreira (1998) sostengono che l'emissione dei gameti in *N. reticulatus* sia soggetta a variazioni in relazione alla posizione geografica e citano Tallmark (1980) che rileva, sperimentalmente, come la temperatura sia un fattore scatenante per l'emissione dei gameti in un intervallo compreso fra 10 e 12 °C, mentre Barnett (1972, in Lambeck, 1984) osserva, per le acque scozzesi, un intervallo compreso fra 8 e 9 °C. Lambeck (1984), invece, riporta un intervallo di temperature più ampio, compreso fra 6.5 e 9 °C. L'inizio dell'emissione sarebbe associata, secondo Barroso e Moreira (1998) ad un aumento della temperatura delle acque. Al contrario, in *N. reticulatus* del Golfo di Trieste, in tutte e tre le stazioni, la maturità sessuale e l'emissione dei gameti avvengono nei mesi autunno-invernali, quando la temperatura dell'acqua va progressivamente diminuendo da circa 14-15 °C di novembre fino a un minimo di 7 °C di febbraio-marzo per poi concludersi in maggio con temperature intorno ai 15-16 °C. L'aumento della temperatura coincide con la conclusione del ciclo e l'entrata in riposo sessuale. Successivamente, mentre la temperatura sale, inizia la gametogenesi che preannuncia un nuovo ciclo.

Per quanto riguarda i parassiti di *N. reticulatus,* Barroso e Moreira (1998) notano la presenza di Trematoda principalmente nei mesi da novembre a gennaio. Anche nel presente studio sono stati riscontrati diversi esemplari infestati da sporocisti di Trematoda, che ne hanno causato la castrazione, ma per un periodo più esteso, da ottobre a maggio, nella stazione di San Bartolomeo. Proprio l'elevata presenza di parassiti in questa stazione può essere annoverata fra le cause della ridotta attività riproduttiva evidenziata dai minori valori dell'indice gonadico.

Infine, il solo metodo sicuro per distinguere gli individui dei due sessi è di ricorrere all'analisi istologica, a condizione che la gonade non sia in riposo sessuale. Una distinzione su base biometrica è improponibile, data l'elevata percentuale di errore; neppure l'osservazione macroscopica dell'apparato riproduttore è d'aiuto a causa dell'eventualità di imposex. L'esame a fresco, per schiacciamento, di puntati della gonade è anch'esso impreciso, poiché la gonade non matura simultaneamente in tutti i distretti e comunque, il riconoscimento del sesso presuppone il raggiungimento di un certo livello di maturazione.

In conclusione, *N. reticulatus* del Golfo di Trieste può essere compreso fra gli animali aventi strategia riproduttiva di tipo r, ossia che attuano un grande sforzo riproduttivo, come, tra i Prosobranchia, *Monodonta turbinata* (Born, 1778), *Patella caerulea* (L., 1758) e *Gibbula divaricata* (L., 1758) (Valli, *et al.*, 1977; Valli, *et al.*, 1997/98a; Valli, *et al.*, 1997/98b). Questa strategia è la risposta specifica per la sopravvivenza negli ambienti severi dei piani infralitorale e circalitorale, per le forme giovanili che sono soggette ad una elevata mortalità (fase planctonica e primo insediamento sul fondo). Gli adulti, invece, sono da annoverare fra gli organismi più resistenti.

Summary

The reproductive cycle of *Nassarius reticulatus* (Gastropoda, Prosobranchia) in three places in the Gulf of Trieste is here examined: Villaggio del Pescatore, Aurisina Filtri and San Bartolomeo. The reproductive activity is significantly different among the three places: maximum at Aurisina Filtri and minimum at San Bartolomeo. The histological analysis of the gonads shows that reproduction is contemporary for males and females, with maturity and spawning stages occurring in the year's cold months. During summer months, stages of end cycle and beginning of gametogenesis predominate.

Bibliografia

BARNETT P.R.O., HARDY B.L.S., WATSON J. (1980) - Substratum selection and egg-capsule deposition in *Nassarius reticulatus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **45**: 95-103.

BARROSO C.M., MOREIRA M.H. (1998) - Reproductive cycle of *Nassarius reticulatus* in the Ria de Aveiro, Portugal: implications for imposex studies. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **78**: 1233-1246.

BRAMBATI A., CATANI G. (1988) - Le coste e i fondali del Golfo di Trieste dall'Isonzo a Punta sottile: aspetti geologici, geomorfologici, sedimentologici e geotecnici. *Hydrores Inf.*, **5** (6): 13-28.

BRESSAN G. (1988) - Appunti sulla fattibilità di una barriera artificiale sommersa nel Golfo di Trieste: processi di colonizzazione e fitocenosi guida. *Hydrores Inf.*, **5** (6): 47-56.

BRICK M., DEUTSCH U. (1993) - Ultrastructural investigations of the penis epithelia cells of three neogastropods, collected from TBT (tributyltin)-polluted areas. *Aquatic Toxicology*, **27**: 113-132.

BRICK M., DEUTSCH U., FIORONI P. (1996) - Cellular effects of tributyltin (TBT) on the penis epithelium cells of Prosobranchs (*Hinia reticulata* and *Ocinebrina aciculata*). *Helg. Meeresuntersuchungen*, **50**: 319-325.

BRYAN G.W., BURT G.R., GIBBS P.E., PASCOE P.L. (1993) - *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *J.Mar.Biol.Ass.U.K.*, **73**: 913-929.

D'ANGELO G., GARGIULLO S. (1978) - *Guida alle conchiglie mediterranee. Conoscerle, cercarle, collezionarle*. Fabbri Ed. ristampa 1981: 223 pp.

DAVIES I.M., BAILEY S.K., HARDING M.J.C. (1998) - Tributyltin inputs to the North Sea from shipping activites, and potential risk of biological effects. *Ices J. Mar. Sc.*, **55**: 34-43.

DE MIN R., VIO E. (1997) - Molluschi conchiferi del litorale sloveno. *Annales*, **11**: 241-257.

FALACE A. (2001) – Variazioni fisionomiche spazio temporali della vegetazione sommersa del Golfo di Trieste: analisi delle principali influenze ambientali. *Tesi di Dottorato*. Università di Trieste.

FRETTER V. (1941) - The genital ducts of some british Stenoglossan Prosobranchs. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **25**: 173-211.

FRETTER V., GRAHAM A. (1962) - *British Prosobranch Molluscs*. Ray Soc.: 755 pp.

FRETTER V. (1984) – In: Wilbur K.M. *The Mollusca*, Vol 7 Reproduction. Ed. Tompa A.S., Verdonk N.H., Van Den Biggelaar J.A.M., *Acad.Press*: 1-45.

GIACCONE G., PIGNATTI S. (1967) - La vegetazione del Golfo di Trieste. *Nova Thalassia*, **3** (2): 1-28

HUET M., FIORONI P., OEHLMANN J., STROBEN E. (1995) - Comparison of imposex response in three Prosobranchs species. *Hydrobiologia*, **309**: 29-35.

LAMBECK R.H.D. (1984) - Dynamics, migration and growth of *Nassarius reticulatus* (Mollusca: Prosobranchia) colonizing saline Lake Grevelingen (SW Netherlands). *Neth. J. Sea Res.*, **18** (3-4): 395-417.

MAROCCO R. (1989) - Lineamenti geomorfologici della costa e dei fondali del Golfo di Trieste e considerazioni sulla loro evoluzione Tardo-Quaternaria. *Int. J. Speleol.*, **18** (3-4): 87-110.

PARENZAN P. (1970) - *Carta d'identità delle Conchiglie del Mediterraneo*. Vol.1. Gasteropodi. Bios. Taras.: 283 pp.

PAYNE C.M., CRISP M. (1989) - Ultrastructure and histochemistry of the posterior oesophagus of *Nassarius reticulatus* (LINNAEUS). *J. Moll. Stud.*, **55**: 313-321.

POPPE G.T., GOTO Y. (1991) - *European seashells*. Ed. Verlag Christa Hemmen, **1**: 352 pp.

SEED R. (1980) - Reproduction and growth in *Anomia ephippium* (L.) (Bivalvia: Anomiidae) in Strangford Lough, Northern Ireland. *J. Conch.*, **30**: 239-245.

SIMUNOVIC A. (1995) - Ecological study of Prosobranchiata (Gastropoda) in the eastern part of the Adriatic Sea and their relationship to benthic biocenoses. *Acta Adriatica*, **36** (1/2): 3-162.
STATISTICA (2001) - Statistica, System Reference, Version 6.0, StatSoft, Inc: 1098 pp.
STRAVISI F., BUSSANI A., ODORICO R. (1999) - Registrazione della temperatura del mare in tre stazioni del Golfo di Trieste 1997-98. *Hydrores Inf.*, **16** (17 bis): 1-63.
STRAVISI F., BUSSANI A. (2000) - Registrazione della temperatura del mare in funzione della profondità al porto di Aurisina (1999). *Hydrodes Inf.*, **17** (19): 1-16.
STROBEN E., OEHLMANN J., FIORONI P. (1992) - The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): a potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.*, **113**: 625-636.
TALLMARK B. (1980) - Population dynamics of *Nassarius reticulatus* (Gastropoda, Prosobranchia) in Gullmar Fjord, Sweden. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **3** (1): 51-62.
VALLI G., BETTOSO N., ZENNARO C. (1997/98)a - Aspetti del ciclo riproduttivo e della biometria in *Patella caerulea* L. (Gastropoda, Docoglossa) del Golfo di Trieste. *Boll. Soc. Adr. Sc.*, **78**: 389-411.
VALLI G., BUSETTO E., BORGESE E. (2000-2001) - Aspetti della biometria di *Nassarius reticulatus* (L.) (Gastropoda: Prosobranchia) di tre stazioni del Golfo di Trieste. *Boll. Soc. Adr. Sc.*, **83**: 59-74.
VALLI G., NODARI P., VIO E. (1977) - Aspetti della riproduzione e biometria in *Monodonta turbinata* (BORN) del Golfo di Trieste. *Boll. Soc. Adr. Sc.*, **61**: 61-86.
VALLI G., VIO E., ANDRI M., PUZZER D. (1997/98)b - Riproduzione ed aspetti della biometria di *Gibbula divaricata* (L.) (Mollusca, Gastropoda) nell'Alto Adriatico. *Boll. Soc. Adr. Sc.*, **78**: 413-436.
VIO E., DE MIN R. (1996) - Contributo alla conoscenza dei molluschi marini del Golfo di Trieste. *Atti Mus. Civ. Stor. Nat. Trieste*, **47**: 173-233.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 203-209

F. Gelli, A.M. Cicero[1], P. Melotti[2], A. Roncarati[2], L. Pregnolato, F. Savorelli[1], D. Palazzi, G. Casazza[3]

Agenzia Regionale per la Prevenzione e l'Ambiente dell'Emilia Romagna, Sez. di Ferrara, Corso Giovecca, 169 – 44100 Ferrara, Italia.
[1]I.C.R.A.M., Roma, Italia.
[2]C.U.R.D.A.M., Università di Camerino, Italia.
[3]A.P.A.T., Roma, Italia.

RIPRODUZIONE CONTROLLATA DEL LATTERINO (*ATHERINA BOYERI* RISSO, 1810) MEDIANTE CONDIZIONAMENTO ECOFISIOLOGICO

*CONTROLLED REPRODUCTION OF SAND SMELT (*ATHERINA BOYERI *RISSO, 1810) BY MEANS OF ECOPHYSIOLOGICAL INDUCTION

Abstract

*An experimental protocol for the induction of reproduction in the sand smelt (*Atherina boyeri *Risso, 1810; Teleostei: Atherinidae) under controlled conditions was carried out in order to obtain larvae and juveniles of this species throughout the year. The influence of water temperature and photoperiod on reproduction was investigated. Results showed that the long photoperiod (16 h L: 8 h D) plays the most important role on female gonadic maturation compared to temperature parameter. The embryogenesis and larval morphology were also studied.*

Key-words: Atherina boyeri*, reproduction, spawning, test organisms.*

Introduzione

Il latterino (*Atherina boyeri* Risso, 1810) è un piccolo pesce autoctono appartenente all'ordine degli Ateriniformi (Tortonese, 1985) ed alla famiglia degli *Atherinidae*. Questa specie ha un elevato grado di variabilità e, per questo motivo, ha ricevuto una serie di nomi che oggi si ritengono sinonimi di *boyeri*. Recenti studi di tipo elettroforetico hanno confermato, anche a livello di genere, la presenza di sole tre specie di *Atherina* diffuse nel bacino del Mediterraneo: *A. boyeri*, *A. presbiter* e *A. hepsetus* (Creech, 1991).

La specie è caratterizzata da corpo slanciato, leggermente compresso in senso laterale, ricoperto di squame cicloidi; la livrea presenta colore grigio-verde, con strisce argentee e punteggiatura al di sotto delle strie laterali; il capo ottuso presenta bocca supera, con mandibola prominente. La prima pinna dorsale ha inizio sotto la parte terminale delle pettorali; la distanza tra le due dorsali risulta pressoché uguale al diametro oculare che, a sua volta, è uguale o maggiore della regione preorbitale. La specie è molto comune lungo tutti i litorali italiani, nelle acque estuariali e nelle lagune salmastre dell'alto Adriatico; tuttavia, si osservano alcune popolazioni che si sono adattate all'ambiente dulciacquicolo come quelle presenti nelle acque del Lago Trasimeno (Mantilacci *et al*., 1990) e dei laghi vulcanici dell'Italia centrale (Gandolfi *et al*., 1991).

Negli adulti non si evidenzia dimorfismo sessuale; i maschi raggiungono la maturità sessuale a 1-2 anni di vita mentre le femmine al raggiungimento di una lunghezza di 34-40 mm (Creech, 1992). L'epoca di riproduzione inizia nel periodo primaverile-

estivo, sia in acque dolci che salmastre e marine, e si prolunga sino all'autunno. Per quanto riguarda la frequenza di deposizione, per ogni anno si è registrato un unico chiaro picco stagionale. Le uova deposte risultano ricoperte di filamenti attraverso i quali aderiscono al substrato. La durata della vita del latterino è di 2-3 anni.

Il presente lavoro si è posto l'obiettivo di elaborare un protocollo per l'induzione della deposizione controllata di *A. boyeri* allo scopo di rendere disponibili gli stadi larvali ed i giovanili di questa specie in periodi dell'anno diversi da quelli corrispondenti alla riproduzione naturale, e destinarli ad un utilizzo nei test ecotossicologici. L'interesse degli autori nei confronti di questo pesce è legato al fatto che *A. boyeri* potrebbe essere un valido candidato per lo svolgimento di saggi di tossicità in ambiente marino; gli organismi nazionali ufficialmente preposti (A.P.A.T., I.C.R.A.M.) propongono, infatti, di monitorare nuove specie da impiegarsi come organismi test nei programmi di tutela ambientale delle zone lagunari e costiere (D. L.vo 11 maggio 1999, n. 152).

Materiali e metodi

Per le prove sono stati impiegati 300 riproduttori di latterino, equamente ripartiti in sei acquari, della capacità unitaria di 120 l, mantenendo la temperatura e la salinità delle acque su valori costanti di 15 ± 1 °C e 22 ± 1 ppt rispettivamente e condizioni di fotoperiodo breve pari a 10 ore di luce (L) e 14 ore di buio (B). Dopo un periodo di ambientamento (10 giorni), durante il quale si è provveduto alla somministrazioni di alimenti naturali freschi (naupli e metanaupli di *Artemia salina*) ed al graduale svezzamento con mangime (prot. 54%, lip. 18% s.s.), si è proceduto all'analisi delle gonadi femminili rilevandone lo stato di maturità ed il diametro degli ovociti.

I sei acquari, suddivisi a due a due, sono stati assegnati a tre tesi (A, B, C) in cui i pesci sono stati sottoposti ad un differente programma di condizionamento ecofisiologico basato sulla variazione temporale della durata di luce e della temperatura delle acque. La tesi A ha previsto il mantenimento del fotoperiodo iniziale (10 h L: 14 h B) ed il graduale innalzamento della temperatura da 15 a 20 °C nell'arco di due settimane. Nella tesi B si è proceduto all'incremento della durata del giorno che, nell'arco di 2 settimane, è arrivata a 16 ore di luce mentre la temperatura non ha subito modificazioni (15±1 °C). Nella tesi C ha avuto luogo un graduale e contemporaneo innalzamento delle due variabili che, nel corso di due settimane, sono state portate rispettivamente a 20 °C e 16 h L: 8 h B.

Durante il giorno, i pesci erano esposti ad una intensità luminosa di 1.000 lux sul pelo d'acqua. La salinità è stata mantenuta a 22±1‰ in tutte le tesi. Nel corso della prova, i pesci hanno proseguito il programma alimentare adottato nella fase di ambientamento alla razione giornaliera del 2% p.v.

Dopo 15 e 21 giorni dall'avvio del condizionamento sono state eseguite opportune verifiche sullo stadio di sviluppo follicolare mediante biopsia ovarica. I soggetti maturi provenienti da ciascuna tesi sono stati sottoposti a spremitura e le uova deposte sono state fecondate in un cristallizzatore contenente acqua salata. Le uova sono state trasferite in appositi apparati di incubazione avendo cura di mantenere distinti i lotti provenienti dalle diverse tesi. Tali apparati erano costituiti da vasche tronco-coniche, della capacità unitaria di 15 l, in cui era immersa una rete di nylon (50 μm) che fungeva da supporto per le uova stesse. Durante questa fase, è stato eseguito un controllo quotidiano delle uova asportando quelle infeconde. Su ogni gruppo di uova sono stati rilevati la percentuale di fecondazione, il diametro, la durata dell'incubazione, il tasso di schiusa e la lunghezza delle larve. Sul lotto di uova che ha evidenziato i migliori

risultati in termini di qualità (tasso di fertilizzazione e schiusa) sono state condotte osservazioni sui vari stadi di sviluppo embrionale al microscopio binoculare a cui è stata collegata una camera digitale Olympus mediante la quale è stato possibile effettuare un'ampia sequenza fotografica.

Risultati

Dalle prove condotte è emerso che il fotoperiodo lungo esercita un ruolo determinante nella maturazione delle gonadi indipendentemente dalla temperatura; infatti, sia le femmine che i maschi delle tesi B e C hanno risposto positivamente al programma di condizionamento (Tab. 1). Queste due tesi hanno fornito i migliori risultati anche in termini di fecondità che, tuttavia, è risultata significativamente inferiore a quella rilevata su femmine della laguna di Bardawil (costa meridionale del Sinai) che, all'inizio della stagione di deposizione, hanno evidenziato un numero medio di 522 uova/femmina (Gon e Ben-Tuvia, 1983).

Tab. 1 – Parametri rilevati nel corso della riproduzione di *A. boyeri.*
Parameters recorded during the A. boyeri *reproduction.*

	A	**B**	**C**
Totale femmine trattate (n°)	54	52	54
Totale maschi trattati (n°)	46	48	46
Femmine con gonadi mature (%)	5	51	50
Maschi con gonadi mature (%)	35	75	74
Fecondità assoluta (n° uova/femmina)	85	105	100
Tasso di fertilizzazione (%)	80	78	80
Diametro uova (mm)	1,30±0,2	1,20±0,4	1,45±0,3
Tasso di schiusa (%)	80	32	80
Durata dell'incubazione (gg.)	10	18	10
Lunghezza larva alla schiusa (mm)	6,2±0,9	6,2±1,5	6,4±1,1
Avvio alimentazione esogena (gg.)	2	2	2

Sulla durata dell'incubazione e sul tasso di schiusa ha inciso maggiormente la temperatura incrementata a 20 °C nelle tesi A e C, a conferma di dati da noi ottenuti in test svolti precedentemente (Melotti *et al*., 1999).

Sulla tesi C sono state effettuate osservazioni istologiche preliminari sulle gonadi di latterini di diversa età e sui diversi stadi embrionali osservati in uova fecondate artificialmente ed incubate alla temperatura di 20 ± 1 °C.

Il testicolo è risultato costituito da tessuto follicolare mentre l'ovario era formato da un'unica struttura connettivale assiale centrale a cui erano adese, come in un lungo grappolo, tutte le uova a diversi stadi di maturazione. Sono stati osservati 6 differenti livelli di sviluppo di cellule uovo. In ovari immaturi sono stati riconosciuti i primi 4 stadi, mentre in ovari in più avanzato grado di maturazione è stato possibile riscontrare ovociti in tutte le fasi di maturazione. In particolare in tutti gli ovari esaminati, anche in quelli in fase di maturazione avanzata, sono stati osservati diversi oogoni

ancora immersi nel tessuto connettivo centrale. Sulla base delle osservazioni condotte, si può affermare che, a deposizione avvenuta, sono queste cellule ad andare incontro a proliferazione allo scopo di ripristinare la popolazione gametica di partenza. Nel corso della vitellogenesi è stata evidenziata una spessa stratificazione di cellule che circondavano l'uovo; questa teca potrebbe essere responsabile della formazione dei lunghi filamenti che avvolgono la capsula dell'uovo pronto per la deposizione.

L'uovo di latterino, poco prima della fecondazione, presenta forma sferica, colore giallo paglierino, lievemente opaco per la natura della capsula che è molto spessa; il vitello si presenta omogeneo con numerose gocce oleose incolori disposte a piccoli gruppi; la capsula è guarnita di filamenti lunghi e sottili, ugualmente distribuiti su tutta la superficie, per mezzo dei quali l'uovo è fissato ai corpi sommersi. Dopo 2 ore dalla fecondazione, lo sviluppo procede rapidamente con la formazione di un blastodisco al polo animale e si assiste al progressivo raggruppamento delle gocce lipidiche al polo vitellino. Già dopo 24 ore il blastodisco inizia a differenziarsi in una struttura cilindrica allungata, distesa lungo una scanalatura, ben distinta del vitello. Lo sviluppo degli occhi e del sacco uditorio si evidenzia a partire dal 2° giorno parallelamente allo sviluppo dei melanofori nella parte posteriore dell'embrione. A partire da questo momento si assiste allo sviluppo del sistema vascolare sopra il sacco vitellino ed alla comparsa di 5-6 piccoli melanofori disposti sul vitello. Al 5° giorno gli occhi iniziano a pigmentarsi e si notano i melanofori a livello sopra-orbitale ed occipitale nella loro forma caratteristica. Dopo 8 giorni l'embrione ha raggiunto dimensioni tali da creare nell'uovo una spirale superiore al singolo giro di circonferenza; il battito cardiaco è ben evidente ed il sacco vitellino appare dimezzato rispetto al suo diametro originale; i suoi movimenti all'interno dell'uovo si fanno accelerati e si osservano vigorosi scatti delle pinne pettorali. Si è inoltre riscontrato un movimento indipendente degli occhi. Alla schiusa, la larva ha riassorbito tutto il sacco vitellino e presenta l'intestino corto e sferico mentre l'ano è posizionato ad un quarto della lunghezza del corpo.

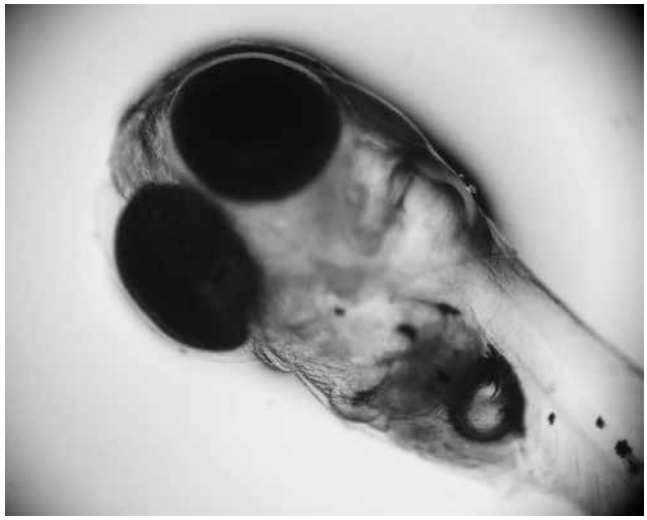


Fig. 1 – Riempimento della vescica natatoria in larva di latterino di 3 giorni di età: prima fase.
Swim bladder inflation in sand smelt larvae (3 days old): first phase.

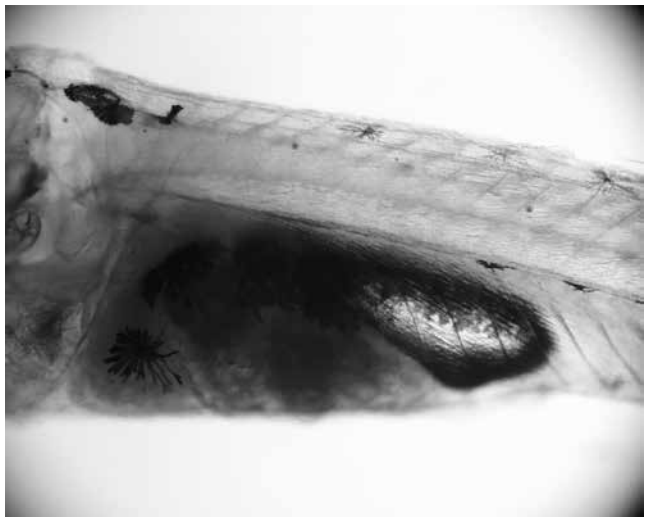


Fig. 2 – Riempimento della vescica natatoria in larva di latterino di 6 giorni di età: seconda fase.
Swim bladder inflation in sand smelt larvae (6 days old): second phase.

I rilievi biometrici delle larve a partire da due giorni dopo la schiusa hanno evidenziato come a 7 giorni di vita (età ottimale per l'avvio di test ecotossicologici) il peso medio sia 160 mg e la lunghezza totale media pari a 8,8 mm. A 12 giorni le larve raggiungono mediamente i 280 mg di peso e 11,4 mm di lunghezza. Per quanto riguarda la formazione della vescica natatoria, sono state identificate due fasi di riempimento di quest'organo, assimilabili a quelle osservate sull'orata da Chatain (1986). Nella prima fase (larva di 3 giorni di età), è stato possibile riconoscere uno stato primordiale ed uno espanso, mentre nella seconda fase (larva di 6 giorni di età) è comparsa nella vescica una seconda bolla di gas, più piccola della prima e situata dietro alla stessa, che rapidamente si fonde sino ad assumere una forma allungata in senso antero-posteriore (Figg. 1, 2).

Conclusioni

Le prove sperimentali effettuate su *A. boyeri* hanno confermato la sostanziale possibilità di riprodurre la specie ed allevare larve e giovanili in condizioni controllate. Fino ad oggi i tentativi di riproduzione effettuati sul latterino riguardavano la deposizione spontanea in acquario o la fecondazione artificiale di soggetti pescati in natura durante il periodo riproduttivo ed a maturazione gonadica raggiunta. La sperimentazione condotta ha portato alla messa a punto di una tecnica idonea a riprodurre la specie in ambiente controllato attraverso la manipolazione dei soli parametri ambientali (fotoperiodo e temperatura). E' stato, inoltre, possibile studiare lo sviluppo embrionale dell'uovo che ha trovato molte similitudini con i dati e le osservazioni riportate in letteratura per specie congeneri (Spartà, 1942; Bamber *et al.*, 1985).

I risultati acquisiti appaiono di fondamentale importanza poiché da essi dipende la disponibilità degli stadi larvali necessari per la messa a punto di una metodologia

atta all'esecuzione di saggi di ittiotossicità in acque marine e salmastre. Sulla base del lavoro svolto e delle informazioni acquisite nel biennio precedente (Gelli *et al.*, 2001; Roncarati *et al.*, 2001) è stato possibile evidenziare come il condizionamento ecofisiologico consenta di sincronizzare l'emissione delle uova e quindi l'ottenimento di stadi larvali e giovanili durante l'intero arco dell'anno. Tra i requisiti che gli organismi devono presentare per essere utilizzati come organismi test vi è innanzitutto l'ampia disponibilità e reperibilità di soggetti di taglia idonea su tutto l'arco dell'anno. Il latterino, essendo una specie ittica autoctona particolarmente importante per gli ambienti salmastri, appare pienamente rispondente a questi criteri.

Summary

The research aimed at optimizing a protocol for the induction of spawning in controlled conditions in *Atherina boyeri* Risso, 1810 in order to get availability the larval stages and juveniles of this species throughout the year and use them in ecotoxicological tests. For the trial, 300 specimen of sand smelt were introduced in 120 l-6 aquaria (temperature: 15±1°C; salinity: 22±1 ppt; photoperiod: 10 h L/14 h D). After a period of acclimation (10 days), the maturity stages of females' gonads and oocytes diameter were determined.

The aquaria were divided in 3 batches (A, B, C) in which fish were submitted to a different echo-physiological conditioning program based on the variation of daily light and water temperature: group A forecasted the initial photoperiod (10 h L: 14 h D) and a gradual increase of temperature from 15 to 20°C throughout 2 weeks; group B presented an increase of light until 16 h L/day in 2 weeks at constant temperature (15±1°C); group C showed a gradual and contemporary increase of the two parameters until 20°C and 16 h L:8 h D after 2 weeks. At day 15 and 21 the development of oocytes was verified by means of gonadic biopsy. The animals who positively answered to the echo-physiological conditioning program, coming from the different batches, were stripped and eggs lied were fertilized in marine water. Eggs were incubated in tanks (15 l volume) with a nylon net (50 µm) to support the eggs maintaining separated the three groups. In each batch fertilization rate, eggs diameter, incubation time, hatching rate and larval length were recorded.

The long photoperiod showed an important role in the gonad maturation without considering temperature; both the females and the males in B and C groups positively answered to the echo-physiological conditioning program tested. About the incubation time and hatching rate A and C groups with the temperature increased at 20°C, had the best results. At 7 days post-hatching, larvae showed 160 mg mean body weight and 8.8 mm mean length. At 12 days they weighed 280 mg and measured 11.4 mm.

Bibliografia

BAMBER R.N., HENDERSON P.A., TURNPENNY A.W.H. (1985) - The early life history of the sand smelt (*Atherina presbyter*). *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, **65**: 697-706.

CREECH S. (1991) - An electrophoretic investigation of populations of *Atherina boyeri* Risso, 1810 and *A. presbyter* Cuvier, 1829 (Teleostei: Atherinidae): genetic evidence in support of the two species. *Journal of Fish Biology,* **39**: 807-816.

CREECH S. (1992) – A study of the population biology of *Atherina boyeri* Risso, 1810 in Aberthaw Lagoon, on the Bristol Channel, in South Wales. *Journal of Fish Biology,* **41**: 277-286.

CHATAIN B. (1986) – La Vessie Natatoire chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus auratus:* aspects morphologiques du dèveloppement. *Aquaculture*, **53**: 303-311.

GANDOLFI G., ZERUNIAN S., TORRICELLI P., MARCONATO A. (1991) – I pesci delle acque interne italiane. Ministero dell'Ambiente, U.Z.I., Istituto Poligrafico dello Stato: 174-176.

GELLI F., PALAZZI D., PREGNOLATO L., TRENTINI P. L., CICERO A. M., SAVORELLI F., MELOTTI P., RONCARATI A. (2001) - Ottimizzazione della produzione di larve di *Atherina boyeri* (Risso) al fine di ottenere organismi biologici idonei all'esecuzione di test ittiotossicologici su acque marine e di transizione. *Biol. Mar. Medit*., **8** (2): 116-122.

GON O., BEN-TUVIA A. (1983) – The biology of Boyer's sand smelt, *Atherina boyeri* Risso in the Bardawil Lagoon on the Mediterranean coast of Sinai. *Journal of Fish Biology,* **22**: 537-547.

MANTILACCI L., MEARELLI M., GIOVINAZZO G., LORENZONI M. (1990) – Accrescimento e alimentazione del latterino (*Atherina boyeri* Risso) del lago Trasimeno. *Riv. Idrobiol*., **29**: 309-327.

MELOTTI P., RONCARATI A., MORDENTI O., GELLI F., PREGNOLATO L., GHION F., VIGANO' L. (1999) – Riproduzione indotta del latterino. *Laguna*, **4**: 28-31.

RONCARATI A., GELLI F., SAVORELLI F., PREGNOLATO L., CICERO A.M., CASAZZA G., PALAZZI D., TRENTINI P.L., MELOTTI P. (2001) - Reproduction of sand smelt (*Atherina boyeri* Risso), an autochthonous euryhaline species of Adriatic sea, under laboratory conditions. *Atti del "LARVI 2001 Fish & Shellfish Larviculture Symposium",* Ghent (Belgium): 510-513.

SPARTÀ A. (1942) - Uova e larve di *Atherina Rissoi* C. V. ottenute da fecondazione artificiale, e stadi post-embrionali raccolti nel plancton. *Archivio di Oceanografia e Limnologia Venezia*, **2-3**: 160-169.

TORTONESE E. (1985) – Interesse scientifico e pratico di una famiglia di pesci ossei: gli Aterinidi. *Quaderni dell'Ente Tutela Pesca, Rivista di Limnologia,* Udine, **10**: 23-30.

Ricerca eseguita con fondi dell'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (A.P.A.T.) e dell'Istituto per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare (I.C.R.A.M), nell'ambito del Programma di Ricerca "Attività di studio e sperimentazione sui criteri e sulle metodologie per la verifica delle caratteristiche trofiche delle acque marine costiere e livelli di contaminanti nei sedimenti".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 210-222

L. Orsi Relini, G. Palandri, F. Garibaldi

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale, Dip.Te.Ris, Università di Genova, Corso Europa, 26 16132 Genova, Italia.

REPRODUCTIVE PARAMETERS OF THE MEDITERRANEAN SWORDFISH

PARAMETRI RIPRODUTTIVI DELLO STOCK MEDITERRANEO DI PESCE SPADA

Abstract

Reproductive parameters of the Mediterranean swordfish were derived from measures and gonadal samples of 3358 sexed individuals from the Ligurian Sea (1990–2001).

The overall sex ratio was in favour of females (55%). The length ranges were 55–184 cm LJFJ for males and 55–223 cm LJFL for females. The bulk of the fished stock was formed by fish aged 1 to 3+. Reproduction was clearly seasonal, with a peak in July–August and a tail in September.

Ovarian weight per female length was used to describe the reproductive season and the gonad weight – fish length relationship in the resting season. The latter was used as a tool to separate active and quiescent adult females during the reproductive season. The limit between the two was very close to Kume and Joseph GI = 1. On this basis, a maturation ogive was derived. The female L_{50} was 149 cm LJFL, which corresponds to age 4.

Key-words: Xiphias gladius*, sex ratio, sexual maturity, gonadosomatic indexes, Mediterranean.*

Introduction

Some aspects of swordfish reproduction in the Mediterranean have been known since ancient times. Harpoon fishing has been going on for more than 2000 years in the Straits of Messina (eastern coast of Sicily), giving fishermen the opportunity to observe pairs of fish, generally made up of one large individual, the female, and a smaller one, the male. As found in the same Sicilian waters, swordfish eggs, larvae and juveniles – locally known as "spadelli" – have been described (Sanzo, 1910, 1922, 1930; Sella, 1911; Cavaliere, 1962; Cavallaro *et al.*, 1990). These studies pointed out that reproduction occurs strictly during the summer months, while each year the young are recruited to longline fishery during the autumn: these seasonal characteristics, as will be shown later, become very important in the calculation of biological parameters. When similar studies were extended to other areas, the same seasonality proved to be a common feature in the Mediterranean (Rey, 1987; De Metrio & Megalofonou, 1987; Megalofonou & De Metrio, 1989, Orsi Relini *et al.*, 1996, 1999; De Metrio *et al.*, 1995), but the precise timing of reproduction has yet to be defined.

Knowledge of the reproductive characteristics of the swordfish can help in distinguishing stock units. Moreover, estimates of size and age at sexual maturity are of fundamental importance for analytical stock assessments: mathematical models presently being developed by ICCAT use the reproductive parameters summed up in the maturation ogive to calculate the spawning stock biomass (SSB) and the spawning potential ratio (SPR); different possible steps in the recovery of an over-fished stock are then modelized on the basis of such criteria.

The aim of the present paper is to describe reproductive parameters in a population approach and in particular:

1) to study ovarian maturation per month and possibly to indicate simple criteria to distinguish spawning readiness. 2) to calculate a maturation ogive for the Mediterranean swordfish, taking into account similar studies performed on oceanic populations, mainly in the North Atlantic (Taylor & Murphy, 1992; Arocha & Lee, 1993; 1996; Arocha *et al*., 1994; Hinton *et al*., 1997; Arocha, 2002).

In the Mediterranean, as far as we know, the only study of this kind (De La Serna *et al.*, 1996) shows a maturation ogive calculated using as a reference point a gonadosomatic index (GI) of Kume and Joseph (1969) ≥ 3 to establish female maturity, that is a limit previously applied to oceanic swordfish.

Materials and methods

During the period 1990-2001, the biological parameters of swordfish in the Ligurian Sea were studied as part of a project funded by the Italian Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MiPAF) ("Triennial plans for fishery resources evaluation" 1990-1992; 1994-1995; 1997-2000) and by the E.U. (project XIV-1MED/91/012 "Characterization of large pelagic stocks (*Thunnus thynnus* L., *Thunnus alalunga* Bonn., *Sarda sarda* Bloch, *Xiphias gladius* L.) in the Mediterranean Sea").

Following the fishing activity of the professional fleets based in the harbours of Imperia and San Remo, which produce about 90% of the landings of the Ligurian coast, swordfish catches were monitored during the local fishing season, from June to December. At the beginning, the gears used were both longlines and driftnets, but the latter were limited in number and range of activity by the institution of a protected area for cetaceans (1990-1992) and eventually ceased in 1996 in line with E.U. regulations.

Data collected at landings regarded the fishing grounds and effort, numbers caught, measures (lower jaw/fork length, LJFL) and weight (gutted weight, GW) both of target and by-catch fish. On board, where the fish is eviscerated prior to landing, samples were collected for studies on feeding habits, reproduction and growth.

About 11,600 individuals were measured (LJFL), 3558 of which were sexed by inspection of gonads and 3300 pairs of gonads were sampled and frozen. After being defrosted in the laboratory, gonads were weighted, cut along the longitudinal axis and inspected under the stereomicroscope in order to observe the general characteristics of the parenchyma. In the maturing ovaries, the most advanced oocites were looked for and measured. Sub-samples of gonads were fixed and preserved in formol solutions. In a selected sample, fragments of ovarian laminae with eggs larger than 150 μm were dissociated under the stereomicroscope, and about 2 or 3 hundred eggs measured to derive length/frequency distributions. The presence of materials relating to previous ovulations, such as large abortive eggs or clumps of non-extruded eggs in the lumen, were also taken into account in order to separate virgin and spent individuals.

The indexes which establish correlations between gonad weight and fish length used in the present material are:

KJGI: (gonad weight (g) / $LJFL^3$ (cm)) × 10^4 (Kume and Joseph, 1969)

HGI: ln gonad weight/ln eye-fork length (EFL) (Hinton *et al*., 1997); the latter was also transformed in ln gonad weight/ln LJFL on the basis of the regression EFL/LJFL indicated by the same authors.

To derive a maturation ogive from the present series of data the following points were taken into account:

a) Spawning area. The Ligurian Sea is included in the Mediterranean reproductive areas (cf. Rey, 1987; Orsi Relini *et al*., 1999; Garibaldi *et al.,* in preparation).

b) Spawning season. As will be shown later, the seasonal aspects of reproduction are observed in a temporal sequence of seven months.

c) Adult females in active or quiescent phases of reproduction. In the available literature the reproductive phase in female swordfish is identified on the basis of a KJGI ≥ 3 (De La Serna *et al*., 1996; Mejuto and Garcia, 1997). However, Hinton *et al*. (1997) noted that this criterion underestimates reproduction and, following the indications of Taylor and Murphy (1992), established that a female can be considered in active reproduction if the HGI is ≥ 1.375.

To establish if the two limits were suitable for the Mediterranean fish, we compared the above mentioned indexes with the presence of advanced oocytes in the ovarian laminae following the criteria used by Hinton *et al*. (1997), i.e. taking into account especially the sizes reached by maturing ova (see also Arocha, 2002). We also established the correlation between ovarian weight and fish length during the season of reproductive rest, to indicate the active spawners on the basis of a single gonadal weight.

Results

a) Size and age composition of sampled fish.

Size/frequency distributions of sexed fish are shown in Fig. 1. Lengths range from a minimum of 55 cm LJFL to a maximum of 184 cm in males and 223 cm in females. For both sexes fish of 90–130 cm LJFL form the bulk of the catches.

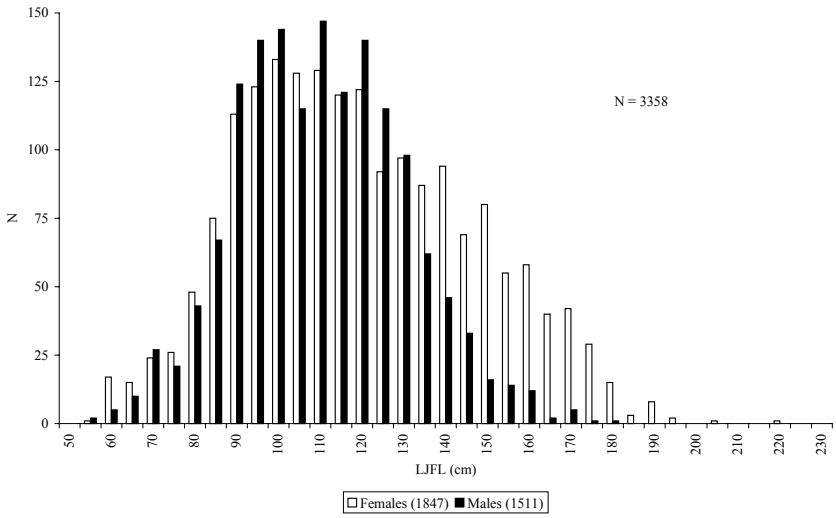


Fig. 1 - Overall length/frequency distributions of sexed swordfish (fishing seasons 1990-2001).
Distribuzioni lunghezza/frequenza dei pesci sessati (stagioni di pesca 1990–2001).

Von Bertalanffy growth functions available for Mediterranean swordfish assign a length of about 85 cm, 110 cm and 135 cm to the fish completing the first, the second and the third year of life, respectively (Tserpes and Tsimenides, 1995; Orsi Relini *et*

al., 1996). The main part of Ligurian catches is therefore made up of ages between 1 and 3 years.

b) Sex ratio and maximum sizes

The sex ratio (Fig. 2) changes with size: up to 130 cm LJFL is close to parity. In sizes larger than 130 cm LJFL, the percentage of females gradually increases; females make up the total at 190 cm LJFL. Large-sized fish are a small fraction of the fished stock (Fig. 1), so the overall sex ratio is 55.0% of females. In particular the last 3 size classes shown in the sex ratio graph (Fig. 2), i.e. females > 180 cm LJFL, are 1.6% of the total fished females.

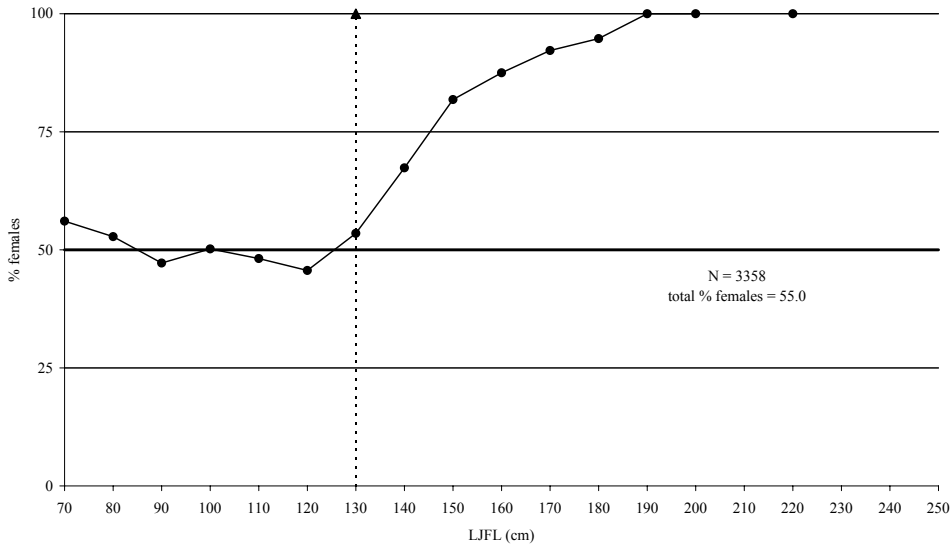


Fig. 2 - Swordfish sex ratio per length (LJFL).
Rapporto sessi in relazione alla lunghezza (LJFL).

c) Reproductive season

The KJGI, calculated as an average value of the fished stock (i.e. with all available sizes), gives a general picture of the timing of the reproductive season of males and females (Fig. 3).

It is worthwhile verifying the limits of this index for the Mediterranean swordfish, in particular the female. By considering ovarian weights in relation to female size (Fig. 4) in temporal sequence (from June to December), the active and resting phases can be separated. In the present sample the resting season is represented by the period October - December and the weight of the resting ovary as a function of the fish size is given by the following equation:

Ovarian weight (g) = 7.9734×LJFL (cm) – 959.84 (n = 120; R^2 = 0.7076)

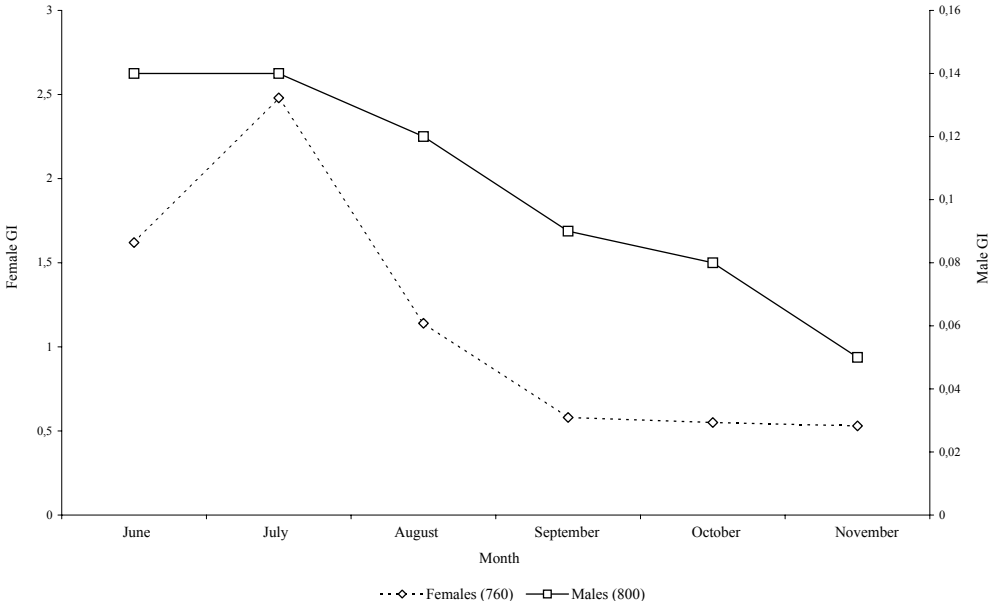


Fig. 3 - Trend of mean KJGI during the fishing season.
Andamento dell'indice gonadosomatico medio (di Kume e Joseph) durante la stagione di pesca.

(dotted line in Fig. 4e, also shown in each monthly graph of the same figure).

This regression line is very close to a Kume and Joseph GI = 1 (Fig. 5); also the latter can be considered a reference point to identify the spawners.

From June to September the ovarian weights located above the resting line indicate the reproducing individuals. In July (Fig. 4b) a reproductive peak can be observed, while June data show the start of reproduction and September data a tail.

It is interesting to note that in June the most advanced gonads (in terms of weight) belong to large fish, while in September few ovaries in activity belong to females of smaller size (about 150 cm LJFL).

d) Female minimum reproductive size

The July and August graphs for ovarian weight in relation to female size (Fig. 4) show the minimum reproductive size found in the present material: two individuals measuring 133 and 131 cm LJFL respectively. In the following calculation of the maturity at length ogive, based on size groups of 10 cm intervals, the first size class will therefore contain the range 130 – 139 cm LJFL.

e) Correlation between ovarian weight and the histological patterns of the ovary

The study of the correspondence between the microscopical anatomy of the ovary and the weight reached by this organ in respect of the body weight (or length) of the female has been done on samples collected from June to December and can be summed up in a selection of size/frequency distributions of oocytes diameters recorded in the ovary (Fig. 6).

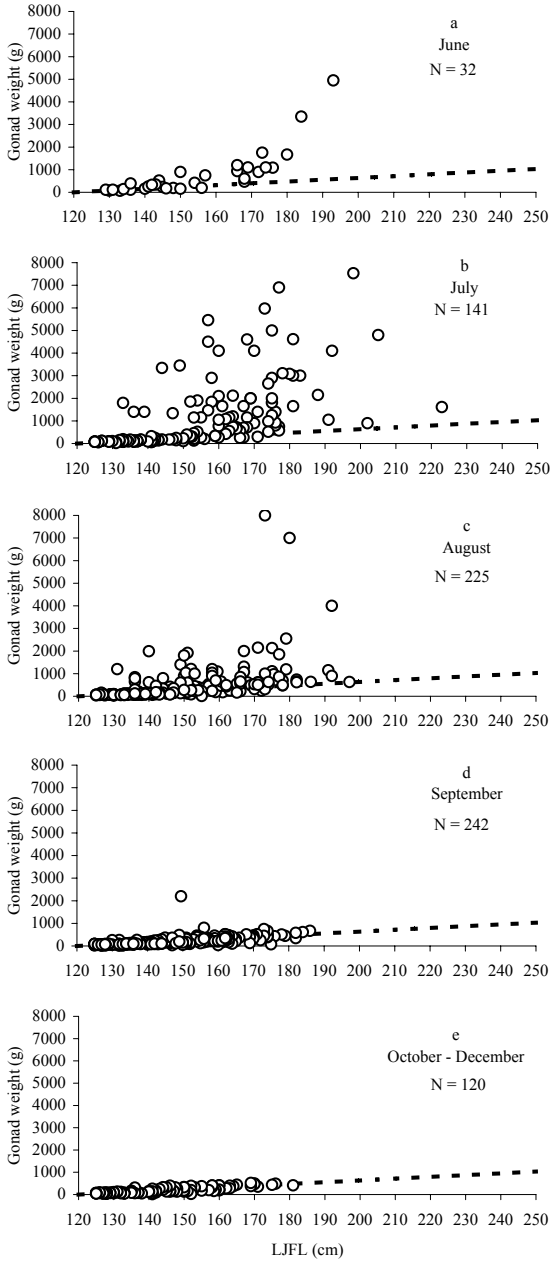


Fig. 4 - Ovarian weights in relation to female size during the fishing season. The dotted line indicates the resting conditions of the ovary in terms of the regression ovary weight / fish length which was obtained with the sample figured in the graph e.

Pesi degli ovari in relazione alla taglia delle femmine durante la stagione di pesca. La retta tratteggiata indica la quiescienza dell'ovario per mezzo della regressione peso dell'ovario / LJFL ottenuta col campione raffigurato nel grafico e.

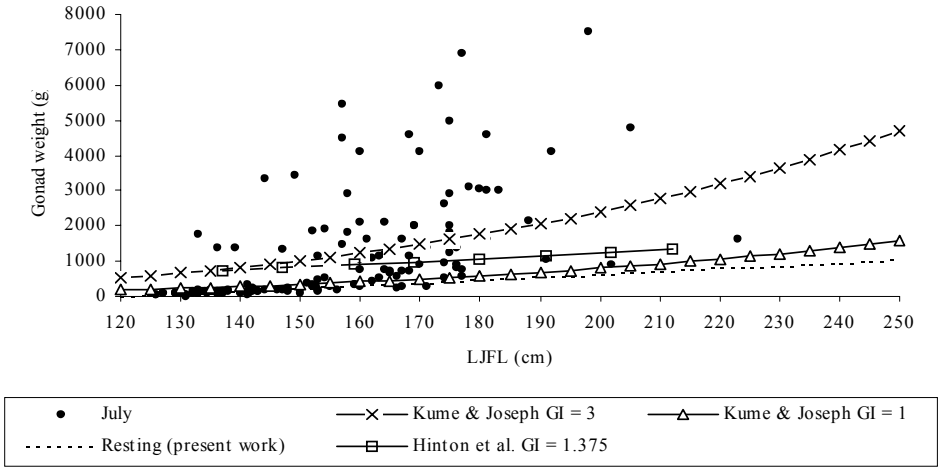


Fig. 5 - Ovarian weights recorded in July and limits proposed by different authors to separate active and resting females.

Confronto tra i pesi degli ovari rilevati in luglio ed i limiti proposti per separare gli ovari attivi da quelli in quiescenza.

At the beginning of the reproductive season, oocytes reach the starting of vitellogenesys with a KJGI value which is still low: Fig. 6a presents the case of a female, 141 cm LJFL, in which the main modal size of eggs is about 250 μm, while the KJGI is 0.9 and the HGI is 1.151.

Complete maturation is reached in July: oocytes exceed 1,500 μm, that is, they are ready to be ovulated. Given that swordfish are multi-spawners, the GIs are very different in fish sampled immediately before (Fig. 6b) or during the spawning (Fig. 6c). In the former case GIs can be very high: in the fish of Fig. 6b, a female of 157 cm LJFL, the most important group of eggs in the parenchyma was in the size range of 500-1,000 μm and the KJGI was 14.09, the HGI was 1.746.

In the Fig. 6c, a female of 174 cm LJFL, the ovarian parenchyma contained both large oocytes and a second batch in advanced vitellogenesys (size range 250-600 μm); the KJGI was 1.86 and the HGI was 1.368, that is apparently under the limit indicating spawning readiness: however, given the size of eggs, we consider this fish a spawner.

The two above-described ovarian patterns are also frequently found during August.

When the reproductive season is finished, the ovaries contain a main group of small-sized oocytes: in the case of Fig. 6d, a fish of 150 cm LJFL, the main mode was in the 100-150 μm range, few residual large eggs remained to bear witness to the previous spawning activity and the KJGI was 0.98 (HGI 1.189). The ovarian and weight patterns recorded at the beginning or at the end of the reproductive season can present difficulties in interpretation when identifying the spawners of the year in the sense that the time required to achieve the next complete maturation or the time elapsed from the last ovulation could be a matter of discussion. We will therefore calculate the following maturation ogive only on the basis of the July data, which represents the core of the reproductive season.

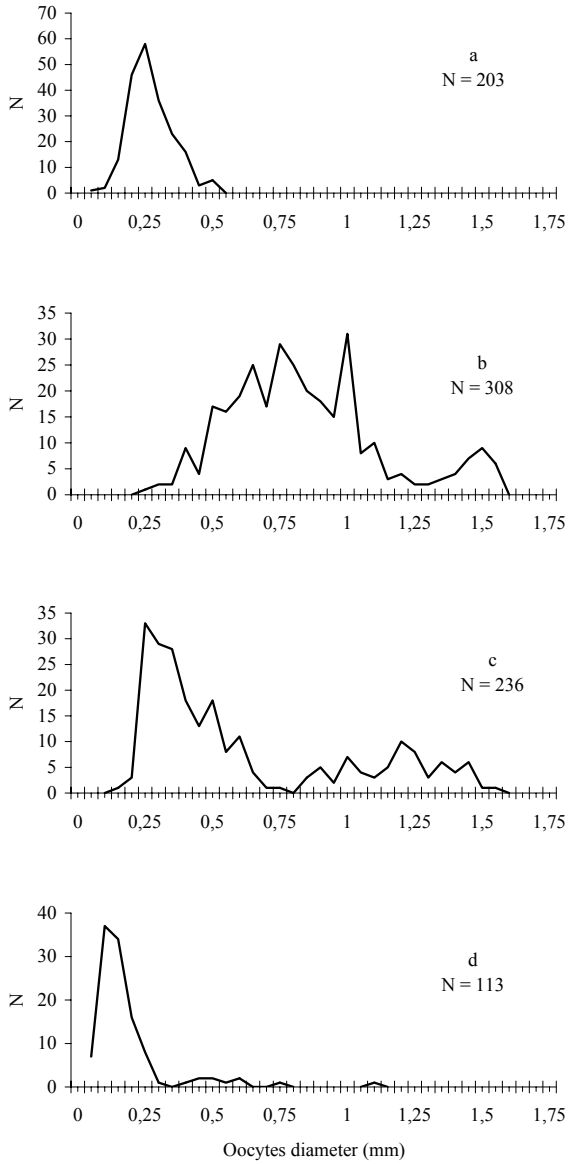


Fig. 6 - Frequency distributions of ovarian egg sizes found in different months (explanation in the text).
Distribuzioni di frequenza dei diametri degli oociti in mesi differenti (spiegazione nel testo).

f) Maturation ogive.

Assuming KJGI ≥ 1 as a reference point to identify spawners in the females sampled in July, 53.85% of the females larger than the minimum reproductive size are active.

In five size classes of females, from 130–139 to 170–179 cm LJFL, the numbers available were 30, 19, 24, 25, 20; sizes larger than 180 cm were all active spawners (12 individuals). We have already noted that the large females in which the 100% of spawners are found represent only 1.6% of the fished females.

The ogive is:

% mature = $100 / (1+ e^{(19,62783 - (0,13193 \times LJFL))})$ (Fig.7).

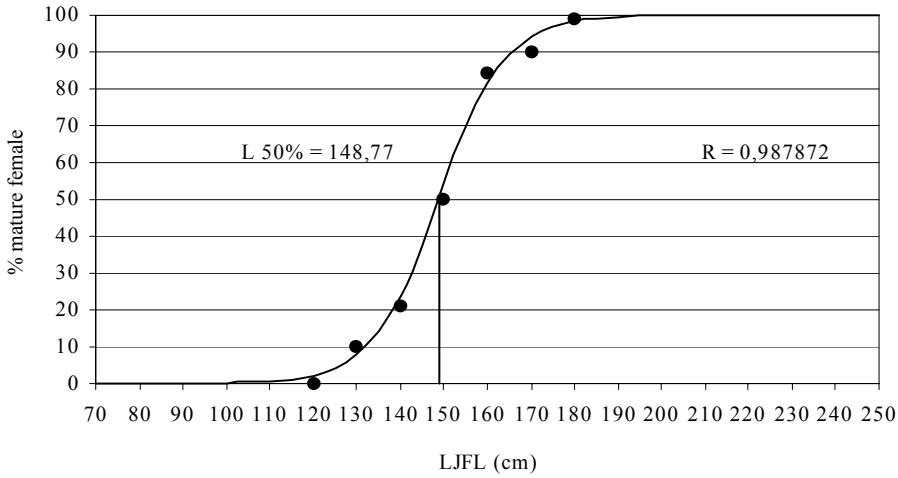


Fig. 7 - Female maturity at length ogive.
Ogiva di maturazione delle femmine di pesce spada.

The L_{50} is 148.8 cm LJFL, which on the basis of Von Bertalanffy growth functions derived in the Mediterranean (Megalofonou & De Metrio, 1989; Tserpes & Tsimenides, 1995; Orsi Relini *et al*., 1999) corresponds to age 4. Reproduction apparently starts with females younger than 4 (not less than three, see also Orsi Relini *et al.*, 1999) and becomes total at an advanced age (about 6-8 years). If the maturation ogive is obtained on the basis of KJGI ≥ 3 the L_{50} shifts to 170.3 cm LJFL; with HGI ≥ 1.375 it shifts to 160.2 cm LJFL.

Conclusions

The study of reproductive patterns in a time interval of seven months has shown that the reproductive season in the Mediterranean is very short and almost coincides with two summer months, while the resting season goes from October to May. This represents a difference from the reproduction times of the North Atlantic swordfish studied along the Eastern coast of the U.S. and Caribbean between 5° and 50° N. Full mature females were found in a tropical belt (18°-35° N) and spawning occurred from December to June, with some additions in August-November (Arocha & Lee, 1993, 1996; Arocha *et al.*, 1994). The reproduction of South Atlantic swordfish occurs in an equatorial belt all year long (Mejuto and Garcia, 1997).

The Mediterranean hosts northern spawning grounds, including our study area, the Ligurian Sea, where favourable surface temperatures are those of a temperate instead of a tropical sea; on the other side the Mediterranean swordfish live in mesopelagic waters which are warmer than the oceanic waters at the same latitude (Lacombe, 1990).

The existence of a resting period in the Mediterranean made it possible to derive the regression of the ovarian weight at rest in relation to fish length, an aspect not previously studied in oceanic populations owing to the length of their reproductive season. This function can be used to identify the active ovaries on the basis of simple weight and, after the corresponding micro-anatomical aspects have been verified, has suggested that, if a Kume and Joseph GI is used as a predictor of spawning readiness, the reference value should be 1 instead of 3.

Following these criteria, the L_{50} value was 148.77 cm LJFL. In the oceanic populations L_{50} is higher: in the North Atlantic it has been calculated as 182 cm LJFL (Taylor & Murphy, 1992) and 179 cm LJFL (Arocha and Lee, 1996). The growth curves of these fish show length at age larger than in the Mediterranean (Ehrhardt *et al.*, 1996). According to Taylor & Murphy (1992), the 182 cm size of the female corresponds to the age of 5.5 years. In the Hawaiian sector of the Pacific, L_{50} was 162 cm LJFL (De Martini *et al.*, 2000), with no indication of the corresponding age. The above-mentioned differences in time and place of spawning and, at least in part, in size and age of the mature females in the Atlanto-Mediterranean area, are in agreement with the distinction of three stock units at present recognized by the ICCAT (North Atlantic, South Atlantic and Mediterranean stock). However, the separation between Atlantic and Mediterranean fish is not so clear-cut and genetic studies gave contradictory interpretations.

According to one theory (Magoulas *et al.*, 1993; Kotoulas *et al.*, 1995), in terms of mitochondrial DNA, the Mediterranean swordfish is distinct from the Eastern Atlantic one, a fact that suggests fidelity to Mediterranean spawning areas, while, outside the reproductive season, fish can migrate to the adjacent ocean for trophic reasons. De facto, the migration of spawners to the Mediterranean has been verified in the waters of Gibraltar by Spanish researchers: they observed fishing activities both "towards" the Mediterranean and "back" to the Atlantic, as also occurs with tuna (De La Serna & Alot, 1990).

According to other genetic studies (Alvarado Bremer *et al.*, 1995; 1996; Rosel & Block, 1996), there are two main clades of swordfish, only one of which is to be found in the Pacific, while two are present both in the Atlantic and in the Mediterranean, albeit in different proportions. Chow *et al.* (1997) also indicate two main clusters, but with a different distribution: one in the Mediterranean – North Atlantic and one spread in the Pacific – Indian and South Atlantic Oceans. Are different clades of swordfish recognizable also on the basis of some morpho-physiological characteristics, for instance the reproductive parameters? In their studies of large Atlantic areas Mejuto & Garcia (1997) noted that the maximum KJGI values recorded were 19.8 for fish < 165 cm LJFL and 12.2 in fish > 165 cm LJFL (the sample size was 13,739 individuals) – a fact that suggests two kind of reproductive adaptations, that is apparently an affirmative answer to the previous question.

Is the Mediterranean population of swordfish mainly composed of a "small" fish which is outstanding in terms of size of its ovary?

The maximum ovarian weights recorded in the Mediterranean do in fact point to a very interesting question. Although many authors have only given average values, in the Mediterranean literature five specimens can be found with a KJGI > 20: four of them were fished in Spanish waters, on the basis of a sampling of 4,467 females effected in

1991 and 1992 (De La Serna *et al.*, 1996) and the last one in the Straits of Messina, Sicily (Cavallaro *et al.*, 1991). This fish represents the absolute maximum: the 192 cm LJFL and 130 kg weight female had a total weight of 15.7 kg of ovarian tissues, a KJGI 22.18 and 10.4 kg of running ova.

Maximum ovarian weights are directly related to batch fecundity, which can be very high: it was calculated as being in the range 1-10 millions ova, both in Mediterranean fish of 150-195 cm LJFL (De La Serna *et al.*, 1996) and in North Atlantic specimens of 155-250 cm LJFL (Arocha & Lee, 1996). So the Mediterranean swordfish seems to balance its smaller size and limited spawning time with a high level of fecundity achieved at a young age.

Riassunto

Monitorando la pesca del pesce spada nel Mar Ligure Occidentale nel periodo 1990-2001, sulle imbarcazioni delle flottiglie di Imperia e Sanremo sono stati raccolti 3558 campioni di gonadi dei due sessi, che hanno permesso di studiare i seguenti parametri riproduttivi:

Rapporto sessi.

Le femmine costituivano il 55% dell'insieme dei pesci sessati. Le taglie erano comprese tra 55 e 223 cm LJFL nelle femmine e tra 55 e 184 cm LJFL nei maschi.

Il rapporto sessi è vicino alla parità dalle taglie più piccole, fino a circa 130 cm LJFL; poi prevalgono le femmine, rappresentando il 75% a 145 cm LJFL, il 90% a 180 cm LJFL e il 100% a 190 cm LJFL.

Taglia riproduttiva minima.

La più piccola femmina matura è risultata di 131 cm LJFL.

Stagione riproduttiva.

In ciascuno dei sette mesi che formano la stagione di pesca, da giugno a dicembre, i pesi degli ovari sono stati messi in grafico in relazione alla lunghezza delle femmine. La stagione riproduttiva inizia a giugno, culmina a luglio-agosto e presenta una coda a settembre.

Il processo maturativo è stato studiato anche negli aspetti anatomo-microscopici del parenchima ovarico e sono state rilevate misure degli ovociti più avanzati. I diversi stadi del ciclo maturativo sono stati illustrati con istogrammi l/f dei diametri degli ovociti.

Stagione di quiescenza.

Nel materiale campionato, gli ovari risultano quiescenti da ottobre a dicembre, anche se verosimilmente questa fase di riposo si protrae per i successivi mesi invernali e primaverili in cui non c'è attività di pesca. E' stata calcolata la relazione tra il peso degli ovari e la lunghezza della femmina (Peso ovario (g) = 7,9734 LJFL (cm) - 959,84) nel periodo di quiescenza come termine di riferimento per separare le femmine attive da quelle quiescenti anche durante la stagione riproduttiva; in questo modo, con una semplice pesatura delle gonadi si può apprezzare lo stato riproduttivo della femmina. Tale regressione è molto simile a un indice di Kume e Joseph = 1; si può quindi ritenere un ovario attivo quello che supera il valore in peso indicato dalla predetta regressione oppure quello che presenta un indice di Kume e Joseph superiore a 1.

Ogiva di maturazione.

La percentuale di femmine mature in funzione della taglia è data dalla seguente equazione:

% mature = $100/(1+e^{(19,62783 - (0,13193 \times LJFL))})$

L_{50} è pari a 148,8 cm LJFL, lunghezza che nelle curve di crescita derivate da materiale mediterraneo, corrisponde a un'età di circa quattro anni.

La predetta L_{50} risulta inferiore a quelle calcolate nel Nord Atlantico occidentale e nel Pacifico tropicale; particolarmente nel primo caso, è noto che i pesci a parità di età sono più grandi di quelli mediterranei.

Infine si nota come gli indici gonadosomatici dei pesci del Mediterraneo possano raggiungere valori particolarmente elevati, verosimilmente come risposta adattativa alla brevità della stagione riproduttiva.

References

ALVARADO BREMER J.R., BAKER A.J., MEJUTO J. (1995) – Mitochondrial DNA control region sequences indicate extensive mixing of swordfish (*Xiphias gladius*) populations in the Atlantic Ocean. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**: 1720-1732.

ALVARADO BREMER J.R., MEJUTO J., GREIG T.W., ELY B. (1996) – Global population structure of the swordfish (Xiphias gladius L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control region. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **197**: 295-310.

AROCHA F. (2002) – Oocyte development and maturity classification of swordfish from the North – Western Atlantic, *J. Fish Biol.,* **60**: 13–27.

AROCHA F., LEE D.W. (1993) – Preliminary observation on sex ratio and maturity stages of the swordfish, *Xiphias gladius*, in the Northwest Atlantic. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap*., **40** (1): 425–432.

AROCHA F., LEE D.W. (1996) – Maturity at size, reproductive seasonality, spawning frequency, fecundity and sex ratio in swordfish from the Northwest Atlantic. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **45** (2): 350-357.

AROCHA F., LEE D.W., GRUBICH J.R. (1994) – Observations on sex ratio, maturity stages, and fecundity of swordfish, *Xiphias gladius*, in the Northwest Atlantic Ocean. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **42** (1): 309-318.

CAVALIERE A. (1962) – Studi sulla biologia e pesca di *Xiphias gladius* L. Nota I. *Bollettino di pesca, Piscicoltura e Idrobiologia.,* **17** (2): 123-143.

CAVALLARO G., CEFALI A., POTOSCHI A. (1990) – Aspetti biologici di *Xiphias gladius* L. 1758 dei mari meridionali italiani. *FAO Fish. Rep*., **394**: 91–102.

CAVALLARO G., POTOSCHI A., CEFALI A. (1991) – Fertility, gonado-somatic index and catches of eggs and larvae of *Xiphias gladius* L. 1758 in the Southern Tyrrhenian Sea. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **35** (2): 502–507.

CHOW S., OKAMOTO H., UOZUMI Y., TAKEUCHI Y., TAKEYAMA H. (1997) – Genetic stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) inferred by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Mar. Biol.*, **127** (3): 359-367.

DE LA SERNA J. M., ORTÌZ DE URBINA J. M., MACÌAS D. (1996) – Observations on sex ratio, maturity and fecundity by length class for swordfish (*Xiphias gladius*) captured with surface longline in the Western Mediterranean. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **45** (1): 115–139.

DE LA SERNA J.M., ALOT E. (1990) – Consideraciones relativas a los desplazamientos efectuados por el pez espada (*Xiphias gladius*) en el area del Estrecho de Gibraltar y otras observaciones relacionadas con la biologia de la reproduccion. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **32** (2): 353–359.

DE MARTINI E.E., UCHIYAMA J.H., WILLIAMS H.A. (2000) – Sexual maturity, sex ratio, and size composition of swordfish, *Xiphias gladius*, caught by the Hawaii-based pelagic longline fishery. *Fish. Bull*., **98**: 489–506.

DE METRIO G., MEGALOFONOU P. (1987) – Catch, size distribution, growth and sex ratio of swordfish (*Xiphias gladius* L.) in the Gulf of Taranto. *FAO Fish. Rep*., **394**: 91–102.

DE METRIO G., GIACCHETTA F., SANTAMARIA N. (1995) – Sex ratio ed indice gonado somatico del pesce spada (*Xiphias gladius* L.) dello Ionio settentrionale e dell'Adriatico meridionale. *Biol. Mar. Medit*., **2** (2): 479–481.

EHRHARDT N.M., ROBBINS R.J., AROCHA F. (1996) – Age validation and growth of swordfish, *Xiphias gladius*, in the Northwest Atlantic. *ICCAT Coll. Vol. Sci. Pap.,* **45** (2): 358–367.

GARIBALDI F., PALANDRI G., ORSI L. (2004) - Documentazione della riproduzione del pesce spada, *Xiphias gladius* L., in Mar Ligure. Biol Mar. Medit., **11** (1): in stampa.

HINTON M.G., TAYLOR R.G., MURPHY M.D. (1997) – Use of gonad indices to estimate the status of reproductive activity of female swordfish, *Xiphias gladius*: a validate classification method. *Fish. Bull.,* **95**: 80–84.

KOTOULAS G., MAGOULAS A., TSIMENIDES N., ZOUROS E. (1995) – Marked mitochondrial DNA differences between Mediterranean and Atlantic populations of the swordfish, *Xiphias gladius*. *Molec. Ecol.*, **4**: 473-481.

KUME S., JOSEPH H. (1969) – Size composition and sexual maturity of billfish caught by the Japanese longline fishery in the Pacific Ocean East of 130° W. *Bull. Far Seas Fish. Res. Lab. (Shimizu),* **2**: 115-162.

LACOMBE H. (1990) – Water, salt, heat, and wind in the Mediterranean. *Oceanus*, **33** (1): 26-36.

MAGOULAS A., KOTOULAS G., DE LA SERNA J.M., DE METRIO G., TSIMENIDES N., ZOUROS E. (1993) – Genetic structure of swordfish (*Xiphias gladius*) populations of the Mediterranean and the Eastern side of the Atlantic: analysis by mitochondrial DNA markers. *ICCAT, Collect. Vol. Sci. Pap.*, **40**: (1): 126-136.

MEGALOFONOU P., DE METRIO G. (1989) – Stima dell'età e dell'accrescimento di *Xiphias gladius* L. del Mar Egeo mediante lo studio dei raggi spiniformi della pinna anale. *Nova Thalassia,* **10** (Suppl. 1): 437–436.

MEJUTO J., GARCIA B. (1997) – A preliminary analysis of gonadal indices of the swordfish (*Xiphias gladius* L.) in the Atlantic Ocean. *ICCAT, Coll. Vol. Sci. Pap.,* **46** (3): 336-344.

ORSI RELINI L., PALANDRI G., GARIBALDI F., CIMA C. (1996) - Accrescimento e maturazione del pesce spada. Nuove osservazioni in Mar Ligure. *Biol. Mar. Medit.,* **3** (1): 352-359.

ORSI RELINI L., PALANDRI G., GARIBALDI F., CIMA C., RELINI M., TORCHIA G. (1999) - Biological parameters of the Mediterranean swordfish derived from observations in the Ligurian Sea. *ICCAT, Coll. vol. Sci. Pap.,* **49** (1): 397-406.

REY J. C. (1987) – Comentarios sobre las areas de reproducion del pez espada (*Xiphias gladius*) en el Atlantico y Mediterraneo. *ICCAT, Coll. Vol. Sci. Pap.,* **27**: 180–193.

ROSEL P.E., BLOCK B.A. (1996) – Mitochondrial control region variability and global population structure in the swordfish, *Xiphias gladius*. *Mar. Biol.*, **125**: 11-22.

SANZO L. (1910) – Uovo e larva di pesce spada (*Xiphias gladius*). *Riv. Mens. Pesca Idrobiol.,* **12**: 206-209.

SANZO L. (1922) – Uova e larve di *Xiphias gladius* L. *R. Com. Talassogr. Ital.,* Mem. 79: 17 pp.

SANZO L. (1930) – Giovanissimo stadio larvale di *Xiphias gladius* L. di mm 6.4. *R. Com. Talassogr. Ital.,* Mem. 170: 8 pp.

SELLA M. (1911) – Contributo alla conoscenza della riproduzione e dello sviluppo del pesce spada (*Xiphias gladius* L.). *R. Com. Talassogr. Ital.,* Mem. **2**: 1–16.

TAYLOR R. G., MURPHY M. D. (1992) – Reproductive biology of the swordfish *Xiphias gladius* in the Straits of Florida and adjacent waters. *Fish. Bull.,* **90**: 809–816.

TSERPES G., TSIMENIDES N. (1995) – Determination of age and growth of swordfish, *Xiphias gladius* L., 1758, in the Eastern Mediterranean using anal fin spines. *Fish. Bull.,* **93**: 594–602.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 223-232

S. Ragonese, S. Gancitano, G. Norrito, P. Rizzo, G. Bono

Istituto di Ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA-CNR,
Via L. Vaccara, 61 – 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

LIFE HISTORY TRAITS OF THE SLENDER ROCKFISH, *SCORPAENA ELONGATA* CADENAT, 1943 (PISCES – SCORPAENIDAE), OF THE STRAIT OF SICILY (MEDITERRANEAN SEA)

CICLO VITALE DI SCORPAENA ELONGATA *CADENAT, 1943 (PISCES – SCORPAENIDAE) DELLO STRETTO DI SICILIA (MARE MEDITERRANEO)*

Abstract

Scorpaena elongata *(Pisces - Scorpaenidae) was studied from 23 trawl surveys carried out between 1985 and 1998 in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). Overall, 664 fish were examined. Gonad weight/status were measured and otoliths extracted. Females dominated (52-69%; F/F+M), but the two sexes showed the same length range (9-57 cm). A negative allometric length-weight relationship (b=2.9) was detected. The length at maturity (L_m; F), optimal and asymptotic (L_{opt}; L_∞) was 32.5, 35.3 and 52.4 cm, respectively. Present results indicate* S. elongata *of the Strait of Sicily is a slow growing (k/y=0.102) and long living (up 20-30 years; Z~M=0.15) stock. Given the decrease in mean size (33->25 cm), management actions are recommended.*

Key-words: Scorpaena elongata*, life cycle, trawl, depletion, Mediterranean Sea.*

Introduction

Scorpaena elongata Cadenat, 1943, the Slender rockfish, is a deep-sea fish distributed in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea, from the edge of the shelf to the upper slope (Bauchot, 1987).

Often confused with *S. scrofa* in the past, the Slender rockfish was considered a common finding (as the companion *Helicolenus dactylopterus dactylopterus*) in the deep water trawl captures of the Mediterranean (GFCM, 1970). Nowadays, this species shows a disaggregated distribution within the Italian seas (Relini *et al*., 1999).

It represents a by-catch for the small scale (fixed nets and long lines) and the semi-industrial bottom trawl fisheries respectively (Bauchot, 1987; Relini *et al*., 1999).

The information about its life cycle is, however, very limited. *S. elongata* is considered a sedentary slow growing and long living species. It feeds on small fishes, crustaceans and other benthic invertebrates (Bauchot, 1987; Relini *et al*., 1999). Reproduction mainly occurs in late summer early autumn (Bauchot, 1987; Relini *et al*., 1999). Froese & Pauly (2001) reported a sexual maturity (50%; L_m), optimal and asymptotic (L_{opt}; L_∞) size of 29, 32.7 and 52 cm respectively.

Considering the Strait of Sicily, some information about the depth distribution and the size range is available from the bottoms off the North African coasts (Duclerc, 1970), whereas no data were found for the population lying over the Italian side.

In this paper, we analyzed the distribution and abundance of this stock on the base of data gathered during a large time interval (1985-1998). The records were pooled by sampling period to remove the inter-annual periodicity, and the basic life cycle traits (age, growth, reproduction, optimum size and mortality) of the Slender rockfish estimated.

Materials and methods

S. elongata data were gathered in 23 experimental trawl-surveys carried out in the Strait of Sicily between Spring 1985 and Autumn 1998. A commercial vessel hauling a "mazarese" trawl gear (30.8 mm stretched mesh in the cod end) has been used without any variation in time. A stratified design was adopted exploring 10-800 m depth range. The horizontal opening of the gear at wings was estimated by each daylight 1h haul according an *ad hoc* derived formula. The Italian side of the Strait of Sicily represented the study area (Fig. 1). Details about the program can be found in Levi *et al*. (1998).

Four sampling periods were considered: 1st:1985-87 (8 surveys; 493 hauls), 2nd: 1990-92 (8 s.; 777 hs), 3rd:1994-95 (4 s.; 487 hs) and 4th:1996-98 (3 s.; 239 hs). Both density (DI; N/km^2) and biomass (BI; kg/km^2) mean indexes were estimated within the preferential depth range (100-500 m), together with the frequency of occurrence (% of positive hauls).

Overall, 664 specimens of *S. elongata* were measured (total length; TL; cm), weighed (BW; g) and sexed (Females, F, Males, M, and Sex Undetermined, I).

The immature ("juveniles") and mature ("Adults") status was assessed macroscopically in the females of the 1st period (n=100); the gonad weight (GW; g) was also measured and the gonosomatic index computed (GSI=GW/TW%).

The sex ratio [Sr= F/(total sexed)%] was estimated and the departure from the 50% value tested by the Pearson X^2 test (0.05; 1 dof). Thereafter, the analyses were performed on sex combined.

The depth-size relationship was also analyzed. The length frequency distributions (LFD) were organized (2 cm class width) and the mean length and the corresponding standard error (s.e.) computed. The length-weight relationship was analyzed according the log-linear model:

$$\log_e TW_{(i)} = \log_e a + b * \log_e TL_{(i)}$$

The confidence intervals (95%) of the allometric coefficient (b) were compared to assess any departure from the isometric condition and period-related differences.

A retrospective age at size estimation was performed using 85 otoliths archived in the 1st period. The left *sagittae* were embedded in Implex resin and sectioned transversally thru the nucleus with a Buhler® Isomet ™ saw. Each thin section (0.5 mm thick) was mounted on a glass slide with thermoplastic cement and polished. The reading was performed under a dissecting microscope (at 25×), using reflected light under a dark background, independently by two of the authors. The age (y) was estimated by counting the number of translucent rings, preferably along the proximal side of the otolith.

The periodicity of band deposition could not be validated; hence, we assumed that the opaque edge formation occurs once in spring-summer (Massutí *et al*., 2000; Morales-Nin, 2001).

The Ford-Walford plot (Sparre & Venema, 1992) was performed to estimate the von Bertalanffy growth formula (VBGF) parameters L_∞ and k/y.

An empirical estimation of L_m was obtained for females by applying the empirical formula (r^2=0.91) in Froese & Binohlan (2000):

$$\log_{10} L_m = 0.9469 * \log_{10} L_\infty - 0.1162$$

The total mortality rate (assuming Z~M in the 1st period) was estimated on the base of the Hoenig's relationship (r^2=0.82; Gayanilo *et al*., 1996).

$$\log_e (Z \approx M) = 1.44 - 0.984 * \log_e T_{\max}$$

In this note T_{max} denotes the longevity (30 y; Rizzo *et al*., 2002).

Finally, the optimum length of capture (L_{opt}; Beverton, 1992) was estimated according to:

$$L_{opt} = b * L_{\infty} \left(\frac{1}{b + \frac{M}{k}} \right)$$

Results

The Slender rockfish was caught in all the investigated area and in each period, with an overall frequency of occurrence of 10% (206 out 1996 hauls). The large captures (up 535 kg/km^2) were recorded when the trawl was hauled nearby rocky outcrops and hard substrates (Fig. 1).

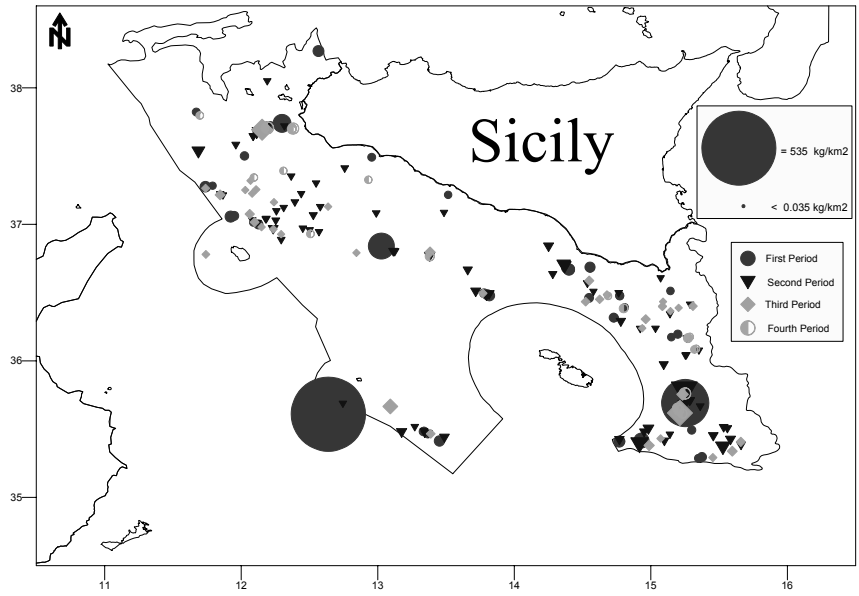


Fig. 1 – The Italian side of the Strait of Sicily with evidenced the occurrence and abundance of *Scorpaena elongata* (First period: 1985-‘87; second p.:‘90-‘92; third p.: ‘94-‘95 and fourth p.: ‘96-‘98).

Il versante italiano dello Stretto di Sicilia con la distribuzione e le classi d’abbondanza di S. elongata.

Not considering a single haul in the last stratum (500-800 m), *S. elongata* was caught from 40 to 500 m with a preference for the outermost edge of the shelf and the upper slope (100-400 m). Considering the 3rd-4th (101-200 and 201-500 m) strata, the frequency of occurrence (%) was 20-18, 33-16, 31-16 and 24-11 for the 1st, 2nd, 3rd and 4th period, respectively. Both mean DI and BI indicated a low abundance (Fig. 2).

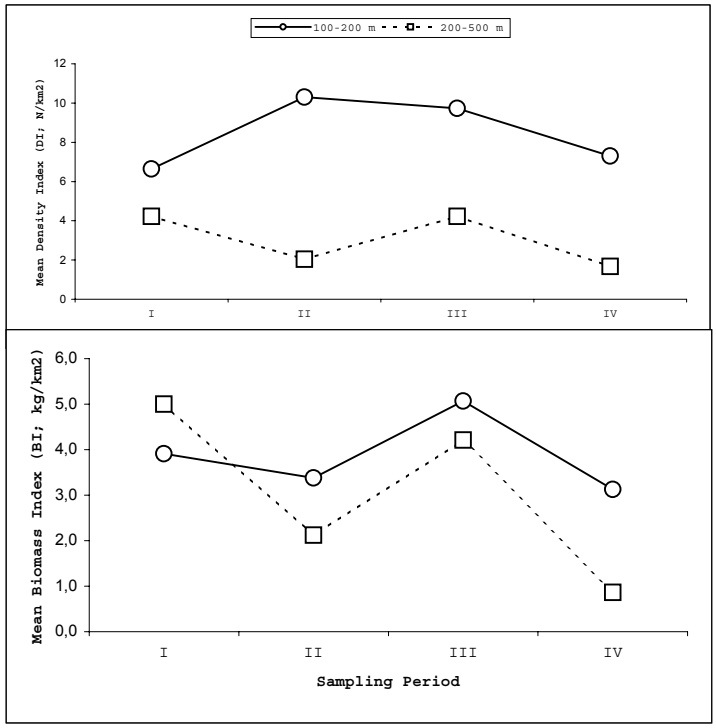


Fig. 2 – Mean abundance indexes (DI=N/km^2; BI=kg/km^2) by preferential strata and period for *Scorpaena elongata* of the Strait of Sicily.
Indici d'abbondanza per gli strati preferenziali e periodo di S. elongata.

The smallest and longest fish was 4 and 57 cm respectively. The body weights ranged between few grams and 3380 g.

The analysis of the size at depth relationship evidenced a concentration of the small fish (TL<200 mm) in the outermost edge of the shelf (100-200 m). On the contrary, the large rockfish occurred at all depths, with exception of the last period in which the deepest fraction of the population is scarcely represented. A slightly positive linear trend was detected resulting significant in all periods ($0.14 < r^2 < 0.19$), but the 4th ($r^2 = 0.02$).

Unsexed specimens (4-18 cm) were mainly found in spring surveys and represented a slight fraction of the samples (4-9%) with the exception of the 2nd period (19%).

Females dominated on males in all periods, but the Sr decreased with time: 69.4 (1st), 66.7 (2nd), 61.9 (3rd) and 52.1 (4th). Only the latter was not significant ($X^2 = 0.13$; $p = 0.72$) different from 50%.

No substantial difference in the size range was found between sexes. Especially in the 1st period, the largest (>50 cm) specimens included 6 males and 5 females. The mean length of these big rockfish (53.1; s.e.=0.55 cm) was assumed as L_{max}.

Only maturing/recovering or spent gonads were observed in adult females. Overall,

the GSI was lower than 0.3% up 20 cm, then increased in large size class, but always remaining at low value (<1.2). Only three females showed a GSI between 1.2 and 5.3% (the latter detected in a fish of 47.5 cm sampled in summer).

The % of adult females went from 53.5 (spring) to 21.0 (summer), 13.0 (autumn) and 26.7 (winter). The mean GSI was high in summer (3.2), and low in the other seasons (0.54, 0.68 and 0.54 in spring, autumn and winter respectively).

The L-W coefficients by period (Tab. 1) showed coincident results (significant negative allometry) and a high linear strength ($r^2 > 0.99$).

Tab. 1 – Length-Weight relationships (whole body weight, g, and TL, cm) by period for *Scorpaena elongata* (sex combined) of the Strait of Sicily. s.e, N and r^2: standard error, sample size and determination coefficient.

Relazione lunghezza-peso (sessi uniti) per periodo in S. elongata *(Stretto di Sicilia). Peso intero (g) e lunghezza totale (cm). s.e, N e r^2: errore standard, numero di esemplari e coefficiente di determinazione.*

Period/years	$-\log_e a$	s.e.	b	s.e.	N	r^2
1st: 1985-87	3.7898	0.0707	2.9246	0.0206	150	0.993
2nd: 1990-92	3.6603	0.0309	2.8798	0.0101	270	0.997
3rd: 1994-95	3.7247	0.0411	2.8973	0.0126	170	0.997
4th: 1996-98	3.5815	0.0565	2.8539	0.0180	74	0.997
1st to 4th pooled	3.6946	0.0215	2.8916	0.0067	664	0.996

The LFD revealed multiple modes, but a clear group (at 15 cm) was evident only in the 2nd period (Fig. 3). Large (>28 cm) and small (<16 cm) specimens prevailed in the 1st and 2nd period respectively. An irregular shape with very few and scattered large animals characterized the last period. The mean length drop from 32.8 cm (s.e.=0.96; 1st period) to 23.7 (0.84) and 24.7 (1.31) cm in the 2nd and 4th period respectively. The 3rd period showed an intermediate situation with a mean size of 28.5 (1.04) cm.

As concerns the otolith microstructure, translucent and opaque rings were easily distinguishable up 6-7 years; thereafter, the bands become stacked and more difficult to follow (Fig. 4). Although the count of the rings was hampered by "false" checks, the two readers reached a general agreement in all the cases, but two.

Up to 21 age groups were identified (Tab. 2); the maximum ages were 29 and 30 y for males (55 cm; 3380 g) and females (55 cm; 2412 g) respectively. The Ford-Walford plot resulted in a growth rate (k/y) and an asymptotic length (L_∞) of 0.1016 and 52.4 cm, respectively. The size at maturity (L_m) was 32.5 cm (ca. 8 y of age), for a corresponding reproductive load (L_m/L_∞) of 0.62. The mortality rate obtained ($Z \sim M = 0.148$) was consistent with the hypothesis that a lower level of exploitation was exerted in the 1st period. Finally, it is worth noting that the optimum size ($L_{opt} = 35.3$ cm) falls just above the L_m.

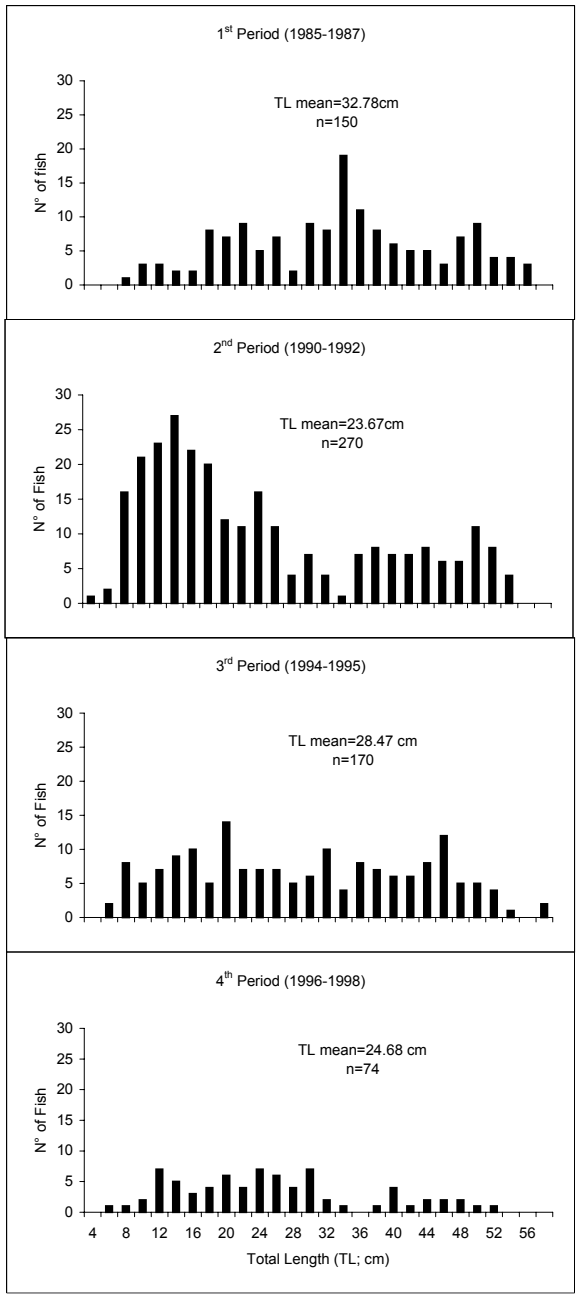


Fig. 3 – Length frequency distribution (sex combined) by period of *Scorpaena elongata* of the Strait of Sicily.

Distribuzione delle frequenze di lunghezza (sessi uniti) per periodo di S. elongata *nello Stretto di Sicilia.*

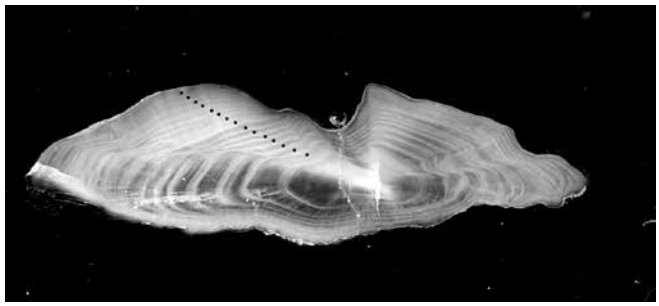


Fig. 4 – Thin sectioned otolith (*sagitta*) of a 37 cm sized and 15 years aged *Scorpaena elongata* male.
Struttura di otolite sezionato di un maschio di S. elongata*, 37 cm di lunghezza totale e 15 anni d'età.*

Tab. 2 – Mean size (TL; cm) at age (y) of *Scorpaena elongata* (sex combined) from the Strait of Sicily. N and s.e.: number of specimens and standard error.
Taglia media per classi d'età di S. elongata *nello Stretto di Sicilia.*

Age group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
mean TL (cm)	8,25	11,33	14,63	17,00	20,13	23,95	26,63	32,71	32,85	32,38	35,79
N°	2	3	4	3	8	10	8	7	10	4	7
s.e.	1,75	0,44	1,09	0,76	0,58	1,60	1,76	1,62	0,90	1,48	0,87
Age group	12	13	14	15	18	20	21	27	29	30	-
mean TL (cm)	41,00	47,50	45,30	41,50	49,25	48,33	46,75	53,50	55,00	55,00	-
N°	1	1	2	3	2	3	2	1	1	1	-
s.e.	-	-	0,75	2,36	1,75	0,17	4,25	-	-	-	-

Conclusions

Present figures are consistent with the distribution pattern of *S. elongata* in most Mediterranean areas (Duclerc, 1970; Campillo, 1992) and support a wider diffusion of the species in the past (GFCM, 1970). In spite of the presumed "western preference", present and other data (up 9 kg/h off the Egyptian coasts; Anon., 1984) suggest a high adaptability of the Slender rockfish in the Mediterranean.

The most streaking features of the 1st period are the impressive catches (up 535 kg/km^2) and the high mean size. Given that the former were realized nearby rough bottoms, it is likely that we had the possibility to explore locations not yet touched by commercial fisheries at that time. The latter could be partially explained by the lack of juveniles, likely as a consequence of incomplete recording (*Scorpaena* sp.) of the captures; in spite of this problem, it is evident that big fish become rare in the successive periods.

Although only partially evidenced by the mean values, the contraction in the distribution, the decrease in abundance indexes and size, are signs of over exploitation. The decrease in mean length is a common feature in exploited rockfish and was associated to fishing (Mason 1998; Massutí *et al*., 2000), although water characteristics and food availability can play a substantial role too (Massutí *et al*., 2000). By the way, the Sicilian fishermen considered the mean size of rockfish in a trawl catch as a good index of the local fishing pressure (Bombace & Sarà, 1972).

Given that the survey's equipments were unchanged, whereas the commercial fleets have greatly improved technology and increased fishing efficiency (Levi *et al*., 2002), the rarefaction of the Slender rockfish of the Strait of Sicily might reflect a true man-induced phenomenon.

No data exists on the sex ratio of this species; a 50% value is reported for the companion *H. dactylopterus* (Massutí *et al*., 2000), but any link between the observed Sr decrease and the increase in fishing pressure remain object of speculation.

Recruitment occurred mainly in spring, whereas the % of adult females and GSI values indicate July as the most likely spawning period. That is the same pattern evidenced for other deep-water Mediterranean rockfish (Campillo 1992; Massutí *et al*., 2001).

As concerns the L/W relationships, the Slender rockfish shows a similar allometry (negative and no sex differences) to *Scorpaena scrofa* (Campillo, 1992).

The age classes (up 29-30) and growth rate ($k/y = 0.102$) are consistent with other Mediterranean rockfish (Campillo, 1992), especially *H. d. dactylopterus* (7-30; $0.05 < k < 0.2$; Ragonese & Reale, 1995; Massutí *et al*., 2000; Morales-Nin, 2001).

The wide variability in the parameters mainly reflects sampling (difficulty in catching large specimens) and ageing problems. Discernible growth-zones exist (Cailliet *et al*., 2001), but rockfish have robust otoliths very difficult to read (Nedreass, 1990). Even using thin section, it is not easy avoiding checks, and the agreement between readers became a very crucial aspect to get reliable counts.

The L_∞ estimated (52.4 cm) deserves some comments; it is lower than the maximum sizes ever recorded in present samples (57 cm) and in literature (59 cm; Duclerc, 1970), but is close to the Froese and Binholan's estimate (52 cm). Furthermore, there are both experimental (Mathews & Samuel, 1990) and empirical (Beverton, 1992) evidences that the asymptotic size tends to be lower than the maximum size in fish larger than 50 cm.

According to the Growth-Maturity-Longevity-Pot (L_m/L_∞ vs $k*T_{max}$; Beverton, 1992), the values derived in the present note (0.62; 3.05) locates the Slender rockfish of the Strait of Sicily at the leftmost side of the *Sebastes* ellipse, and in the center of the cloud derived for the Gadiformes.

Although nobody really knows why deep-water rockfish exhibit so slow growing rates and long life spans (up 100 y; Cailliet *et al*., 2001), theoretical evidences support the hypothesis that the most potential benefit of longevity in fish is a long reproductive life (Leaman & Beamish, 1984).

The excessive removal of large and very old specimens by fishery, consequently, may compromise the long time stability of these resources. The instauration of deep-water "no-take" areas could be the only effective management tool to guarantee the maintenance of a minimum buffer capacity of *Scorpaena elongata* as demonstrated for *S. scrofa* (Reñones *et al*., 2001).

Riassunto

Scorpaena elongata Cadenat 1943, lo scorfano rosa, è una specie sedentaria presente nell'Atlantico orientale e nel Mediterraneo. La specie può raggiungere 59 cm di lunghezza e 4 kg di peso e predilige i fondali incoerenti prossimi ad emergenze rocciose, fra 50 e 800 m. I dati raccolti durante le campagne di ricerca condotte, con rete a strascico, nello Stretto di Sicilia (Mediterraneo centrale), fra il 1985 e il 1998, sono serviti per caratterizzare il ciclo di vita di questa popolazione. In particolare, sono stati analizzati: distribuzione spaziale, abbondanza (N/km^2; kg/km^2), struttura per sesso e maturità, e la relazione lunghezza-peso. Sono state anche analizzate 85 sezioni sottili di *sagittae* per la determinazione dell'età. Lo scorfano rosa è stato catturato nello

Stretto di Sicilia fra i 40 e i 500 m. Il reclutamento e la riproduzione si concentrano in primavera ed estate, rispettivamente. Per le femmine, la lunghezza di maturità è risultata 32.5 cm. Queste erano più numerose dei maschi (dal 52 al 69%). Maschi e femmine non differivano per la lunghezza (9-57 cm) e hanno mostrato la stessa relazione allometrica (b=2.89). L'analisi demografica (sessi combinati) conferma lo scorfano rosa come una specie longeva (T_{max} di 30 anni), a crescita lenta (L_∞= 52.4 cm; k/anno= 0.102) e a bassa mortalità (Z~M=0.15). La popolazione ha subito un calo sia nell'abbondanza (da 4-5 a 1-3 kg/km^2) sia nella taglia media (da 33 a 26 cm); la causa più probabile è la pesca a strascico. I progressi delle tecniche strumentali di navigazione e le ridotte maglie nei sacchi delle reti (31 mm; stirata) hanno permesso di allargare l'area esplorata dalle reti e determinano una cattura precoce di scorfano rosa, rispettivamente. Esemplari di 10-14 cm sono pienamente trattenuti nel sacco, una taglia di gran lunga inferiore alla lunghezza ottimale stimata (35 cm). Stabilire delle zone precluse alla pesca a strascico, in particolare fra i 100 ed i 200 m, può rappresentare un intervento gestionale idoneo a rallentare il depauperamento di questa risorsa.

References

ANONYMOUS (1984) – *Campagne di pesca sperimentale nel Mediterraneo Egiziano*. Gruppo EFIM-SOPAL: 217 pp.

BAUCHOT M.L. (1987) - Poissons osseux. 891-1421. In: Fischer W., Bauchot M.L., Schneider M. (eds), *Fiches FAO d'identification pour les besoins de la pêche (rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37*. 2. Commission des Communautés Européennes and FAO, Rome.

BEVERTON R.J.H. (1992) - Patterns of reproductive strategy parameters in some marine teleost fishes. *Journal of Fish Biology*, **41** (Suppl. B): 137-160.

BOMBACE G., SARÀ R. (1972) - La pesca a strascico sui fondali da -500 a -700 metri nel settore a Sud-Est di Pantelleria. *Mem. Min. Mar. Merc*., **33**: 77 pp.

CAILLIET G.M., ANDREWS A.H., BURTON E.J., WATTERS D.L., KLINE D.E., FERRY-GRAHAM L.A. (2001) – Age determination and validation studies of marine fishes: do deep-dwellers live longer? *Experimental Gerontology*, **36**: 739-764.

CAMPILLO A. (1992) - *Les pêcheries françaises de la Méditerranée: synthèse des connaissances*. Contrat CEE/IFREMER 92/1211 625/TF: 203 pp.

DUCLERC J. (1970) - Les Scorpaenidés de l'Est Tunisien et de Libye. *Journée ichthyol*., Rome, CIESM: 73-74.

FROESE R., BINOHLAN C. (2000) - Empirical relationships to estimate asymptotic length, length at first maturity and length at maximum yield per recruit in fishes, with a simple method to evaluate length frequency data. *Journal of Fish Biology*, **56**: 758-773.

FROESE R., PAULY D. (eds) (2001) - FishBase. World Wide Web electronic publication.

GAYANILO F.C.jr, SPARRE P., PAULY D. (1996) - *The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FiSAT) User's Guide*. FAO Computerized Information Series (Fisheries) No.8, Rome, FAO: 126 pp.

GFCM (1970) - Living deep-water resources of the Western Mediterranean and their exploitation. *Stud. Rev. Gen. Fish. Coun. Mediterr*., **44**: 38 pp.

LEAMAN B.M., BEAMISH R.J. (1984) – Ecological and management implications of longevity in some northeast pacific groundfishes. *Bull. Int. North Pac. Comm*., **42**: 85-230.

LEVI D., RAGONESE S., FIORENTINO F. (2001) - *Analisi dello stato di sfruttamento delle principali risorse demersali dello Stretto di Sicilia (Mediterraneo centrale) ed indicazioni per l'attuazione di misure gestionali di "rientro" verso situazioni di maggiore sostenibilità bio-economica*. Regione Siciliana, Ed/tn/dl-sr-ff/22/0501/rel.1: 39 pp.

LEVI D., RAGONESE S., ANDREOLI M.G., NORRITO G., RIZZO P., GIUSTO G.B., GANCITANO S., SINACORI G., BONO G., GAROFALO G., CANNIZZARO L. (1998) - Sintesi delle ricerche sulle risorse demersali dello Stretto di Sicilia (Mediterraneo Centrale) negli anni 1985-1997 svolte nell'ambito della legge 41/82. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (3): 130-139.

MASON J.E. (1998) – Declining Rockfish Lengths in the Monterey Bay, California, Recreational Fishery, 1959-94. *Marine Fisheries Review*, **60** (3): 15-28.

MASSUTÍ E., MORALES-NIN B., MORANTA J. (2000) - Age and growth of Blue-Mouth, *Helicolenus dactylopterus* (Osteichthyes: Scorpaenidae), in the western Mediterranean. *Fish. Res.*, **46**: 165-176.

MATHEWS C.P., SAMUEL M. (1990) - The relationship between maximum and asymptotic length in fishes. *Fishbyte*, **8** (2): 14-16.

MORALES-NIN B. (2001) – Mediterranean deep-water fish age determination and age validation: the state of art. *Fish. Res*., **51**: 377-383.

NEDREAAS K. (1990) – Age determination of Northeast Atlantic *Sebastes* species. *J. Cons. int. Explor. Mer.*, **47**: 208-230.

RAGONESE R., REALE B. (1995) - Distribution and growth of the blue-mouth rockfish *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Pisces-Scorpaeniformes) in the Strait of Sicily. *Biol. Mar. Medit.*, **2** (2): 269-273.

REÑONES O., QUETGLAS A., GONI R. (2001) – Effects of fishing restrictions on the abundance, size structure and mortality rate of a Western Mediterranean population of *Scorpaena scrofa* (Linnaeus, 1758). *Rapp. Comm. int. Mer Médit*., **36**: 316 pp.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) – *Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in central Mediterranean (Italy and Corsica)*. *Biol. Mar. Medit.,* **6** (Suppl. 1): 868 pp.

RIZZO P., GANCITANO S., NORRITO G., GIUSTO G.B., RAGONESE S. (2003) - Longevity of the slender rockfish, *Scorpaena elongata* Cadenat, 1943 (Pisces – Scorpaenidae), in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Biol. Mar. Medit.*, **10** (2): 886-890.

SPARRE P., VENEMA S.C. (1992) - Introduction to tropical fish stock assessment. *FAO Fish. Tech. Paper*, 306, Rev. 1: 429 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 233-241

S. Vitale, L. Cannizzaro, G. Bono, A.M. Beltrano, A. Milazzo, S. Cusumano

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA-CNR,
Via L. Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

MATURITA' SESSUALE, ETA' E ACCRESCIMENTO DELLA MORMORA, *LITHOGNATHUS MORMYRUS* (L., 1758) (PISCES; SPARIDAE) COSTA SUD OCCIDENTALE DELLA SICILIA

SEXAUL MATURATION, AGE AND GROWTH OF STRIPED SEABREAM, LITHOGNATHUS MORMYRUS *(L., 1758) (PISCES; SPARIDAE) SOUTH-WEST COAST OF SICILY*

Abstract

Lithognathus mormyrus *(L., 1758) (Pisces*: *Sparidae) was investigated in the south coast of Sicily between October 1997 and September 1998. A total of 781 specimens were collected in two sample ports, Selinunte and Licata. Otoliths clearly showed the ring pattern common to teleost fishes. The analysis of marginal increment showed one peak in July (95%). The von Bertalanffy growth parameters for all fish and for each port, Selinunte and Licata were:* L_∞*=383.9 mm, K=0.24,* t_0*=–1.017 and* L_∞*=384.4 mm, K=0.2,* t_0*=–1.483, respectively. The sex ratio for Selinunte and Licata was: 0.49 and 0.43, respectively. The maturity length for males and females was 181,4-189,75 mm and 171,2-182,97 mm for Selinunte and Licata, respectively. Both, sex ratio change to females and decrease of the mean total length between 3 and 4 years of age support the hypothesis that this is the period of sexual inversion. The age structure of Selinunte and Licata showed that 99% and 90%, respectively of specimens were older than the age of maturity so probably the resource mormora is not overexploited.*

Key-words: Lithognathus mormyrus*, age, growth, sexual maturity, Strait of Sicily.*

Introduzione

La mormora *Lithognathus mormyrus* (Linnaeus, 1758) vive in tutto il Mediterraneo, nell'Atlantico orientale, dalla Baia di Biscay al Capo di Buona Speranza, nel sud-ovest dell'Oceano Indiano e nel Mar Rosso (Aboal e Vicente, 1994; Erzini *et al.*, 1996). E' una specie costiera che abita fondi sabbiosi fino a 30 m di profondità (Bini, 1968) e può migrare negli stagni e nelle lagune come rilevato nello stagnone di Marsala (Sarà *et al*., 1996). Nel Tirreno settentrionale la mormora è una delle più abbondanti specie demersali costiere di fondo mobile (Biagi *et al.*, 1989).

La dieta delle forme giovanili è costituita da copepodi, piccoli policheti e anfipodi (Jardas, 1985; Froglia, 1977), mentre gli adulti preferiscono echinodermi, bivalvi e crostacei, di dimensioni maggiori (Froglia, 1977; Suau, 1970). Lungo la costa sud-occidentale della Sicilia la dieta dei giovani è rappresentata da anfipodi e policheti mentre negli adulti è caratterizzata principalmente da echinoidi, bivalvi e gasteropodi (Beltrano *et al.*, 2002).

La mormora viene catturata principalmente con attrezzi fissi (reti da posta) e con le sciabiche da spiaggia. Ha grande importanza economica per la pesca artigianale e sportiva (Smith e Smith, 1986; Bauchot, 1987) e nel mercato siciliano costituisce un'importante fonte di reddito (Cannizzaro *et al.*, 2000). In questo lavoro vengono presentati i risultati sul ciclo vitale della mormora lungo la costa sud occidentale della Sicilia.

Materiali e metodi

I dati sono stati raccolti nell'ambito di un progetto denominato "Stocks assessment of some coastal species caught by artisanal fishery (SACS)" finanziato dall'Unione Europea dal Consiglio Nazionale delle Ricerche e dal National Agricultural Research Foundation (Grecia).

Le catture di mormore della flotta artigianale sono state campionate tra l'ottobre 1997 e il settembre 1998 nei porti di Selinunte e Licata (costa meridionale della Sicilia) (Fig. 1). Campioni casuali di 60-70 mormore sono stati acquistati mensilmente, compatibilmente con le attività di pesca, dai pescatori dediti alla pesca artigianale che operano tra la costa e l'isobata dei 30 m. Complessivamente sono stati raccolti 330 esemplari a Licata e 451 a Selinunte. Per ciascun esemplare sono stati rilevati i seguenti parametri: lunghezza totale (LT), peso somatico, sesso, stadio di maturità delle gonadi e peso gonadi, secondo la scala a cinque stadi (Holden e Raitt, 1974). Tutti i parametri morfometrici sono stati rilevati al mm, il peso somatico e il peso delle gonadi è stato rilevato al g e al centesimo di g, rispettivamente.

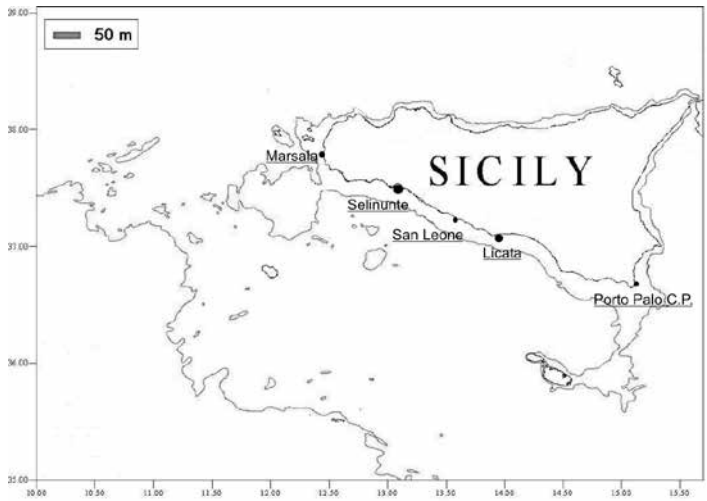


Fig. 1 - Area di studio.
Study area.

In tutti gli esemplari sono state prelevate le sagitte per la stima dell'età attraverso la conta degli annuli. Le sagitte sono state osservate mediante uno stereomicroscopio a luce riflessa con ingrandimento di 9×. Ciascuna sagitta è stata letta da due osservatori per tre volte a distanza di tempo (circa un mese) una dall'altra ed è stato utilizzato il valore medio dell'età determinata nelle tre diverse letture. Gli anelli di accrescimento sono stati contati nella maggior parte dei casi nella zona rostrale. Una percentuale di sagitte pari al 25% è stata sezionata per validare gli incrementi di crescita osservati sulla sagitta intera. In particolare sono state sezionate 20 sagitte appartenenti alla classe di età 1 per ciascun sito di campionamento e tutte le sagitte appartenenti agli esemplari di LT maggiore di 230 mm. L'analisi del margine della sagitta è stata usata per validare

la periodicità annuale nella formazione della zona opaca e ialina durante la crescita. I parametri di crescita sono stati stimati, con il metodo dei minimi quadrati, adattando il modello di von Bertalanffy ai dati sperimentali di ciascun sito di campionamento. I parametri *a* e *b* della relazione taglia-peso ($P=a*L^b$) sono stati stimati mediante fitting separatamente per sesso. Il rapporto tra i sessi (F/F+M) è stato determinato sia a Licata che a Selinunte. La taglia di prima maturità sessuale (L50%) è stata calcolata, con il modello logistico, sui campioni catturati durante il periodo riproduttivo considerando immaturi gli esemplari allo stadio di maturità 1-2 e maturi gli esemplari allo stadio di maturità 3-4-5.

Risultati

L'analisi dell'incremento marginale della sagitta mostra un aumento della percentuale di margini opachi nel periodo compreso tra giugno e settembre con un picco del 95% nel mese di luglio (Fig. 2). Tale andamento, conferma la periodicità annuale nella formazione dell'anello opaco validando la conta degli anelli di accrescimento per la stima dell'età in anni in accordo con Moralez-Nin, 1992.

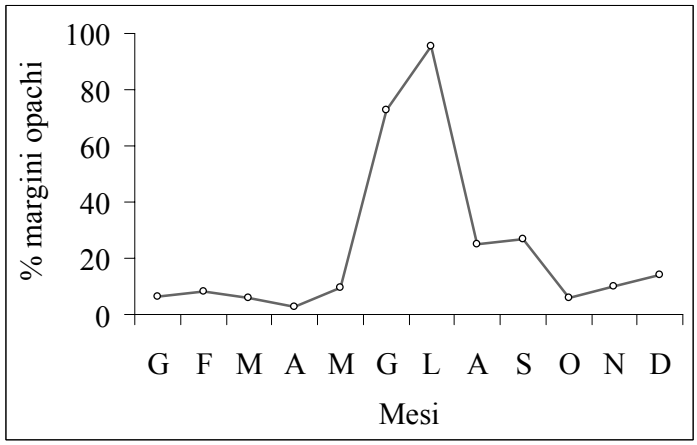


Fig. 2 - Incremento marginale della sagitta di *Lithognathus mormyrus*.
Marginal increment of the sagitta of Lithognathus mormyrus.

I parametri di crescita stimati sui campioni catturati nelle aree di pesca di Selinunte e di Licata sono risultati: $L_\infty=383.9$ mm, $K=0.24$, $t_0=-1.017$ e $L_\infty=384.4$ mm, $K=0.2$, $t_0=-1.483$, rispettivamente. I valori di L_∞ e K risultano superiori a quelli riportati per altre aree mediterranee (coste Mediterranee della Spagna e del nord Adriatico presentano valori di L_∞ compresi tra 333 mm ($K=0.27$ e $t_0=-0.06$) (Suau, 1970) e 362 mm ($K=0.3$ e $t_0=-0.08$) (Kraljevic *et al.*, 1995) mentre sono più piccoli di quelli stimati alle isole Canarie, ove sono state individuate otto classi di età ed è stata stimata una lunghezza asintotica $L_\infty=427$ mm ($K=0.19$ $t_0=-1.46$) (Pajuelo *et al.*, 2002) (Tab. 1). Queste differenze potrebbero essere correlate al differente tasso di sfruttamento e/o alle differenti condizioni ambientali.

Il parametro *a* ($2*10^{-5}$) della relazione taglia-peso (Tab. 2) è risultato lo stesso per i due porti campione, mentre il parametro *b* (Selinunte: M=2.87 - F=2.89; Licata: M=2.91 - F=2.94) mostra una relazione allometrica, più accentuata a Selinunte. Il coefficiente di adattabilità è risultato sempre molto elevato mostrando un buon adattamento ai dati sperimentali.

Tab. 1 - Parametri di crescita di *Lithognathus mormyrus* stimati nello Stretto di Sicilia, Mar Adriatico, Spagna e Isole Canarie.
Growth parameters of Lithognathus mormyrus *estimate from Strait of Sicily, Adriatic Sea, Spain and Canarian Islands.*

	Stretto di Sicilia		Mar Adriatico	Spagna	Isole Canarie
	Selinunte	Licata			
L_∞ (mm)	**383.9**	**384.4**	362	333	427
K/anno	**0.24**	**0.2**	0.3	0.275	0.19
t_0 (anni)	**-1.017**	**-1.483**	-0.08	-0.06	-1.46

La riproduzione avviene in primavera-estate (Tortonese, 1955; Bini, 1968; Kraljevic *et al.*, 1995) in accordo con i nostri risultati. L'indice gonado-somatico cresce rapidamente nel periodo estivo (giugno-settembre) e risulta massimo in luglio sia a Licata che Selinunte (Fig. 3).

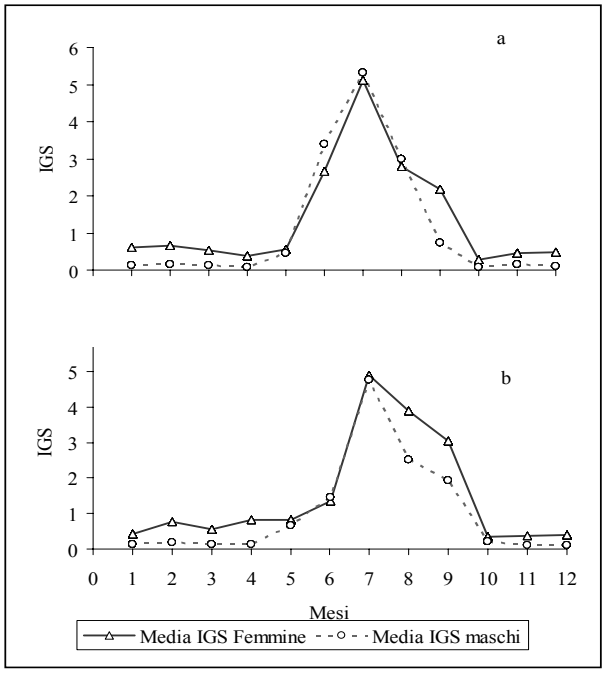


Fig. 3 - Indice gonado-somatico per maschi e femmine. Selinunte (a); Licata (b).
Gonadosomatic index for males and females. Selinunte (a); Licata (b).

La proterandria descritta da Besseau, 1990, ad una taglia di 250 mm LT è stata riscontrata anche nel nostro studio ad una taglia maggiore, nonostante un considerevole numero di maschi e femmine non inverte il sesso. A partire dalla taglia di 280 mm per Licata e 300 mm per Selinunte la proporzione di femmine cresce fino a valori compresi tra 0.8 e 1 (Fig. 4). La sex ratio (F/M+F) è risultata pari a 0.49 e 0.43, rispettivamente a Selinunte e Licata.

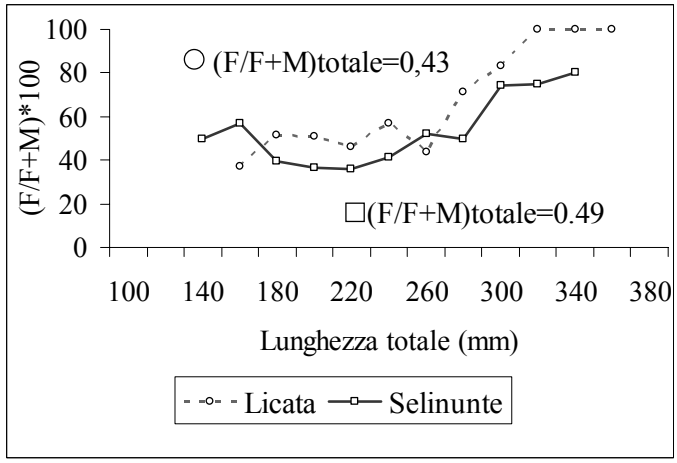


Fig. 4 - Sex ratio per classi di taglia e totale (F/F+M) del *Lithognathus mormyrus* lungo la costa sud occidentale della Sicilia.
Sex ratio for size group and total (F/F+M) of Lithognathus mormyrus *in the South-West coast of Sicily.*

Un'analisi delle lunghezze medie e dei pesi medi in relazione con l'età mostra un significativo rallentamento di tali grandezze in corrispondenza delle età comprese tra 3 e 4 anni avvalorando l'ipotesi che la lunghezza totale di 280 e 300 mm (Fig. 4) coincide con la taglia di inversione sessuale.

La taglia di prima maturità sessuale di 140 mm LT stimata da Suau, 1970, raggiunta durante il secondo anno di vita è minore rispetto ai nostri risultati. Per le femmine e i maschi è risultata di 189,75-181,42 mm per la zona Selinunte e 182,97-171,25 mm per la zona Licata (Tab. 2), corrispondenti alle età di 1.73 e 1.55 anni, rispettivamente.

Le strutture per classi di età dei campioni di Selinunte (Tab. 3) e Licata (Tab. 4) mostrano che il 96% delle catture è compreso tra i gruppi di età 1,5-4,5 e 1-3,5 anni, rispettivamente. Mentre la percentuale di esemplari di età uguale o maggiore a L50% è risultata pari al 99% a Selinunte e al 90% a Licata.

Tab. 2 - Parametri della relazione taglia-peso (a, b), coefficiente di adattabilità e taglia di prima maturità sessuale a Selinunte e Licata.

Parameters of length-weight relationship (a, b), adaptability coefficient (R^2) and first maturity length from Selinunte and Licata.

	Selinunte		Licata	
	M	F	M	F
a	$2*10^{-5}$	$2*10^{-5}$	$2*10^{-5}$	$2*10^{-5}$
b	2.87	2.89	2.91	2.94
R^2	0.974	0.978	0.940	0.956
L50%	181,42	189,75	171.25	182.97

Tab. 3 - Chiave età-lunghezza totale, Selinunte.

Age-total lenght key, Selinunte.

Classi di	Età (anni)													
lunghezza (LT, mm)	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	Totale
100														0
110														0
120	3													3
130	1													1
140		1												1
150		5												5
160		36	1											37
170	1	18	3	4										26
180		5	9	4										18
190		5	35	7										47
200		3	35	16	3	2								59
210		2	12	25	1	2								42
220			6	23	3	13								45
230			3	11	7	16	1							38
240				8	7	21	2							38
250				4	9	15	1	1						30
260				1	5	9	4	1						20
270						5	5	4						14
280						4	3	3						10
290						2	1	1	1					5
300								1				1		2
310							1		2	2				5
320								1						1
330													2	2
340												1	1	2
350														0
360														0
370														0
Numero di esemplari	5	75	104	103	35	89	18	12	3	2	0	2	3	451
L T media	124,2	163,6	192,8	208,5	233,4	237,9	261,3	276,8	295,3	304		316	329	
Deviazione standard	20,95	13,33	12,67	20,38	17,34	19,37	19,28	18,14	12,5					
% di esemplari	1,109	16,63	22,84	23,06	7,761	19,73	3,991	2,661	0,665	0,443	0	0,443	0,665	

Tab. 4 - Chiave età-lunghezza totale, Licata.
Age-total lenght key, Licata.

Classi di lunghezza (LT, mm)	Età (anni) 1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	Totale
100														0
110														0
120														0
130	2													2
140	13	1												14
150	8													8
160	5	8	2											15
170	5	26	4	7										42
180		26	7	8	1	2								44
190		17	10	16		1								44
200		6	8	27	2									43
210		3	17	18		1								39
220			12	18	1									31
230				13	2	4								19
240				7	3									10
250					2	1								3
260				2				1						3
270							1	2						3
280						1								1
290								2						2
300								1						1
310										2				2
320												1		1
330													1	1
340													1	1
350												1		1
360														0
370														0
Numero di esemplari	33	87	60	116	11	10	1	6	0	2	0	2	2	330
L T media	144,8	176,3	196,6	203,2	221	214,9	268	275,5	0	310	0	335	334,5	
Deviazione standard	12,36	12,25	16,35	19,46	23,1	31,26		14,67	0		0			
% di esemplari	10	26,36	18,18	35,15	3,333	3,03	0,303	1,818	0	0,606	0	0,606	0,606	

Conclusioni

Le informazioni bibliografiche mostrano che molti studiosi hanno condotto attività di ricerca sulla biologia della mormora.

Sebbene le taglie di prima maturità sessuale di Licata risultano inferiori di circa 1 cm per i maschi e 0.7 cm per le femmine, così come risultano minori le taglie di inversione sessuale, solo un approfondito studio degli stadi di maturità sessuale potrebbe escludere l'ipotesi che tali differenze siano attribuibili al caso o alla maggiore temperatura media/annua dell'acqua registrata sul versante sud-orientale della Sicilia (Mazzola *et al.*, 1998). Questa ultima ipotesi potrebbe essere rafforzata considerando che gli effetti legati alle differenze ambientali influenzano l'età (lunghezza) e la maturità determinando cambiamenti nei tassi di crescita e di mortalità. La risposta biologica più comune a tali cambiamenti ambientali, in una popolazione catturata in siti differenti è un incremento del tasso di crescita e un decremento dell'età di prima maturità. Un ulteriore ipotesi, emerge considerando la differenza dello sforzo di pesca tra i due siti di campionamento.

I risultati evidenziano che la taglia/età media di cattura a Licata è 224 mm/2,15 anni mentre a Selinunte 208 mm/2,6 anni, valori maggiori alla taglia/età di prima maturità

sessuale. Una attenta analisi suggerisce che a Licata e Selinunte la popolazione di mormora si comporta in modo differente. Dal punto di vista gestionale, appare utile ed opportuno trattare la popolazione di mormore lungo la fascia costiera meridionale siciliana come due subpopolazioni. Una la più occidentale, meno sfruttata, probabilmente occupa la zona tra Marsala e San Leone area caratterizzata da acque relativamente fredde, l'altra ad oriente occupa la zona da San Leone a Porto Palo di Capo Passero caratterizzata da acque più calde ed a più alto tasso di sfruttamento.

Summary

Lithognathus mormyrus, represents a target species of the small scale fishery along the Sicilian coast where it represents a high economic value. From October 1997 to September 1998, in the framework of international research program SACS, 781 specimens from Selinunte and Licata landings (south Sicilian coast) were analyzed. Marginal increment analysis of specimens suggested that a single annulus was formed in each year.

The overall ratio of females to males (F/F+M) of Selinunte and Licata were 0.49 and 0.43 respectively; whereas sex ratio for length classes showed a predominant of females from 280 and 300mm of total length for Selinunte and Licata. Highest value of GSI occurred between June and September, with a peak in July. The length at which fifty percent of the fish became mature in Selinunte (181.4 mm for males and 189,7 mm for females) was higher than in Licata (171.2 mm for males and 182,9 mm for females).

The result showed that the mean length/age of the catch in Licata is 224 mm/2.15 year whereas is 208 mm/2.6 years in Selinunte, higher values of first length/age sexual maturity. Probably, the best management of striped seabream population can be treated as two sub-population along the south cost of Sicily. One less exploited, probably distributed between Marsala and San Leone (south-west coast), other from San Leone to Porto Palo di Capo Passero (south-east coast) characterized a warmer waters and more high rate of exploitation.

Bibliografia

ABOAL A.S., VIVENTE M.P. (1994) - Premier signalement le long des cotes de Galice (Espagne), de *Lithognathus mormyrus* (Perciformes: Sparidae). *Cybium,* **18** (2): 207-208.

BIAGI F., DE RANIERI S., MORI M., SARTOR P., SBRANA M. (1989) – Preliminary analysis of demersal fish assemblages in the Northern Tyrrenian Sea. *Nova Thalassia*, **10** (Suppl. 1): 391-398.

BELTRANO A.M., VITALE S., MILAZZO A. (2002) - Note sul comportamento alimentare di *Lithognathus mormyrus* (Linnaeus, 1758) nello Stretto di Sicilia. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 729-731.

BESSEAU L. (1990) - Etude histo-cytologique de la structure sexuelle d'une population de *Lithognathus mormyrus* (L.) (Teleostee, Sparide). *Rapp. Comm. Int. Mer Mèdit.*, **32** (1): 262 pp.

BINI G. (1968) – Atlante dei pesci delle coste italiane. 1-10. Mondo sommerso, Roma.

BAUCHOT M.L. (1987) - Sparidae. In: Fischer W., Bauchot, M.L., Schneider M. (eds), *Fiches FAO d'identification des especes pour les besoins de la peche. Mediterranee et Mer Noire*, zone de peche 37. Vertebres. FAO, Rome, **2**: 1343-1376.

CANNIZZARO L., KALLIANIOTIS A. POTOSCHI A. ARCULEO M. (2000) – Stock assessment of some coastal species caught by artisanal fishery (SACS). Final Report Project N. 96/054 (DG XIV).

ERZINI K., GONCALVES J.M.S., BENTES L., LINO P.G., CRUZ J. (1996) - . Species and size selectivity in a Portuguese multispecies artisanal long-line fishery. *ICES J. Mar. Sci.,* **53**: 811-819.

FROGLIA C. (1977) – Feeling of *Lithognathus mormyrus* (l.) in Central Adriatic Sea (Pisces, Sparidae). *Rapp. Comm. Int. Mer Mèdit.*, **24** (5): 95-97.

HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) – Manual of fisheries science. Part 2-Methods of Resource Investigation and Their Application. *Fao Fisheries Technical Paper*, 115, Revision 1: 135 pp.

JARDAS I. (1985) - The feeding of juvenile striped seabream, L m (L., 1758) (Pisces sparidae). *Rapp. Comm. Int. Mer Medit*, **29** (8): 107-108.

JOSE' G. PAJUELO, JOSE' M.L., MENDEZ M., COCA J., RAMOS A.G., (2002) – Determination of age and growth of the striped seabrean *Lithognathus mormyrus* (Sparidae) in the Canarian archipelago by otoliths readings and backcalculation. *Sci. Mar.*, **66** (1): 27-32.

KRALJEVIC M., DULCIC J., PALLAORO A., CETINIC P., JUG-DUJAKOVIC J. *et al*. (1995) – Sexual maturation, age and growth of striped sea bream, *Lithognathus mormyrus* L., on the eastern coast of the Adriatic Sea. *Appl. Ichthyol.,* **11** (1-8).

MAZZOLA S. (1998) - Distribution, biology and biomass estimates of the Sicilian Channel anchovy. *Interim Report of the CE Project MED 96-052*: 19 pp.

SARA' G., MIRTO S., MAZZOLA A. (1996) – Analisi della diversità biologica del popolamento ittico di una laguna costiera siciliana (Stagnone di Marsala, Sicilia occidentale). *Biol. Mar. Medit.*, **3** (1): 94-102.

SUAU P. (1970) - Contribicion al estudio de la biologia de *Lithognathus* (=*Pagellus*) *mormyrus* L. (Pisces esparidos). *Inv. Pesq*., **34** (2): 237-265.

TORTONESE E. (1965) – *Fauna d'Italia. Osteichthyes (Pesci ossei)*. Ed. Calderini. Bologna: 102-104.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 242-245

F. Barbato, A.R. Taddei[1], V. Valentini, A.M. Fausto[2]

Enea Biotec. Amb., C.R. Casaccia, Via Anguillarese, 301 - 00060 Roma, Italia.
[1]CIME, Università della Tuscia - 01100 Viterbo, Italia.
[2]Dipartimento Scienze ambientali, Università della Tuscia - 01100 Viterbo, Italia.

ASPETTI MORFOLOGICI DELLO SVILUPPO LARVALE DI *SPARUS AURATA* OSSERVATI TRAMITE SEM

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF LARVAL DEVELOPMENT IN SPARUS AURATA *AS SEEN WITH SEM*

Abstract

Gilthead seabream Sparus aurata *larvae were reared in a laboratory scale plant and samples were taken from fertilized eggs up to 27 days of age for SEM observations. In this paper are shown SEM photographs regarding mainly the cephalic region plus some other anatomical parts such as stomach and rectus, gills and sensory button along the larval flank. The use of SEM could be useful in the understanding of external organ development and even to infer physiological meaning connected to them.*

Key-words*:* Sparus aurata*, larvae, SEM, development.*

Introduzione

Sparus aurata, l'orata mediterranea, è una specie oggetto di allevamento intensivo da oltre venti anni. Tuttavia non tutti gli aspetti del suo sviluppo, principalmente nella fase larvale, sono conosciuti a fondo. In letteratura sono reperibili diversi lavori che trattano dello sviluppo larvale di diverse strutture ed organi, ma con strumenti di indagine diversi dal SEM. Il presente contributo è da intendersi come un primo approccio, limitato essenzialmente alla regione cefalica, all'impiego del SEM per studiare ed approfondire lo sviluppo degli organi esterni larvali.

Materiali e metodi

Presso il Centro Ricerche Enea della Casaccia sono state allevate larve di *Sparus aurata*, generate da riproduttori ospitati nello stabulario ittico, tramite un sistema di laboratorio facente uso di contenitori in policarbonato trasparente da 30 l. Periodicamente, ad iniziare dalle uova embrionate e terminando con larve di 27 giorni dalla schiusa, sono stati prelevati campioni per osservazione al SEM presso il Centro Interdipartimentale di Microscopia Elettronica dell'Università della Tuscia. Le larve sono state alimentate dapprima a rotiferi, poi con nauplii di Artemia, secondo modalità consolidate. Lo sviluppo di alcune regioni anatomiche è stato osservato al SEM e fotografato.

Risultati

La temperatura, durante i 30 giorni di allevamento, è stata di 17,4±1,4 °C, la salinità di 39,2±0,7‰. Nel presente contributo, vengono mostrate alcune fotografie che raffigurano essenzialmente lo sviluppo della parte cefalica, oltre ad alcuni aspetti particolari quali un bottone sensoriale larvale della linea mediana, la regione stomaco-rettale e lo sviluppo delle branchie.

Conclusioni

Le informazioni visive ricavate dalle immagini raccolte dal SEM, oltre che per documentare lo sviluppo anatomico dei vari organi, possono essere d'aiuto per interpretare i diversi bisogni fisiologici dei diversi stadi di sviluppo larvale. L'apertura della bocca (Figg. 4 e 5), ad esempio, costituisce un evento che rivoluziona il comportamento larvale, con l'instaurarsi della capacità di acquisizione del cibo, anche attraverso il contemporaneo sviluppo dell'occhio (Figg. 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9 e 10) e della funzione visiva, nonchè della respirazione attraverso le branchie, dapprima molto semplici (Fig. 13) e nel giro di pochi giorni sempre più complesse (Fig. 14, 15, 16); così anche per stomaco ed il retto (Fig. 12), da cui evolverà l'intestino con le varie parti funzionalmente differenti. Lo studio dello sviluppo del complesso opercolare (Figg. 1, 4, 6, 7, 8, 9, 10) tramite SEM, peraltro, potrebbe contribuire a chiarire il meccanismo e l'esatto tempismo con cui avvengono le malformazioni che colpiscono quest'organo piuttosto frequentemente negli esemplari allevati. Particolari anatomici di piccoli organi, quali ad esempio i bottoni sensoriali larvali (Fig. 11), che in seguito faranno parte della linea laterale, possono venire studiati con questa tecnica da un punto di vista anatomo-funzionale per appurarne meglio anche il significato fisiologico.

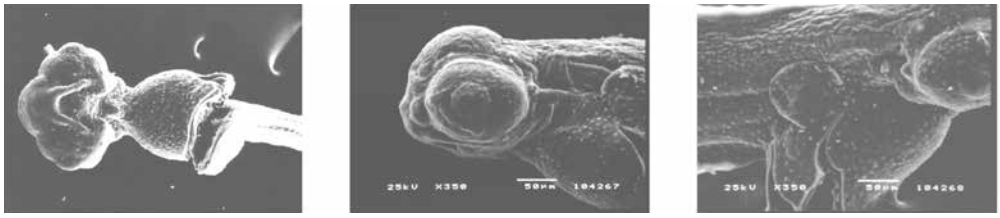


Fig. 1 – 150×, larva di 2 gg, vista lato ventrale; abbozzo mandibola, sacco vitellino rotto in seguito alle manipolazioni, occhio con cristallino. Fig. 2 – Larva di 2 gg, lato sx; abbozzo pinna pettorale e fessura branchiale. Fig. 3 – Larva di 2 gg, lato dx, particolare fessura branchiale e pinna pettorale.

Fig. 1 - 150×, 2 day old larva, inferior side view; lower jaw draft, yolk sack broken due to manipulation, eye with lens. Fig. 2 - 2 day old larva, left side; pectoral fin draft, gill opening. Fig. 3 - 2 day old larva, right side, close up of pectoral fin and gill opening.

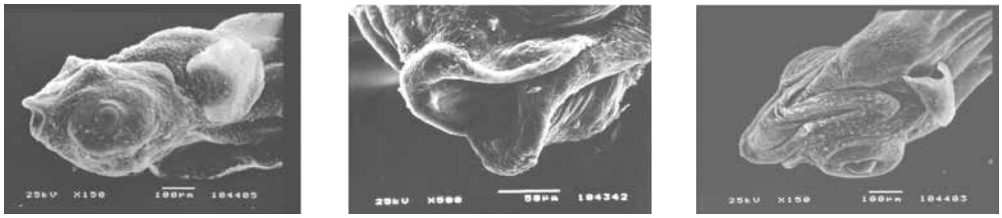
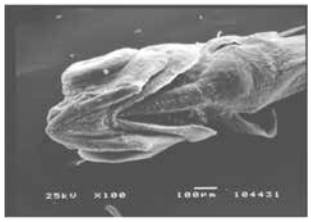


Fig. 4 – Larva di 5 gg, lato dx ventrale, bocca in fase di incipiente apertura, fessura branchiale e osso opercolare, mandibola formata e quasi funzionale. Fig. 5 – Larva di 5 gg, bocca aperta, particolare. Fig. 6 – Larva di 5 gg, lato dx ventrale; mandibola e mascella funzionali, fessura branchiale, pinne pettorali sviluppate.

Fig. 4 - 5 day old larva, right inferior side, mouth about to open, gill opening and opercular bone, lower jaw almost functional. Fig. 5 - 5 day old larva, close up of open mouth. Fig. 6 - 5 day old larva, inferior right side; lower and upper jaw functional, gill opening, pectoral fin enlarged.



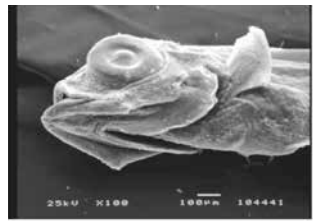


Fig. 7 – Larva di 13 gg, ventrale; mandibola e ossa opercolari in sviluppo, stomaco. Fig. 8 – Larva di 16 gg, lato dx; pinna pettorale e primordiale visibile inferiormente; opercolo più sviluppato. Fig. 9 – Larva di 16 gg, lato dx ventrale; sviluppo di mandibola e mascella, allargamento opercolo.

Fig. 7 - 13 day old larva, inferior view; lower jaw and opercular bones developing, stomach. Fig. 8 - 16 day old larva, right side; pectoral fin and larval fin visible in the bottom; operculus enlarged. Fig. 9 - 16 day old larva, inferior right side; lower and upper jaw developing, operculus growth.

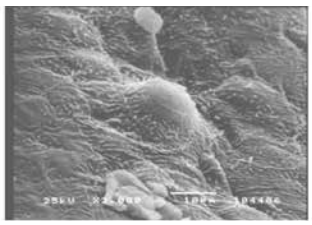
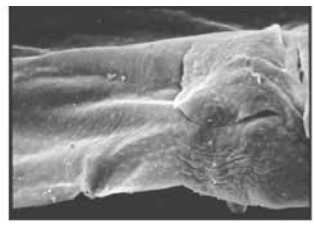



Fig. 10 – Larva di 27 gg, lato dx ventrale; ingrandimento proporzioni generali, lamelle branchiali sotto l'opercolo. Fig. 11 – Larva di 5 gg, particolare di un bottone sensoriale lungo la linea mediana del fianco. Fig. 12 – Larva di 13 gg, 150×, lato dx, stomaco, pinna pettorale e retto.

Fig. 10 - 27 day old larva, inferior right side; enlargement of general proportions, gill arches behind the operculus. Fig. 11 - 5 day old larva, close up of a sensory button along the flank. Fig. 12 - 13 day old larva, 150×, right side, stomach, pectoral fin and rectus.

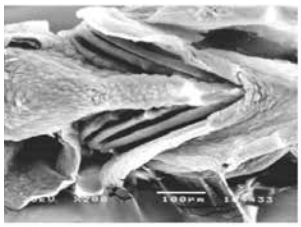
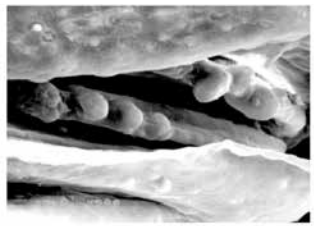



Fig. 13 – Larva di 13 gg con 3 archi branchiali visibili. Fig. 14 – Larva di 13 gg, particolare di archi branchiali con abbozzi di filamenti. Fig. 15 – Larva di 16 gg con filamenti accresciuti.

Fig. 13 - 13 day old larva, with 3 gill arches. Fig. 14 - 13 day old larva, close up of gill arch with filament draft. Fig. 15 - 16 day larva with enlarged filament.

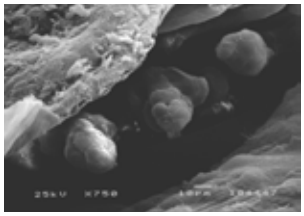


Fig. 16 – larva di 16 gg, particolare dei filamenti branchiali.
16 day larva, close up of gill filament.

Bibliografia

BOGLIONE C., GAGLIARDI F., SCARDI M., CATAUDELLA S. (2001) - Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery-reared gilthead sea bream *Sparus aurata* L. 1758. *Aquaculture,* **192**: 1-22.

CALZADA A., MEDINA A., GONZALEZ DE CANALES M.L. (1998) - Fine structure of the intestine development in cultured sea bream larvae. *Journal of Fish biology*, **703**: 340-365.

FAUSTINO M., POWER D.M. (1999) - Development of the pectoral, pelvic, dorsal and anal fins in cultured sea bream. *Journal of Fish Biology*, **942**: 1094-1110.

FAUSTINO M., POWER D.M. (1997) - Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *Journal of Fish Biology*, **550**: 11-22.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 246-248

L. Barbin, C. Biondi, P. Barion, S. Fiorini, R. Rossi, P.G. Borasio

Dipartimento di Biologia, Università di Ferrara, Via L. Borsari, 46 - 44100 Ferrara, Italia.

ESPRESSIONE E FUNZIONE DELL'OSSIDO NITRICO SINTASI NEGLI OOCITI DI *VENUS VERRUCOSA* (BIVALVIA, VENERIDAE)

EXPRESSION AND FUNCTION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN VENUS VERRUCOSA *(BIVALVIA, VENERIDAE) OOCYTES*

Abstract

In Venus verrucosa *oocytes L-arginine and nitric oxide donors increased ^{3}H-arachidonic acid release. This effect was mimicked by the guanylyl cyclase activator YC-1 but counteracted by both the guanylyl cyclase inhibitor ODQ and by the PLA_2 blocker $AACOCF_3$. In the same cells the expression of NO synthase was evidentiated by RT-PCR. A functional link between NO/NOS and AA/PLA_2 pathways is suggested.*

Key-words: Venus verrucosa*, oocytes, nitric oxide, PLA_2, NO synthase.*

Introduzione

Numerose evidenze indicano l'ossido nitrico (NO), formato dalla L-arginina per azione dell'enzima ossido nitrico sintasi (NOS), come un importante mediatore cellulare coinvolto in numerosi processi biologici, compresa la funzione riproduttiva. Due sono le isoforme di NOS identificate: una costitutiva (cNOS), Ca^{2+}/calmodulina-dipendente, attivata per via recettoriale, una inducibile (iNOS), Ca^{2+}-indipendente che, una volta espressa, genera elevate quantità di NO per tempi lunghi. Negli invertebrati, molluschi in particolare, dove a livello del SNC è descritta una attività NO sintasica (Colasanti e Venturini, 1998), non vi sono informazioni sul coinvolgimento dell'NO nel processo riproduttivo. Diverse evidenze indicano invece un possibile ruolo dell'acido arachidonico (AA) e dei suoi metaboliti, prostanoidi ed eicosanoidi, nel controllo della riproduzione. Infatti una fosfolipasi A_2 (PLA_2) Ca^{2+}-dipendente, AA ed eicosanoidi sono coinvolti nella maturazione degli oociti nella stella di mare (Meijer *et al.*, 1986) e in *Spisula solidissima* (Hada *et al.*, 1997). Inoltre, prostaglandine del tipo E sono coinvolte nel meccanismo di emissione dei gameti nei bivalvi *Patinopecten yessoensis* (Matsutani e Nomura, 1987) *e Argopecten purpuratus* (Martinez *et al.*, 2000). Per quanto riguarda *Venus verrucosa,* di recente abbiamo dimostrato, negli oociti, la presenza di una PLA_2 NO-sensibile. Per questa ragione abbiamo ora analizzato, sulle stesse cellule, l'effetto dell'ossido nitrico esogeno ed endogeno sulla liberazione di AA, nonché l'espressione dell'RNA messaggero per la NOS.

Materiali e metodi

Le *V. verrucosa* provenienti dal Golfo di Trieste sono state mantenute in acquari contenenti acqua di mare naturale (SW) costantemente aerata, alla temperatura costante di 15-18 °C. L'ovaio veniva estratto, gli oociti separati per filtrazione su rete di nylon (30 µm mesh) e risospesi in SW.

Rilascio di ^{3}HAA

Per incorporare AA gli oociti venivano incubati in SW contenente 1.5 µCi/ml ^{3}HAA (8.07 TB q/mmol) per 60 min a 20 °C). Dopo 60 min di lavaggio venivano raccolte

frazioni ogni 5 min e la radioattività determinata per scintillazione liquida. Le sostanze venivano aggiunte alle camere di perifusione per 15 min.

Preparazione dell'RNA totale dagli oociti

L'RNA è stato estratto con Trizol (1 ml/ml oociti). Dopo dissociazione dei complessi nucleoproteici i campioni venivano addizionati di cloroformio e alcool isopropilico. Dopo agitazione, centrifugazione e lavaggio con etanolo i pellets contenenti RNA venivano risospesi. La concentrazione di RNA veniva determinata per via spettrometrica (OD_{260}).

RT-PCR

Per amplificare l'RNA è stato sintetizzato cDNA usando 5µg di RNA totale, 3.5 µM oligo $(dT)_{23}$, 500 µM dNPTs e 2 unità di AMV Riverse Transcriptase. La PCR è stata eseguita usando 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNPTs, 0.25 µg di ciascun primer senso (5'-TGTGATCCTCACCGCTACAA-3') e antisenso (5'-GACTGTTGAGATGGAAGAAC-3') e 0.25 U di Taq Polimerasi. I prodotti di amplificazione, lunghi 598 bp, erano risolti in gel di agarosio.

Statistica

E' stata usata l'analisi della varianza ad una via (ANOVA) seguita dal test di Bonferroni. Valori significativi per $p < 0.05$.

Sostanze

[5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15- ^{3}H] arachidonic acid (205 Ci/mmol) (^{3}HAA), Amersham Italia. Sodium nitroprusside (SNP), L-arginine, 3-[5'-hydroxymethyl-2'-furyl]-1-benzyl

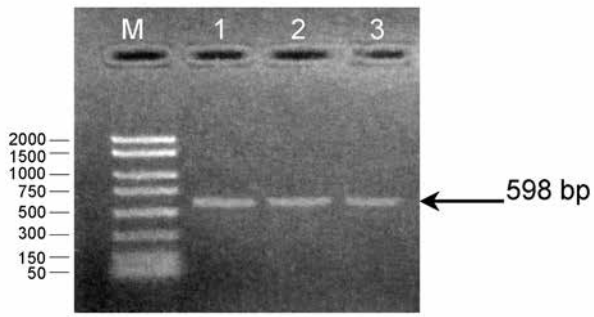


Fig. 1 - Il gel trattato con bromuro di etidio mostra il livello di RNA in oociti di *V. verrucosa* non trattati (colonna 1) o in seguito a pretrattamento con 0.1 ng/ml (colonna 2) e con 1 ng/ml IL-1β (colonna 3) che, come noto, è capace di aumentare l'espressione della forma inducibile dell'enzima (Nathan, 1992). L'elettroforesi dei prodotti della PCR è stata fatta in presenza di un DNA marcatore di dimensioni (colonna M).

Amplification of nitric oxide synthase RNA by RT-PCR. Ethidium bromide stained gel shows mRNA level in native (lane 1), 0.1 (lane 2) and 1 ng/ml (lane 3) IL-1β-pretreated V. verrucosa *oocytes. PCR products were electrophoresed with the DNA marker (lane M).*

indazole (YC-1), 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-α]quinoxalin-1-one (ODQ), e 1,1,1-trifluoromethyl-6,9,12,15 heicosatetraen-2-one ($AACOCF_3$), Taq Polymerase, interleukin 1β (IL-1β) and A 23187 erano della Sigma-Aldrich (Milan, Italy). Trizol reagent e AMV Reverse transcriptase sono stati acquistati dalla Gibco BRL.

Risultati

Il substrato endogeno della NOS L-arginina (5 mM e 10 mM) aumentava in modo significativo il rilascio di ^{3}HAA (2 e 7 volte, rispettivamente, rispetto al valore basale). Un simile effetto era osservato in presenza del classico donatore di NO SNP (5 mM e 10 mM, 12 e 8 volte, rispetto al basale). Un effetto di facilitazione era osservato anche in presenza di YC-1, attivatore della guanilil ciclasi solubile considerata bersaglio della NOS. Al contrario, ODQ, inibitore selettivo della guanilil ciclasi solubile, eliminava totalmente la stimolazione della liberazione di AA indotta da 5 mM SNP.

Infine, l'effetto indotto dal donatore di NO non veniva espresso in presenza dell'inibitore specifico della PLA_2 $AACOCF_3$. Nella Fig. 1 è illustrata l'espressione dell'RNA della NOS per mezzo della RT-PCR.

Conclusioni

I dati qui riportati sono in accordo con l'esistenza, negli oociti di *V. verrucosa*, di una fosfolipasi A_2 sensibile all'NO endogeno ed esogeno. Infatti: 1) L-arginina, substrato endogeno che attiva la NOS, aumenta in modo dose-dipendente la liberazione di AA; 2) SNP, un classico donatore di NO, è pure fortemente efficace nell'attivare la liberazione di AA. L'attivazione della PLA_2 da parte di NO appare mediata dal GMP ciclico, in quanto: 3) YC-1, attivatore della guanilato ciclasi solubile, considerata il bersaglio convenzionale dell'NO, riproduce, sia pure in modo limitato, l'effetto dell'NO; e 4) ODQ, inibitore selettivo dell'enzima, elimina totalmente la liberazione di AA indotta da SNP. Per verificare le correlazioni tra liberazione di acido arachidonico ed attivazione della PLA_2 abbiamo quindi saggiato l'effetto di $AACOCF_3$, inibitore specifico dell'enzima fosfolipasico. Tale sostanza, di per se incapace di modificare il rilascio basale di AA, blocca completamente quello attivato da SNP. La risposta all'L-arginina suggerisce la presenza di una NOS negli oociti di *V. Verrucosa*, e l'analisi dell'espressione dell'RNA messaggero per l'enzima, mediante RT-PCR, conferma tale ipotesi. Infine, poiché il trattamento con IL-1β non mostra alcun effetto, possiamo pensare cha la NOS espressa in oociti di *V. Verrucosa* sia simile all'isoforma costitutiva osservata negli invertebrati.

Presi assieme i nostri risultati suggeriscono che il legame tra le vie NO/NOS e AA/ PLA_2 potrebbe essere coinvolto nel processo riproduttivo della *V. Verrucosa*.

Bibliografia

COLASANTI M., VENTURINI G. (1998) - Nitric oxide in invertebrates. *Mol. Neurobiol*., **17**: 157-174.

DONG Y.L., YALLAMPALLI C. (1996) - Interaction between nitric oxide and prostaglandin E_2 pathways in pregnant rat uteri. *Am. J. Physiol.,* **270**: 471-476.

HADA T., SWIFT L.L., BRASH A.R. (1997) - Discovery of 5R-lipoxygenase activity in oocytes of the surf clam, *Spisula solidissima. Biochim. Biophys. Acta,* **1346**: 109-119.

MARTINEZ G., METTIFOGO L., LENOIR R., OLIVARES A. (2000) - Prostaglandins and reproduction of the scallop *Argopecten purpuratus*: II. Relationship with gamete release. *J. Exp. Zool.,* **287**: 86-91.

NATHAN C. (1992) – Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.,* **6**: 3051-3064.

Questa ricerca è stata effettuata con fondi provenienti da: Direzione Generale della Pesca e dell'Acquacoltura - IV Piano triennale della pesca e dell'acquacoltura in acque marine e salmastre.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 249-252

D. Di Cave, P. Orecchia, M. Ortis*, L. Paggi*

Dipartimento di Sanità Pubblica e Biologia Cellulare, Università di Roma "Tor Vergata",
Via Montpellier, 1 - 00133 Roma, Italia.
* Dip. Sci. San. Pubb., Università di Roma "La Sapienza"- Roma, Italia.

METAZOI PARASSITI DI ALCUNI ELASMOBRANCHI DEL MARE TIRRENO

METAZOAN PARASITES FROM SOME ELASMOBRANCHS OF THYRRENIAN SEA

Abstract

This paper lists the metazoan parasites recovered in 9 elasmobranch species upon examination of 887 individuals captured in the Thyrrenian Sea. A total of 10 species of monogeneans, 4 species of cestodes, 3 species of nematodes and 1 species of acanthocephalans were detected at the adult stage. Also larval forms of Trypanorhyncha cestodes were collected. The acanthocephalan is a new record for the host. All species were elasmobranch-specific. Overall, the monogeneans were dominant, accounting for 50% of all species identified, followed by cestodes (30%), nematodes (15%) and acanthocephalans (5%).

Key-words*: parasite, elasmobranch, Thyrrenian Sea.*

Introduzione

Il presente lavoro sui metazoi parassiti di alcune delle più comuni specie di elasmobranchi rappresenta uno specifico contributo alle ricerche che vengono portate avanti sui pesci cartilaginei dei mari italiani in relazione al rinnovato interesse per la loro conservazione e gestione.

Materiali e metodi

Nel corso della ricerca sono state esaminate le seguenti specie di elasmobranchi: 142 *Galeus melastomus* Rafinesque, 1810; 159 *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758), 131 *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758); 4 *Torpedo marmorata* Risso, 1810; 112 *Torpedo torpedo* (Linnaeus, 1758); 123 *Raja asterias* Delaroche, 1809; 112 *Raja clavata* Linnaeus, 1758; 104 *Raja montagui* Fowler, 1910; 2 *Pteroplatytrygon violacea* (Bonaparte, 1832) per un totale di 887 esemplari.

Gli esemplari sono stati esaminati dopo 12-24 ore dalla cattura oppure a distanza di tempo dopo essere stati congelati e conservati a –20 °C. L'esame parassitologico è stato eseguito osservando la superficie del corpo, le branchie, i visceri e l'intestino. I parassiti sono stati conservati in alcool 70% in contenitori con l'indicazione dell'ospite, della data e località di cattura e dell'organo parassitato. Lo studio morfologico e morfometrico per l'identificazione dei parassiti è stato effettuato su preparati di esemplari montati *in toto* allestiti secondo la tecnica di colorazione con carminio cloridrico; su preparati di esemplari *in toto* e di strutture ed organi ritenuti di significato diagnostico, mediante le tecniche di chiarificazione con gelatina glicerinata e lattofenolo di Amman.

Risultati e conclusioni

Sono state identificate 18 specie di metazoi reperite allo stadio adulto comprendenti 10 monogenei, 4 cestodi, 3 nematodi, 1 acantocefalo. E' stata, inoltre, evidenziata in *S. canicula* la presenza di cestodi allo stadio larvale appartenenti all'ordine Trypanorhyncha. In Tab. 1 è riportato l'elenco dei parassiti reperiti a seconda dell'ospite e della localizzazione. In Tab. 2 è riportato l'elenco degli ospiti esaminati con i relativi reperti e con l'indicazione dell' area di cattura.

Tab. 1 - Elenco parassita-ospite.
Parasite-host list.

Parassita	Ospite	Localizzazione
MONOGENEA		
Amphibdella torpedinis Chatin, 1874	*Torpedo marmorata*	Branchie
Amphibdella paronaperugiae Llewellyn, 1960	*Torpedo torpedo*	Branchie
Amphibdelloides vallei Llewellyn, 1960	*Torpedo marmorata*	Branchie
Amphibdelloides maccallumi (Johnson & Tiegs, 1922) Price, 1937	*Torpedo torpedo*	Branchie
Calicotyle kroyeri Diesing, 1850	*Raja clavata, Raja montagui*	Cloaca, retto
Hexabothrium appendiculatum (Kuhn, 1829)	*Scyliorhinus canicula*	Branchie
Rajonchocotyle emarginata (Olsson, 1876)	*Raja clavata*	Branchie
Rajonchocotyle prenanti (St. Remy, 1890)	*Raja clavata*	Branchie
Rajonchocotyle pristiuri Maillard, 1970	*Galeus melastomus*	Branchie
Squalonchocotyle spinaci (Goto, 1894)	*Etmopterus spinax*	Branchie
CESTODA		
Anthobothrium auriculatum Diesing , 1863	*Torpedo torpedo*	Intestino
Echeneibothrium variabile Van Beneden, 1850	*Raja asterias, Raja montagui*	Intestino
Onchobothrium pseudouncinatum (Rudolphi, 1819) Beauchamp, 1905	*Raja asterias, Raja montagui*	Intestino
Phyllobothrium riggii (Monticelli, 1893)	*Torpedo marmorata*	Intestino
Trypanorhyncha (larvae)	*Scyliorhinus canicula*	Cavità del corpo
NEMATODA		
Proleptus acutus Dujardin, 1845	*Raja clavata, Raja montagui*	Intestino
Proleptus obtusus Dujardin, 1845	*Scyliorhinus canicula*	Intestino
Pseudanisakis baylisi (Rudolphi, 1819) Gibson, 1973	*Raja montagui*	Intestino
ACANTHOCEPHALA		
Acanthocephaloides incrassatus (Molin, 1858)	*Raja montagui*	Intestino

Per la maggior parte dei reperti viene confermata la presenza per l'ospite e per l'area mediterranea.

Il monogeneo *Amphibdelloides maccallumi* era stato segnalato per la prima volta in *Torpedo torpedo* (Orecchia *et al.,* 1985). Questa specie è stata in seguito reperita in *Torpedo nobiliana* del Mediterraneo mentre in *T. torpedo* venivano trovati monogenei identificati come *Amphibdelloides* sp. (Euzet *et al.,* 1993). Una nuova segnalazione per l'ospite è rappresentata dall'acantocefalo *Acanthocephaloides incrassatus* che viene riportato in letteratura per *Raja asterias* (Golvan, 1969).

Tab. 2 - Elenco ospite-parassita.
Host-parasite list.

Ospite	Parassita (prevalenza)	Area di cattura
Galeus melastomus	*Rajonchocotyle pristiuri* (6,3)	Tirreno Centrale
Scyliorhinus canicula	*Hexabothrium appendiculatum* (2,5) *Proleptus obtusus* (27,6) Trypanorhyncha (3,1)	Tirreno Centrale
Etmopterus spinax	*Squalonchocotyle spinaci* (1,5)	Alto Tirreno
Torpedo marmorata	*Amphibdella torpedinis* (75,0) *Amphibdelloides vallei* (75,0) *Phyllobotrium riggii* (75,0)	Basso Tirreno
Torpedo torpedo	*Amphibdella paronaperugiae* (22,3) *Amphibdelloides maccallumi* (7,1) *Anthobothrium auriculatum* (8,0)	Tirreno Centrale
Raja asterias	*Echeneibothrium variabile* (16,2) *Onchobothrium pseudouncinatum* (24,3)	Tirreno Centrale
Raja clavata	*Calicotyle kroyeri* (3,5) *Rajonchocotyle emarginata* (4,4) *Rajonchocotyle prenanti* (6,2) *Echeneibothrium variabile* (34,8) *Proleptus acutus* (13,3)	Tirreno Centrale
Raja montagui	*Calicotyle kroyeri* (20,1) *Echeneibothrium variabile* (12,5) *Onchobothrium pseudouncinatum* (25,0) *Proleptus acutus* (4,6) *Pseudanisakis baylisi* (23,0) *Acanthocephaloides incrassatus* (2,8)	Tirreno Centrale
Pteroplatytrygon violacea	----	Tirreno Centrale

Lo studio morfologico ha consentito di classificare 10 delle specie reperite come monogenei, ectoparassiti a ciclo di vita diretto e 8 come cestodi, nematodi e acantocefali endoparassiti a ciclo di vita indiretto che si compie in più ospiti, per la maggior parte non conosciuti.

Tutte le specie parassite identificate a livello specifico sono autogeniche (Esch *et al.,* 1988) e specialiste tranne *A. incrassatus* che si può ritenere generalista in quanto descritto in numerose specie ittiche, soprattutto teleostei, appartenenti a generi e famiglie differenti (Holmes e Price, 1986).

Le forme larvali di Trypanorhyncha reperite in *Scyliorhinus canicula* non presentano caratteri morfologici tali da permetterne una diagnosi a livello specifico. Pertanto non si possono classificare come specialiste o generaliste.

Per quanto riguarda la distribuzione percentuale dei parassiti, la componente dominante è rappresentata dai monogenei con un valore del 50% cui fanno seguito

i cestodi con il 30%, i nematodi con il 15% e gli acantocefali con il 5% (Fig. 1). La bassa percentuale di acantocefali riscontrata, che corrisponde a quanto viene riportato in letteratura per gli elasmobranchi, secondo alcuni Autori avrebbe una spiegazione nel fatto che gli acantocefali sono scarsamente adattati alla elevata concentrazione di urea normalmente presente in questi ospiti (Williams, 1964; Williams *et al.,* 1970; Cislo e Caira, 1993).

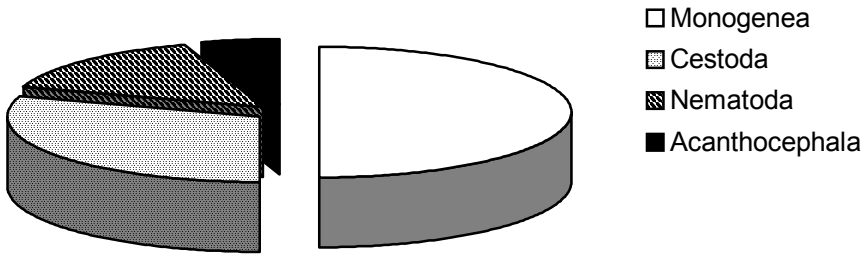


Fig. 1 - Distribuzione percentuale dei parassiti reperiti allo stadio adulto: monogenei 50%, cestodi 30%, nematodi 15%, acantocefali 5%.
Percent distribution of recorded parasites at the adult stage: monogeneans 50%, cestodes 30%, nematodes 15%, acanthocephalans 5%.

I dati presentati forniscono informazioni su alcune specie di elasmobranchi comprese quelle che sono catture accessorie della pesca, normalmente non commercializzate e di conseguenza poco studiate e più in generale rappresentano un ulteriore contributo alle conoscenze di base della biologia e dell'ecologia degli ospiti esaminati.

Bibliografia

CISLO P.R., CAIRA J.N. (1993) - The parasite assemblage in the spiral intestine of the shark *Mustelus canis*. *J. Parasit.,* **79**: 886-889.

ESCH G.W., KENNEDY C.R., BUSH A.O., AHO J.M. (1988) - Patterns in helminth communities in freshwater fish in Great Britain: alternative strategies for colonization. *Parasitology*, **96**: 519-532.

EUZET L., COMBES C., CARO A. (1993) - *A Ceck List of Monogenea of Mediterranean Fish.* Second International Symposium on Monogenea. Montpellier/Sete: 5-8 Juillet 1993: 1-9.

HOLMES J.C., PRICE P.W. (1986) - Communities of parasites. In: Anderson D.J. Kikkawa J. (eds), *Community ecology: Patterns and Processes*, Blackwell Scientific Publications, Oxford: 187-213.

ORECCHIA P., PAGGI L., MINERVINI R., DI CAVE D. (1985) - La parassitofauna delle specie ittiche strascicabili presenti alla foce del fiume Tevere. *Oebalia,* **11**: 623-632.

WILLIAMS H.H. (1964) - Observation on the helminths of *Raja*. *Parasitology,* **54**: 1 pp.

WILLIAMS H.H., MC VICAR A.H., RALPH. T. (1970) - *The alimentary canal of fish as an environment for helmint parasites*. In: Angela Taylor (ed), Symposia of the British Society of Parasitology, **8**: 43-77.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 253-256

M.C. Follesa, D. Cuccu, F. Damele, A. Sabatini, A. Cau

Dipartimento Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.

VALUTAZIONI SULL'ACCRESCIMENTO DI *PALINURUS ELEPHAS* (FABR. 1787) TRAMITE MARCATURA E RICATTURA NEI MARI SARDI

EVALUATIONS OF PALINURUS ELEPHAS *(FABR. 1787) GROWTH WITH TAGGING-RECAPTURE EXPERIMENTS IN SARDINIAN SEAS*

Abstract

About 3500 Palinurus elephas *(Crustacea, Decapoda) specimens were tagged and released between 1997 and 2001 in an area of centre-western Sardinia where fishing is prohibited (depth range 50–100 m). The size of 116 lobsters, recovered in successive times, were recorded and analysed with two different procedures (Fabens; Gulland and Holt). The Von bertalanffy growth parameters were estimated for each sex and compared by computing the growth performance index (Φ'). Males showed a higher asymptotic carapace length than females (167 vs 120 mm), but a similar Φ'(3.6 vs 3.5).*

Key-words: *marine crustaceans,* Palinurus elephas*, growth curves, Sardinian Sea.*

Introduzione

Le modalità di vita di molti Crostacei Decapodi, come i Palinuridi e in particolare l'aragosta rossa *Palinurus elephas* (Fabr. 1787) (Relini *et al*., 1999), rendono difficile l'applicazione di programmi di analisi delle lunghezze che identificano e seguono le coorti come MULTIMIX (Murray e Hunt, 1999) o ELEFAN 1 (Pauly e David, 1981). I programmi alternativi, come il "Powell-Wetherall" (Wetherall *et al*., 1987), consentono solo una stima parziale dei parametri di crescita. Metodologie dirette, come l'analisi degli incrementi di taglia rilevati tramite la tecnica di marcatura - ricattura degli esemplari, rappresentano, di contro, un'ottima soluzione per lo studio dell'accrescimento di questa specie.

In questa nota vengono riportati i parametri di accrescimento di una popolazione di aragosta rossa, *Palinurus elephas* stimati sulla base di esemplari marcati e ricatturati in un'area interdetta alla pesca, antistante la penisola del Sinis (Sardegna centro-occidentale).

Materiali e metodi

Tra il 1997 e il 2001 sono stati marcati circa 3500 individui di *P. elephas* che, previo inserimento in posizione dorsale di una marca di tipo Plastic T-BAR, sono stati rilasciati in una area interdetta alla pesca (D.P.R. 06/05/1998 n. 776), antistante la penisola del Sinis (Sardegna centro-occidentale) e situata tra le batimetriche dei 50 e 100 m. Fino all'agosto 2001, tramite catture mirate e occasionali effettuate dagli operatori entro e fuori dell'area, sono stati ricatturati 194 esemplari pari al 5,5% del totale marcato.

Fra questi sono stati considerati gli incrementi lineari di 116 esemplari (64 maschi e 52 femmine) che presentavano un tempo di libertà in mare superiore ai 200 giorni. Il rilevamento biometrico della Lunghezza Carapace (LC) è stato effettuato secondo la metodica di Hepper (1966).

In particolare per ciascun esemplare sono state rilevate le coppie di parametri: 1) la LC e la data di marcatura 2) la LC e la data di ricattura. Tali dati sono stati elaborati attraverso la procedura di Fabens (1965) e di Gulland e Holt (1959), contenute nel pacchetto FISAT (Gayanilo *et al*., 1996), che hanno permesso di ottenere, per ciascun sesso, i parametri LC_{inf} e K dell'equazione di von Bertalanffy. Il valore del t_0 è stato ottenuto per una lunghezza postpuerile media di 8.5 mm di LC considerata corrispondente ad una età 0 (Marin, 1987). Il confronto fra le curve ottenute con i due metodi è stato effettuato attraverso il test del Φ' (Munro e Pauly, 1983).

Risultati

Le stime dei parametri di crescita per ciascun sesso, ottenute con le due diverse metodologie, sono risultate molto simili come evidenziato anche dagli indici del test del Φ' (Tab. 1). Si può evidenziare come le LC_{inf} risultino superiori alla taglia delle aragoste più grandi commercialmente pescate (Fig. 1).

Tab. 1 - Parametri di accrescimento di *Palinurus elephas* calcolati con le due differenti metodologie (femmine N. 52; maschi N. 64).
Growth parameters of Palinurus elephas *calculated by two different methodology (females N. 52; males N. 64).*

	LC_{inf} (mm)	K/anno	t_0	Φ'
Metodo di Fabens (1965)				
Femmine	120.2	0.21	-0.349	3.482
Maschi	167.9	0.13	-0.399	3.564
Metodo di Gulland e Holt (1959)				
Femmine	125.0	0.19	-0.370	3.473
Maschi	167.0	0.13	-0.401	3.559

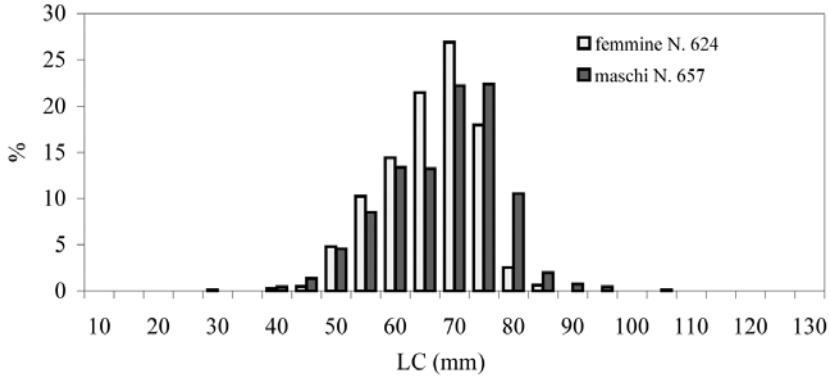


Fig. 1 – Distribuzione taglia-frequenza delle catture commerciali di *Palinurus elephas* rilevate nel porto di Su Pallosu (Sardegna centro-occidentale) per il 2001.
Length frequency distribution of commercial catches of Palinurus elephas *landed in Su Pallosu port (Central western Sardinia) for 2001.*

A partire dalle costanti di crescita sono state quindi calcolate le relazioni taglia-età e tracciate le relative curve (Fig. 2). In generale, come registrato in altre aree del Mediterraneo (Marin, 1987), si evidenzia come al quinto-sesto anno si registri un rallentamento e successivo differenziamento dell'accrescimento nei due sessi (cfr. Fig. 2). Un' analisi della percentuale degli incrementi medi annuali espressi in funzione della classi di taglia mette in evidenza, come osservato anche da Campillo e Amadei (1978) per le acque corse, che questi valori, a partire da esemplari di LC < 60 mm, tendono a diminuire con il progredire della LC e che questo andamento risulta più marcato per le femmine (Fig. 3). Il valore dell'incremento annuale medio di LC è risultato infatti pari a 6.99 ± 2.98 per le femmine e 11.81 ± 3.12 per i maschi.

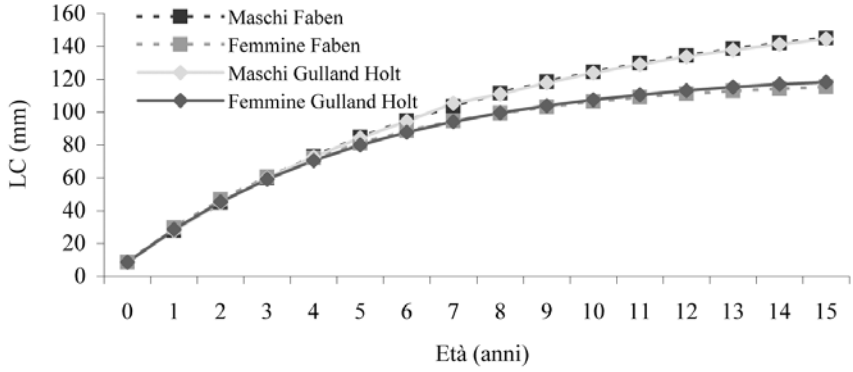


Fig. 2 - Curve di accrescimento di *Palinurus elephas* (Fabr. 1787) ottenute tramite l'analisi di dati di marcatura e ricattura.
Growth curves of Palinurus elephas (Fabr. 1787) *elaborated by analysis of tagging-recapture data.*

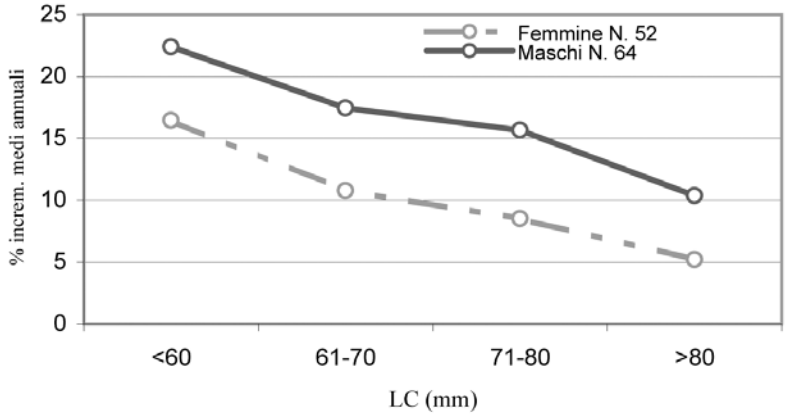


Fig. 3 – Percentuale degli incrementi medi annuali calcolati per classe di taglia (LC, mm).
Percentage of annual mean increments calculated for length classes (CL, mm).

Conclusioni

Lo studio dell'accrescimento dell'aragosta rossa effettuato nelle acque sarde tramite esperimenti di marcatura e ricattura rispecchia quanto rilevato per altre zone mediterranee (Marin, 1987; Campillo e Amadei, 1978). Appare evidente la validità della elaborazione di curve teoriche di accrescimento attraverso tale tecnica nonostante in letteratura si asserisca che la presenza di incrementi ridotti o nulli possa delle volte limitare il calcolo della lunghezza all'infinito (Groeneveld, 1997, 2000). Si può infatti mettere in evidenza come, quando si dispone di un numero significativo di osservazioni, la lunghezze massime teoriche (LC_{inf}) risultino di molto superiori a quelle delle aragoste di grossa taglia commercialmente pescate.

Bibliografia

CAMPILLO A., AMADEI J. (1978) - Premieres données biologiques sur la langouste de Corse, *Palinurus elephas* Fabricius. *Rev. Trav. Inst. Peches Marit.,* **42** (4): 347-373.

FABENS A.J. (1965) – Properties and fitting of the von Bertalenffy growth curve. *Growth,* **29**: 265-289.

GAYANILO F.C., SPARRE P., PAULY D. (1996) - *FISAT: FAO-ICLARM Stock Assessment Tools. User's manual*. ICLARM-International center for living resources management – FAO: 126 pp.

GROENEVELD J.C. (1997) – Growth Spiny lobster *Palinurus gilchristi* (Decapoda: Paliniricae) off South Africa. *S. Afr. J. mar. Sci.,* **18**: 19-29.

GROENEVELD J.C. (2000) – Stock assessment, ecology and economics as criteria for choosing between trap and trawl fisheries for spiny lobster *Palinurus delagoae. Fisheries research,* **48**: 141-155.

GULLAND J.A., HOLT S.J. (1959) – Estimation of growth parameters for data at unequal time intervals. *J. Cons. CIEM,* **25** (1): 47- 49.

HEPPER B.T. (1966) – Measurement of carapace length and total length in the crawfish, *Palinurus vulgaris*. *J. Cons. perm. Int. Explor. Mer*, **30** (3): 316-323.

MARIN J. (1987) - Exploitation, biologie et dynamique du stock de langouste de Corse, *Palinurus elephas* Fabricius. *Ph. D. Thesis, Univerisitè d'Aix-Marseille*: 1-328.

MUNRO J.L., PAULY D. (1983) – A simple method for comparing growth of fishes and invertenrates. *ICLARM Fishbate*, **1** (1): 5-6.

MURRAY J., HUNT L.A. (1999) – Mixture model clustering using the MULTIMIX program. *New Zealand Journal of Statistics*, **41**: 153-172.

PAULY D., DAVID N. (1981) – ELEFAN I, a BASIC program for the objective extraction of growth parameters from length frequencies data. *Meeresforsch*., **28** (4): 205-211.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (1): 581-587.

SECCI E., CUCCU D., FOLLESA M.C., SABATINI A., CAU A. (1999) – Ripopolamento di *Palinurus elepahs* (Fabr. 1787) in un'area della Sardegna centro-occidentale. *Biol. Mar. Medit*., **6** (1): 614-616.

WETHERALL J.A., POLOVINA J.J., RALSTON S. (1987) – Estimating growth and mortality in steady state fish stocks from length frequency data. In: Pauly D., Morgan G.R. (eds), *Length-based Methods* in Fisheries Research. ICLARM, Manila: 53-74.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 257-259

F. Garibaldi, L. Orsi Relini

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale, DIP.TE.RIS., Università di Genova,
Viale Benedetto XV, 3 – 16132 Genova, Italia.

PRIME OSSERVAZIONI SULLA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DI *REMORA OSTEOCHIR* (OSTEICHTHYES, ECHENEIDIDAE) IN MAR LIGURE

PRELIMINARY NOTES ABOUT REPRODUCTION OF REMORA OSTEOCHIR *(OSTEICHTHYES, ECHENEIDIDAE) IN THE LIGURIAN SEA*

Abstract

Some remarks about the reproductive biology of R. osteochir *are given on the basis of 16 specimens collected in the Ligurian Sea as commensals of fishes belonging to the genus* Tetrapturus*. Informations are given about egg dimensions, reproductive period, size at first maturity and the presence of male-female pairs on the same host.*

Key-words: Remora osteochir, *reproduction, Ligurian Sea.*

Introduzione

Nelle acque italiane sono presenti cinque specie di remore, pesci commensali o inquilini di altri vertebrati, una appartenente al genere *Echeneis* (*E. naucrates*) e le altre quattro al genere *Remora* (*R. remora*, *R. brachyptera*, *R. osteochir* e *R. australis*) (Tortonese, 1972, 1974). La specificità nei riguardi dell'ospite varia da specie a specie, e per due di queste, *R. osteochir* e *R. brachyptera*, si risolve in uno stretto legame con i pesci rostrati, ai quali le remore aderiscono fissandosi nella cavità branchiale o all'esterno, in genere in posizione ventrale.

Monitorando le catture dei grandi pelagici del Mar Ligure si è avuta l'opportunità di raccogliere su *Tetrapturus belone* e *T. albidus* una piccola collezione di remore, tutte appartenenti alla specie *R. osteochir*.

Questa è diffusa in tutti i mari del mondo, ma i dati riguardanti la sua biologia, ed in particolare la riproduzione, sono molto frammentari e limitati ad un'area del Pacifico (Morota e Fujita, 1995).

Scopo di questa nota è di descrivere per la prima volta in Mediterraneo alcune caratteristiche biologiche proprie di questa specie.

Materiali e metodi

In totale sono stati studiati 16 individui di *R. osteochir*. Tutti gli esemplari sono stati raccolti direttamente a bordo o allo sbarco delle unità professionali che utilizzano il palamito di superficie per la pesca del pesce spada nel porto di Sanremo, Mar Ligure Occidentale, nel periodo estivo-autunnale degli anni tra il 1996 ed il 2001.

Nel complesso durante il periodo in esame sono state direttamente osservate le catture di 5455 pesci spada e 86 rostrati appartenenti alla famiglia Istiophoridae (7 *T. albidus* e 79 *T. belone*).

Gli esemplari di *R. osteochir* sono stati immediatamente congelati. Nelle successive analisi di laboratorio, focalizzate all'esame dei principali parametri riproduttivi, i pesci

sono stati misurati e pesati e le gonadi isolate, pesate ed esaminate allo stereomicroscopio per la misura, mediante il micrometro oculare, dei diametri ovocitari più grandi.

Risultati

Dei 16 individui raccolti di *R. osteochir*, 9 sono risultate femmine, 5 maschi e 2 di sesso indeterminato; tutti provenivano da 9 esemplari di *T. belone* e 1 esemplare di *T. albidus*.

I pesci studiati sono compresi tra 6,7 e 17,0 cm di lunghezza standard (LS), per una media di 13,1 cm LS; in Tab. 1 sono riassunte le principali caratteristiche rilevate. Tutti gli individui di cui è stato determinato il sesso sono risultati maturi ed in fase riproduttiva, con l'eccezione del maschio della coppia di remore del mese di novembre.

Una femmina (LS 13,8 cm) presentava il ventre enormemente dilatato per la presenza di una gonade molto grande (Fig. 1). Le dimensioni massime delle uova si aggiravano attorno a 1,5 mm di diametro, con gocciola oleosa di ca 0,450 mm. A questo stadio l'uovo è quasi trasparente e conserva una pluralità di goccioline lipidiche. Accanto alle uova mature si osservano altri oociti in fase di avanzato sviluppo, di ca 1 mm di diametro, con tuorlo opaco che occupa la parte centrale dell'uovo e gocciola oleosa principale già evidente, di ca 0,300 mm. Delle rimanenti 8 femmine, 7 presentavano un quadro ovarico simile, con uova di dimensioni massime vicine a 0.9-1 mm di diametro, riferibili comunque ad una piena attività riproduttiva. L'ultima femmina (LS 12,4 cm) aveva poche uova (verosimilmente residue) di dimensioni molto grandi (∅ massimo 1,203 mm), accanto alla maggioranza degli oociti di dimensioni minori (0,5 mm). Interessante osservare che la più piccola femmina matura nel presente campione misurava 10,9 cm LS.

Tab. 1 - Principali caratteristiche delle *R. osteochir* studiate.
Main characteristcs of the sampled remoras.

	Data	LS (cm)	Peso (g)	Sex	P.gonade (g)	IGS	ø max ovociti (mm)	Pesce ospite
Remora osteochir	15-07-96	13,8	22,7	F	7,4	32,6	1,594	*T. belone*
	30-07-96	**17**	**29,5**	**M**	**0,38**	**1,3**	**-**	***T. belone***
	30-07-96	**16,3**	**34,7**	**F**	**7,1**	**20,5**	**1,142**	
	08-08-98	16,3	33,3	F	6,7	20,1	0,966	*T. belone*
	26-08-97	**10,9**	**5,6**	**M**	**0,2**	**3,6**	**-**	***T. belone***
	26-08-97	**10,9**	**6,5**	**F**	**0,5**	**7,7**	**0,908**	
	25-08-01	14,5	30,6	F	4,9	16,0	0,945	*T. belone*
	31-08-96	**16**	**20,1**	**M**	**0,37**	**1,8**		***T. belone***
	31-08-96	**14,9**	**19,2**	**F**	**3,8**	**19,8**	**1,080 (r. 1,518)**	
	05-09-97	16,8	31,7	F	3,7	11,7	0,93	*T. albidus*
	07-09-97	**11**	**7,9**	**M**	**0,2**	**2,5**		***T. belone***
	07-09-97	**12,4**	**9,3**	**F**	**0,5**	**5,4**	**0,507 (r.1,203)**	
	11-09-96	**12**	**9,6**	**F**	**0,4**	**4,2**	**1,146**	***T. belone***
	11-09-96	**7,9**	**4,2**	**Indet,**	**0,02**	**0,5**	**-**	
	11-11-98	**12,1**	**8**	**M**	**0,1**	**1,3**	**-**	***T. belone***
	11-11-98	**6,7**	**2,9**	**Indet,**	**0,01**	**0,3**	**-**	

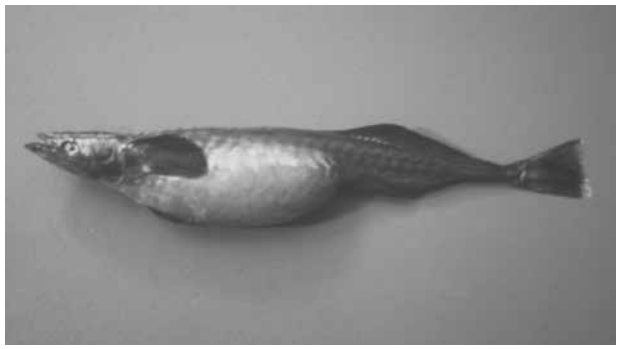


Fig. 1 - Femmina matura di *R. osteochir* (LS 13,8 cm).
Mature female of R. osteochir *(LS 13.8 cm).*

Infine, delle 6 coppie di esemplari raccolti sullo stesso ospite (Tab. 1), ben 4 erano costituite da un maschio ed una femmina maturi, di dimensioni simili tra loro; le 2 rimanenti erano invece costituite da individui di taglia alquanto diversa, tanto che almeno 1 per ciascuna coppia è risultato essere non determinabile sessualmente, nei limiti delle osservazioni condotte. I quattro individui ritrovati soli erano femmine mature: non è escluso che il maschio fosse presente e sia andato perduto durante la cattura dell'ospite.

Conclusioni

Nel Pacifico *R. osteochir* è stata raccolta su appartenenti alla famiglia Istiophoridae, specialmente del genere *Makaira* (Morota e Fujita, 1995): in Atlantico, oltre che sul marlin blu, *M. nigricans*, è stata occasionalmente rinvenuta su *Xiphias gladius* (Castro-Pampillon, 1996), mentre in Mar Ligure non è mai stata trovata associata a questo pesce, nonostante le migliaia di esemplari osservati. Da questo campionamento il periodo riproduttivo risulta esteso almeno da luglio a settembre. Considerando il ritrovamento di adulti a partire da soli 10,9 cm LS e che il pesce più grosso arrivava a 16,8 cm LS, sembra, nei limiti del campione osservato, che la popolazione mediterranea abbia taglie inferiori a quelle oceaniche. E' interessante il ritrovamento di coppie formate da un maschio ed una femmina di dimensioni simili sul pesce ospite.

Bibliografia

MOROTA A., FUJITA K. (1995) – Interrelationships of Echeneids and their hosts, and the reproductive habits of *Remora osteochir* in Hawaiian waters. *Japan. J. Ichthyol.*, **42** (2): 203-207.

CASTRO PAMPILLON J.A. (1996) – Remoras (Pisces: Echeneididae) del Golfo de Guinea: especificidad por sus hospedadores y estudio de algunos parametros biologicos. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, **12** (1): 31-42.

TORTONESE E. (1972) – Le specie di *Echeneis* (Pisces, Echeneididae) descritte da O.G. Costa (1840). *Doriana*, **5** (201): 1-6.

TORTONESE E. (1974) – Les poissons de la famille Echeneididae (Remoras) de la Mer Ligure et de la Mer Tyrrhénienne. *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, **22** (7): 53-54.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 260-264

R. Pajetta, A. Pirone, F. Serena*, O. Fabiani

Dipartimento di Anatomia degli Animali Domestici della Facoltà di Agraria dell'Università di Pisa,
Via G. Matteotti, 5 - 56100 Pisa, Italia.
*ARPAT – Livorno, Italia.

STUDIO ISTOLOGICO E ULTRASTRUTTURALE SULL'OOGENESI DI *MERLUCCIUS MERLUCCIUS* (OSTEICHTHYES, MERLUCCIDAE)

ULTRASTRUCTURAL STUDY ON THE OOGENESIS OF THE TELEOSTEAN FISH MERLUCCIUS MERLUCCIUS *(OSTEICHTHYES, MERLUCCIDAE)*

Abstract

By means of histological and ultrastructural observations various aspects of ovarian development of Mediterranean hake of the South Ligurian Sea and North Tyrrhenian Sea were defined, such as nuclear and cytoplasmatic changes during the eggs maturation process. It's been possible to describe the ovarian maturity stages and to compute the number of the subsequent spawning acts. Moreover, the estimated somatic indexes were compared with size-classes (in diameter) distribution of eggs.

Key-words*: oogenesis, hake, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Il ciclo ovarico del nasello (*Merluccius merluccius*) presenta alcuni aspetti che meritano di essere approfonditi anche con tecniche diverse, come ad esempio la successione delle varie fasi di maturazione ovarica, il numero successivo di emissioni di uova, i cambiamenti metabolici durante l'attività riproduttiva, ecc. Una migliore conoscenza del ciclo vitale di questa specie può, in ogni caso, facilitare il riconoscimento macroscopico degli stadi di maturità durante il lavoro di ricerca sul campo.

Materiali e metodi

Gli esemplari analizzati provengono dalla pesca scientifica condotta nell'ambito del progetto GRUND (Relini, 1998) e dall'acquisto diretto presso alcune marinerie toscane della pesca artigianale. In particolare l'area di provenienza dei campioni è quella compresa tra la foce del Fiume Magra e l'Isola d'Elba. Complessivamente sono stati esaminati 3558 naselli sui quali sono stati rilevati alcuni parametri biologici (lunghezza totale, peso, sesso e stadio di maturità). Su 145 esemplari sono stati stimati gli Indici Somatici (Gonadosomatico, IGS; Epatosomatico, IES; Fattore di Condizione, FC).

Le gonadi di 29 naselli, relative a vari periodi dell'anno, hanno consentito di rappresentare la struttura in taglia della popolazione oocitaria. A tal fine piccoli campioni di uova sono stati prelevati uniformemente dalla parte distale, centrale e prossimale della gonade di ogni esemplare e il loro diametro misurato al μm inferiore.

Per correlare la disponibilità degli oociti con gli indici somatici, la popolazione oocitaria è stata scomposta in classi modali mediante impiego del Normsep e Battacharya. Il numero di emissioni successive di uova mature è stato poi stimato utilizzando il metodo Balbotin e Fischer (1981).

Per le osservazioni istologiche e ultrastrutturali al Microscopio Elettronico a Trasmissione (TEM) e Scansione (SEM) sono state utilizzate le gonadi di 72 naselli. Il

fissativo impiegato nell'analisi istologica è stato la formaldeide al 4%, come coloranti il blu di metilene e quello di toluidina, mentre per la microscopia elettronica il fissativo era quello di Karnowsky. I campioni destinati al TEM sono stati inclusi in resina epossidica utilizzando il Kit della LKB. Per le osservazioni al SEM, alcuni campioni sono stati essiccati con il metodo del "Critical Point Drying" e ricoperti con una patina metallica dorata tramite lo "Sputtering Device".

Risultati e conclusioni

Sulla base delle osservazioni istologiche e soprattutto di quelle ultrastrutturali, sono stati individuati vari momenti di sviluppo oogenetico riassumibili in sei stadi:

1. Le cellule germinali e gli oogoni sono visibili sotto l'epitelio squamoso lungo le pieghe ovariche. Si possono osservare gruppi di cellule germinali ($\varnothing \cong 4$ m) che si evolvono in oogoni ($\varnothing \leq 20$ m) con nucleo centrale e nucleoli prominenti (Fig. 1a).
2. Gli oociti primari ($20 < \varnothing < 100$ μm), raggiungono un rapporto Nucleo-Plasmatico (NPR) di 0,5, presentano contorno irregolare e molti granuli della stessa elettrondensità sui due lati dell'involucro nucleare. Solo alla fine di questa fase i nucleoli divengono visibili e l'anello mitocondriale circumnucleare sembra disperdersi verso la periferia del citoplasma. Perifericamente le cellule squamose della granulosa sono avvolte da una sottile lamina basale che le separa dalla teca esterna ancora incompleta (Fig. 2b). Secondo le nostre osservazioni gli aspetti nucleari relativi all'estrusione di materiale di natura ribosomiale e proteica, avviene tramite l'attraversamento dei pori nucleari e non con una "vescicolazione dell'involucro nucleare" come descritto da Scharrer e Würzelmann (1969) e nemmeno con un fenomeno di "estrusione nucleolare" (Ramadan *et al*., 1978) (Fig. 1b).
3. La maturazione in oociti secondari avviene con l'inizio della vitellogenesi ed è caratterizzata dal riempimento graduale del citoplasma con placchette vitelline e lipidiche attorno al nucleo ora ondulato, inoltre si formano alveoli corticali, mentre si assiste all'ingrandimento delle cellule della granulosa e alla formazione della Zona Radiata. Inizialmente gli oociti hanno un diametro di circa 150 μm con un NPR = 0,4 raggiungendo i 600 m e NPR = 0,1 a fine processo (Fig. 1c, 2a).
4. A fine vitellogenesi, inizia la fase di idratazione dei follicoli ovarici che possono raggiungere 1100 m di diametro. Le placchette vitelline si fondono diventando un'unica formazione omogenea (Fig. 1d).
5. Dopo l'ovulazione, le cellule della granulosa e della teca si allontanano e si contraggono diminuendo il volume del follicolo che appare quindi vuoto e collassato (Fig. 1e).
6. Le uova idratate o in maturazione che rimangono nell'ovario vanno in atresia. Durante questa fase i nuclei delle uova presentano una notevole quantità di materiale cromatinico accumulato sottoforma di granuli elettrondensi (Fig. 1f).

Il confronto tra le osservazioni macroscopiche, istologiche e ultrastrutturali ha facilitato la distinzione dello stadio di maturità di esemplari giovanili e adulti. Inoltre è risultato diretto il riconoscimento di gonadi con aspetto macroscopico simile, ma in realtà distanti, corrispondente alla fase di "avvenuta deposizione" e di "maturazione". Inoltre la contemporanea presenza di oociti in diversi stadi di sviluppo negli ovari di femmine mature ha consentito di indicare il nasello come "partial spawner", in accordo con Nannini *et al*. (2001).

Gli indici somatici (IGS) evidenziano un periodo riproduttivo prolungato che si estende da dicembre a maggio con un massimo in febbraio (Fig. 3a), confermando

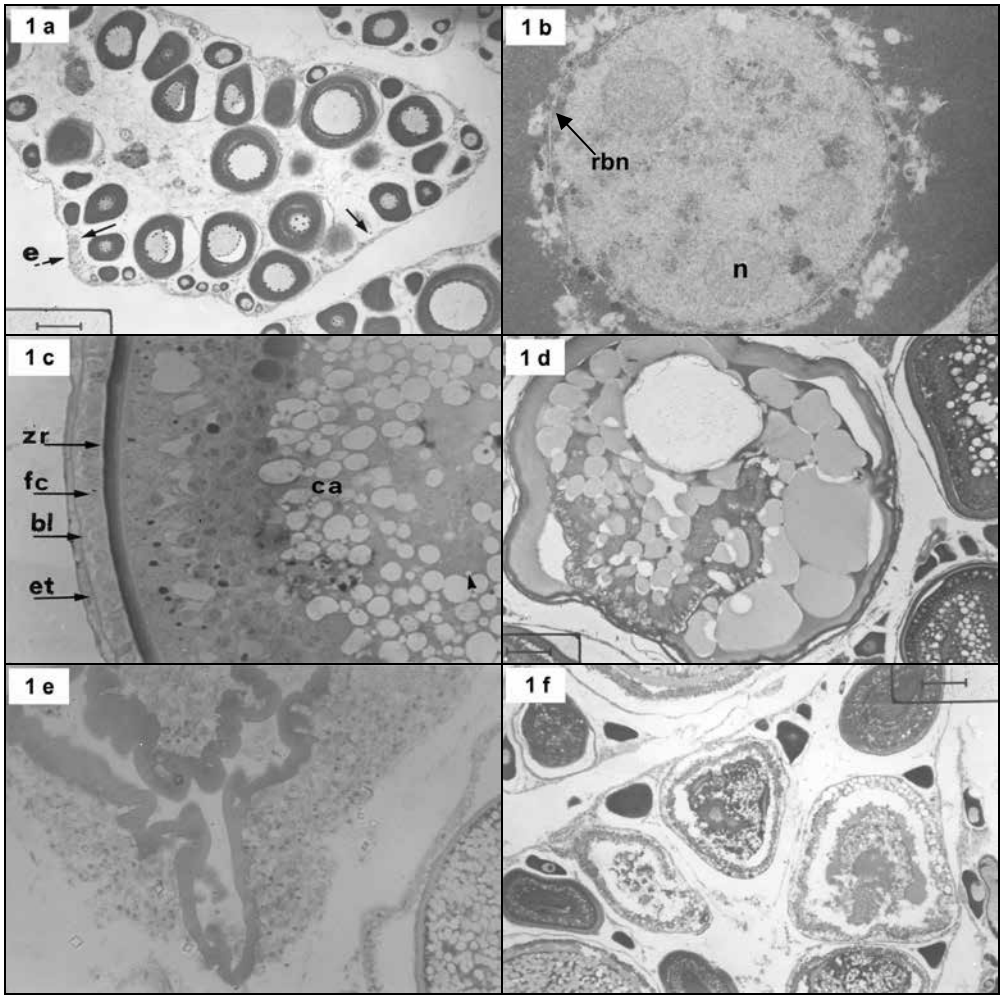


Fig. 1 - a) MO (125×). Epitelio germinale (e) e oogoni (frecce). b) TEM (1000×). Oociti primari o previtellogenetici: i nucleoli (n) divengono visibili, il materiale ribonucleoproteico (rbn) attraversa i pori nucleari. c) MO (5000×). Oociti secondari o vitellogenetici (ca=alveoli corticali; zr=zona radiata; fc=cellule della granulosa; bl=lamina basale; et=teca esterna). d) MO (500×). Follicoli in fase d'idratazione. e) MO (300×). Follicoli post ovulatori. f) MO (500×). Oociti in fase d'atresia.
MO=Microscopio Ottico; TEM=Microscopio Elettronico a Trasmissione; SEM=Microscopio Elettronico a Scansione.

a) MO (125 ×). Virginal Ovary with germinal epithelium (e) and oogonia (arrows). b) TEM (1000 ×). Immature or primary oocytes: nucleoli (n) become visibles, ribonucleoproteic (rbn) material pass through nuclear pores. c) MO (5000 ×). Ripening follicles (ca = cortical alveoli; zr = radiate zone; fc = granulosa cells; bl = basement lamina; et = external teca). d) MO (500 ×). Hydrated follicles. e) MO (300 ×). Empty follicles. f) MO (500 ×). Atretic Follicles.

MO = Light Microscope; TEM = Trasmission Electron Microscope; SEM = Scanning Electron Microscope.

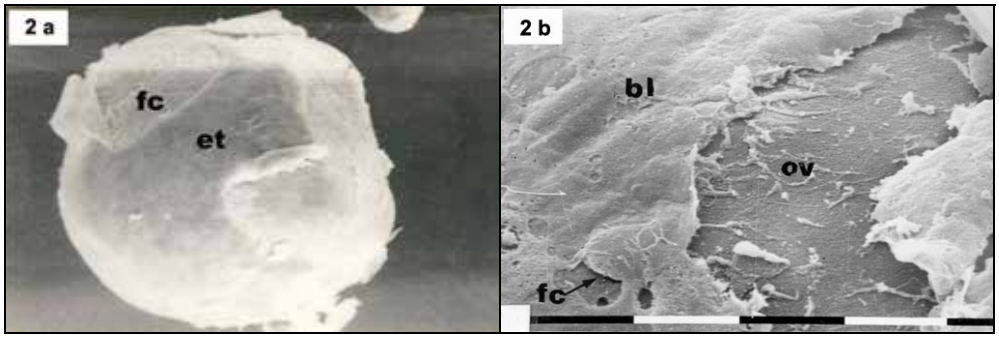


Fig. 2 - a) SEM (3000×). Oocita vitellogenetico. Le cellule della granulosa (fc) sono ora colonnari con sezione irregolarmente esagonale e la teca esterna (et) è completamente sviluppata. b) SEM (4000×). Oocita primario in cui è visibile l'ooplasma (ov) a contatto con le cellule della granulosa (fc) ricoperte dalla lamina basale (bl).

a) SEM (4000×). Primary oocyte with the granulosa cells (fc) surrounding the ooplasm (ov) and covered by the basement lamina (bl). b) SEM (3000×). Ripening follicles. Granulosa cells (fc) show a columnar shape with an irregular hexagonal section and external theca (et) is now completely formed.

quanto riportato da Tsimenidis e Papaconstantinou (1985); esemplari maturi sono in ogni caso presenti tutto l'anno, in accordo con Sbrana e Belcari (1993).

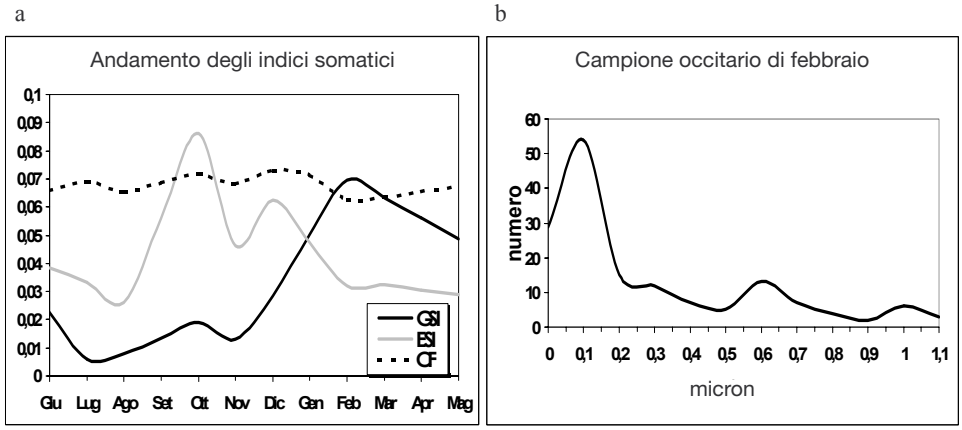


Fig. 3 - a) Andamento degl'indici somatici. IGS mostra un minimo in luglio con tendenza ad aumentare, IES lo anticipa con due massimi relativi. FC non sembra avere importanti oscillazioni. b) In febbraio la disponibilità di uova con diametro superiore ai 1100 μm è maggiore, mentre nel "periodo di riposo" il numero delle mode diminuisce e i diametri si attestano su valori di 50 μm.

a) Somatic indexes trend. GSI shows a minimum on July and then an increasing, while HSI comes before GSI with two maximum. CF doesn't exhibit great fluctuations. b) In February the oocytes excide 1100 μm in size and are most numerous. During the "resting period" the oocytes staying on 50 μm in diameter and the number of modes decrees.

La popolazione oocitaria mostra una moda costante su 200 µm di diametro, in relazione alla sua naturale disponibilità (Sarano, 1986). Follicoli più grandi, sino a 1100 µm, sono sempre presenti anche se in quantità variabile e costituiscono la disponibilità per le deposizioni successive (Fig. 3b). Alcune femmine mature sono state utilizzate per il calcolo del numero di emissioni di uova che risulta essere compreso tra 2 e 6 in accordo con Sarano (1986) e Biagi *et al*. (1995). Un confronto tra l'IGS e la struttura in taglia della popolazione oocitaria, evidenzia come in febbraio sia maggiore la disponibilità di uova con diametro superiore ai 1100 µm, mentre nel "periodo di riposo" diminuisce il numero delle mode e i valori si attestano su un diametro di 50 µm.

Bibliografia

BALBOTIN F., FISHER W. (1981) - Ciclo sexual y fecundidad de la merluza, *Merluccius gayi gayi*, en la costa de Chile. *Rev. Biol. Mar. Inst. Oceanol. Univ.* Valparaiso, **17** (3): 285-334.

BIAGI F., CESARINI A., SBRANA M., VIVA C. (1995) - Reproductive biology and fecundity of *Merluccius merluccius* (L., 1758) in the North Tyrrhenian Sea. *Rapp. Comm. int. Mer Mèdit*., **34**: 237 pp.

NANNINI N., PINNA D., CHIERICONE V., BIAGI F., BELCARI P. (2001) - Ciclo ovarico di *Merluccius merluccius* (L., 1758) nel Mar Tirreno settentrionale. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 745-748.

RAMADAN A.A., EZZAT A.P., AZIZ A.E. (1978) - Studies on fish oogenesis. 1. Histomorphological changes in the oocytes of *Merluccius merluccius* Mediterranean. *Folia morph.,* **26**: 8-15.

RELINI G. (1998b) - Valutazione delle risorse demersali. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (3): 3-19.

SARANO F. (1986) - Cycle ovarien du merlu, *Merluccius merluccius*, poisson à ponte fractionnée. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **48** (1-2): 65-78.

SBRANA M., BELCARI P. (1993) - Nota sulla presenza di femmine mature di *Merluccius merluccius* (L., 1758) nell'Arcipelago Toscano Meridionale. *Biol. Mar. Medit.*, **1**: 375-376.

SCHARRER B., WÜRZELMANN S. (1969) - Ultrastructural study on nuclear- cytoplasmatic relationships in oocytes of the African lungfish. *Protopterus aethiopicus*. I. Nucleolo-cytoplasmatic pathways. *Z. Zellforsch*., **96**: 325-343.

TSIMENIDIS N., PAPACONSTANTINOU C. (1985) - A preliminary study of the fecundity of the hake (*Merluccius merluccius* L., 1758) in the Greek seas. *Inv. Pesq.*, **49** (1): 55-59.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 265-266

F.G. Pannacciulli, J.D.D. Bishop*

Marine Environment Research Centre, ENEA - S. Teresa, P.O. Box 224, 19100, La Spezia, Italy.
*MBA, Citadel Hill, Plymouth, PL1 2PB, England and School of Biological Sciences, Univ. of Plymouth, Drake Circus, Plymouth, PL4 8AA, England.

FERTILIZATION IN ISOLATED INDIVIDUALS OF *CHTHAMALUS MONTAGUI* (CRUSTACEA, CIRRIPEDIA)

FERTILIZZAZIONE IN INDIVIDUI ISOLATI DI CHTHAMALUS MONTAGUI *(CRUSTACEA, CIRRIPEDIA)*

Abstract

Barnacles are sessile, hermaphroditic crustaceans that brood developing embryos within the mantle cavity before releasing planktonic larvae. Cross-fertilization in barnacles is made possible by gregarious settlement of cyprid larvae producing dense aggregations of potential mates that perform internal fertilization by pseudo-copulation. Previous authors suggested that facultative self-fertilization, when in isolation, might occur in all species of Chthamalus *but no evidence was provided for* C. montagui. *This study shows that this species is capable of producing broods when isolated, but that this probably occurs later than in grouped individuals. The presence of broods in isolated individuals does not necessarily mean that selfing has occurred, but could simply be the result of alternative mechanisms of outcrossing other than direct insemination. Genetic evidence for the occurrence of selfing will be sought in future work.*

Key-words: Chthamalus montagui, *barnacles, mating system, self-fertilization.*

Introduction

The life cycle of barnacles includes a period of extensive larval dispersal, followed by metamorphosis into a sessile adult with highly localised mating capabilities. Barnacles of the order Thoracica are sessile hermaphroditic crustaceans that brood developing embryos within the mantle cavity before releasing planktonic larvae. Barnacles are unusual among sessile animals in performing internal fertilization by pseudo-copulation (Klepal, 1990), which potentially imposes extremely restricted mating distances limited by the length of the penis. Most other sessile aquatic organisms release eggs and sperm into the water for external fertilization, or transmit sperm between mates through the water. Cross-fertilization in barnacles is made possible by gregarious settlement of cyprid larvae (Knight-Jones, 1953), producing dense aggregations of potential mates. Barnes & Barnes (1958) suggested that facultative self-fertilization might occur in all species of *Chthamalus*. These investigations were performed some time ago, prior to the separation (Southward, 1976) of *Chthamalus montagui* Southward from *Chthamalus stellatus* (Poli) and self-fertilization has not yet been confirmed for this species. The aim of this study is to investigate whether *C. montagui* is also capable of producing broods when in isolation.

Materials and methods

In Autumn 1998, before the beginning of the mating season, 15 isolated individuals of *C. montagui* (separated by at least 50 cm from the nearest conspecifics), and 161 aggregated individuals, were mapped and photographed on the rocky shore of Pontetto (Genoa, Italy). At the beginning of May 1999, just before the expected onset of larval

release (Pannacciulli and Falautano, 1999), all mapped individuals were collected and the presence of mature broods inside the mantle cavity was scored under a microscope.

Results

Seventy-three percent of the isolated individuals and 57 percent of the aggregated ones were found to carry broods at different stages of development. Barnacles showing larvae ready to be released (stages 4-4 h, following Achituv & Barnes, 1976, classification) constituted 13 and 33 percent of isolated and grouped individuals, respectively.

Conclusions

Results indicate that isolated specimens of *C. montagui* are capable of producing broods, but suggest that they generate them later than grouped ones. The larger proportion of isolated barnacles carrying broods and the lower percentage of broods at stage 4-4 h supports this last inference. The lower percentage of grouped barnacles containing broods suggests that, in these, larval release had already begun.

The presence of broods in the mantle cavity of spatially isolated individuals in natural populations does not provide unequivocal evidence for self-fertilization. The following alternative mechanisms would allow the production of outcrossed broods even in isolation: storage of viable non-self sperm or prolonged retention of a brood in the mantle cavity, both following the loss of a nearby mate; and sperm transmission through the water from remote mates. Future work will seek genetic confirmation of selfing through the analysis of the adult and its larvae. Genetic analysis may provide evidence for the occurrence of selfing but, alternatively, the presence of non-maternal alleles in isolated broods could indicate out-crossing by an alternative means.

References

ACHITUV Y., BARNES H. (1976) - Studies in the biochemistry of cirripede eggs V: changes in the biochemical composition during development of *Chthamalus stellatus* (Poli). *J. exp. Mar. Biol. Ecol.,* **22**: 263-267.

BARNES H., BARNES M. (1958) - Further observations on self-fertilization in *Chthamalus* sp. *Ecology,* **39**: 550 pp.

KLEPAL W. (1990) - The fundamentals of insemination in cirripedes. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.,* **28**: 353-379.

KNIGHT-JONES E.W. (1953) - Laboratory experiments on gregariousness during settling in *Balanus balanoides* and other barnacles. *J. Exp. Biol.,* **30**: 584-598.

PANNACCIULLI F.G., FALAUTANO M. (1999) - Time of larval release in barnacles of the genera C*hthamalus* and *Euraphia* in the Gulf of Genoa (Ligurian Sea) and in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Biol. Mar. Medit.,* **6** (1): 407-410.

SOUTHWARD A.J. (1976) - On the taxonomic status and distribution of *Chthamalus stellatus* (Cirripedia) in the North-East Atlantic region: with a key to the common intertidal barnacles of Britain. *J. mar. biol. Ass. UK,* **56**: 1007-1028.

This project was funded through a “Ray Lankester Investigatorship” (Marine Biological Association of the UK) and a “Progetto Giovani Ricercatori” (MURST) both awarded to FGP.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 267-272

V. Puccio, M. Relini, E. Azzurro*

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale, Dip.Te.Ris., Dipartimento per lo studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Viale Benedetto XV, 3 - 16132 Genova, Italia.
largepel@unige.it
*Università di Roma "Tor Vergata", Via di Tor Vergata, 135 - 00133 Roma, Italia.

OSSERVAZIONI SULLA RIPRODUZIONE DI *PERCNON GIBBESI* (H. MILNE EDWARDS, 1853) NELLE ISOLE PELAGIE (SICILIA)

NOTES ABOUT THE REPRODUCTION OF PERCNON GIBBESI *(H. MILNE EDWARDS, 1853) AT PELAGIE ISLANDS (SICILY, ITALY)*

Abstract

The exotic crab Percnon gibbesi *(Decapoda, Grapsidae), recently recorded for the first time in the Mediterranean (Linosa Island) and thereafter in several other Mediterranean localities, has characteristics of "invader". The fecundity curve derived by embryos counting of a pool of ovigerous females, caught in Linosa and Lampedusa from August to November 2000 and from July to August 2002, is presented. The reproductive strategy of* P. gibbesi *is discussed.*

Key-words: Percnon gibbesi*, Grapsidae, introduced species, Mediterranean, fecundity.*

Introduzione

Negli ultimi anni grande interesse è stato rivolto alla problematica delle specie alloctone, potenziali vettori di profondi sconvolgimenti negli equilibri ecologici delle comunità native.

Il grapside *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) è il più recente decapode esotico con caratteristiche invasive rinvenuto in Mediterraneo: segnalato per la prima volta a Linosa (Relini *et al.*, 2000), è stato in breve tempo ritrovato in numerose altre località insulari (Baleari, Malta, Pantelleria, Sicilia), spesso con l'osservazione di un elevato numero di individui (Garcia e Reviriego, 2000; Müller, 2001; Camilleri com. pers.; Pipitone *et al.*, 2001).

Sono state formulate diverse ipotesi (Pipitone *et al.*, 2001) per spiegare la grande capacità di colonizzazione degli ambienti mediterranei da parte di questo granchio, ma nessuna è tuttora verificata. Per certo la strategia larvale appare adatta a garantire un'ampia dispersione delle larve (Paula e Hartnoll, 1989; Hartnoll, 1992).

Questo lavoro propone un'indagine preliminare delle caratteristiche riproduttive del *P. gibbesi* nello stesso ambiente mediterraneo, le isole Pelagie, dove è stato "scoperto": le modalità riproduttive potrebbero infatti essere annoverate tra i fattori di successo della specie.

Materiali e metodi

Tra agosto e novembre 2000 e tra luglio ed agosto 2002 sono stati catturati a Linosa ed a Lampedusa (dove il presente materiale costituisce la prima segnalazione), 157 esemplari di *P. gibbesi*. Il materiale è stato fissato in alcool al 70% e trasferito in laboratorio dove è tuttora oggetto di una serie di studi.

Di tutti gli individui è stato determinato il sesso ed è stata osservata l'eventuale presenza di uova nelle femmine.

Un subcampione di 22 individui, prelevati in modo casuale dal suddetto campione, è stato scelto come materiale di studio del presente lavoro. Su ciascun individuo di tale subcampione sono state rilevate le seguenti misure: lunghezza del carapace (LC) misurata dalla linea congiungente le punte delle spine rostrali al punto mediano del margine posteriore; larghezza massima del carapace (LaC); lunghezza del margine esterno della seconda spina antero-laterale (II SP.); lunghezza del margine esterno della terza spina antero-laterale (III SP.); lunghezza del margine superiore del palmo (LP) e lunghezza della doccia pelosa in esso presente (LDP).

Le uova attaccate ai pleopodi di ciascuna femmina ovigera sono state rimosse, ripulite dai frammenti di setole e, dopo un periodo di sgocciolamento di 2 minuti, ne è stato registrato il peso (P). Una parte di esse (1/4, 1/8 o 1/10 in peso) è stata contata ed il valore ottenuto è stato esteso alla totalità. Il diametro maggiore di 15 uova (ellittiche) di ogni femmina è stato misurato usando un micrometro ed è stata poi calcolata la media (Φ) dei valori ottenuti. Del materiale riproduttivo di ciascuna femmina sono stati infine osservati gli stadi di sviluppo.

Risultati

Rapporto sessi e stagione riproduttiva: per quanto riguarda la totalità dei 157 esemplari catturati, sono stati riscontrati 67 maschi e 90 femmine, di cui 82 ovate (2 delle 8 femmine non ovate presentano carapace molle, segno di una muta recente); gli intervalli di taglia sono 11,1-36,7 mm LC per i maschi e 14,7-38,2 mm LC per le femmine.

Per ciò che concerne i 22 individui analizzati sotto il profilo riproduttivo (9 maschi e 13 femmine, tutte ovate), invece, gli intervalli di taglia sono 18,5-32 mm per i maschi e 16-37 mm per le femmine. In Tabb. 1 e 2 sono riportati i dati biometrici relativi agli individui rispettivamente femminili e maschili. Per le femmine F10, F11, F12 ed F13 non è stato possibile eseguire tutte le misurazioni previste a causa delle cattive condizioni del loro esoscheletro.

Tab. 1 - Principali dati biometrici (mm) delle femmine F1–F13.
Main biometric measurements (mm) of females.

ETICH.	LC	LaC	II SP.	III SP.	LDP	LP	LP/LDP
F1	25	23	3	3	2	4	2.00
F2	29	26.5	3	3.5	2	4.5	2.25
F3	34	31	3.5	4	2.5	6	2.40
F4	20.5	19	2	2.5	1.5	3.5	2.33
F5	25	22	2.5	3	1.5	4	2.67
F6	20	18	2	2	2.5	3	1.20
F7	27	25	2.5	3	2	4.5	2.25
F8	16	14	1.5	2	1.5	2.5	1.67
F9	27	24	3	3	2	4.5	2.25
F10	18.5	17	2	2	/	/	/
F11	37	33	/	/	/	/	/
F12	30.9	30	/	/	/	/	/
F13	30.4	29.2	/	/	/	/	/

Tab. 2 - Principali dati biometrici (mm) dei maschi M1–M9.
Main biometric measurements (mm) of males.

ETICH.	LC	LaC	II° SP.	III° SP.	LDP	LP	LP/LDP
M1	32	30.5	3	4	3	12	4.00
M2	31.5	29.5	3.5	4	3	9.5	3.17
M3	32	31	4	4	4	14	3.50
M4	24	22	2.5	3	2.5	6.5	2.60
M5	18.5	17	2	2.5	1.5	4	2.67
M6	26	24	2.5	3.5	2	6.5	3.25
M7	19	17.5	2	2.5	1.5	4	2.67
M8	22	20	2	2.5	1.5	4	2.67
M9	22	20	2	3	2	5	2.50

Verifica dell'identificazione della specie: l'intervallo atteso per i valori di LP/LDP, carattere utile nella distinzione tra *P. gibbesi* e *Percnon planissimum* (Herbst, 1804), è compreso tra 2 e 4 (Schmitt, 1939): solo le due femmine F6 ed F8 ricadono fuori da questo intervallo, ma ciò è verosimilmente imputabile alla loro giovane età.

Fecondità: le uova prelevate dai pleopodi delle 13 femmine esaminate sono state classificate in due stadi in base allo sviluppo: "aspetto omogeneo" (Fig. 1) e "con embrione provvisto di macchie oculari"(Fig. 2).

Fig. 1 – Uova con "aspetto omogeneo" (25×).
Non eyed eggs (25×).

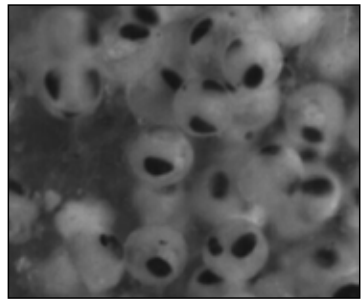


Fig. 2 – Uova "con embrione provvisto di macchie oculari" (40×).
Eyed eggs (40×).

La Tab. 3 mostra i valori del numero totale, diametro medio Φ (μm) e stadio di sviluppo delle uova di ciascuna femmina, oltre al loro peso complessivo.

Tab. 3 - Stadio di sviluppo, numero totale, peso complessivo e diametro medio Φ (μm) delle uova delle femmine F1-F13.
Developmental stage, number, total weight and average diameter Φ (μm) of the females F1-F13 eggs.

ETICH.	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13
STADIO	omogenei	occhi	omogenei	occhi	omogenei	omogenei	omogenei	occhi	omogenei	occhi	omogenei	omogenei	occhi
NUMERO	3296	3584	5000	1424	3320	1030	3800	143	3850	992	5332	1896	3552
P (g)	0.30	0.35	0.45	0.15	0.30	0.09	0.34	0.03	0.34	0.11	/	/	/
Φ (μm)	307	423	307	346	307	307	307	423	307	380	/	/	/

La relazione tra numero di uova e taglia della femmina (LC) evidenzia un andamento di tipo lineare (Fig. 3): fecondità = 228,48 (LC) – 3117,8.

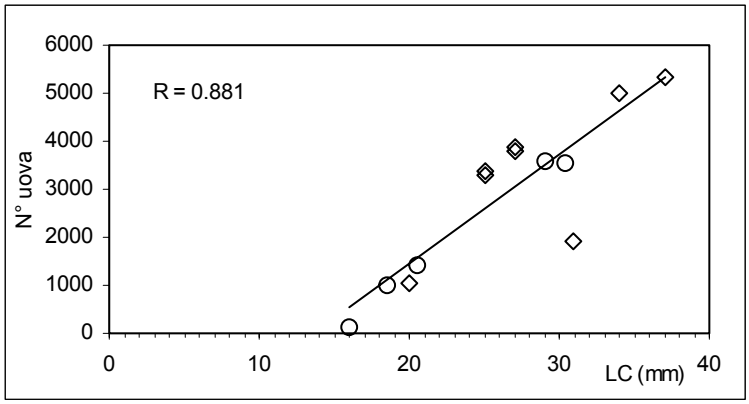


Fig. 3 - Numero di uova in funzione della taglia LC della femmina (◇ = uova "aspetto omogeneo"; ○ = uova "con embrione provvisto di macchie oculari").
Relationship between eggs number and female size LC (◇ = non-eyed eggs; ○ = eyed eggs).

Tra le uova analizzate, quelle di maggiori dimensioni appartengono tutte allo stadio di sviluppo più avanzato; inoltre nell'addome di quasi tutte le femmine che portavano le uova più sviluppate è stata osservata la presenza di materiale embrionale danneggiato. Questo potrebbe essere dovuto alla perdita di alcune uova durante il loro accrescimento: è infatti verosimile che le ridotte dimensioni dell'addome di questa specie, carattere che la rende adatta a nascondersi in strette fessure della roccia, non consentano il completo sviluppo di tutte le uova originariamente presenti sui pleopodi della femmina.

Conclusioni

L'indagine preliminare sugli aspetti riproduttivi di *P. gibbesi* ha evidenziato in primo luogo che, nel periodo compreso tra luglio e novembre, una elevatissima percentuale di femmine è ovigera. In particolare, la percentuale di femmine ovate del campione esaminato è il 91%. Si può quindi dedurre che, verosimilmente, tale periodo ricada nel pieno della stagione riproduttiva di *P. gibbesi*, sebbene vari elementi indichino che questa potrebbe essere molto più estesa. Il ritrovamento di uova allo stadio di sviluppo più avanzato ("con embrione provvisto di macchie oculari") in femmine campionate nel mese di luglio, per esempio, permette automaticamente di anteporre alla data del campionamento l'inizio dell'attività riproduttiva di quelle femmine. Analogamente, la presenza di uova appartenenti allo stadio "aspetto omogeneo" in femmine catturate a novembre, potrebbe indicare che queste ultime portino le uova sui pleopodi fino al compimento dello sviluppo embrionale e quindi ben oltre il termine del campionamento; è tuttavia possibile che, in questo caso, l'abbassamento stagionale della temperatura determini l'interruzione dello sviluppo di tali uova.

In letteratura si trovano ulteriori riscontri a supporto dell'ipotesi che il periodo riproduttivo di questa specie si estenda ben al di là dei cinque mesi in cui è stato possibile collocarlo con certezza in base al presente studio. Paula e Hartnoll (1989) riferiscono infatti del campionamento di una femmina ovigera avvenuto nel mese di aprile 1986 a Madera, isola situata in un'area geografica dalle caratteristiche idrologiche simili al Mediterraneo. Dall'esame delle temperature superficiali marine (rilevazione satellitare ricavata dal sito internet ISPRA), è evidente che nel mese di aprile i valori di temperatura superficiale del Mediterraneo sono simili, se non superiori, alle acque dell'Oceano Atlantico che bagnano Madera. E'assai probabile quindi che *P. gibbesi* sia in grado di riprodursi a partire da aprile anche in Mediterraneo. Se tale ipotesi venisse confermata, significherebbe che questo grapside dilaziona il proprio sforzo riproduttivo nell'arco di almeno 2/3 dell'anno solare.

La fecondità di lotto, compresa tra 143 e 5332 uova per l'intervallo CL=16-37 mm, è simile, per lo stesso intervallo di taglia, a quella di altri plagusiini, come *Plagusia dentipes* de Haan che, tuttavia, presenta una stagione riproduttiva concentrata in soli due mesi (Tsuchida e Watanabe, 1996).

Tra i fattori ambientali che maggiormente incidono sulla riproduzione dei grapsidi, la temperatura riveste senza dubbio un ruolo di primaria importanza. Come verificato da Pillay e Ono (1978), le specie con abitudini semi-terrestri presentano un periodo riproduttivo ristretto rispetto a quelle che occupano livelli più bassi del litorale. L'abitudine a vivere in immersione permette infatti lo svincolamento dalle brusche variazioni di temperatura, luce e disponibilità di cibo tipiche dell'ambiente subaereo, cosa che pare favorire anche *P. gibbesi* rispetto ai grapsidi che si spingono nella fascia medio e sopralitorale.

L'indiscutibile successo della specie nel suo nuovo habitat può essere quindi spiegato almeno in parte grazie all'efficacia delle modalità riproduttive. Altri fattori hanno comunque sicuramente influito nel favorire una così rapida propagazione della specie dopo il suo ingresso in Mediterraneo. Occupando i livelli superiori dell'infralitorale per esempio, questo invasore, del quale è stata recentemente verificata la dieta erbivora (Puccio *et al.*, 2002), probabilmente non sperimenterà mai la mancanza di cibo, anche grazie alla locale ricchezza del popolamento algale ed alla scarsa competizione con altri erbivori.

Il dilazionamento dello sforzo riproduttivo in un lungo arco di tempo, fenomeno che ne aumenta le probabilità di successo, la peculiarità di possedere una megalopa eccezionalmente grande nel proprio ciclo larvale, che a sua volta genera un "primo granchio" particolarmente robusto (Paula e Hartnoll, 1989; Hartnoll, 1992) e la grande disponibilità della risorsa alimentare, possono essere considerati i principali fattori che hanno reso vincente questo invasore nelle acque del Mediterraneo.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Dott. Matthew Camilleri del Fishery Department in Malta per le notizie fornite circa la presenza di *P. gibbesi* nelle acque di Malta.

Bibliografia

GARCIA L., REVIRIEGO B. (2000) – Presencia del cranc subtropical *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) a les Illes Balears. Primera cita a la Mediterrania occidental. *Boll. Soc. Hist. Balears,* **43**: 81-89.

HARTNOLL R.G. (1992) – Megalopae and early postlarval stages of East African *Percnon* (Decapoda: Brachyura: Grapsidae). *J. Zool., Lond.,* **228**: 51-67.

MÜLLER C. (2001) – Erstnachweis der Flachkrabbe *Percnon gibbesi* (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) für die Balearischen Inseln. *Senckenb. marit.,* **31** (1): 83-89.

PAULA J., HARTNOLL R.G. (1989) – The larval and post-larval development of *Percnon gibbesi* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) and the identity of the larval genus *Pluteocaris*. *J. Zool., Lond.,* **218**: 17-37.

PILLAY K.K., ONO Y. (1978) – The breeding cycles of two species of grapsid crabs (Crustacea: Decapoda) from the North coast of Kyushu, Japan. *Mar. Biol.*, **45**: 237-248.

PIPITONE C., BADALAMENTI F., SPARROW A. (2001) – Contribution to the knowledge of *Percnon gibbesi* (Decapoda, Grapsidae), an exotic species spreading rapidly in Sicilian waters. *Crustaceana*, **74** (10): 1009-1017.

PUCCIO V., RELINI M., AZZURRO E., ORSI RELINI L. (2002) – Feeding habits of *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) in the Sicily Strait (Sicily, Italy). *Hydrobiologia*, submitted.

RELINI M., ORSI L., PUCCIO V., AZZURRO E. (2000) – The exotic crab *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) in the Central Mediterranean. *Sci. Mar.,* **64** (3): 337-340.

SCHMITT W.L. (1939) – Decapod and other Crustacea collected on the Presidential Cruise of 1938 (with introduction and station data). *Smiths. Miscell. Coll.*, **98** (6): 1-29.

TSUCHIDA S., WATANABE S. (1996) – Growth and reproduction of the grapsid crab *Plagusia dentipes*. *J. Crust. Biol.,* **17**: 90-97.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 273-275

G. Zagami, G. Costanzo, M. Campolmi, A. Granata, C. Brugnano

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,
Salita Sperone, 31 – 98166 Sant'Agata, Messina, Italia.

CICLO BIOLOGICO DEL COPEPODE *PSEUDOCYCLOPS UMBRATICUS* GIESBRECHT, 1893 ALLEVATO IN LABORATORIO

BIOLOGICAL CYCLE OF PSEUDOCYCLOPS UMBRATICUS *GIESBRECHT, 1893 BRED IN LABORATORY*

Abstract

Biological cycle, egg production and developmental rates of Pseudocyclops umbraticus *Giesbrecht, 1893 were studied in the laboratory under two temperature conditions.*

The longevity decreased with increasing temperature. The average number of eggs produced per female per day increased with temperature, but because the period of egg laying was reduced, the total eggs production per female was lower. The species P. umbraticus *shoved a low reproductive rate compared to planktonic calanoid copepods of the subtemperate regions.*

Key-words: Pseudocyclops umbraticus*, life cycle, secondary production, laboratory culture.*

Introduzione

Gli studi condotti sui cicli biologici dei Copepodi, sia in laboratorio che in natura, hanno suscitato un notevole interesse in ecologia, poichè si sono dimostrati utili per la comprensione dei principali fattori che regolano la dinamica delle popolazioni nell'ecosistema marino.

Tali studi, sino ad oggi, si sono principalmente focalizzati sulle specie di Copepodi Calanoidi planctonici, mentre scarse sono le informazioni sulla componente bento-planctonica.

Tra i Copepodi bento-planctonici, *Pseudocyclops umbraticus* è la specie più abbondante delle acque dello Stagnone di Marsala (Campolmi *et al.*, 2001).

Lo scopo del presente lavoro è stato l'allevamento in laboratorio di *P. umbraticus*, al fine di conoscerne il ciclo biologico, la longevità, il tasso di sviluppo, il tasso medio di produzione giornaliera di uova per femmina, la produzione media totale di uova nell'intero periodo riproduttivo e il successo di schiusa delle uova, in due diverse condizioni di temperatura.

Materiali e metodi

Campioni di fauna bento-pelagica sono stati raccolti per mezzo di una slitta, nelle acque costiere antistanti lo Stagnone di Marsala (Sicilia Occidentale), nel mese di giugno 2000.

Subito dopo il prelievo, i campioni sono stati trasportati al laboratorio, in contenitori da 10 litri, forniti di aeratore. In laboratorio, per mezzo di un microscopio stereoscopico, sono stati identificati e prelevati gli esemplari di *P. umbraticus*, che sono stati trasferiti in un acquario aerato, dalla capienza di 1,5 l di acqua di mare filtrata con carta da filtro, tenuto in frigotermostato alla temperatura di 24 °C.

Gli esemplari di *P. umbraticus* in acquario sono stati alimentati con una dieta mista,

costituita da tre specie fitoplanctoniche: *Tetraselmis suecica, Pavlova lutheri* e *Isochrisis galbana*. In laboratorio, durante l'intero ciclo biologico, la produzione e la vitalità delle uova è stata monitorata giornalmente in coppie incubate, sin dal IV-V stadio di copepodite, in capsule singole contenenti 50 ml di acqua di mare filtrata, arricchita della stessa miscela fitoplanctonica somministrata in acquario.

Sono stati costituiti due gruppi di coppie di cinque repliche ciascuno, alimentati con la suddetta dieta, somministrata in eccesso di concentrazione e mantenuti in frigotermostato rispettivamente a 18 °C e 24 °C.

Risultati

In laboratorio, la longevità media dei due gruppi di coppie di *P. umbraticus* ha presentato valori differenti in relazione alle diverse condizioni di temperatura. Le coppie allevate a 18 °C hanno avuto una longevità media di 72,4±2,9 giorni, quelle a 24 °C, di 40,3±3,0 giorni.

I differenti valori di temperatura, inoltre, hanno influenzato i tassi di sviluppo, dall'uovo fecondato al giovane adulto.

Le coppie allevate a 18 °C hanno presentato un tempo medio di sviluppo di 18 giorni, mentre quelle a 24 °C, di 12 giorni. I gruppi di coppie allevate a 18 °C e a 24 °C hanno avuto una produzione media totale di uova per femmina rispettivamente di 266,0±16,5 e 189,0±28,8 e un tasso medio giornaliero di produzione di uova per femmina di 4,9±0,2 e 6,1±1,0. Ambedue i gruppi hanno avuto un simile successo di schiusa delle uova, stimato intorno al 98%. Significativamente differente, invece, è stata la durata del periodo riproduttivo medio, 54,4±2,9 giorni per le coppie allevate a 18 °C e 31,0±2,8 giorni, per quelle a 24 °C.

Subito dopo qualche giorno dalla fecondazione e l'inizio della produzione di uova, l'assenza del maschio dalla capsula non ha provocato nessun arresto o diminuizione della produzione di uova fertili, fino alla fine del periodo riproduttivo. Finito il periodo di produzione di uova, sia il maschio che la femmina sono morti nell'intervallo di 48-72 ore.

Conclusioni

Il presente lavoro rappresenta il primo contributo alla conoscenza del ciclo biologico e di alcune proprietà ecologiche di *P. umbraticus* allevato in laboratorio. Come per molte altre specie di Copepodi Calanoidi, *P. umbraticus* termina il suo ciclo vitale alla fine del periodo di produzione delle uova. Come anche osservato da Uye (1981) per *Acartia clausi*, il gruppo di coppie allevato a temperatura più alta presenta una minore longevità e un più alto tasso di sviluppo; probabilmente, ciò è in funzione della maggiore richiesta metabolica, che si ha con l'incremento della temperatura. La longevità e il tasso di sviluppo osservati rientrano nel range riportato per le più comuni specie di copepodi neritici delle regioni sub-temperate (Ianora, 1998). La temperatura ha influenzato il tasso medio di produzione di uova e la produzione media totale di uova di *P. umbraticus*. Alla temperatura più elevata si è osservato un maggior tasso di produzione media giornaliera di uova per femmina, cosi come riportato da diversi Autori; ma poiché ciò determina un più corto periodo di produzione di uova, la produzione media totale di uova per femmina risulta minore.

Il tasso medio di produzione di uova per femmina e la produzione media totale in *P. umbraticus* sono molto bassi, rispetto a quelli riscontrati nelle specie di Copepodi

Calanoidi delle regioni sub-temperate (Ianora, 1998). Ciò si riflette nei bassi valori di abbondanza di *P. umbraticus* osservati nell'ambiente costiero (Campolmi *et al.*, 2001), correlabili inoltre, al ristretto habitat occupato da questa specie nell'ecosistema marino.

Bibliografia

CAMPOLMI M., ZAGAMI G., GUGLIELMO L., MAZZOLA A. (2001) - Short-term variability of mesozooplankton in a Mediterranean coastal Sound (Stagnone di Marsala, Western Sicily). In: Faranda F.M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Mediterranean Ecosystems: Structure and Processes*, Springer-Verlag Italy: 155-169.

IANORA A. (1998) - Copepod life history traits in the subtemperated regions. *J. Mar. System*, **15**: 337-349.

UYE S.I. (1981) - Fecundity studies of neritic calanoid copepods *Acartia clausi* Giesbrecht and *A. steueri* Smirnov: A simple empirical model of daily egg production. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **50**: 255-271.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 276-280

F. Minniti, A. Cefali, A. Potoschi, R. Bruno

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,
Salita Sperone, 31 - 98166 S.ta Agata, Messina, Italia.

RIPRODUZIONE DI *APHANIUS FASCIATUS* (NARDO, 1827) NEL LAGO DI GANZIRRI (MESSINA)

THE REPRODUCTIVE CYCLE IN A POPULATION OF APHANIUS FASCIATUS *(NARDO, 1827) FROM GANZIRRI POND (MESSINA, ITALY)*

Abstract

The reproductive cycle of Aphanius fasciatus *(Nardo, 1827) was studied in the Ganzirri pond (Messina, Italy). Maturing specimens occurred from March to July. Maturity size was estimated at 26 mm (SL) for males and females.*

Key-words*:* Aphanius fasciatus, *Cyprinodontidae, reproduction, Ganzirri pond.*

Introduzione

Il "nono" *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827) è un Teleosteo che vive in ambienti salmastri, che possono essere caratterizzati anche da notevoli variazioni delle variabili ambientali. Ha importanza naturalistica riconosciuta anche da convenzioni internazionali (direttiva 92/43/CEE). Le informazioni più recenti sulla riproduzione di questa specie derivano da ricerche condotte in aree salmastre della Tunisia (Boumaiza *et al*., 1979) e della Grecia (Leonardos e Sinis, 1998, 1999). In questo lavoro sono riportate le prime osservazioni su alcuni aspetti della biologia riproduttiva (rapporto tra i sessi, periodo riproduttivo correlato alle variabili ambientali, taglia di prima maturità sessuale) di una popolazione presente nella riserva naturale di Capo Peloro - Lago di Ganzirri (Potoschi *et al*., 2002).

Materiali e metodi

La ricerca si è svolta nel lago salmastro di Ganzirri (Messina) che presenta una profondità massima di 6,50 metri, con substrato misto (sabbia e sapropel), talvolta anossico con formazione di idrogeno solforato. La specie è stata campionata da ottobre 2000 al luglio 2001 (non è stata rilevata nei mesi di gennaio ed aprile). Per la cattura degli esemplari si è utilizzata una rete tipo "ravastina" appositamente realizzata (lunghezza 20 metri, altezza 2 metri, maglia al sacco 5 mm). Le cale sono state effettuate in determinate stazioni ove era possibile operare con la suddetta rete ad una profondità variabile 0-3,5 metri. Durante ogni campionamento venivano rilevati: temperatura dell'acqua, salinità e pH. Sono stati catturati 514 individui sui quali sono stati rilevati: lunghezza standard (mm) e peso totale (g). Il sesso è stato determinato mediante il prelievo delle gonadi e lo schiacciamento a fresco delle stesse. Per l'individuazione dello stadio maturativo si è utilizzata la scala di Holden-Raitt (1974). Per l'analisi istologica porzioni di gonadi sono state fissate in Bouin per poi essere incluse in paraplast, sezionate (5 μm) e colorate con ematossilina-eosina.

Risultati e conclusioni

La presenza della specie è stata rilevata prevalentemente nella zona sud del lago ed in modo eterogeneo nei vari mesi. Complessivamente sono stati campionati 161 maschi e 353 femmine. Le maggiori frequenze di catture si sono avute nei mesi di maggio (27%), giugno (36%) ed ottobre (26%) (Fig. 1). La taglia minima rilevata per i maschi è stata di 17 mm di LS mentre per le femmine di 21 mm; la taglia massima è stata per i maschi di 62 mm di LS mentre per le femmine di 59,5 mm. Il rapporto tra i sessi, calcolato mensilmente, è risultato quasi sempre a vantaggio delle femmine (tranne nel mese di febbraio che è stato di 1:1) (Fig. 2).

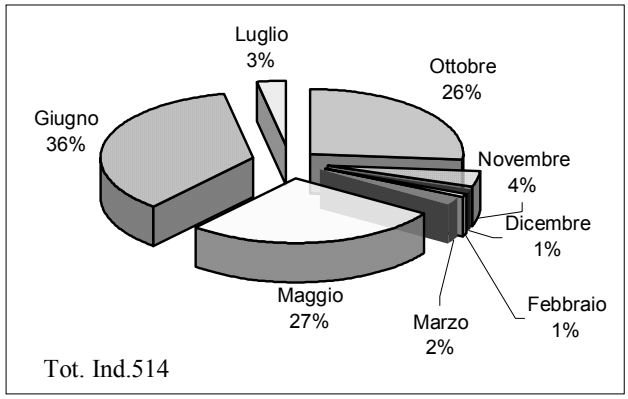


Fig. 1 - Distribuzione (%) mensile di *Aphanius fasciatus*.
Monthly distribution (%) of Aphanius fasciatus.

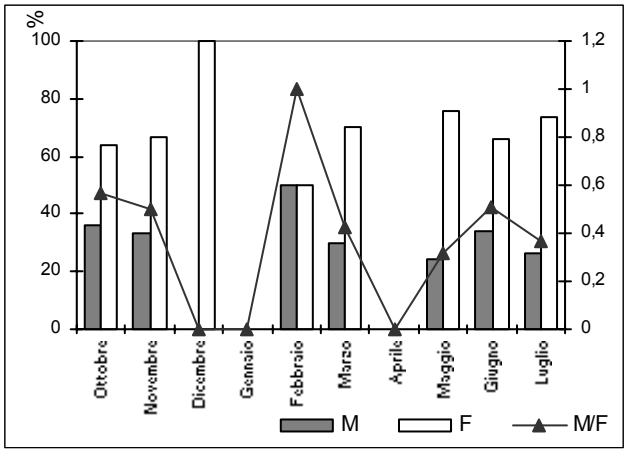


Fig. 2 - Distribuzione mensile della sex-ratio di *Aphanius fasciatus*.
Monthly distribution of the sex-ratio of Aphanius fasciatus.

Gonadi al III stadio di maturazione sono state rinvenute in entrambi i sessi a partire dal mese di marzo; il mese di luglio ha fatto registrare la percentuale maggiore di gonadi al IV stadio. I campioni presentavano gonadi solo al I ed al II stadio nei mesi da ottobre a febbraio (Fig. 3).

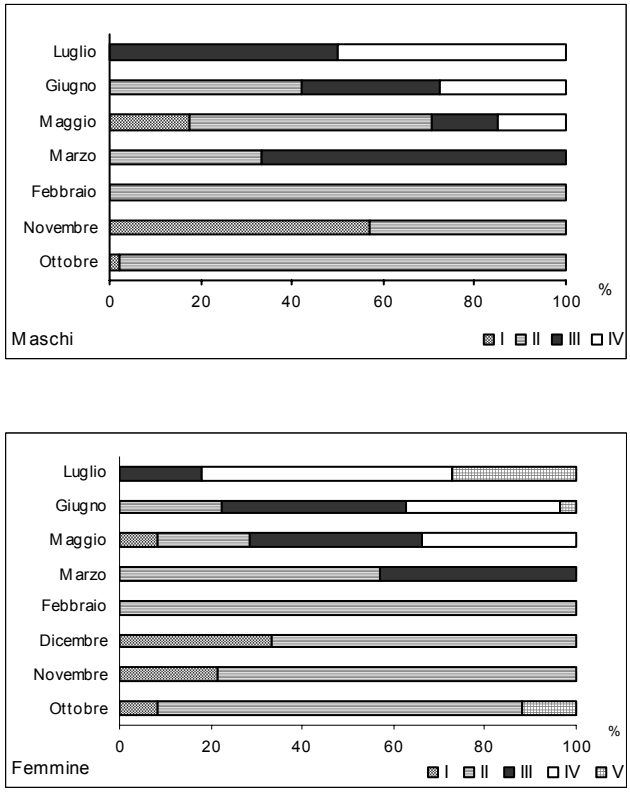
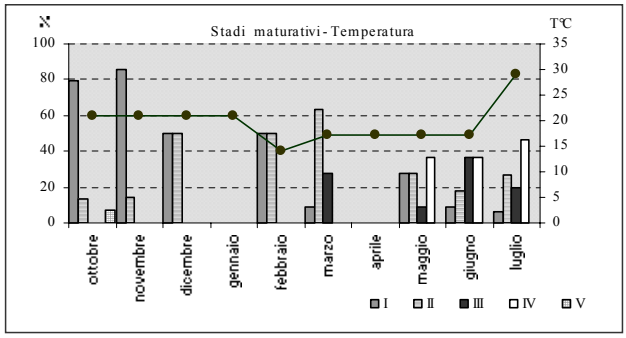


Fig. 3 - Frequenze percentuali degli stadi di maturità dei maschi e delle femmine di *Aphanius fasciatus*.

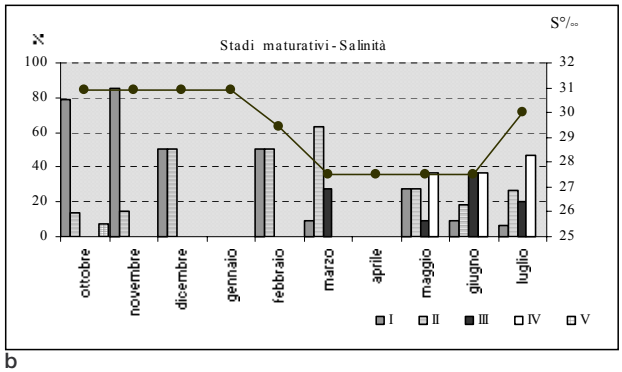
Percentage of maturity stages in males and females of Aphanius fasciatus.

Nel periodo compreso tra marzo e luglio l'esame istologico ha evidenziato negli ovari uno sviluppo differenziato degli ovociti, in quanto non tutti raggiungono la maturazione; molti ovociti sono immaturi e pochi quelli maturi ed idratati. Nelle gonadi maschili, con spermiogenesi in atto, sono stati osservati lobuli parzialmente svuotati. La taglia corrispondente all'inizio dell'attività riproduttiva è stata, per entrambi i sessi, di 26 mm (LS).

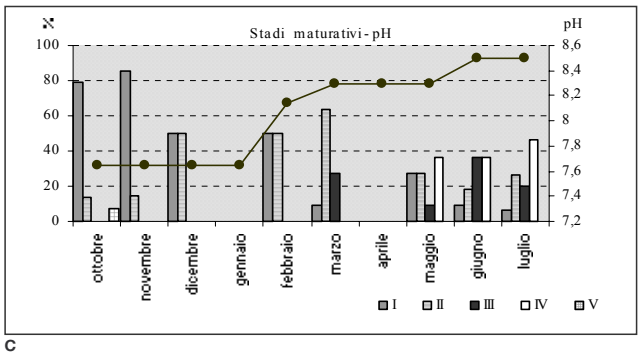
I valori rilevati di temperatura, salinità e pH, hanno evidenziato variazioni di alcune variabili in relazione al periodo riproduttivo. Il valore del pH, piuttosto basso nei mesi da ottobre a gennaio, ha subito un rialzo nel mese di febbraio e si è mantenuto tale per tutta la durata della fase riproduttiva. Al contrario avviene per la salinità. I valori della temperatura hanno subito una caduta nel mese di febbraio, seguita da un successivo aumento nel mese di marzo coincidente con l'inizio della maturazione (Fig. 4 a; b; c).



a



b



c

Fig. 4 - Variazioni mensili di temperatura (a), salinità (b) e pH (c) e relativi stadi di maturità delle gonadi maschili e femminili.
Monthly variations in temperature (a), salinity (b) and pH (c) and gonad maturity stages of males and females.

Il periodo riproduttivo verificato per il lago di Ganzirri (inizio primavera-metà estate) coincide con quanto riportato per altri ambienti salmastri (Leonardos e Sinis, 1998, 1999). Si potrebbe ipotizzare che la popolazione esaminata, considerato che l'ambiente in cui vive è altamente variabile, per motivi etoecologici abbia investito nel rapporto tra i sessi (2:1 per le femmine) una strategia di predominanza individuata anche nella maggiore dimensione delle femmine.

Bibliografia

BOUMAIZA M., QUIGNARD J., KTARI M. (1979) - Contribution à la biologie de la reproduction *d'Aphanius fasciatus* Nardo 1827 (Pisces, Cyprinodontidae) de Tynisiae. *Bull. de l'Office Nat. des Pesc. de Tynis,* **3** (2): 221-240.

HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) - Manual of fisheries science. Part 2 - Methods of resources investigation and their application. *FAO Fish. Tech. Pap*., Rev. 1, **115**: 214 pp.

LEONARDOS I., SINIS A. (1998) - Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Lagoons Messolongi and Etolikon. *Fish. Res*., **35**: 171-181.

LEONARDOS I., SINIS A. (1999) - Population age and sex structure of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in Messolongi and Etolikon Lagoons (W. Greece). *Fish. Res*., **40**: 227-235.

POTOSCHI A., MANGANARO A., BATTAGLIA P., CATRIMI N. (2002) - Censimento della fauna ittica nei pantani di Capo Peloro (ME-Sicilia). *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 785-788.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 281-286

M. Mura, P. Pesci, A. Sabatini

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, V.le Poetto, 1 - 09126 Cagliari, Italia.

NOTE SULL'ACCRESCIMENTO E SULLA RIPRODUZIONE DI *PALAEMONETES ANTENNARIUS* (H. MILNE EDWARDS, 1837) (CRUSTACEA, DECAPODA) NEL FIUME TIRSO

NOTES ON THE GROWTH AND REPRODUCTION OF PALAEMONETES ANTENNARIUS *(H. MILNE EDWARDS, 1837) (CRUSTACEA, DECAPODA) IN TIRSO RIVER*

Abstract

The analysis of 530 males and 485 females of Palaemonetes antennarius *(Crustacea, Decapoda) allowed to identify two different growth patterns for the two sexes and to distinguish the cohort of individuals spawned in late spring from the full summer one. The distinction of the modal components is supported by the finding of two reproductive periods based on the female ovigerous frequency and the embryos development stages during April-September.*

Key-words: *Crustacean, reproduction, growth,* Palaemonetes antennarius.

Introduzione

In ambienti dulciacquicoli dell'area mediterranea sono diffuse sei specie del genere *Palaemonetes* (Pretzmann, 1987). Una, *P. antennarius,* presenta un areale che include la Spagna, l'Italia, la Dalmazia, la Grecia, comprese alcune isole dello Ionio e dell'Egeo, e la Turchia (Froglia, 1978). In Italia si trova tanto nelle parti più interne delle lagune che in alcuni laghi e in numerosi fiumi anche se la sua distribuzione non è omogenea (Dalla Via, 1983) a causa dell'insufficiente adattamento della specie all'ambiente d'acqua dolce, dovuto alla necessità di una particolare combinazione di temperatura e concentrazione ionica (Parry, 1961; Parry e Potts, 1965; Hofer *et al.*, 1980).

La specie, segnalata nel 1940 per il tratto superiore del Rio Posada (Sardegna nord-orientale) (Pomini, 1940), nel corso di una serie di ricerche sui popolamenti di Crostacei Decapodi di stagni salmastri e di ambienti estuarini della Sardegna meridionale e occidentale è stata ritrovata nel tratto terminale del fiume Tirso (Mura *et al.*, 1995).

Per ampliare le scarse informazioni che si hanno sulla biologia e sull'ecologia della popolazione di *P. antennarius* di questo corso d'acqua, nel presente lavoro sono stati esaminati i tassi di crescita in rapporto al sesso e il periodo riproduttivo.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati mensilmente dal giugno del 1999 a maggio del 2000 in ore diurne, utilizzando un retino a mano, con maglie di 5 mm, strascicato sia sulla vegetazione acquatica, formata soprattutto da *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton natans* e *P. crispus*, sia sulla parte sommersa della vegetazione riparia costituita in prevalenza da *Typha latifolia* e altre graminacee tra le quali *Arundo donax*, *Phragmites communis*. Di ogni campionamento sono stati annotati i valori di temperatura e salinità dell'acqua registrati con una sonda multiparametrica MultiLine P4 WTW.

Per escludere qualsiasi condizionamento delle variazioni di salinità sulla crescita degli individui esaminati (Dalla Via, 1983), sono stati considerati solo i campioni, 530 maschi e 485 femmine, raccolti con valori di salinità dell'acqua inferiori a 2,5 ppm. I campionamenti sono stati effettuati in due stazioni caratterizzate tutto l'anno da un ambiente prettamente lotico e separate da un elevato dislivello, costituito da uno sbarramento in cemento, dall'ultimo tratto del fiume interessato da notevoli fluttuazioni dei valori di salinità (Mura *et al*., 1995).

Gli individui sono stati immediatamente conservati in formalina al 5% e trasferiti in laboratorio dove di ogni esemplare è stata determinata la lunghezza totale (LT), la lunghezza del carapace (LC) e il sesso. E' stata registrata la presenza delle femmine ovigere e definiti tre stadi di sviluppo delle uova (Campisi *et al*., 1998). La determinazione del periodo riproduttivo è stata ottenuta in base all'osservazione della presenza di femmine ovigere con uova all'ultimo stadio di sviluppo. La scomposizione delle coorti d'età è stata effettuata utilizzando l'algoritmo EM, implementato in MULTIMIX, su dati, relativi a LC e LT (Sabatini *et al*., 2002), suddivisi per bimestri. I parametri di crescita relativi alla curva di von Bertalanffy stagionalizzata, calcolati sempre in funzione di LC e LT, sono stati ottenuti con il metodo "Linking of means" contenuto nel pacchetto FISAT (Gayanilo *et al.*, 1996). Le stime d'età relative e le LC medie calcolate sono state confrontate con corrispondenti valori rilevati in esemplari allevati in laboratorio, dalla forma giovanile (Falciai e Palmerini, 2002), con valori di temperatura e salinità costanti, uguali a quelli riscontrati, nello stesso periodo, durante i campionamenti.

Risultati

Le taglie degli esemplari esaminati sono comprese tra 2,7 mm e 8,0 mm di LC nei maschi e tra 2,6 mm e 10,5 mm nelle femmine.

Femmine ovigere, osservate da 6,2 mm di LC, sono state raccolte da aprile per un periodo di 6 mesi con temperature dell'acqua superiori a 18 °C. Uova all'ultimo stadio di sviluppo sono state osservate, in queste femmine, da maggio a settembre con percentuali maggiori nel primo (75,3%) e nell'ultimo mese (100%) (Fig. 1).

La scomposizione delle distribuzioni di frequenza delle LC e LT, per mezzo del programma MULTIMIX, ha evidenziato due coorti annuali distinte sia per i maschi che per le femmine di *P. antennarius* (Fig. 2) e i dati ottenuti hanno consentito di distinguere differenti accrescimenti per i gamberi nati nei due periodi riproduttivi individuati, maggio-giugno e settembre-ottobre (Fig. 3).

I valori modali più piccoli delle coorti individuate sono stati i seguenti: 3,5 mm (in gennaio, età stimata = 8 mesi) e 3,3 mm di LC (in settembre, età stimata = 12 mesi) per i maschi, e 3,4 mm (in settembre, età stimata = 4 mesi) e 3,9 di LC (in luglio, età stimata = 10 mesi) per le femmine. Questi valori sono risultati in buon accordo con la durata del periodo di sviluppo e le LC degli esemplari allevati in laboratorio (Tab. 1).

Tra gli individui nati in maggio-giugno, sono stati osservati valori medi delle femmine costantemente superiori a quelli dei maschi, mentre tra quelli nati in settembre-ottobre, sono risultati valori modali simili nei due sessi fino ad un'età stimata di 10 mesi, a partire dalla quale sono stati rilevati nelle femmine valori modali maggiori.

Risultati analoghi sono stati ottenuti considerando le LT.

L'andamento delle curve di crescita ottenute è risultato differente per sesso e per coorte; in entrambi i sessi, le curve relative al gruppo d'individui nati in piena estate hanno mostrato un accrescimento più lento.

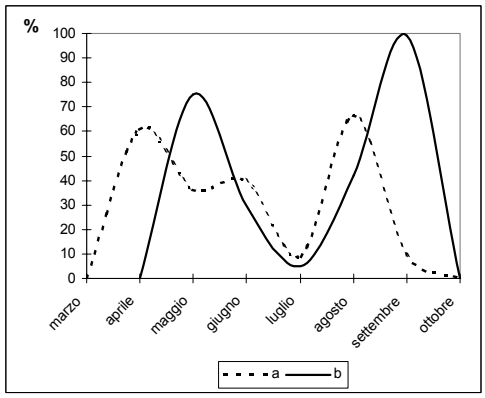


Fig. 1 - Frequenza di femmine ovigere di *Palaemonetes antennarius* con uova a) nei 3 stadi e b) nell'ultimo stadio di sviluppo definiti (vedi testo).
Occurrence of Palaemonetes antennarius *ovigerous females a) eggs in the three development stages and b) eggs in the last of the defined stages (see text).*

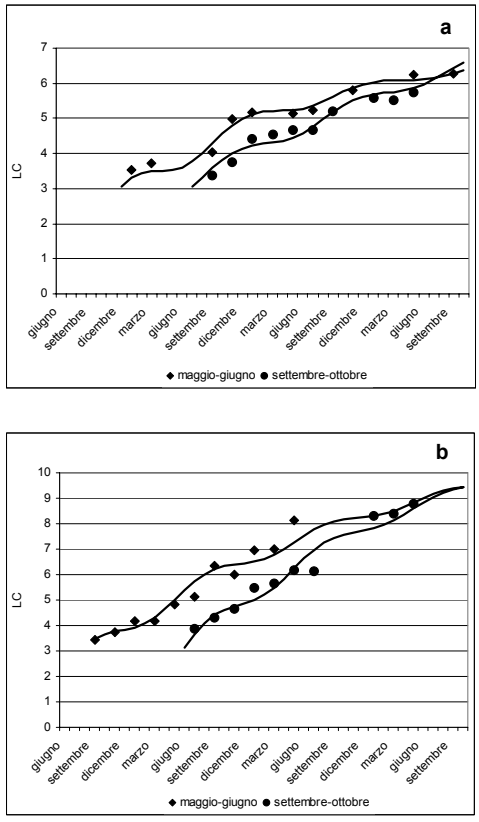


Fig. 2 - Risultati dell'analisi modale e VBGC stagionalizzata in *Palaemonetes antennarius* per maschi (a) e femmine (b).
Results of the modal analysis and VBGC in Palaemonetes antennarius *for males (a) and females (b).*

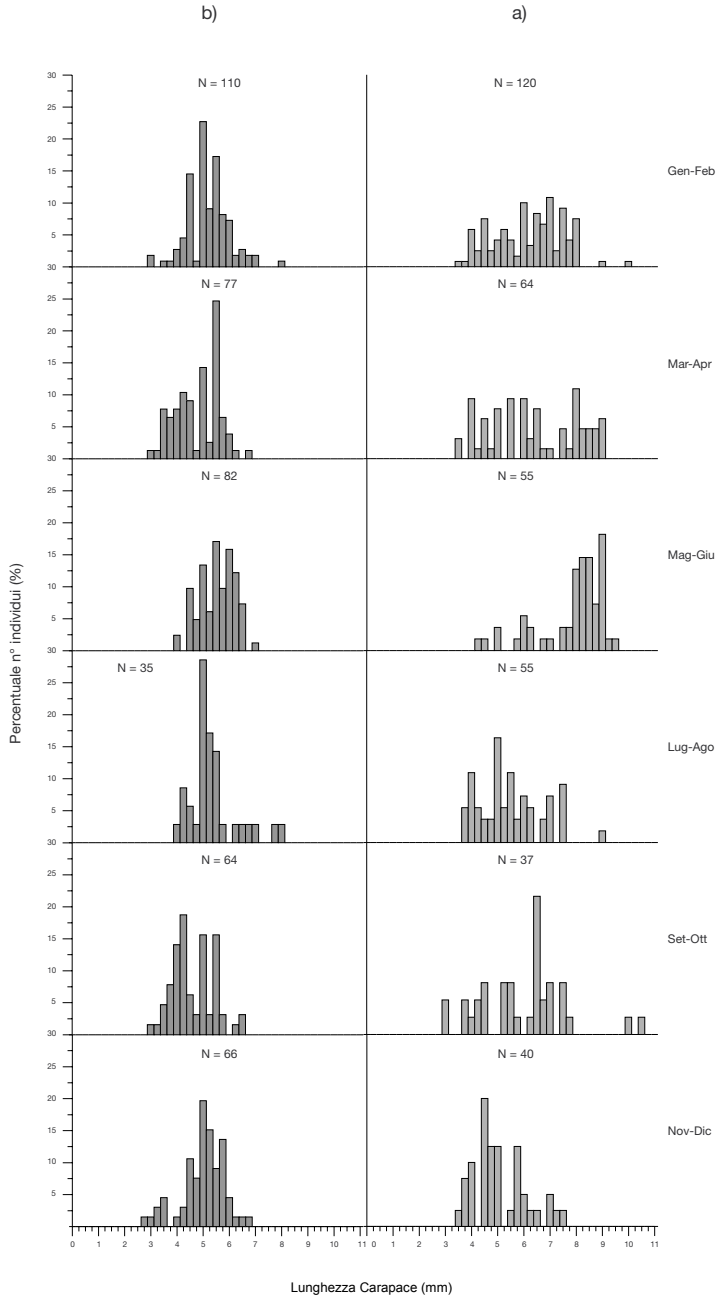


Fig. 3 – Distribuzioni di taglia-frequenza di femmine a) e maschi b) di *Palaemonetes antennarius* suddivise in bimestri relative al periodo dal giugno del 1999 a maggio del 2000.

Length-frequency distributions of females a) and males b) of Palaemonetes antennarius *subdivided in periods of two months from June 1999 to May 2000.*

Tab. 1 - Valori medi di LC, deviazioni standard, tempo di sviluppo e temperature relativi a individui di *Palaemonetes antennarius* allevati in laboratorio per differenti periodi di tempo (vedi testo) a salinità costante (2 ppm).

Mean values of LC, standard deviations, development time and temperature relative to Palaemonetes antennarius *specimens reared in captivity for different periods (see text) at constant salinity (2 ppm).*

Data	LC	ds	giorni	temperatura
30 - maggio	2,15	0,09	25	26°C
3 -giugno	2,13	0,13	21	25°C
4 - giugno	2,16	0,14	30	26°C
20 - giugno	2,18	0,11	38	26°C
16 - luglio	2,3	0,13	72	26°C
27 - luglio	2,48	0,16	83	26°C
1 - agosto	2,42	0,1	80	25°C
14 - settembre	2,52	0,24	75	27°C
29 - settembre	2,8	0,23	90	25°C
5 - ottobre	2,2	0,07	29	25°C

Conclusioni

La riproduzione di *P. antennarius* avviene solo con temperature dell'acqua superiori a 18-20 °C per un periodo di almeno 3-4 mesi (Dalla Via, 1986). Valori superiori a questo intervallo di temperature sono stati rilevati nel Tirso da marzo a tutto settembre, estendendo quindi il periodo in cui si possono ritrovare femmine ovigere per almeno 6 mesi, da aprile a settembre**.**

Nella popolazione del fiume Tirso, l'analisi della progressione modale degli individui ha consentito di identificare due differenti tipi di accrescimento nei maschi e nelle femmine e di distinguere, quindi, le coorti degli individui nati nella tarda primavera ed in piena estate.

La femmina ovigera più piccola è stata di 6,2 mm di LC, un valore che è stato stimato le femmine, di entrambe le coorti, possano raggiungere a un'età di 18-19 mesi.

Le stime ottenute per le più grandi taglie catturate nei due sessi sono pari ad un'età massima di 3 anni per i maschi e 4 anni per le femmine

Bibliografia

CAMPISI S., MURA M., CAU A. (1998) – Biological aspects of *Plesionika antigai* (Zariquey Alvarez, 1955) (Crustacea: Decapoda: Pandalidae) in central-western Mediterranean. *J. Nat. Hist.*, **32**: 1453-1462.

DALLA VIA G.J. (1983) - Ecological studies on the freshwater shrimp *Palaemonetes antennarius* of Laguna di Lesina (Gargano, South Italy). *Arch. Hydrobiol.,* **97** (2): 227-239.

DALLA VIA G.J. (1986) - Ecological zoogeography of *Palaemonetes antennarius* (Crustacea, Decapoda). *Arch. Hydrobiol.,* **106** (2): 251-262.

FALCIAI L., PALMERINI E. (2002) – Larval development of the freshwater shrimp, *Palaemonetes antennarius* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda, Palaemonidae) reared in the laboratory. *Crustaceana*, **74**: 1315-1333.

FROGLIA C. (1978) - Decapodi (Crustacea Decapoda). Ed. C.N.R. AQ/1/9. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne d'Italia*, **4**: 23-24.

GAYANILO F.C., SPARRE D., PAULY D. (1996) - FISAT: FAO-ICLARM Stock Assessment Tools. User‘s manual. *ICLARM – international Centre for living Resources Management – FAO*: 126 pp.

HOFER R., DALLA VIA G.J., OBERMULLER B. (1980) - Okologische Untersuchungen an Palaemonetes antennarius im Gardasee. *Arch. Hydrobiol.,* **98**: 197-209.

MURA M., ORRU' F., TASSARA G. (1995) - Aspetti biologici di *Palemonetes antennarius* (H. Milne Edwards, 1837) del fiume Tirso. *Biol. Mar. Medit*., **2** (2): 447-448.

PARRY G. (1961)- Osmoregulation of the freshwater prawn *Palaemonetes antennarius*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol. De Marchi.,* **13**: 139-149.

PARRY G., POTTS W.T.W. (1965)- Sodium balance in the freshwater prawn, *Palaemonetes antennarius*. *J. Exp. Biol.,* **13**: 415-421.

POMINI F.P. (1940) - Ricerche sul *Salmo macrostigma* Dum. *Boll. Pesca, Pisc. e Idrob.*, Roma, **18** (3): 13-63.

PRETZMANN G. (1987)- A contribution to a historic analysis of mediterranean freshwater decapods chorology. *Inv. Pesq.*, **51** (Suppl. 1): 17-25.

SABATINI A., ADDIS P., FOLLESA M.C., MISSO P., PESCI P., CAU A. (2002)- Proposta di una nuova procedura per l'identificazione delle coorti di una popolazione. *Biol. Mar. Medit.,* **9** (1): 884-888.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 287-290

A.M. Beltrano, L. Cannizzaro, S. Vitale, A. Milazzo

Istituto di Ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, Consiglio Nazionale delle Ricerche IRMA-CNR, Via Luigi Vaccara, 61 – 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

ASPETTI DELLA BIOLOGIA DI *DIPLODUS VULGARIS* (PISCES: SPARIDAE) NELLO STRETTO DI SICILIA

BIOLOGICAL ASPECTS OF DIPLODUS VULGARIS *(PISCES: SPARIDAE) IN THE STRAIT OF SICILY*

Abstract

Biological aspects of Diplodus vulgaris *(Osteichthyes, Sparidae), captured by the artisanal fleet of Mazara del Vallo (S/W Sicily), from '97 to '99, were analysed. The parameters a and b of length-weight relationship were resulted: $a = 2*10^{-5}$; $2*10^{-5}$; $1*10^{-4}$ and $b = 2.98$; 2.93; 2.58 for males, females and unsexed respectively. Sex-ratio analysis shows values equal to 53% for females and 47% for males. By gonadosomatic index analysis a reproductive peack in November was observed in both sex . The von Bertalanffy growth parameters were: $L_{\infty} = 335$; $K = 0,17$; $t_0 = -2,59$.*

Key-words: Diplodus vulgaris*, age, growth, reproduction, Sicily.*

Introduzione

Il sarago testa nera è distribuito in tutto il Mediterraneo, nel mar Nero e in Atlantico lungo le coste europee e africane (Tortonese, 1975). Vive in prossimità della costa su fondali rocciosi o sabbiosi, fino ad una batimetrica di circa 130 m, sebbene si ritrova più frequente intorno ai 30 m (Fischer *et al.*, 1987). E' una specie ermafrodita rudimentale. Il rapporto tra i sessi è leggermente spostato a favore delle femmine (Lissia Frau e Pala, 1968). La taglia di prima maturità sessuale, nel Golfo di Leone, è di 18 cm LT ad un'età di circa 2 anni. L'alimentazione è caratterizzata principalmente da crostacei, molluschi, policheti ed echinodermi.

Diplodus vulgaris è specie di rilevante valore commerciale per la pesca artigianale in Italia e in Grecia. Obiettivo di questo lavoro è lo studio preliminare del ciclo vitale del sarago testa nera. Infatti, sebbene diversi aspetti della biologia di questa specie sono stati studiati, studi su aspetti basilari come età ed accrescimento sono limitati. Inoltre informazioni sulla biologia della specie possono essere utili per la gestione della pesca.

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato su 603 esemplari, catturati dalla pesca artigianale di Mazara del Vallo (TP), mediante tramaglio, monofilo e palangaro di fondo. I campioni sono stati acquisiti mensilmente, in modo casuale, tra ottobre '97 e settembre '99. I dati sono stati raccolti nell'ambito di un progetto denominato "Stock assessment of some coastal species caught by artisanal fishery (SACS)" finanziato dall'UE, dal Consiglio Nazionale delle Ricerche e dal National Agricultural Foundation (Grecia).

Per ciascun esemplare, sono stati rilevati i seguenti parametri morfometrici e biologici: peso totale (PT) in g, peso eviscerato (PE) in g; lunghezza totale in mm (LT); sesso; peso gonadi. La maturità sessuale è stata determinata mediante osservazione

macroscopica delle gonadi, utilizzando la scala di Holden-Raitt a 5 stadi (1974). E' stato valutato l'indice Gonado-Somatico per mese [IGS = Peso gonade/(Peso gonade + peso eviscerato) * 100]. E' stata calcolata la sex-ratio [%F = F/(F+M)*100]. L'età degli esemplari è stata stimata contando gli incrementi di crescita negli otoliti interi. Ciascuna coppia di otoliti è stata letta contemporaneamente da due osservatori per tre volte a distanza di tempo (circa un mese) una dall'altra. Vengono riportati: la distribuzione della frequenza di taglia, per sesso e per stagione ed i parametri a e b della relazione taglia-peso ($P = a*L^{b}$) stimati con il metodo dei minimi quadrati. Infine sono stati stimati a sessi combinati i parametri di crescita L_{∞}, K, t_0 del modello di von Bertalanffy con il metodo dei minimi quadrati.

Risultati

Il campione è risultato costituito da femmine (N = 235), maschi (N = 209) e indeterminati (o giovani) (N = 159). La distribuzione della frequenza di taglia, è polimodale (Fig. 1). Le classi di taglia comprese tra 140 e 270 mm sono presenti in tutte le stagioni.

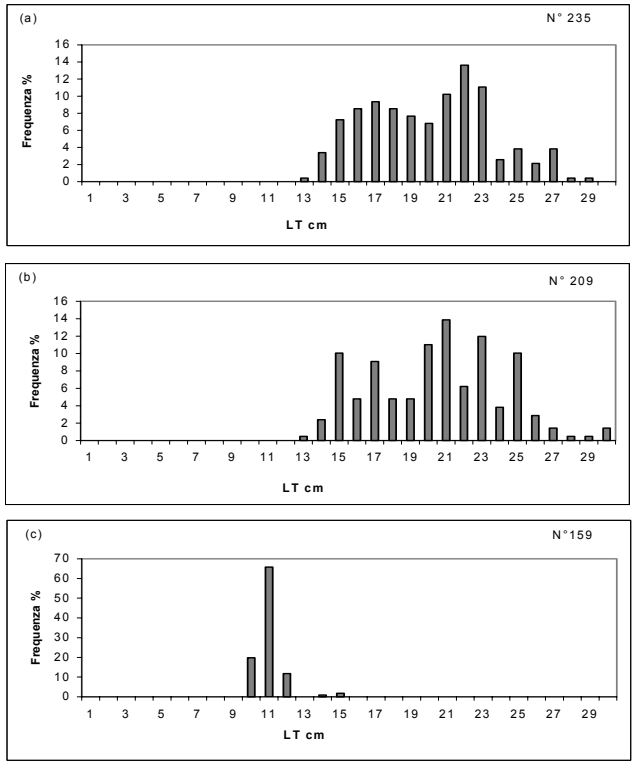


Fig. 1 - Distribuzione delle frequenze di taglia di *Diplodus vulgaris* in femmine (a), maschi (b) e indeterminati (c).

Length frequency distribution of Diplodus vulgaris *females (a) males (b) and unsexed (c).*

La lunghezza totale alla prima maturità sessuale (L 50%) nei maschi e nelle femmine è risultata rispettivamente 164 e 165 mm, corrispondente ad un'età compresa tra

1.5 e 2 anni. L' 80% dei maschi e il 76% della femmine catturati ha raggiunto la prima maturità sessuale. Complessivamente il 78% ha raggiunto la prima maturità sessuale.

La sex-ratio mostra valori pari a 53% per le femmine e 47% per i maschi con un rapporto di 1,13. L'IGS è massimo in novembre sia per maschi che per le femmine (Fig. 2). La relazione taglia-peso è allometrica negativa; infatti i parametri a e b sono risultati: $2*10^{-5}$; 2.98 per i maschi, $2*10^{-5}$; 2.93 per le femmine, $1*10^{-4}$; 2,58 per gli indeterminati (Fig. 3).

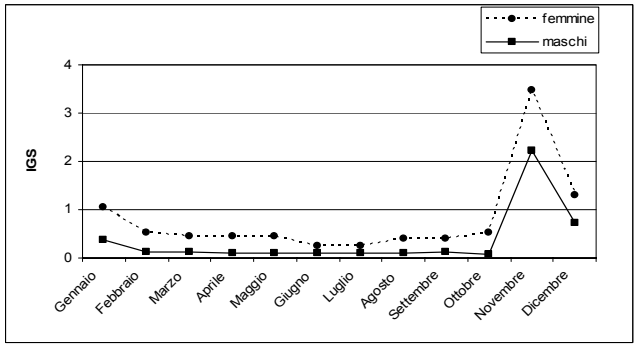


Fig. 2 - Valori medi dell'Indice Gonado Somatico (IGS) per mese, per femmine e maschi.
Mean Gonadosomatic index (GSI) per month for females and males.

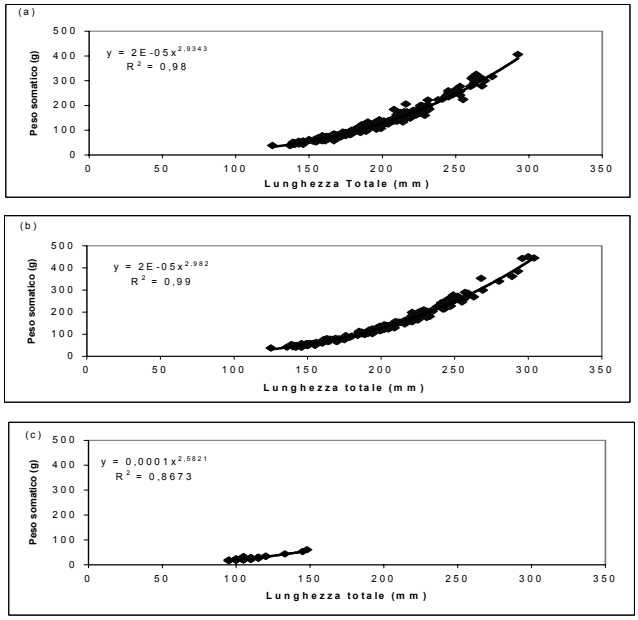


Fig. 3 - Relazione taglia-peso per femmine (a), maschi (b) e indeterminati (c) di *Diplodus vulgaris*.
Length-weight relationship for females (a), males (b) and unsexed (c) of Diplodus vulgaris.

Il coefficiente di adattabilità $R^2=0.98$ per le femmine e $R^2=0.99$ per i maschi mostra un buon adattamento dell'equazione ai dati osservati. I parametri di crescita sono risultati: $L_\infty=335$mm; K/anno=0,17; $t_0=-2,59$ ($R^2=0.82$) (Fig. 4).

Discussione e conclusioni

La specie risulta a crescita lenta come riscontrato anche nel Golfo del Leone ($L_\infty=26.78$ cm LT, k=0.225, $t_0=-0.61$) (Girardin, 1978).

La distribuzione della frequenza di taglia mostra che il sarago testa nera lungo la costa sud-occidentale della Sicilia è ampiamente distribuito nelle diverse classi di taglia in tutte le stagioni.

La sex-ratio mostra una lieve prevalenza di femmine sui maschi in accordo con quanto riportato da Lissia Frau e Pala (1968). Il 78% degli esemplari catturati è di taglia superiore alla taglia di prima maturità sessuale, ciò potrebbe essere sufficiente ad assicurare la continuità dello stock considerando inoltre che il fermo di pesca in quegli anni ricadeva durante il periodo riproduttivo (novembre-dicembre).

Ringraziamenti

Si ringraziano il Dr. Gioacchino Bono, il Sig. Pietro Rizzo, il Sig. Salvino Gancitano, per il prezioso contributo che ha permesso la realizzazione del lavoro.

Bibliografia

FISCHER W., BAUCHOT M.L., SCHNEIDER M. (1987) - Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. *Mèditerranèe et mer Noire.* (Rev. 1). Zone de peche 37. Vertebres. Rome, FAO, **2**: 1363 pp.

GIRARDIN M (1978) - Les Sparidae (Pisces Teleostei) du Golf du Lion. Ecologie et Biogeographie. *Diplôme d'études, Université du Languedoc*, *France*: 150 pp.

HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) - Manual of fisheries science. Methods of recourse investigation and their application. *FAO Fish. Tech. Pap*., Revision, **1** (2): 127-135.

LISSIA FRAU A.M., PALA M. (1968) - Ricerche sull'ermafroditismo nei Saraghi: *Diplodus sargus* (L.), *Diplodus vulgaris* (Geoffr.), *Diplodus vulgaris* (L.) e *Puntazzo puntazzo* (Cetti). *Studi Sassaresi*, **46** (2-3-4): 221-242.

TORTONESE E. (1975) - Osteichthyes. Pesci ossei. *Fauna d'Italia*, Ed. Calderini, Bologna, **9**: 109 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 291-295

R. Carlucci, P. Maiorano, F. Capezzuto, M. Imperatrice*

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
*CIRSPE, Via De'Gigli d'Oro, 21 - 00186 Roma, Italia.

OSSERVAZIONI SULLA RIPRODUZIONE DI *ARISTEUS ANTENNATUS* E *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA* (CRUSTACEA, DECAPODA) NEL COMPARTIMENTO MARITTIMO DI GALLIPOLI (MAR IONIO)

OBSERVATIONS ON THE REPRODUCTION OF ARISTEUS ANTENNATUS *AND* ARISTAEOMORPHA FOLIACEA *(CRUSTACEA, DECAPODA) IN THE MARINE DISTRICT OF GALLIPOLI (IONIAN SEA)*

Abstract

A total of 5442 females of A. foliacea *and 2951 females of* A. antennatus *was collected in the Ionian Sea (Mediterranean Sea) during June-July 2000 and 2001. The smallest mature female measured 34 and 22 mm CL respectively. The* CL_{50} *was 44.07 mm CL in* A. foliacea *and 31.27 mm CL in* A. antennatus*. The size at which the 50% of specimens with spermatophores were mature was 44.14 mm and 35.37 mm CL in* A. foliacea *and* A. antennatus *respectively.*

Key-words: *red shrimps*, *Crustacea, reproduction, Ionian Sea, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Aristaeomorpha foliacea (Risso, 1827) (gambero rosso) e *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (gambero viola) sono tra le risorse batiali più importanti nel Mediterraneo centro-occidentale (Bianchini e Ragonese, 1994). Le già note fluttuazioni di abbondanza che caratterizzano queste specie nei vari bacini italiani (Bianchini e Ragonese, 1994), si accompagnano in maniera sempre più evidente ad una variazione della loro struttura demografica (Relini e Orsi Relini. 1987). Pertanto, la conoscenza di aspetti specifici riguardanti la riproduzione dei due gamberi è indispensabile per una corretta gestione di tali risorse.

Sebbene nel bacino ionico siano stati condotti studi sul ciclo riproduttivo di questi crostacei batiali (D'Onghia *et al.*, 1997, 1998; Matarrese *et al*., 1997), le uniche stime della taglia di prima maturità e di primo accoppiamento sono relative ad *A. foliacea* (D'Onghia *et al.*, 1998). Nel presente lavoro si forniscono informazioni sulla riproduzione dei gamberi rossi con particolare riferimento, per entrambe le specie, alla taglia di prima maturità e primo accoppiamento.

Materiali e metodi

I dati utilizzati in questo lavoro sono stati raccolti durante un progetto per lo studio della selettività condotto nel Compartimento Marittimo di Gallipoli (Mar Ionio settentrionale). Le indagini sono state effettuate mediante due campagne sperimentali di pesca a strascico condotte a giugno-luglio del 2000 e del 2001. In totale sono state realizzate, dall'alba al tramonto, 36 cale di pesca di tipo commerciale della durata di 3 ore ciascuna; è stato utilizzato un motopeschereccio di stazza lorda 9,92 t e potenza motore 161,8 kw, dotato di una rete con maglie al sacco di differenti dimensioni (maglia stirata al sacco di 40, 50 e 60 mm) e coprisacco con maglia di 20 mm.

I dati riportati si riferiscono al totale degli esemplari femminili di entrambe le specie catturati nel sacco e nel coprisacco, indipendentemente dalla maglia utilizzata. Ad ogni esemplare è stata rilevata la lunghezza del carapace (LC in mm) ed è stato valutato lo stadio di maturità delle gonadi secondo le scale macroscopiche proposte da Relini Orsi e Relini (1979) per *A. antennatus* e da Levi e Vacchi (1988) per *A. foliacea.* Inoltre, è stata osservata la presenza/assenza di spermatofore sul *thelycum*.

Il modello logistico è stato utilizzato per descrivere:

- la taglia alla quale il 50% delle femmine realizza l'accoppiamento;
- la taglia alla quale il 50% delle femmine è matura (stadio III e IV);
- la taglia alla quale il 50% delle femmine con spermatofora è matura (stadio III e IV).

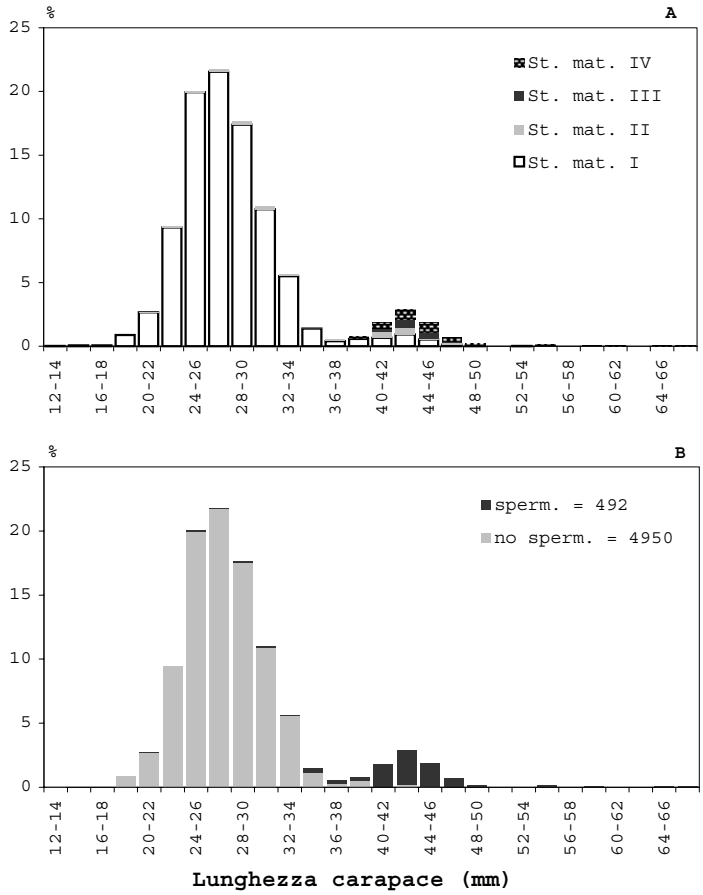


Fig. 1 - Distribuzione lunghezza-frequenza per stadio di maturità delle gonadi (A) e per presenza di spermatofore (B) delle femmine di *Aristaeomorpha foliacea* catturate nei periodi giugno-luglio 2000 e giugno-luglio 2001 nel Mar Ionio settentrionale.

Length-frequency distribution related to maturity stages (A) and to the presence of spermatophores (B) of Aristaeomorpha foliacea *females caught in June-July 2000 and June-July 2001 in the Northern Ionian sea.*

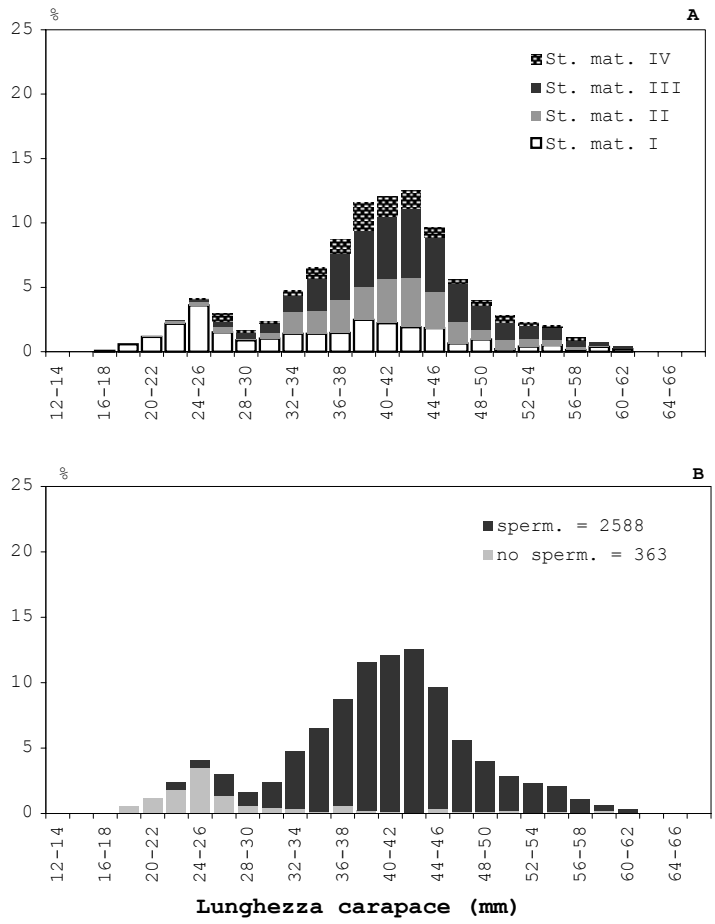


Fig. 2 - Distribuzione lunghezza-frequenza per stadio di maturità delle gonadi (A) e per presenza di spermatofore (B) delle femmine di *Aristeus antennatus* catturate nei periodi giugno-luglio 2000 e giugno-luglio 2001 nel Mar Ionio settentrionale.

Length-frequency distribution related to maturity stages (A) and to the presence of spermatophores (B) of Aristeus antennatus *females caught in June-July 2000 and June-July 2001 in the Northern Ionian sea.*

Risultati

Durante le due campagne considerate, sono state pescate 5442 femmine di *Aristaeomorpha foliacea*, di taglia compresa tra 13 e 61 mm LC. Di queste, soltanto 248 esemplari, tra gli individui più grandi, erano maturi (stadio III e IV). La più piccola femmina matura misurava 34 mm LC (Fig. 1A). Le spermatofore erano presenti in 492 esemplari, soprattutto tra gli individui di taglia maggiore, sebbene la più piccola femmina con spermatofora misurasse 21 mm LC (Fig. 1B).

La taglia di primo accoppiamento per *A. foliacea* è risultata pari a 35,89 mm LC ($r^2 = 0{,}91$). Nonostante l'esigua percentuale di individui maturi catturati, i dati ben si

adattavano al modello logistico ($r^2=0,93$), fornendo una taglia di prima maturità pari a 44,07 mm LC. La LC_{50} calcolata per le femmine mature con spermatofora è risultata pari a 44,14 mm LC ($r^2=0,92$).

Per quanto concerne *Aristeus antennatus*, sono state catturate in totale 2951 femmine, distribuite in un intervallo di taglia compreso tra 16 e 61 mm LC. In questa specie, il 44% delle femmine è risultato maturo (stadio III e IV) a partire da 22 mm LC (Fig. 2A). La maggior parte delle femmine, distribuite in quasi tutte le classi di taglia, presentavano spermatofora; tra queste la più piccola misurava 22 mm LC (Fig. 2B).

La taglia di primo accoppiamento per *A. antennatus* è risultata pari a 25,19 mm LC ($r^2 = 0,98$). La taglia di prima maturità è risultata pari a 31,27 mm LC ($r^2=0,87$). La taglia alla quale il 50% delle femmine con spermatofora è matura è risultata 35,37 mm LC ($r^2=0,82$).

Conclusioni

I risultati ottenuti nel contesto di questo lavoro confermano che i mesi di giugno e luglio si collocano nel periodo riproduttivo di *A. foliacea* e *A. antennatus,* sebbene le due popolazioni campionate presentino una diversa percentuale di femmine adulte e mature. Nello stesso periodo, per entrambe le specie si osserva una componente modale di esemplari di piccola taglia appartenenti al reclutamento. Tale componente risulta più numerosa in *A. foliacea*. Inoltre, per entrambe le specie si conferma che l'accoppiamento precede la riproduzione (D'Onghia *et al.*, 1997, 1998).

In *A. foliacea* la fase riproduttiva interessa soltanto i pochi individui adulti presenti nella distribuzione, come testimoniato da un'elevata taglia di prima maturità pari a 44,07 mm LC. Inoltre, per questo gambero la quasi totalità degli individui maturi presentava la spermatofora e pertanto la stima fatta per le femmine mature con spermatofora ha fornito un risultato sovrapponibile (44,14 mm LC).

Per quanto riguarda *A. antennatus,* nel periodo d'indagine considerato è stata invece riscontrata un'alta percentuale di femmine in fase riproduttiva, sia con gonadi mature sia con spermatofora. Per questo gambero, la taglia di prima maturità (31,27 mm LC) è risultata inferiore a quella calcolata per le femmine mature con spermatofore (35,37 mm LC).

Comunque entrambe le taglie di prima maturità calcolate per *A. antennatus* sono risultate inferiori a quelle stimate per *A. foliacea*. Pertanto, considerando che lo sfruttamento riguarda sia le forme giovanili sia i riproduttori di entrambe la specie, la taglia maggiore alla quale viene raggiunta la maturità in *A. foliacea* rende questa specie particolarmente vulnerabile all'attività di pesca. Infatti, lo stock parentale di *A. foliacea* nell'area di studio risulta fortemente depauperato.

Infine, in entrambe le specie e soprattutto in *A. foliacea*, la taglia di prima maturità è nettamente superiore alla taglia di prima cattura (Imperatrice *et al*., 2003).

Appare quindi evidente, come già riportato in altre aree (Ragonese *et al.*, 2001), quanto la maglia regolamentare normalmente in uso nelle marinerie italiane non garantisca un livello di sfruttamento adeguato e sostenibile di tali risorse.

Bibliografia

BIANCHINI M., RAGONESE S. (eds) (1994) - Life cycles and fisheries of the deep-water red shrimps *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus. N.T.R. Special Publication*, **3**: 87 pp.

D'ONGHIA G., MAIORANO P., MATARRESE A., TURSI A. (1998) - Distribution, biology and

population dynamics of *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (Crustacea, Decapoda) from the north-western Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Crustaceana,* **71** (5): 518-544.

D'ONGHIA G., MATARRESE P., MAIORANO P., PANZA M. (1997) - Recruitment pattern of *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Decapoda: Aristaeidae) from the North-Western Ionian Sea. *Biol. Mar. Medit.,* **4** (1): 244-253.

IMPERATRICE M., CARLUCCI R., SION L., D'ONGHIA G. (2003) – Esperimenti di selettività della rete a strascico relativi alla pesca di *Aristeus antennatus* e *Aristaeomorpha foliacea* nella marineria di Gallipoli (Mar Ionio). *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 843-847.

LEVI D., VACCHI M. (1988) - Macroscopic scale for simple and rapid determination of sexual maturity in *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (Decapoda, Penaeidae). *Journ. Crustacean Biol*., **8** (4): 532-538.

MATARRESE A., D'ONGHIA G., TURSI A., MAIORANO P. (1997) - Vulnerabilit e resilienza di *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) e *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Crostacei, Decapodi) nel Mar Ionio. *S.It.E. Atti*, **18**: 535-538.

RAGONESE S., ZAGRA M., DI STEFANO L., BIANCHINI M.L. (2001) - Effect of codend mesh size on the performance of the deep-water bottom trawl used in the red shrimp fishery in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Hydrobiologia*, **449**: 279-291.

RELINI G., RELINI ORSI L. (1987) - The decline of red shrimps stocks in the Gulf of Genova. *Inv. Pesq.,* **51** (1): 254-260.

RELINI ORSI L., RELINI G. (1979) - Pesca e riproduzione del gambero rosso *Aristeus antennatus* (Decapoda: Penaeidae) nel Mar Ligure. *Quad. civica staz. Idrobiol.* Milano, **7**: 39-62.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 296-299

M. Vallisneri[1], G. Manfrin Piccinetti[1,2], C. Piccinetti[1,2]

[1]Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna,
Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.
[2]Laboratorio di Biologia Marina e Pesca, Fano, Pesaro Urbino, Italia.

BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DI *TRISOPTERUS MINUTUS CAPELANUS* (LACEPEDE, 1800) NEL MAR ADRIATICO

REPRODUCTIVE BIOLOGY OF TRISOPTERUS MINUTUS CAPELANUS *(LACEPEDE, 1800) IN THE ADRIATIC SEA*

Abstract

The paper examines the reproductive biology of the poor cod of the Adriatic, Trisopterus minutus capelanus*. Reproduction was seen to take place over a period is investigated from Autumn to late Spring females were found larger than the males and the size first sexual maturity falling between 14 to 15 cm. Catches, mostly included at specimens smaller than or close to the reported size at sexual maturity.*

Kay-words*:* Trisopterus minutus capelanus*, poor cod, reproductive cycle.*

Introduzione

Il merluzzetto o cappellano *Trisopterus minutus capelanus* (Gadidae, Gadiformes), è distribuito nel Mediterraneo. Pur rappresentando una risorsa notevole in Adriatico, con rendimenti orari a strascico che raggiungono i 17 kg/h (Relini *et al*., 1992), scarseggiano le informazioni relative alla biologia riproduttiva (Froglia e Zoppini, 1981; Paolini *et al*., 1994). Allo scopo di dare un contributo in tal senso e di fotografare situazioni recenti in Adriatico, sono stati analizzati i dati relativi a campagne di pesca a strascico nazionali dell'ultimo decennio.

Materiali e metodi

I dati analizzati provengono da 10 campagne di pesca effettuate tra il 1995 ed il 2001, di cui 7 nel periodo primaverile-estivo (nell'ambito dei progetti MEDITS) e 3 nel periodo autunnale-invernale (nell'ambito dei progetti GRUND) (Tab. 1). Su ciascun esemplare sono stati rilevati i parametri biometrici LT (lunghezza totale in mm) e P (peso corporeo in g), il sesso (distinguendo fra femmine, maschi ed indeterminati) e lo stadio maturativo, sulla base della scala empirica a 4 stadi, st.1: immaturo; st.2: in maturazione; st.3: in deposizione; st.4: post-deposizione (da Holden e Raitt, 1974 modificata):

Risultati

L'analisi dei dati evidenzia:

1) rilevante presenza di individui indeterminati, notevolmente superiore nel periodo estivo, quando inizia a pescarsi il reclutamento (Tab. 1);
2) raggiungimento di taglie maggiori nelle femmine rispetto ai maschi e *sex-ratio* sbilanciata a favore delle femmine (Tab. 1);
3) periodo riproduttivo esteso nelle femmine, compreso fra dicembre e giugno,

con basse percentuali di individui in maturazione anche in altri mesi dell'anno (Figg. 1, 2);

4) taglia di prima maturità sessuale (LT al 50% degli individui e per l'intero periodo riproduttivo), fra i 14 e i 15 cm nelle femmine (Fig. 3).

Tab. 1 – Parametri analizzati su *Trisopterus minutus capelanus* differenziando tra femmine (F), maschi (M) ed indeterminati (I). LT: lunghezza totale, P: peso; dev.st.: deviazione standard.
The parameters adopted for examining Trisopterus minutus capelanus *classified according to sex (F, M, I for female, male and undeterminated, respectively). LT: total length; P: weight; dev.st.: standard deviation.*

CAMPAGNE GRUND (aut-inv: 1996-1997-1998)			
	F	M	I
n° individui	9273	7181	2730
LT min-max (mm)	68-275	70-230	42-163
moda	130	120	100
media	135	128	93
mediana	133	125	95
dev.st.	22	17	12
P min-max (g)	3-297	2-121	1-140
CAMPAGNE MEDITS (prim-est: 1995-'96-'97-'98-'99-2000-'01)			
	F	M	I
n° individui	2554	2431	10302
LT min-max (mm)	63-280	80-222	25-168
moda	100	140	80
media	135	127	78
mediana	140	130	77
dev.st.	33	25	16
P min-max (g)	2-265	4-116	1-82

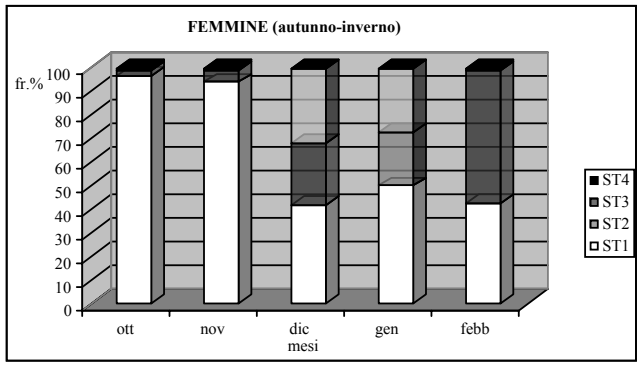


Fig. 1 – Frequenza di distribuzione degli stadi maturativi (ST.1-4) delle femmine durante le stagioni autunno ed inverno.
Distribution frequency of the maturative stages (ST.1-4) of the female over Autumn and Winter.

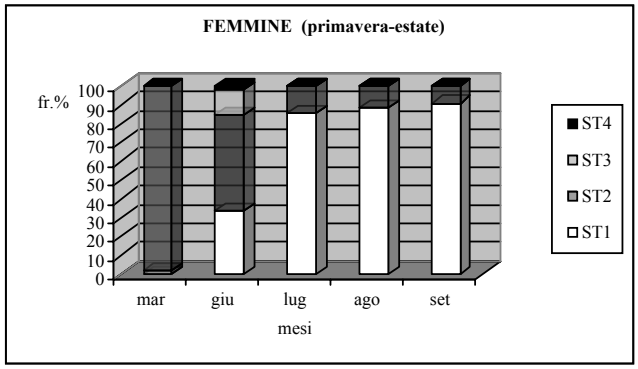


Fig. 2 – Frequenza di distribuzione degli stadi maturativi (ST.1-4) delle femmine durante le stagioni primavera ed estate.
Distribution frequency of the maturative stages (ST.1-4) *of the female over Spring and Summer.*

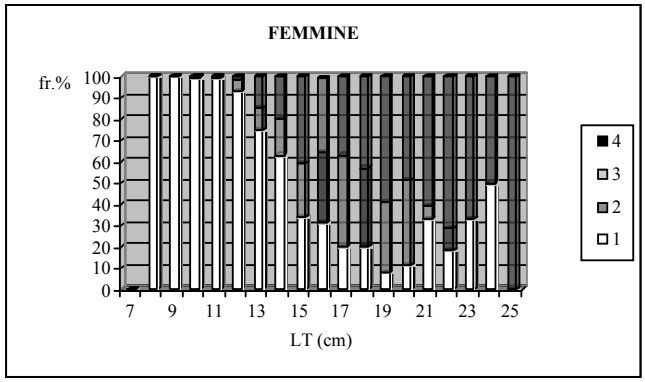


Fig. 3 – Frequenza di distribuzione degli stadi maturativi (ST.1-4) delle femmine in relazione alla lunghezza totale (Lt cm) durante la stagione riproduttiva.
Distribution frequency of the maturative stages (ST.1-4) *in relation to total length (LT cm) during the reproductive season.*

Conclusioni

La taglia di prima maturità sessuale trova riscontro con i dati bibliografici (Froglia e Zoppini, 1981; Paolini *et al*., 1994; Relini *et al*., 1999). Rilevante è la preponderanza nel pescato di individui di taglia inferiore o prossima alla taglia di prima maturità sessuale. Ciò è particolarmente evidente nelle pescate primaverili-estive (MEDITS) ove, all'effetto reclutamento della classe che ha pochi mesi, si somma "l'effetto maglia della rete" (20 mm), che ha permesso la cattura di esemplari più piccoli. Le campagne autunnali (GRUND) invece, hanno catturato esemplari di maggiori dimensioni, probabilmente in relazione al fatto che le reclute hanno alcuni mesi di accrescimento in più e che le maglie delle reti utilizzate sono maggiori (40 mm). Il lungo periodo riproduttivo,

compreso fra l'autunno e la tarda primavera, e l'andamento delle frequenze di distribuzione degli stadi maturativi, suggeriscono una deposizione estesa nel tempo, in accordo con Biagi *et al.* (1992) per il mar Tirreno.

Bibliografia

BIAGI F., DE RANIERI S., VIVA C. (1992) - Recruitment, lenght at first maturity and feeding of poor-cod, *Trisopterus minutus capelanus*, in the northern Tyrrhenian. *Boll. Zool*., **59**: 87-93.

HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) - Manual of fisheries Science. *FAO, Fish. Techn. Pap*., **115**: 127-141.

FROGLIA C., ZOPPINI A.M. (1981) - Observations on growth of *Trisopterus minutus capelanus* (Risso) (Pisces, Gadidae) in the Central Adriatic Sea. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit*., **27** (5): 57-61.

PAOLINI M., FRATTINI C., ALLERUZZO G. (1994) - Evoluzione del popolamento e aspetti della biologia di *Trisopterus minutus capelanus* (Lacepéde, 1800) in alto e medio Adriatico. *Biol. Mar. Medit*., **1** (1): 219-223.

RELINI G., BERTAND J., ZAMBONI A. (1999) - Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (1): 201-207.

TANGERINI P., ARNERI E. (1983) - Biological data collected during the Pipeta expedition, on the poor-cod, *Trisopterus minutus capelanus* (Risso) in the Adriatic Sea. *FAO Fish. Rep.,* **290**: 155-160.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 300-304

S. Focardi

Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena,
Via delle Cerchia, 3 - 53100 Siena, Italia.
focardi@unisi.it

APPROCCIO INTEGRATO CHIMICO E BIOCHIMICO PER VALUTARE GLI EFFETTI DELL'INQUINAMENTO NELL'AMBIENTE MARINO

INTEGRATING CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY TO ASSESS THE EFFECTS OF POLLUTION IN THE MARINE ENVIRONMENT

Abstract

Pollution levels in the marine environment and the resulting risks for communities are assessed by methods that involve the study of various species of organisms known as bioindicators. Over the past ten years, a methodology based on the evaluation of biological responses in bioindicator organisms has been successfully applied in monitoring chemical pollution and harmful effects in the marine environment. Such responses are known as biomarkers. The biochemical aspects of contamination are being investigated by integrating the biomarker approach and chemical residue analyses which allows to establish cause-link relationships at an early stage of pollution. Further developments will be valuable in providing early warning of possible future damage to the marine environment and in implementing conservation strategies before the onset of lethal and sub-lethal effects.

Key-words*: bioindicators, biomarkers, POPs, marine pollution.*

Bioindicatori e biomarkers

Gli ecosistemi acquatici rappresentano una sorta di serbatoio di raccolta per molti dei prodotti di sintesi immessi dalle attività umane nella biosfera, come i Persistent Organic Pollutants (POP), ed è proprio a carico delle sue componenti biologiche che si manifestano gli effetti più dannosi. In questo senso, nonostante la presa di coscienza della fragilità di questi ecosistemi, ancora non si conoscono in profondità tutte le implicazioni che li coinvolgono rispetto agli effetti diretti o indiretti delle attività umane. Mentre la letteratura scientifica sull'inquinamento dell'ambiente acquatico e sugli effetti tossici negli organismi è cresciuta esponenzialmente negli ultimi venti anni, rimane ancora insufficiente quella su manifestazioni e segni di stress o malattia in grado di provocare danni ben più gravi sulle popolazioni e comunità. Queste alterazioni spesso si confondono con quella moltitudine di effetti a lungo termine che possono rappresentare motivo di allarme per attività economiche quali la pesca, ma anche per la stessa salute dell'uomo. La moderna tossicologia ambientale, per affrontare queste problematiche, ha gradualmente affiancato alle indagini di "biomonitoring", basate sulla stima dei livelli di contaminanti negli organismi "bioindicatori", un nuovo approccio metodologico basato sulla valutazione delle risposte che un organismo, una popolazione o una comunità naturale può generare nei confronti di uno stress ambientale sia esso di natura chimica sia fisica. Ciascuna di queste risposte, comunemente definite come "biomarkers" rappresenta un segnale integrato del livello di contaminazione di una determinata area in quanto in grado di indicare il rischio tossicologico cui una determinata popolazione é sottoposta. La necessità di individuare e valutare l'impatto dell'inquinamento sulla qualità di un ecosistema, come prodotto dell'interazione tra

complesse miscele e processi chimico-fisici naturali, ha portato all'affermazione e allo sviluppo dei biomarkers come strumenti diagnostici e prognostici dotati di elevata specificità e sensibilità e applicabili a quasi tutti gli organismi.

I biomarkers vengono definiti come variazioni di parametri biochimici, cellulari, fisiologici o comportamentali, che possono essere misurati in un tessuto, in un fluido biologico o a livello dell'intero organismo (individuo o popolazione) e che forniscono l'evidenza di un'esposizione e/o un effetto ad uno o più composti inquinanti (e/o radiazioni). Essi possono, infatti, fornire informazioni sia sull'ampiezza della risposta dell'organismo in funzione dell'entità dell'insulto chimico, sia sulla connessione tra effetti biologici e livelli di contaminazione ambientale. Tuttavia non è il singolo biomarker, ma l'uso integrato di una serie di risposte biologiche (approccio multimarkers), sensibili a differenti classi di contaminanti, che può fornire un quadro generale in grado di rappresentare un primo campanello di allarme di situazioni di stress ambientale e allo stesso tempo di prevedere il verificarsi di effetti negativi ben più gravi a lungo termine.

Approccio multimarkers

L'approccio multimarkers si basa sull'applicazione biomarker generali quali strumenti di screening iniziale sulla condizione di salute degli organismi e biomarker specifici in grado di fornire risposte sia sull'esposizione a specifici composti chimici sia sugli effetti che tale esposizione è in grado di provocare nell'organismo stesso. Alcuni indici fisiologici quali l'indice epatosomatico (SLI) e quello gonadosomatico (GSI), rappresentano dei biomarkers generali applicati con successo, ad esempio, nelle specie ittiche, in quanto sensibili ad alterazioni legate a fonti di stress generico come i cambiamenti in parametri chimico-fisici quali temperatura, salinità, pH, o l'esposizione a sostanze di natura esogena fra cui molti contaminanti ambientali. Variazioni in questi parametri legate anche a fenomeni di rilascio di sostanze chimiche ad azione tossica e/o ormonale (endocrine disruption) sono in grado di determinare un aumento del peso dell'organo epatico in seguito ad attivazione dei sistemi farmaco-metabolizzanti come ad esempio quello delle Monossigenasi a Funzione Mista (MFO), e di provocare una diminuzione dello sviluppo delle gonadi, mediante un'interferenza nella sintesi e metabolizzazione degli ormoni steroidei.

Tra i biomarkers specifici un ruolo fondamentale è svolto dal suddetto sistema MFO, la cui attività si esplica nei confronti di un ampia gamma di substrati sia endogeni (steroidi, acidi biliari, acidi grassi e prostaglandine) che esogeni (farmaci, antibiotici e molti contaminanti ambientali). L'induzione di questo sistema si verifica in seguito all'esposizione dell'organismo a sostanze che per la loro lipofilia tendono a bioaccumulare nelle forme acquatiche come ad esempio i POP. Fra questi particolarmente importanti dal punto di vista tossicologico sono sicuramente molti composti organici clorurati chiamati "diossino-simili" per le caratteristiche strutturali che portano a risposte tossicologiche simili a quelle della 2,3,7,8-tetraclorodibenzodiossina (2,3,7,8-TCDD) (EU, 2000a; EU, 2000b; Van den berg et al., 1998). Attività enzimatiche quali 7 etossiresorufina-*O*-deetilasi (EROD) e benzo(a)pirene monossigenasi (BPMO), entrambi dipendenti dal complesso delle monossigenasi a funzione mista (citocromo P450), rappresentano pertanto sensibili e specifici marker di esposizione a composti organici quali idrocarburi policiclici aromatici (IPA), policlorobifenili (PCBs) ed in generale composti diossino-simili in grado di interagire con un recettore (Ah) citoplasmatico e di indurre la trascrizione di geni per specifici enzimi ad azione metabolizzante (Burke e Mayer, 1974; Kurelec *et al*., 1977; Boom, 1987).

Un altro marker specifico é rappresentato dall'enzima Acetilcolinesterasi (AChE), sensibilmente e specificamente inibito nella sua funzionalità di trasmissione dell'impulso nervoso dall'esposizione ad insetticidi organofosforici e carbammati, ampiamente utilizzati in agricoltura, e in grado di bloccare selettivamente il sito attivo di questi enzimi impedendo in modo irreversibile il legame del substrato endogeno (Ellmann *et al.*, 1961).

Da marker molecolari, l'approccio si avvale dell'utilizzo di marker cellulari e fisiologici tesi alla valutazione degli effetti su scala cellulare e strutturale a carico di sistemi altamente sensibili e regolanti processi fondamentali per la vita dell'organismo come quello endocrino. Negli ultimi anni si è, infatti, assistito ad una crescente produzione scientifica circa la capacità del sistema endocrino di costituire un bersaglio per molti contaminanti ambientali, noti per la loro tossicità e ubiquità nella biosfera. Ogni sostanza in grado di alterare il normale funzionamento delle ghiandole endocrine e la produzione di ormoni, può provocare una profonda alterazione nell'animale esposto che può ripercuotersi sia sul suo sviluppo sia su quello della progenie, in funzione del ruolo cruciale svolto dagli ormoni nel regolare molti processi di sviluppo dell'organismo stesso.

Alcuni inquinanti ambientali come alchilfenoli, PCB, ftalati e pesticidi, modulando direttamente il sistema endocrino e/o, agendo direttamente sui prodotti germinali, provocano effetti citotossici sul testicolo e sull'ovario, riducendo la qualità e la produzione dei gameti con gravi ripercussioni sia sul successo riproduttivo che sulla sopravvivenza ed integrità degli embrioni. In questo contesto, l'approccio multimarkers si avvale di tecniche di microscopia ottica ed elettronica per la valutazione a livello strutturale ed ultrastrutturale di eventuali anomalie a carico dei prodotti germinali quali conseguenza dell'esposizione o dell'accumulo di sostanze a modulazione ormonale (endocrine disruption) (Lemaire *et al.*, 1992, 1995, 1996; Stien *et al.*, 1997; Novi *et al*., 1998).

L'applicazione di questo approccio offre quindi il vantaggio di poter individuare quelle variazioni biochimiche, fisiologiche e morfologiche provocate dall'esposizione a fenomeni di inquinamento quali prodotto delle interazioni tossicocinetiche tra molecole chimiche e processi biologici che dal danno molecolare possono estendersi all'intero organismo, alla popolazione fino alle comunità.

Approccio integrato

Una maggiore validità scientifica e applicativa viene anche dall'utilizzo degli strumenti chimico-analitici in grado di fornire informazioni in termini qualitativi e quantitativi sulla natura e sull'entità del composto chimico accumulato all'interno dei tessuti dell'organismo in studio. I dati sul bioaccumulo possono, infatti, fornire chiare informazioni sulle fonti, sulla natura e sull'entità dell'insulto chimico; queste informazioni, se affiancate alla specificità e sensibilità delle risposte fornite dai biomarkers, possono permettere di stabilire possibili relazioni tra miscele complesse, presenti nell'ambiente naturale e processi biologici.

L'approccio integrato tra multimarkers e la chimica analitica, rappresentano, quindi, metodi complementari d'indagine ambientale, in quanto permettono di ottenere indicazioni non solamente sull'accumulo da parte organismo di sostanze esogene; valutando infatti la risposta biologica, essi permettono di interpretare la potenzialità di queste sostanze di interferire nei normali processi biologici. In aggiunta, un simile approccio integrato offre il vantaggio di poter essere applicato con successo in diversi ecosistemi sia essi naturali come ambienti lacustri, lagunari, fluviali e marini che artificiali come

ad esempio in acquacoltura. E' proprio in quest'ottica che esso, infatti, assume il ruolo non solo di strumento diagnostico applicabile alle problematiche ecotossicologiche legate alla ricerca applicata, ma anche a quelle prettamente commerciali in cui fattori quali produttività, qualità, sostenibilità e controllo del rischio trovano risposta.

Summary

The chemicals most hazardous to marine life share several characteristics: high toxicity, bioaccumulation, persistence and global transport. Persistent organics pollutants (POPs) are the most dangerous group of chemicals to which natural systems can be exposed. They tend to accumulate in the body fat of organisms and become more concentrated as they move up the food web causing harmful effects in both humans and wildlife. These ubiquitous chemicals can be transported through the atmosphere and water to locations far from the pollution source. Volatilised residues from the tropics disperse through the atmosphere, and are ultimately deposited in coastal sediments and open-ocean waters, suggesting the marine environment as the final sink. Oceans should therefore be considered in an ecotoxicological perspective since several POPs are extremely accumulative and can threaten resident and migratory marine organisms. Marine birds, and marine mammals, particularly whales, dolphins and seals, which are at the top of the food chain, are known to have extremely high rates of contaminant accumulation and are thus a matter of concern in terms of toxic effects. Pollution levels in the marine environment and the risks for communities are assessed by methods that involve the study of various species of organisms known as bioindicators. In the last decade, a methodology based on evaluation of biological responses in bioindicator organisms has been successfully applied for monitoring chemical pollution and effects in the marine environment. These responses are commonly called biomarkers as they approximate "molecular and/or cellular alterations that occur along the temporal and mechanistic pathways connecting environmental exposure to a toxicant and an eventual disease". Not only can single biomarkers be used, but a set of sensible biomarkers at different level of biological organisation from molecular to organism to population levels can fully assess the effects of pollution in marine ecosystems. Studies on the biochemical aspects of contamination are being carried out by integrating such biomarkers with chemical residue analyses. This kind of approach allows to establish a cause-link relationship at an early stage of pollution. Further developments will be valuable in providing early warning of possible future damage to the marine environment and in implementing conservation strategies before the onset of lethal and sub-lethal effects (Corsi *et al.*, in press).

Ringraziamenti

Ringrazio la mia collaboratrice, dott.ssa Ilaria Corsi, per l'aiuto prestato nella preparazione di questo manoscritto.

Bibliografia

BOOM M.M. (1987) - The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in indigenous and transplanted mussels (*Mytilus edulis*, L.) along Dutch coast. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry,* **31**: 251-261.

BURKE M.D., MAYER R.T. (1974) - Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal-*O*-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholantrene. *Drug Metabolism and Disposition,* **2**: 583-588.

CORSI I., MARIOTTINI M., SENSINI C., LANCINI L., FOCARDI S. - Fish as bioindicators of brackish ecosystem health: integrating biomarker responses and organochlorine and nonylphenol tissues content. *Oceanol Acta*, in press.

ELLMANN G.L., COURTNEY K.D., ANDREAS V. JR., FEATHERSTONE R.M. (1961) - A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochemistry Pharmacology,* **7**: 82-88.

EU (2000a) - Opinion of the Scientific Commitee on Animal Nutrition of the Dioxin contamination of feedingstuffs and their contribution to the contamination of food of animal origin. *Health and Consumer protection directorate general*, EU ed.: 119 pp.

EU (2000b) - Scientific Comitee on Food. Opinion of the SCF on the risk assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in food. *Health and Consumer protection directorate general*, EU ed.: 120 pp.

JACKWERTH E., WURFELS M. (1997) - Pressure digestion: apparatus, problems and applications. In: M. Stoeppler (ed), *Sampling and sample preparation*: 142-152.

KURELEC B., BRIVTIC S., RIJAVED M., MULLER W.E.G., ZAHN R.K. (1977) - Benzo(a)pyrene monooxygenase induction in marine fish. Molecular response to oil pollution. *Marine Biology,* **44**: 211-216.

LEMAIRE P., MATHIEU A., CARRIERE S., NARBONNE J.-F., LAFAURIE M., GIUDICELLI J., (1992) - Hepatic biotrasformation enzymes in aquaculture European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): kinetic parameters and induction with benzo(a)pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology,* **103B**: 847-853.

LEMAIRE-GONY S., LEMAIRE P., PULSFORD A.L. (1995) - Effects of cadmium and benzo(a)pyrene on the immune system, gill ATPase and EROD activity in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology,* **31**: 297-313.

LEMAIRE P., FORLIN L., LIVINGSTONE D.R. (1996) - Responses of hepatic biotrasformation and antioxidant enzymes to CYP1A-inducers (3-methylcholantrene, B-naphthoflavone) in sea bass (*Dicentrarchus labrax*), dab (*Limanda limanda*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology,* **36**: 141-160.

NOVI S., PRETTI C., COGNETTI A.M., LONGO V., MARCHETTI S., GERVASI P.G. (1998) - Biotrasformation enzymes and their induction by B-naphtoflavone in adult sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Toxicology,* **41**: 63-81.

PELLEGRINI D., BARGHIGIANI C. (1989) - Feeding behaviour and mercury content in two flat fish in the northern Tyrrhenian Sea. *Marine Pollution Bulletin,* **20**: 443-447.

STIEN X., RISSO C., GNASSIA-BARELLI M., ROMEO M., LAFAURIE M. (1997) - Effect of copper chloride in vitro and in vivo on the hepatic EROD activity in the fish *Dicentrarchus labrax*. *Environmental Toxicology and Chemistry,* **16**: 214-219.

VAN DEN BERG M., BIRNBAUM L., BOSVELD A.T.C., BRUNSTRÖM B., COOK P., FREELEY M., GIESY J.P., HANBERG A., HASEGAWA R., KENNEDY S.W., KUBIAK T., LARSEN J.C., VAN LEEUVEN F.X.R., LIEM A.K.D., NOLT C., PETERSON R.E., POELLINGER L., SAFE S., SCHRENK D., TILLIT D., TYSKIND M., YOUNES M., WÆRN F., ZACHAREWSKI T. (1998) - Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for human and wildlife. *Environmental Healt Perspectives,* **106**: 775-791.

WAKIMOTO T., TATSUKAWA R., OGAWA T. (1971) - Analytical methods of PCBs. *Journal of Environmental Pollution and Contaminants,* **7**: 517-522.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 305-318

G.P. Rossini, C. Malaguti, S. Ferrari, S. Pierotti, G. Ronzitti, F. Callegari

Dipartimento di Scienze Biomediche,
Università di Modena e Reggio Emilia, Via Campi, 287 - 41100 Modena, Italia.
rossini.gianpaolo@unimo.it

ALTERAZIONI DELLA FUNZIONALITÀ CELLULARE INDOTTE DA FICOTOSSINE LIPOFILE*

ALTERATIONS OF CELL FUNCTIONING INDUCED BY LIPOPHILIC PHYCOTOXINS

Abstract

In the last ten years, in Italy, the contamination of bivalve molluscs by toxins of algal origin has appeared in the Northern Adriatic Sea, where several lipophilic phycotoxins have been detected, including yessotoxins (YTX), okadaic acid and other dinophysistoxins (DTX) and, at a very limited extent, pectenotoxins (PTX). In the present paper we outline the investigations carried out by our group, aimed at the characterization of molecular bases of responses triggered by DTX, YTX and PTX in cellular systems in vitro, and discuss their significance in the understanding of the mechanisms of action of phycotoxins, as well as a better characterization of basic cellular functions.

Key-words: *biological poisons, diarrhetic shellfish poisoning, biomarkers, cell cultures.*

Introduzione

La comparsa di episodi di intossicazione umana dovuti all'ingestione di molluschi lamellibranchi o pesci contaminati da alghe produttrici di biotossine è un fenomeno ripetutamente documentato nel passato (Hallegraeff, 1995), che negli ultimi trent'anni ha mostrato una preoccupante evoluzione a livello mondiale. Difatti, si è assistito all'aumento nella frequenza di tali episodi e alla loro espansione geografica in aree del pianeta in cui precedentemente non si ha traccia della loro manifestazione (Hallegraeff, 1995).

Le molteplici tipologie di intossicazione sono state finora classificate primariamente in riferimento alla maggiore sintomatologia che si manifesta nella specie umana, come, ad esempio la sindrome di tipo paralitico, anamnesico, o diarroico (Viviani, 1992).

I primi casi documentati di intossicazione umana attribuibili a molluschi contaminati da tossine di origine algale in Italia risalgono al 1989, quando furono riportati episodi classificabili fra le intossicazioni di tipo diarroico da ingestione di molluschi (Diarrhetic Shellfish Poisoning, DSP) (Boni *et al*., 1992). La sintomatologia diarroica è sicuramente causata dall'acido okadaico (Yasumoto *et al*., 1978), che agisce come inibitore delle fosfoproteine fosfatasi (PPasi) ser/thr di tipo 1 e 2A (Bialojan e Takai, 1988), alterando i meccanismi di regolazione dello stato di fosforilazione di un gran numero di proteine *in vivo* (Cohen *et al*., 1990) e, conseguentemente, il normale funzionamento di molteplici popolazioni cellulari (Rossini, 2000).

La caratterizzazione chimica dei composti tossici presenti in molluschi contaminati ha mostrato che l'acido okadaico (AO) appartiene a un gruppo di polieteri acidi

---

* Questo contributo è dedicato alla memoria di Romano Viviani che, coniugando la conoscenza della biochimica con la profonda attenzione all'ambiente marino, ha aperto la strada delle indagini sugli aspetti biologici delle ficotossine in Italia.

(Yasumoto e Murata, 1993), definiti come dinofisistossine (DTX, Fig. 1), un termine che ha avuto origine da un genere di microalghe produttrici di tali tossine (Yasumoto *et al*., 1980).

Nel corso degli anni, la progressiva caratterizzazione chimica di tossine isolabili da molluschi nel corso di episodi DSP ha portato all'identificazione di altri gruppi di composti (Fig. 1): le yessotossine (YTX), le pectenotossine (PTX) e gli azaspiracidi (AZA). Da un punto di vista chimico queste ficotossine sono tutte dei polieteri, e si distinguono in quanto le yessotossine sono molecole solforate (Murata *et al*., 1987; Draisci *et al*., 2000), le pectenotossine sono composti ciclici (Yasumoto *et al*., 1985; Draisci *et al*., 2000), mentre gli azaspiracidi contengono un anello spiro contenente un atomo di azoto (Satake *et al*., 1998).

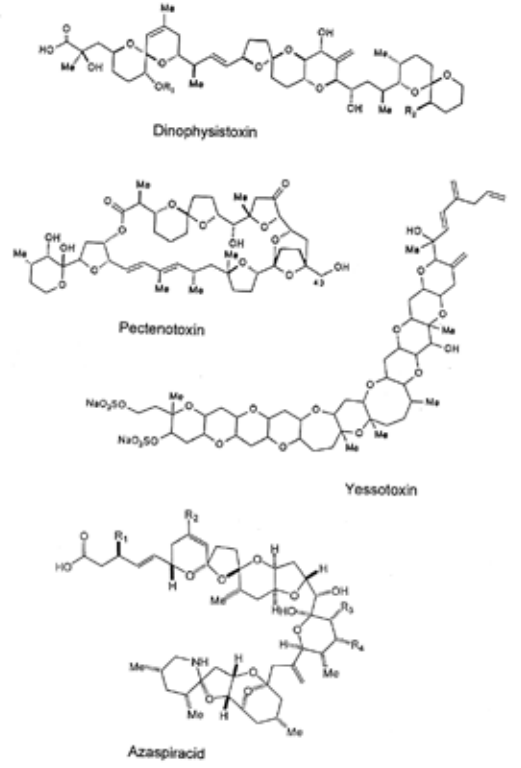


Fig. 1 - Strutture di riferimento delle dinofisistossine, yessotossine, pectenotossine e azaspiracidi. I diversi analoghi delle yessotossine si differenziano per la struttura della porzione contenente i gruppi solforici e i sostituenti nella catena terminale; le pectenotossine si distinguono per lo stato di ossidazione del C_{43} e la isomeria del C_7; mentre le dinofisistossine e gli azaspiracidi si distinguono dai gruppi sostituenti nelle posizioni R_1-R_4. L'acido okadaico, ad esempio, è una DTX contenente H sia in R_1 che in R_2.

Reference structures of dinophysistoxins, yessotoxins, pectenotoxins and azaspiracids. The different YTX analogs can be distinguished on the basis of the structure of the sulphate moieties and the side groups in the terminal portion of the molecule; pectenotoxins are classified according to the oxydation state of C_{43} and the isomery at C_7; whereas dinophysistoxins and azaspiracids are distinguished according to the substituents at R_1-R_4. In the okadaic acid molecule, for instance, R_1 and R_2 are represented by H atoms.

I composti DTX, YTX, PTX e AZA sono rimasti a lungo classificati come "tossine DSP", in quanto possono essere tutti estratti da materiale contaminato impiegando un unico solvente a bassa polarità, venendo così riunite in un unico insieme eterogeneo di ficotossine lipofile. Di recente, la completa distinzione di DTX, YTX, PTX e AZA è stata riconosciuta sul piano normativo (Decision 2002/225/EC, 2002), in base alle loro differenti proprietà chimiche, tossicità e meccanismi d'azione, e l'uso del termine "tossine DSP" per indicare i quattro gruppi di ficotossine è divenuto improprio. In tale contesto, è opportuno notare che il consenso sulla esistenza di diversi meccanismi molecolari d'azione per i quattro gruppi di tossine, si basa soltanto sulla constatazione che YTX, PTX e AZA non sono inibitori delle PPasi 1 e 2A (Ogino *et al*., 1997; Yasumoto, comunicazioni personali), piuttosto che sulla caratterizzazione dei bersagli molecolari primari (recettori) delle YTX, PTX e AZA, ovvero sulla conoscenza degli eventi conseguenti all'interazione fra la tossina e il proprio recettore.

Questa grande carenza di informazioni rappresenta un potente stimolo all'indagine sulle basi molecolari delle azioni delle diverse ficotossine in sistemi biologici.

In questo lavoro descriveremo l'insieme delle ricerche condotte dal nostro gruppo, mirate alla caratterizzazione delle basi molecolari delle risposte indotte da DTX, YTX e PTX in sistemi cellulari *in vitro*, e discuteremo il loro significato nella caratterizzazione dei meccanismi d'azione delle tossine e nella migliore comprensione di aspetti della funzionalità cellulare.

Materiali e metodi

I reagenti e le procedure impiegate negli esperimenti riportati in questo lavoro sono già state descritte dettagliatamente in altri articoli. In particolare, le linee cellulari e le loro condizioni di coltura sono descritte in Rossini *et al.*, 1999 e 2001. Le procedure di misurazione della proliferazione cellulare e di analisi elettroforetica del DNA sono riportate in Malaguti *et al.*, 2002. Le modalità di preparazione degli estratti citosolubili, le condizioni del loro frazionamento mediante elettroforesi in gel di poliacrilammide in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) e le procedure della loro analisi mediante immunoblotting sono descritte dettagliatamente in Rossini *et al.*, 2001. La procedura di misurazione della fosforilazione di proteine in gel di poliacrilammide è riportata in Rossini *et al*., 1997.

Risultati

L'attività del nostro gruppo di ricerca, mirata alla caratterizzazione delle basi molecolari delle azioni delle ficotossine lipofile, ha origine in esperimenti in cui l'AO fu impiegato per la sua proprietà di inibitore delle fosfoproteine fosfatasi. Quella sperimentazione fu condotta su cellule MCF-7, ottenute da un essudato pleurale di un tumore mammario umano (Soule *et al.*, 1973), e il protocollo prevedeva un trattamento di 24 hr con AO 50 nM. Quando ispezionammo le colture da impiegare nelle nostre analisi, trovammo profonde alterazioni dovute al trattamento (Fig. 2, pannelli A e B), che aveva causato il distacco di gran parte delle cellule dal proprio substrato di coltura, e le cellule rimaste aderenti avevano perso la loro regolare morfologia poligonale. Questa osservazione fu quindi riesaminata impiegando cellule differenti, rappresentate dalla linea HeLa S_3, ottenute da un carcinoma della cervice uterina di origine umana (Puck *et al.*, 1956), che hanno perso gran parte delle loro caratteristiche differenziative e hanno una funzionalità relativamente indipendente dalle condizioni di coltura rispetto

alle cellule MCF-7. Anche in questo caso, tuttavia, il trattamento per 24 hr con AO 50 nM determinò notevoli alterazioni, caratterizzate da perdita di adesione e alterata morfologia (Fig. 2, pannelli C e D).

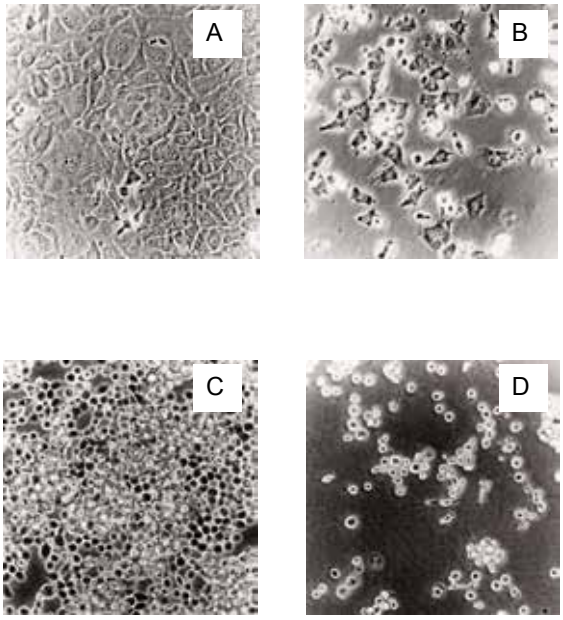


Fig. 2 - Effetto di acido okadaico sulla morfologia di cellule MCF-7 e HeLa S_3. Le immagini sono state ottenute con microscopia a contrasto di fase (ingrandimento 200×) dopo trattamento delle cellule per 24 hr a 37 °C con veicolo (pannelli A e C) o con acido okadaico 50 nM (pannelli B e D). Pannelli A e B: cellule MCF-7; pannelli C e D: cellule HeLa S_3.

Effect of okadaic acid on morphology of MCF-7 and HeLa S_3 cells in culture. Phase contrast microscopy (magnification 200×) of cells after a 24 hr treatment at 37 °C with vehicle (A, C) or 50 nM okadaic acid (B, D). Panels A and B: MCF-7 cells; panels C and D: HeLa S_3 cells.

Le caratteristiche delle alterazioni indotte da AO in quei sistemi cellulari indicavano un'azione tossica, e questo risultato fu sorprendente, in quanto agli inizi degli anni '90 l'AO era considerato essenzialmente un promotore dei tumori (Fujiki e Suganuma, 1993), e non un agente citotossico. Questo risultato inatteso ci spinse a meglio caratterizzare le risposte indotte dall'AO in sistemi cellulari e, in effetti, furono il punto di partenza delle nostre indagini sulle basi molecolari delle azioni delle ficotossine lipofile in sistemi cellulari.

I primi esperimenti furono indirizzati direttamente all'analisi degli effetti di AO sulla proliferazione cellulare. Nella Fig. 3 è mostrato l'andamento della proliferazione delle cellule 3T3, che sono fibroblasti di topo immortalizzati (Todaro e Green, 1963), in presenza e assenza di AO 50 nM. I risultati ottenuti mediante la misurazione del DNA contenuto nelle colture mostrano l'andamento logaritmico della crescita nelle colture di controllo e l'inibizione della proliferazione in seguito al trattamento con AO. In effetti, i risultati ottenuti con questa linea cellulare (Fig. 3) sono i più blandi fra

quelli da noi osservati finora, in quanto l'AO, a una concentrazione di 50 nM, induce manifestamente la morte di cellule MCF-7 (Rossini *et al*., 1997), HeLa S_3 (Rossini *et al.*, 2001) e fibroblasti umani normali (Rossini, 2000).

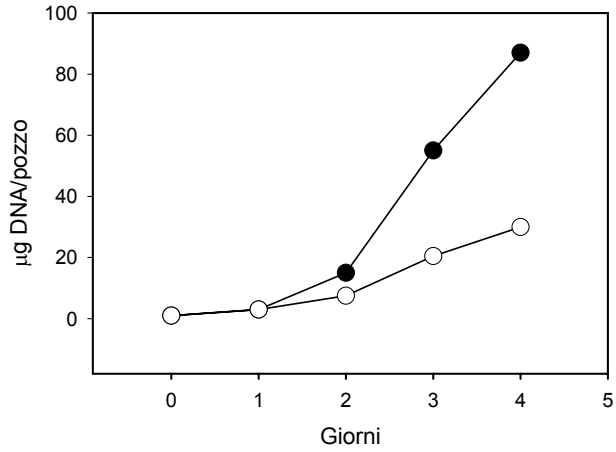


Fig. 3 - Effetto dell'acido okadaico sulla proliferazione di fibroblasti 3T3 in coltura. Le cellule sono state mantenute in piastre multipozzetto a 37°C, sono state trattate con il veicolo (cerchi neri) o acido okadaico 50 nM (cerchi chiari), e sono state utilizzate per la misurazione del contenuto di DNA dei pozzetti ai tempi indicati.

Effect of okadaic acid on proliferation of 3T3 fibroblasts in culture. Cells in multiwell plates were incubated with vehicle (solid circles) or 50 nM okadaic acid (void circles) at 37°C, and the DNA content of wells was determined at daily intervals.

L'analisi elettroforetica del DNA ottenuto da cellule MCF-7 e HeLa S_3 conferma questa conclusione, rivelando che il trattamento con AO causa la distruzione del DNA genomico (Fig. 4).

La misurazione dei livelli di DNA in colture trattate con ficotossine lipofile è un approccio razionale alla caratterizzazione delle risposte che tali composti inducono in sistemi cellulari *in vitro*. Impiegando cellule HeLa S_3 come modello sperimentale, abbiamo confrontato l'effetto dei tre maggiori gruppi di ficotossine lipofile, i cui componenti di riferimento, in questo caso, sono stati l'AO per le DTX, la yessotossina per le YTX e la PTX-6 per le PTX. I dati riportati in figura 5 rivelano che le tre classi di composti determinano risposte differenti in cellule HeLa S_3, in quanto l'effetto citotossico è misurabile dopo trattamento con YTX e AO, mentre appare trascurabile a concentrazoni relativamente elevate (micromolari) di PTX-6. Se confrontiamo i dati ottenuti con AO e YTX, l'effetto appare di maggiore intensità in seguito a trattamento con AO, ma la sua manifestazione richiede concentrazioni di tossina cinquanta volte superiori a quelle efficaci nel caso di YTX (Fig. 5). In effetti, se il confronto viene fatto a parità di concentrazioni (1 nM), la risposta citotossica non è rilevabile in cellule trattate con AO (dati non mostrati).

Per meglio caratterizzare le basi molecolari delle risposte indotte da DTX, YTX e PTX in diverse popolazioni cellulari, le indagini sono state sviluppate con l'analisi di specifici sistemi molecolari, e la scelta dei componenti di rilievo è stata impostata sulla

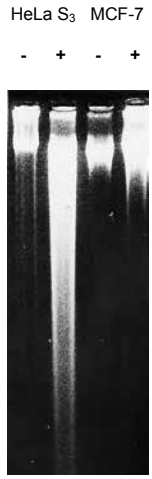


Fig. 4 - Effetto del trattamento di cellule MCF-7 e HeLa S_3 con acido okadaico sul DNA genomico. Le cellule sono state incubate per 24 hr a 37 °C con veicolo (-) o acido okadaico 50 nM (+), come indicato, e sono state quindi impiegate per l'estrazione del DNA genomico e la sua analisi mediante elettroforesi in gel di agarosio.

Effect of MCF-7 and HeLa S_3 cell treatment with okadaic acid on genomic DNA. Cells were incubated with vehicle (-) or 50 nM okadaic acid (+) for 24 hr at 37 °C, as indicated, before being processed to obtain genomic DNA, which was fractionated by agarose gel electrophoresis.

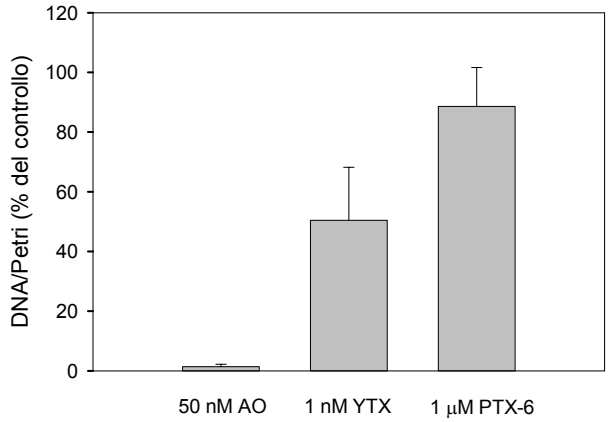


Fig. 5 - Effetto dell'acido okadaico, yessotossina e PTX-6 sulla proliferazione di cellule HeLa S_3. Le cellule sono state trattate con acido okadaico 50 nM, yessotossina 1 nM, PTX-6 1 μM o veicolo per 48 hr a 37 °C, e sono state quindi utilizzate per la misurazione del contenuto di DNA. I valori sono espressi come percentuale del contenuto di DNA delle colture di controllo e rappresentano medie con SD.

Effect of okadaic acid, yessotoxin and PTX-6 on proliferation of HeLa S_3 cells. Cells were incubated with 50 nM okadaic acid, 1 nM yessotoxin, 1 μM PTX-6, or vehicle for 48 hr at 37 °C, and the DNA content of wells was determined. Values have been expressed as percentages of the DNA content of control cultures, and represent means ± SD.

tipologia dei fenomeni osservati, cioè la inibizione della proliferazione, la induzione della morte cellulare, l'alterazione dell'adesione cellulare e di altre caratteristiche differenziative.

La risposta di morte cellulare osservata nei nostri sistemi sperimentali ci ha condotto a estese analisi sui componenti responsabili di questo efffetto e i meccanismi mediante i quali si realizza. L'attenzione è stata così puntata primariamente su proteine coinvolte nell'apoptosi, che rappresenta il meccanismo di morte originariamente rilevato in cellule trattate con AO (Bøe *et al.*, 1991).

La Fig. 6 compendia alcuni risultati ottenuti con cellule HeLa S_3, in cui abbiamo caratterizzato parte del pool proteico mediante SDS-PAGE e immunoblotting. Nelle nostre condizioni sperimentali, le caratteristiche qualitative e quantitative del pool cellulare della poli(ADP-riboso)-polimerasi (PARP) non erano alterate apprezzabilmente da PTX-6. Il trattamento con AO o YTX, invece, determinava un decremento di PARP, accompagnato dal rilevamento del suo frammento proteolitico di 85 kDa, che costituisce una tipica risposta apoptotica (Earnshaw *et al.*, 1999).

Vi è accordo nel ritenere che la frammentazione di PARP sia catalizzata da enzimi proteolitici della famiglia delle caspasi e, in particolare, dalle caspasi-3 e 7, nel corso di una cascata di eventi caratteristici della risposta apoptotica, che procede con l'attivazione di una caspasi iniziatrice del processo (isoforme 8 o 9), la quale attiva una o più caspasi effettrici, quali appunto le isoforme 3 e 7 (Thornberry e Lazebnik, 1998; Earnshaw *et al.*, 1999). I dati riportati nella figura 6 mostrano che la PTX-6 non è in grado di modificare i livelli delle forme proenzimatiche delle caspasi-2, -3, -7 e -9, e di portare al rilevamento di loro subunità attive, in accordo con l'osservazione che la PTX-6 non induce risposte citotossiche in questo sistema sperimentale alle concentrazioni impiegate. Il trattamento di cellule HeLa S_3 con YTX, invece, appare innescare la cascata proteolitica tipica degli agenti citotossici (Thornberry e Lazebnik, 1998), in quanto induce la comparsa delle subunità attive delle caspasi-9, -3 e -7 (Fig. 6). Il pool cellulare delle procaspasi-2, -3, -7 e -9 non appare grandemente alterato dal trattamento con YTX, un'osservazione che indica l'esistenza di una risposta apoptotica blanda in seguito al trattamento di cellule HeLa S_3 con questa tossina. L'analisi dei dati ottenuti dopo trattamento con AO, per converso, mostrano che questa tossina porta a una riduzione dei livelli cellulari di procaspasi-2, -3, -7 e -9 di oltre l'80%, accompagnata dall'accumulo delle subunità attive delle caspasi-3 e -7 (Fig. 6), dando un quadro di forte risposta apoptotica. In tale contesto, il mancato rilevamento di subunità attive della caspasi-9, che rappresenta l'isoforma iniziatrice, indica che le cellule HeLa S_3, dopo 24 hr di trattamento con AO, sono in fase di avanzata esecuzione della risposta apoptotica, accompagnata dalla estesa distruzione di molteplici proteine cellulari, fra le quali PARP (Fig. 6), e del DNA genomico (Fig. 4).

Un confronto dei dati ottenuti in cellule HeLa S_3 dopo trattamento con YTX e AO indicano la maggiore potenza della YTX, che agisce a concentrazioni 50-100 volte inferiori a quelle efficaci di AO, il quale induce però una risposta più rapida e intensa. Inoltre, il confronto fra il quadro delle caspasi attivate da YTX e AO indica che le due tossine inducono diversi meccanismi di attivazione delle caspasi effettrici, che si riflettono in elevati livelli delle subunità attive per entrambe le isoforme soltanto quando le cellule sono trattate con AO (Fig. 6). La misura dell'attività enzimatica di queste isoforme ha confermato che l'attività caspasica 3/7 in cellule trattate con AO è più intensa di quella rilevabile dopo trattamento con YTX (Malaguti *et al*., 2002).

Ulteriori informazioni sui meccanismi delle risposte apoptotiche indotte da AO sono state ottenute con l'analisi comparativa fra cellule HeLa S_3 e MCF-7, in rife-

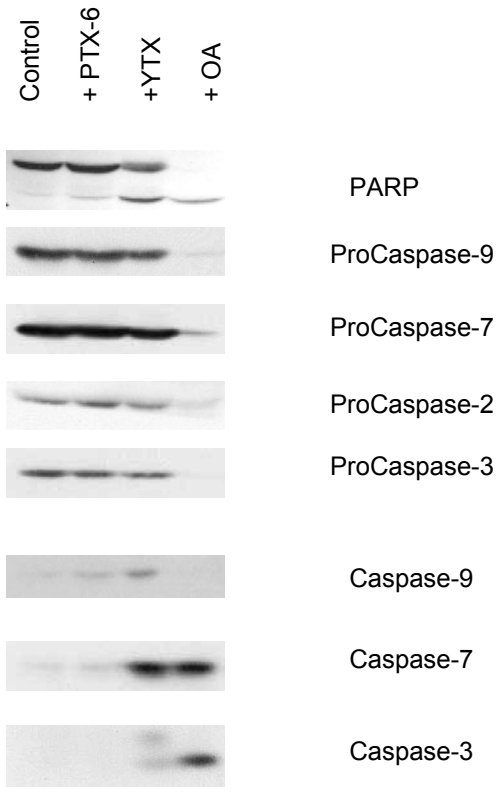


Fig. 6 - Effetto del trattamento di cellule HeLa S_3 con acido okadaico, yessotossina e PTX-6 su marker molecolari della funzionalità cellulare. Le cellule sono state trattate con acido okadaico 50 nM, yessotossina 1 nM, PTX-6 1 μM e veicolo, per 24 (acido okadaico) o 48 hr (veicolo, yessotossina e PTX-6) a 37 °C, e sono state quindi impiegate per la preparazione di estratti citosolubili, che sono stati frazionati mediante SDS-PAGE e analizzati con immunoblotting usando anticorpi contro gli antigeni indicati. Gli immunocomplessi sono stati quindi rilevati mediante chemioluminescenza e visualizzati mediante autoradiografia.

Effect of HeLa S_3 cell treatment with okadaic acid, yessotoxin and PTX-6 on molecular markers of cell functions. Cells have been treated with 50 nM okadaic acid, 1 nM yessotoxin, 1 μM PTX-6, or vehicle, for either 24 (okadaic acid) or 48 hr (vehicle, yessotoxin, PTX-6) at 37 °C, and were then used to prepare cytosoluble extracts, which were fractionated by SDS-PAGE and analyzed by immunoblotting using the antibodies raised against the indicated antigens. Immunocomplexes were then detected by enhanced chemioluminescence and visualized by autoradiography.

rimento all'attacco proteolitico delle maggiori isoforme delle caspasi (Rossini *et al.*, 2001). Come si rileva dai dati della Fig. 7, la frammentazione di PARP, impiegata come parametro molecolare della risposta apoptotica indotta da AO, appare di minore entità in cellule MCF-7, rispetto a quanto osservato con cellule HeLa S_3. Le differenze fra i due sistemi sembrano attribuibili a differenze sia qualitative che quantitative nei meccanismi di attivazione delle caspasi nelle nostre condizioni sperimentali. Una prima differenza quantitativa è rilevabile a carico delle caspasi iniziatrici, in quanto i livelli di caspasi-9 in cellule HeLa S_3 appaiono più elevati di quelli delle cellule MCF-7, a parità

di proteina analizzata (Fig. 7). Non è invece rilevabile una differenza nei meccanismi di regolazione dei livelli e attività delle caspasi iniziatrici, in quanto la isoforma 9, ma non la 8, appare coinvolta nella risposta indotta da AO in entrambe le linee cellulari. Un'altra rilevante differenza fra i due sistemi sperimentali risiede nell'espressione della caspasi-3, che è obliterata in cellule MCF-7 a causa di una delezione a livello genico (Jänicke *et al.*, 1998a). Benchè l'assenza di questa isoforma possa spiegare la minore intensità della risposta apoptotica indotta da AO in cellule MCF-7 (Jänicke *et al.*, 1998a, 1998b), una seconda caratteristica di questa linea cellulare appare rilevante. Il trattamento con AO, infatti, induce l'attacco proteolitico e l'attivazione della caspasi-7 nelle cellule HeLa S_3 (Figg. 6 e 7), ma non nelle cellule MCF-7 (Fig. 7). Delle isoforme analizzate nelle cellule MCF-7, d'altro canto, soltanto la caspasi-2 appare significativamente coinvolta nella risposta indotta da AO (Rossini *et al.*, 2001).

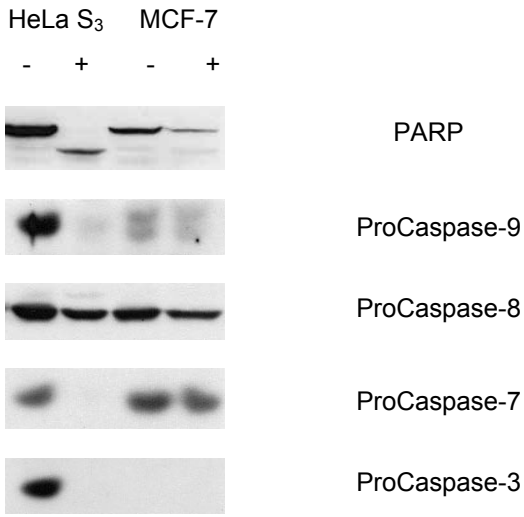


Fig. 7 - Effetto del trattamento di cellule MCF-7 e HeLa S_3 con acido okadaico su componenti coinvolti nel processo apoptotico. Le cellule sono state trattate con acido okadaico 50 nM (+) o veicolo (-) per 24 hr a 37°C, e sono state quindi impiegate per la preparazione di estratti citosolubili, che sono stati frazionati mediante SDS-PAGE e analizzati con immunoblotting usando anticorpi contro gli antigeni indicati. Gli immunocomplessi sono stati quindi rilevati mediante chemioluminescenza e visualizzati mediante autoradiografia.

Effect of MCF-7 and HeLa S_3 cell treatment with okadaic acid on molecular components involved in apoptosis. Cells have been treated with 50 nM okadaic acid (+) or vehicle (-) for 24 hr at 37°C, and were then used to prepare cytosoluble extracts, which were fractionated by SDS-PAGE and analyzed by immunoblotting using the antibodies raised against the indicated antigens. Immunocomplexes were then detected by enhanced chemioluminescence and visualized by autoradiography.

Se poniamo l'insieme dei dati ottenuti sui meccanismi molecolari dell'apoptosi indotta da YTX e AO in diverse linee cellulari in prospettiva, si deve concludere che le risposte indotte da differenti ficotossine non sono soltanto tossina-specifiche, come ci si può ragionevolmente attendere, ma sono anche cellula-specifiche (Rossini *et al.*, 2001; Malaguti *et al*., 2002).

L'esistenza di meccanismi molecolari cellula-specifici non appare peraltro circoscrivibile alle risposte apoptotiche, ma è rilevabile anche a carico di componenti molecolari che, al contrario, sono coinvolti nella regolazione della proliferazione cellulare. In questo specifico caso, si tratta di ERK2, una delle maggiori isoforme delle proteine cinasi attivate da mitogeni, la cui attivazione ha un ruolo nella stimolazione della proliferazione cellulare (Chang e Karin, 2001).

Il nostro interesse per lo studio degli effetti di AO su ERK2 fu originariamente suscitato dalla inclusione di questa tossina fra i promotori dei tumori (Fujiki e Suganuma, 1993) e dalla proposta di equivalenza operativa fra promotori quando favoriscono l'accumulo cellulare di fosfoproteine, benchè questo sia raggiunto con meccanismi molecolari differenti (Fujiki *et al.*, 1991). Più precisamente, si trattava di esaminare se i promotori dei tumori che stimolano talune isoforme della proteina cinasi C, come gli esteri del forbolo (Marks e Gschwendt, 1995), e l'AO, che inibisce le PPasi 1 e 2A (Bialojan e Takai, 1988), possano dare risposte molecolari simili nel medesimo sistema sperimentale. I risultati del nostro studio non solo hanno mostrato che gli effetti del TPA e di AO sullo stato di fosforilazione di ERK 2 (Rossini *et al.*, 1999) ed ERK1 (Rossini *et al.*, dati non pubblicati) possono essere differenti, ma hanno dimostrato che l'AO induce risposte cellula-specifiche. In particolare, si potè osservare che la capacità dell'AO di indurre l'accumulo di forme fosforilate di ERK2 (ed ERK1) è in relazione allo stato differenziativo e al potenziale proliferativo delle cellule in cui agisce la tossina. Così, la risposta indotta dall'AO è massima in cellule normali e viene progressivamente attenuata, fino a scomparire, quando le cellule perdono caratteristiche differenziative e/o acquistano un potenziale proliferativo sempre maggiore e svincolato da segnali di regolazione (Rossini *et al.*, 1999).

Non tutte le risposte all'AO, comunque, appaiono cellula-specifiche. Infatti, l'attivazione della proteina cinasi indotta da AO, definita OSK, originariamente osservata in cellule MCF-7 (Rossini *et al.*, 1997), è un evento rilevato in tutte le cellule che abbiamo finora analizzato (Fig. 8). Il significato funzionale di OSK nella risposta di morte cellulare indotta da inibitori di PPasi, tuttavia, non è ancora noto.

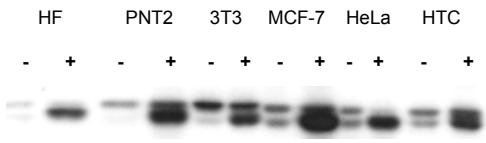


Fig. 8 - Effetto del trattamento di cellule in coltura con acido okadaico sull'attività di OSK. Le cellule impiegate in questo esperimento comprendevano le seguenti linee: fibroblasti umani normali (HF), cellule di epitelio di prostata umana normale immortalizzate con SV40 (PNT2), fibroblasti di topo immortalizzati (3T3), cellule MCF-7, cellule HeLa S_3, cellule di epatoma di ratto (HTC). Le cellule sono state trattate con acido okadaico 50 nM (+) o veicolo (-) per 24 hr a 37°C, e sono state quindi impiegate per la preparazione di estratti citosolubili, che sono stati frazionati mediante SDS-PAGE. In questo esperimento, il gel di separazione conteneva proteina basica mielinica come substrato, ed è stato usato per la misurazione dell'attività proteina cinasica *in situ*.

Effect of okadaic acid treatment of cultured cells on OSK activity. The cells employed in this experiment included: normal human fibroblasts (HF), epithelial cells from normal human prostate immortalized by SV40 (PNT2), immortalized mouse fibroblasts (3T3), MCF-7 cells, HeLa S_3 cells, rat hepatoma cells (HTC). Cells were treated with 50 nM okadaic acid (+) or vehicle (-) for 24 hr at 37 °C, and were then used to prepare cytosoluble extracts, which were fractionated by SDS-PAGE. In this experiment, the separating gel contained mielin basic protein, and has been used to perform an in gel protein kinase assay.

Conclusioni

La caratterizzazione del bersaglio molecolare primario delle ficotossine e del treno di eventi che segue l'interazione di ciascuna tossina con un sistema biologico, hanno un rilievo sia per la definizione dei meccanismi d'azione, sia per la comprensione delle basi molecolari delle risposte osservabili in sistemi complessi.

Le ficotossine lipofile a maggior impatto sanitario ed economico rilevabili nelle acque costiere italiane sono rappresentate primariamente da YTX, AO (e altre DTX) e, in misura decisamente minore, da PTX. La nostra attenzione è stata quindi focalizzata su questi tre gruppi di tossine. La strategia sperimentale che abbiamo impiegato per affrontare la caratterizzazione delle basi molecolari delle azioni di tali ficotossine in sistemi biologici ha compreso l'impiego di molteplici linee cellulari in coltura, di origine epiteliale o mesenchimale, normali e trasformate, in cui sono mantenuti diversi livelli di caratteristiche differenziative. Queste popolazioni cellulari hanno quindi rappresentato i sistemi sperimentali in cui valutare gli effetti delle diverse ficotossine sulla funzionalità generale e su specifici processi molecolari.

Tale approccio sperimentale ha consentito la caratterizzazione preliminare dei meccanismi di morte indotti da AO e YTX in cellule sensibili. Inaspettatamente, non abbiamo invece ottenuto la dimostrazione di una attività citotossica della PTX-6, neppure a concentrazioni che causano la morte quando vengono iniettate IP nel topo (Yasumoto *et al*., 1989). In uno studio recente, tuttavia, condotto in collaborazione con il gruppo di Luis Botana, si è osservato che la PTX-6 causa la depolimerizzazione dei filamenti di actina in cellule di neuroblastoma, senza determinarne la morte (Leira *et al*., 2002). I risultati ottenuti *in vitro* indicano quindi che le tossine possono alterare la funzionalità cellulare anche senza causare una aperta risposta citotossica, confermando il concetto che la letalità di una tossina può derivare semplicemente dalla compromissione funzionale di specifici organi. Una ovvia implicazione è che gli studi di citotossicità sono soltanto un aspetto dell'analisi degli effetti delle ficotossine *in vitro*, e una migliore comprensione delle azioni inducibili nei sistemi biologici richiede una più dettagliata caratterizzazione delle alterazioni indotte a carico di specifiche funzioni cellulari. A questo proposito, ad esempio, la inibizione della sintesi di E-caderina causata da AO in cellule epiteliali (Malaguti e Rossini, 2002) può costituire un danno molecolare che contribuisce alla distruzione dell'epitelio intestinale (Terao *et al.*, 1986), dove l'adesione cellula-cellula è appunto mediata da E-caderina (Tepass *et al.*, 2000).

L'analisi della risposta di morte cellulare indotta da AO e YTX (Rossini *et al.*, 2001; Malaguti *et al*., 2002), d'altra parte, non ha semplicemente consentito di caratterizzare il fenomeno in termini di apoptosi, ma ha anche fornito informazioni utili a sondare aspetti non completamente chiariti dei meccanismi molecolari dell'apoptosi in quanto tali. Il modello attualmente accettato per l'attivazione delle caspasi effettrici (isoforme 3 e 7), infatti, prevede che una caspasi iniziatrice (isoforma 8 o 9) catalizzi l'attacco proteolitico indistintamente a carico delle isoforme 3 e 7, determinando l'attivazione di entrambe (Thornberry e Lazebnik, 1998; Earnshaw *et al.*, 1999). Il confronto fra le tipologie di risposta indotte da differenti tossine (Fig. 6), invece, indica l'esistenza di meccanismi molecolari di regolazione fine dell'attivazione dell'una e dell'altra forma. Simili considerazioni possono essere fatte in riferimento ai risultati ottenuti in cellule HeLa S_3 e MCF-7 (Fig. 7), dove la frammentazione di PARP ha origine in un unico evento, l'inibizione delle PPasi 1 e 2A da parte di AO, ma viene realizzata con meccanismi molecolari distinti (Rossini *et al.*, 2001).

Una semplice interpretazione di questi risultati è che le diverse risposte molecolari dipendono dal particolare assetto delle proteine espresse in differenti popolazioni

cellulari, cioè delle caratteristiche del loro fenotipo, e l'implicazione più generale è che i meccanismi molecolari dell'apoptosi indotta da agenti citotossici comprendono elementi cellula-specifici.

Questa conclusione può essere estesa anche ai meccanismi di regolazione della proliferazione cellulare, sulla base dei dati ottenuti su ERK2, e la conseguente osservazione che la sensibilità all'AO è massima in cellule normali, parziale in linee immortalizzate e debole o assente in quelle tumorali (Rossini *et al.*, 1999). Anche in questo caso, i risultati ottenuti con l'AO vanno al di là delle implicazioni sulle modalità dell'azione della tossina in diversi sistemi cellulari, fornendo indicazioni su un fenomeno più ampio, e consentono di concludere che i meccanismi di regolazione delle proteine cinasi attivate da mitogeni nelle cellule tumorali sono alterati o coinvolgono componenti differenti da quelli operanti nelle cellule normali.

Ponendo l'insieme delle indagini da noi condotte in prospettiva, risulta chiaro che lo studio delle basi molecolari delle risposte indotte da ficotossine in sistemi cellulari non solo consente di comprendere i meccanismi d'azione di queste sostanze naturali, ma anche di meglio caratterizzare meccanismi molecolari che sottendono rilevanti processi biologici (proliferazione, apoptosi, adesione cellulare).

Le ficotossine lipofile, in tale contesto, non sono più soltanto agenti citotossici, ma diventano importanti strumenti di indagine biochimica e biologica, di cui si intravede il potenziale farmacologico.

Summary

In the last ten years, in Italy, the contamination of bivalve molluscs by toxins of algal origin has appeared in the Northern Adriatic Sea, where several lipophilic phycotoxins have been detected, including yessotoxins (YTX), okadaic acid and other dinophysistoxins (DTX) and, at a very limited extent, pectenotoxins (PTX). In the present paper we have outlined the investigations carried out by our group, aimed at the characterization of molecular bases of responses triggered by okadaic acid, yessotoxin and pectenotoxin-6 in cellular systems *in vitro*. These have included both normal and transformed cell lines, of epithelial and mesenchymal origin, which have been treated with the different toxins and analyzed with regard to molecular parameters of general, as well as specialized cellular functions. Analyses of cell proliferation showed that okadaic acid and YTX are cytotoxic components, whereas PTX-6 does not apparently affect cell multiplication in our experimental systems. When the effects of tested phycotoxins on cellular functions have been considered, the data we obtained included the analysis of components involved in cell proliferation (mitogen activated protein kinase isoforms ERK1 and ERK2), and cell death (poly(ADP-ribose)-polymerase, caspases, okadaic acid stimulated protein kinase). The results we obtained showed that molecular responses triggered by lipophilic phycotoxins are both toxin- and cell-specific. The results we obtained could also provide insight onto selected features of molecular mechanisms of apoptosis and the regulation of cell proliferation. We conclude that lipophilic phycotoxins do not simply represent noxious chemical contaminants, but are important tools for biochemical and biological investigations, displaying a great pharmacological potential.

Ringraziamenti

Ringraziamo Patrizia Ciminiello e Takeshi Yasumoto per averci fornito, rispettivamente, la yessotossina e la pectenotossina-6 impiegate nella sperimentazione citata in questo lavoro.

Bibliografia

BIALOJAN C., TAKAI A. (1988) - Inhibitory effect of a marine-sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. *Biochem. J.*, **256**: 283-290.

BONI L., MANCINI L., MILANDRI A., POLETTI R., POMPEI M., VIVIANI R. (1992) - First cases of diarrhoetic shellfish poisoning in the Northern Adriatic Sea. In: Vollenweider R.A., Marchetti

R., Viviani R. (eds), *Marine Coastal Eutrophication International Conference*, Elsevier Sci. Pubbl., Amsterdam: 419-426.

BØE R., GJERTSEN B.T., VINTERMYR O.K., HOUGE G., LANOTTE M., DØSKELAND S.O. (1991) - The protein phosphatase inhibitor okadaic acid induces morphological changes typical of apoptosis in mammalian cells. *Exp. Cell Res.,* **195**: 237-246.

CHANG L., KARIN M. (2001) - Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*, **410**: 37-40.

COHEN P., HOLMES C.F.B., TSUKITANI Y. (1990) - Okadaic acid: a new probe for the study of cellular regulation. *TIBS*, **15**: 98-102.

DECISION 2002/225/EC (2002) - *Official Journal*, **L75**: 62-64.

DRAISCI R., LUCENTINI L., MASCIONI A. (2000) - Pectenotoxins and yessotoxins: chemistry, toxicology, pharmacology, and analysis. In: Botana L.M. (ed), *Seafood Toxicity: Mode of Action, Pharmacology and Physiology of Phycotoxins*, Marcell Dekker, New York: 289-324.

EARNSHAW W.C., MARTINS L.M., KAUFMANN S.H. (1999) - Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu. Rev. Biochem.*, **68**: 383-424.

FUJIKI H., SUGANUMA M. (1993) - Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds. *Adv. Cancer Res.*, **61**: 143-194.

FUJIKI H., SUGANUMA M., YOSHIZAWA S., NISHIWAKI S., WINYAR B., SUGIMURA T. (1991) - Mechanisms of action of okadaic acid class tumor promoters on mouse skin. *Environ. Health Persp.*, **93**: 211-214.

HALLEGRAEFF G.M. (1995) - Harmful algal blooms: A global overview. In: Hallegraeff G.M., Anderson D.M., Cembella A.D. (eds), *Manual on Harmful Marine Microalgae*, IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO: 1-22.

JÄNICKE R.U., SPRENGART M.L., WATI M.R., PORTER A.G. (1998a) - Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **273**: 9357-9360.

JÄNICKE R.U., NG P., SPRENGART M.L., PORTER A.G. (1998b) - Caspase-3 is required for α-fodrin cleavage but dispensable for cleavage of other death substrates in apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **273**: 15540-15545.

LEIRA F., CABADO A.G., VIEYTES M.R., ROMAN Y., ALFONSO A., BOTANA L.M., YASUMOTO T., MALAGUTI C., ROSSINI G.P. (2002) - The marine toxin pectenotoxin-6 induces in vitro depolymerization of F-actin in neuroblastoma cells. *Biochem. Pharmacol*., **63**: 1979-1988.

MALAGUTI C., ROSSINI G.P. (2002) - Recovery of cellular E-cadherin precedes replenishment of estrogen receptor and estrogen-dependet proliferation of breast cancer cells rescued from a death stimulus. *J. Cell. Physiol.,* **192**: 171-181.

MALAGUTI C., CIMINIELLO P., FATTORUSSO E., ROSSINI G.P. (2002) - Caspase activation and death induced by yessotoxin in HeLa cells. *Toxicology in Vitro*, **16**: 357-363.

MARKS F., GSCHWENDT M. (1995) - Protein kinase C and skin tumor promotion. *Mutat. Res.*, **333**: 161-172.

MURATA T., KUMAGAI M., LEE J.S., YASUMOTO T. (1987) - Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Lett.*, **28**: 5369-5872.

OGINO H., KUMAGAI M., YASUMOTO T. (1997) - Toxicologic evaluation of yessotoxin. *Nat. Toxins*, **5**: 255-259.

PUCK T.T., MARCUS P.I., CIECIURA S.J. (1956) - Growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a "feeder" layer. *J. Exp. Med.*, **103**: 273-283.

ROSSINI G.P. (2000) - Neoplastic activity of DSP toxins: the effects of okadaic acid and related compounds on cell proliferation: tumor promotion or induction of apoptosis? In: Botana L.M. (ed), *Seafood Toxicity: Mode of Action, Pharmacology and Physiology of Phycotoxins*, Marcell Dekker, New York: 257-288.

ROSSINI G.P., PINNA C., VIVIANI R. (1997) - Inhibitors of phosphoprotein phosphatases 1 and 2A cause activation of a 53 kDa protein kinase accompanying the apoptotic response of breast cancer cells. *FEBS Lett*., **410**: 347-350.

ROSSINI G.P., PINNA C., MALAGUTI C. (1999) - Different sensitivities of p42 mitogen activated protein kinase to phorbol ester and okadaic acid tumor promoters among cell types. *Biochem. Pharmacol*., **58**: 279-284.

ROSSINI G.P., SGARBI N., MALAGUTI C. (2001) - The toxic responses induced by okadaic acid involve processing of multiple caspase isoforms. *Toxicon*, **39**: 763-770.

SATAKE M., OFUJI K., NAOKI H., JAMES K.J., FUREY A., MCMAHON T., SILK J., YASUMOTO T. (1998) - Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels. *J. Am. Chem. Soc.*, **120**: 9967-9968.

SOULE H.D., VAZQUEZ J., LONG A., ALBERT S., BRENNAN M. (1973) - A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.,* **51**: 1409-1416.

TEPASS U., TRUONG K., GODT D., IKURA M., PEIFER M. (2000) - Cadherins in embryonic and neural morphogenesis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **1**: 91-100.

TERAO K., ITO E., YANAGI T., YASUMOTO T. (1986) - Histopathological studies on experimental marine-toxine poisoning I. Ultrastructural changes in the small intestine and liver of suckling mice induced by dinophysistoxin-1 and pectenotoxin-1. *Toxicon*, **24**: 1141-1151.

THORNBERRY N.A., LAZEBNIK Y. (1998) - Caspases: enemies within. *Science*, **281**: 1312-1316.

TODARO G.J., GREEN H. (1963) - Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J. Cell Biol.*, **17**: 299-313.

VIVIANI R. (1992) - Eutrophication, marine biotoxins, human health. In: Vollenweider R.A., Marchetti R., Viviani R. (eds), *Marine Coastal Eutrophication International Conference*, Elsevier Sci. Pubbl., Amsterdam: 631-662.

YASUMOTO T., MURATA M. (1993) - Marine toxins. *Chem. Rev.*, **93**: 1897-1909.

YASUMOTO T., OSHIMA Y., YAMAGUCHI M. (1978) - Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku District. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **44**: 1249-1255.

YASUMOTO T., OSHIMA Y., SUGAWARA W., FUKUYO Y., OGURI H., IGARASHI T., FUJITA N. (1980) - Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of diarrhetic shellfish poisoning. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **46**: 1405-1411.

YASUMOTO T., MURATA M., OSHIMA Y., SANO M., MATSUMOTO G.K., CLARDY J. (1985) - Diarrhetic shellfish toxins. *Tetrahedron*, **41**: 1019-1025.

YASUMOTO T., MURATA M., LEE J.S., TORIGOE K. (1989) – Polyether toxins produced by dinoflaggelates. In: Natori S., Hashimoto K, Ueno Y. (eds), *Mycotoxins and phycotoxins "88"*, Elsevier, New York: 375-382.

Le indagini sviluppate dal nostro gruppo sono finanziate da contributi del MIUR (COFIN 2000, n. MM5171533), del MIPAF (Quinto Piano Triennale, n. 5 C 9) e dell'Associazione Angela Serra per la Ricerca sul Cancro (Modena).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 319-326

O. Blasutto, C. De Vittor, E. Sdrigotti, F. De Prà, S. Fonda Umani

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 - 34010 Trieste, Italia.

UTILIZZO DI PARAMETRI BIOCHIMICI PER LO STUDIO DELLA COMUNITA' MICROFITOBENTONICA NEL GOLFO DI TRIESTE (ADRIATICO SETTENTRIONALE)

THE USE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS TO STUDY MICROPHYTOBENTHIC COMMUNITY IN THE GULF OF TRIESTE (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Abstract

The chlorophyll a *content and two operational fractions of carbohydrate (colloidal and EDTA extractable) were related with the biomass and primary production of microphytobenthic community in a subtidal area of the Gulf of Trieste to investigate while these biochemical parameters could give useful information about physiological state of the microalgal cells.*

Key-words*: carbohydrates, chlorophyll* a*, primary production, microphytobenthos, Northern Adriatic Sea.*

Introduzione

In ambienti costieri poco profondi caratterizzati da una zona eufotica che si estende, per gran parte dell'anno fino al fondo, il microfitobenthos, in qualità di produttore primario, svolge un ruolo chiave nel ciclo del carbonio. Nel Golfo di Trieste la comunità microfitobentonica appare costituita prevalentemente da diatomee (Sdrigotti *et al*., 2002; Welker *et al*., 2002) capaci di produrre copiose quantità di sostanze polimeriche extracellulari (EPS), principalmente costituite da polisaccaridi, che rappresentano una rilevante sorgente di carbonio organico per la comunità eterotrofa (Hoagland *et al*., 1993; Van Duyl *et al.,* 1999). Recenti studi hanno dimostrato che un'elevata percentuale (dal 42 al 73%) del carbonio fotoassimilato dal popolamento microfitobentonico viene rilasciata sottoforma di carbonio colloidale (Goto *et al*., 1999) e che la maggior parte della produzione di EPS è attribuibile alle diatomee epipeliche dotate di rafe. Queste microalghe, infatti, sono in grado di produrre una matrice esopolisaccaridica che aderisce fortemente sia al substrato sia alle pareti cellulari e consente loro il movimento (Staats *et al*., 2000). La secrezione delle diverse frazioni di polisaccaridi da parte delle diatomee è strettamente collegata all'attività fotosintetica, alla fisiologia ed allo stato metabolico delle cellule microalgali (Staats *et al*., 2000). I diversi carboidrati, presenti nel sedimento, possono essere suddivisi operazionalmente in più frazioni mediante l'utilizzo di specifici protocolli di estrazione. La frazione colloidale, solubile in acqua, corrisponde alla porzione di carboidrati extracellulari più comunemente correlabile alla concentrazione di clorofilla *a,* parametro utilizzato per la stima della biomassa microfitobentonica. Mediante l'estrazione in EDTA, invece, si possono ottenere i carboidrati extracellulari più strettamente associati alla parete cellulare o alle particelle di sedimento (de Brouwer e Stal, 2001). Il contenuto totale in carboidrati idrolizzabili, infine, può essere misurato attraverso l'idrolisi totale di campioni di sedimento (Taylor *et al*., 1999).

Numerose indagini sono state condotte sulla struttura fine, i componenti biochimici e le funzioni delle EPS prodotte da diatomee in coltura e nei "mudflat" intertidali

(Hoagland *et al*., 1993; de Winder *et al*., 1999; de Brouwer e Stal, 2001). Simili informazioni sulla componente microfitobentonica di zone sublitorali quali ad esempio il Golfo di Trieste, invece, sono piuttosto scarse.

Scopo del presente lavoro, pertanto, è verificare se parametri biochimici quali la concentrazione di clorofilla *a* e diverse frazioni di carboidrati extracellulari possano fornire utili indicazioni per valutare lo sviluppo e lo stato fisiologico della comunità microfitobentonica in simili ambienti.

Materiali e metodi

L'area oggetto di studio è situata nella zona centrale del Golfo di Trieste ad una profondità di circa 20 m ed è caratterizzata dalla presenza di sedimenti di tipo prevalentemente pelitico. Da febbraio 2000 a gennaio 2002 sono stati prelevati, mensilmente, campioni di sedimento mediante un carotiere automatico (HAPS FRAME-SUPPORTED BOTTOM CORER) dotato di carote in policarbonato con 13.3 cm di diametro interno (area campionata 139 cm^2). Contemporaneamente sono state rilevate l'irradianza e la temperatura al fondo mediante una sonda P.A.R. (PNF-300, Biospherical Instruments Inc.). La concentrazione della clorofilla *a* (Chl *a*) è stata determinata sul primo cm di sedimento congelato entro una settimana dal campionamento. L'analisi è stata effettuata su estratto acetonico secondo il metodo spettrofluorimetrico di Lorenzen e Jeffrey (1980). L'analisi delle diverse frazioni di carboidrati è stata invece eseguita su sedimento liofilizzato. I carboidrati colloidali sono stati estratti con acqua MQ a 30 °C per un'ora mentre, per ottenere i carboidrati strettamente associati alla parete cellulare, il sedimento è stato trattato con Na_2EDTA per 16 ore a temperatura ambiente (de Brouwer e Stal, 2001). I carboidrati sono stati determinati spettrofotometricamente secondo il metodo di Dubois *et al*. (1956) adattato al sedimento (Gerchacov e Hatcher, 1972). Le concentrazioni di carboidrati, ottenute in glucosio-equivalenti, sono state trasformate in carbonio utilizzando il fattore di conversione 0.45 g C g^{-1} (Fichez, 1991). L'abbondanza del microfitobenthos (MPB) è stata determinata nel primo centimetro di sedimento trattato con una soluzione di formaldeide al 4% in acqua di mare prefiltrata (0.2 μm). Previa agitazione manuale, aliquote di 20 μl sono state prelevate e poste in camere di sedimentazione. Tutte le cellule vitali al momento della fissazione, sono state contate utilizzando un microscopio ottico invertito Leitz (320X). L'abbondanza microfitobentonica stimata come cell cm^{-3} è stata convertita in cellule per grammo di peso secco di sedimento (cell g^{-1}) usando la regressione lineare del peso umido su peso secco di sedimento essiccato a 60 °C per 24 ore (Welker & Nichetto 1996). Dal calcolo dei biovolumi di MPB (Hillebrand *et al*., 1999) è stata inoltre stimata, mediante l'applicazione delle equazioni proposte da Edler (1979) la biomassa in termini di contenuto in carbonio (μg C g^{-1}). La produzione primaria lorda (PPL) è stata ottenuta attraverso il calcolo delle variazioni della concentrazione di ossigeno alla luce e al buio, misurate mediante un elettrodo di Clark (HANSATECH DW1), su un'aliquota di sedimento superficiale (1 mm) risospeso in acqua di mare filtrata (0.2 μm), alle condizioni di irradianza e di temperatura rilevate *in situ* (Wolfstein *et al*., 2000). La PPL è stata espressa in mg C m^{-2} h^{-1} dopo conversione in unità equivalenti di carbonio utilizzando per la produzione alla luce un PQ = 1.3 e al buio un RQ = 1 (Strickland e Parsons, 1972).

Risultati

L'irradianza misurata al fondo risulta caratterizzata, in entrambi gli anni studiati, da valori elevati in tarda primavera-inizio estate (65 e 53 μE m^{-2} s^{-1} rispettivamente)

e valori piuttosto bassi ma non fotolimitanti, durante il resto dell'anno. La temperatura varia tra massimi di circa 20 °C, evidenziati nei mesi tardo estivi-autunnali, e minimi invernali di 6-7 °C. La concentrazione della Chl *a* presenta un valore medio di 2.4 ± 1.1 μg g^{-1} che rimane quasi inalterato nel corso dei due anni di studio con un minimo assoluto in maggio 2001 (1.0 μg g^{-1}) ed un massimo assoluto in marzo 2001 (5.6 μg g^{-1}) (Fig. 1). I valori di Chl *a* più elevati caratterizzano, nel primo anno, la primavera e l'autunno mentre, nel secondo, la primavera e l'estate; basse concentrazioni corrispondono al periodo invernale. La comunità microfitobentonica è caratterizzata

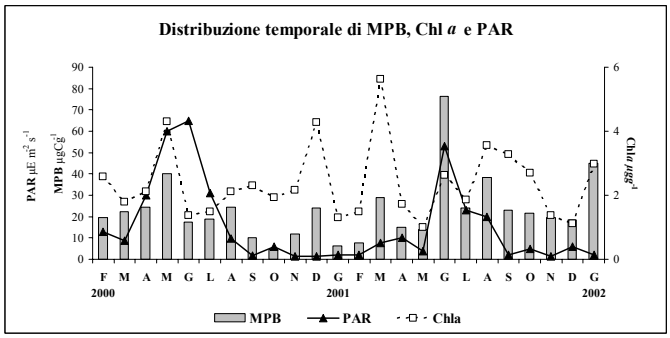


Fig. 1 - Andamento temporale della biomassa MPB e della Chl *a*, nello strato superficiale del sedimento, in relazione alle condizioni di irradianza PAR.
Temporal pattern of MPB and Chlorophyll a *(Chl* a*), at the sediment surface, in relation to the PAR-levels.*

prevalentemente da diatomee pennate epipeliche appartenenti ai generi: *Navicula, Nitzschia, Pleurosigma e Diploneis*, alle quali si affiancano alcune specie planctoniche, la cui presenza è legata alla sedimentazione in massa delle fioriture in colonna d'acqua, in particolare *Pseudo-nitzschia* cfr. *pungens* (marzo 2001) e *Asterionellopsis glacialis* (gennaio 2002). La densità microfitobentonica varia da 1.8×10^4 a 3.9×10^5 cell g^{-1} in novembre 2000 e gennaio 2002 rispettivamente, risultando più elevata nel secondo anno rispetto al primo (test ANOVA; $p<0.1$) con valori medi annuali di 0.6 ± 0.3 × 10^5 e di 1.2 ± 0.3 × 10^5 cell g^{-1}. La biomassa microalgale varia tra 4.4±2.3 μg C g^{-1} (ottobre 2000) e 76.4±29.2 μg C g^{-1} (giugno 2001) e risulta superiore nel secondo anno di studio rispetto al primo attestandosi attorno a valori medi di 18.7±9.8 e 27.7±18.5 μg C g^{-1} rispettivamente. Il trattamento statistico dei dati non ha comunque evidenziato differenze statisticamente significative tra i due anni esaminati (Test ANOVA; $p<0.05$). Il massimo sviluppo della biomassa microfitobentonica, in termini di carbonio, è stato raggiunto nel mese di maggio durante il primo anno di studio ed in giugno nel secondo. Massimi relativi vengono osservati durante l'estate e l'inverno mentre i minimi caratterizzano soprattutto il periodo tardo autunnale (Fig. 1). Il rapporto C-MPB/Chl *a* presenta un valore medio pari a 8.92±3.40 nel 2000-2001 e raggiunge i 10.7±4.09 nell'anno successivo. I dati di produzione ottenuti evidenziano che l'attività fotosintetica è massima in estate e minima nei mesi invernali presentando un valore medio annuo pressoché costante nei due anni studiati (da 26±9 mg C m^{-2} h^{-1} a 24±11 mg C m^{-2} h^{-1}) (Fig. 2). La concentrazione dei carboidrati solubili in acqua varia tra 12.6±0.7 μg C g^{-1} (agosto 2001) e 97.9±4.8 μg C g^{-1} (settembre 2000). Mediamente

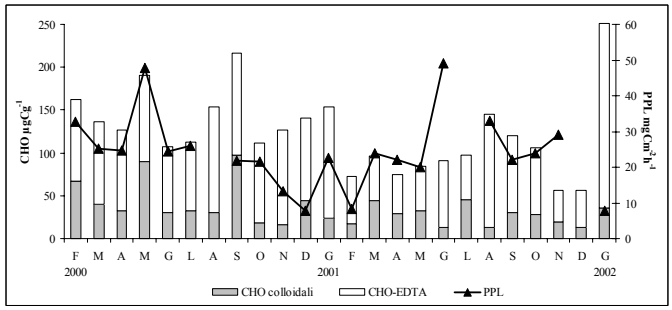


Fig. 2 - Distribuzione temporale della produzione primaria e delle due frazioni di carboidrati nello strato superficiale di sedimento.

Temporal pattern of primary production and two operational fractions of carbohydrates at the sediment surface.

le concentrazioni risultano più elevate nel periodo compreso tra febbraio e settembre 2000. I carboidrati estratti in EDTA variano tra 37.4±5.5 µg C g^{-1}, minimo assoluto evidenziato in novembre 2001, e 215.6±5.7 µg C g^{-1}, massimo assoluto relativo al gennaio 2002. Analogamente alla frazione solubile anche la frazione estratta in EDTA è minore nel secondo anno rispetto al primo presentando, inoltre, nel 2001-2 una maggiore variabilità con un valore medio di 77.5±50.8 µg C g^{-1} rispetto ai 101.3±16.4 µg C g^{-1} evidenziati nell'anno precedente (Fig. 2). Le differenze tra le medie annuali tuttavia non sono statisticamente significative (Test ANOVA; $p<0.05$). Il rapporto tra carboidrati solubili in acqua e carboidrati estraibili in EDTA, il cui valore medio e la variabilità rimangono inalterati (0.43±0.25-6) nei due periodi analizzati, è compreso tra 0.10 e 0.89. Il valore medio del rapporto tra la frazione dei carboidrati solubili in acqua e la biomassa microalgale risulta pari a 2.2±1.1, nel primo anno analizzato, mentre è nettamente inferiore (1.39±0.6) nell'anno successivo. L'irradianza misurata al fondo appare significativamente correlata sia con la biomassa microalgale ($r=0.74$, $p<0.001$, $n=22$) sia con il rapporto tra C-MPB e Chl *a* ($r=0.68$, $p<0.01$, $n=22$). Il carbonio microfitobentonico presenta, inoltre, una correlazione altamente significativa con la Chl *a* ($r=0.67$, $p<0.01$, $n=22$). L'attività fotosintetica è significativamente correlata sia con il carbonio microfitobentonico ($r=0.83$, $p<0.01$, $n=19$) sia con la Chl *a* ($r=0.63$, $p<0.01$, $n=17$). Si ottiene, infine, una regressione lineare altamente significativa anche tra la produzione ed il rapporto carboidrati solubili in acqua su carboidrati estraibili in EDTA ($r=0.62$, $p<0.01$, $n=18$).

Conclusioni

Nel presente studio la determinazione della concentrazione della clorofilla *a* è stata utilizzata come indicatore di biomassa microfitobentonica che, nel Golfo di Trieste, appare costituita quasi esclusivamente da diatomee epipeliche responsabili del rilascio di copiose quantità di sostanze polimeriche extracellulari. Parallelamente, due frazioni operazionali di carboidrati (estraibili in acqua ed in EDTA) sono state analizzate per tentare di valutare lo stato fisiologico delle cellule microalgali. I parametri biochimici studiati sono stati messi in relazione a misure di biomassa e di produzione microfitobentonica, al fine di verificarne la validità quali indicatori dell'abbondanza e del metabolismo del popolamento microalgale.

La concentrazione di clorofilla *a* è risultata positivamente correlata con il carbonio microfitobentonico rispecchiandone l'andamento temporale. Tuttavia, in concomitanza con la sedimentazione di periodiche fioriture fitoplanctoniche o con momenti di scarsa irradianza al fondo i due parametri non sono tra loro perfettamente sovrapponibili. Tale discrepanza è da un lato, dovuta ad una sovrastima della concentrazione di clorofilla *a* in quanto la tecnica analitica utilizzata non permette di distinguere la clorofilla microfitobentonica dalla planctonica o addirittura da quella presente nei "fecal pellets"; dall'altro potrebbe essere attribuibile all'esistenza di meccanismi fisiologici di adattamento delle cellule alle basse intensità luminose attraverso un incremento del contenuto cellulare di clorofilla (De Jonge, 1980; Ninčević *et al*., 2002). La correlazione altamente significativa tra la biomassa microalgale e i livelli di PAR, infatti, rivela, come già riscontrato in una precedente indagine condotta nella stessa area di studio (Sdrigotti *et al.,* 2002), che il principale fattore limitante lo sviluppo della comunità microfitobentonica è la disponibilità di irradianza al fondo. La variabilità stagionale del rapporto C-MPB/Chl *a*, basso nei mesi autunnali invernali ed alto nei mesi primaverili estivi, suggerisce, inoltre, che la diversa disponibilità di luce induce una variazione della concentrazione di clorofilla all'interno delle cellule microfitobentoniche. La correlazione tra Chl *a* e biomassa, infatti, appare maggiormente significativa aggiungendo ai conteggi microfitobentonici le specie microfitoplanctoniche e non considerando i dati relativi al mese di ottobre 2000 e giugno 2001. In ottobre, in presenza di una limitata intensità luminosa, ad un'alta concentrazione di clorofilla corrisponde un basso valore di biomassa come confermato dal rapporto C-MPB/Chl *a* che presenta in questo mese il minimo assoluto mai registrato nei due anni. Tale rapporto raggiunge invece il valore massimo in giugno, quando l'intensità luminosa non è limitante e ad un elevato valore di carbonio microalgale, corrisponde una bassa concentrazione di Chl *a*. Tutto ciò conferma l'esistenza di meccanismi di adattamento fisiologico alle diverse intensità luminose che si riflettono in variazioni del contenuto intracellulare dei pigmenti fotosintetici. Altri meccanismi di adattamento alle basse intensità luminose, quali ad esempio l'eterotrofia facoltativa (Sundbäck e Granéli, 1988) potrebbero giustificare gli incrementi di biomassa anche in condizioni di fotolimitazione e quindi gli aumentati valori del rapporto C-MPB/Chl *a* registrati nei mesi invernali del 2001. La dominanza, infatti, della specie *Paralia marina* probabilmente in grado di utilizzare substrati di origine organica, come già evidenziato in alcune specie affini (Hellebust e Lewin 1977), confermerebbe tale ipotesi. I valori del rapporto C-MPB/Chl *a* ottenuti nel presente studio, sono paragonabili ai minimi evidenziati da de Jonge e Colijn (1994) i quali riportano che tale rapporto, nelle diatomee bentoniche di ambienti intertidali, è compreso tra 10 e 150 e che di conseguenza la conversione della clorofilla in carbonio organico microfitobentonico può comportare errori del 34-50%. La minore variabilità da noi evidenziata (9.81 ± 3.79) ci consente di affermare che, per la zona centrale del Golfo di Trieste, la suddetta operazione comporta errori inferiori. Di conseguenza la clorofilla *a* rappresenta, in questo ambiente, un parametro biochimico abbastanza soddisfacente per la stima dell'andamento temporale della biomassa microalgale. Se a tale parametro vengono affiancate ulteriori analisi biochimiche, quali la determinazione dei carboidrati, possono essere ottenute anche alcune informazioni sullo stato fisiologico della comunità microfitobentonica. La relazione altamente significativa tra produzione primaria ed il rapporto dei carboidrati colloidali su quelli estraibili in EDTA suggerisce, ad esempio, l'origine fotosintetica dei carboidrati colloidali. La maggior variabilità quantitativa di questi ultimi rivela che tale frazione potrebbe essere prevalentemente costituita da carbonio fotoassimilato di fresca produzione, più facilmente

utilizzabile dal popolamento eterotrofo. Contrariamente i carboidrati extracellulari, più strettamente associati alla parete cellulare ed alle particelle di sedimento (estraibili in EDTA), risultano più stabili nel tempo. E' probabile che tale frazione derivi dalla conversione dei carboidrati colloidali attraverso interazioni con particelle di sedimento e ioni metallici (de Brouwer e Stal, 2001) e risulti, quindi, maggiormente biorefrattaria. Tali risultati vanno comunque interpretati con la massima cautela in quanto le diverse frazioni di carboidrati sono state determinate su campioni di sedimento liofilizzato. E' noto, infatti, che il processo di liofilizzazione può danneggiare le cellule microalgali e di conseguenza alterare la significatività dei dati ottenuti (de Brower e Stal, 2001). Infine, confrontando le medie annuali dei diversi parametri analizzati nei due anni di studio appare interessante notare come sebbene la concentrazione di clorofilla *a*, la produzione primaria ed il rapporto carboidrati colloidali/EDTA rimangano pressoché costanti, la biomassa microfitobentonica aumenti nel secondo anno in concomitanza alla diminuzione delle due frazioni di carboidrati. L'unica anomalia è rappresentata dal massimo assoluto dei carboidrati estraibili in EDTA, (doppio rispetto ai massimi relativi individuati), evidenziato nel gennaio 2002 e attribuibile in parte ad una massiccia e precoce sedimentazione di una fioritura fitoplanctonica ma forse anche all'influenza antropica. In quel periodo, infatti, era stato scaricato, in prossimità dell'area studiata, del materiale proveniente dal dragaggio di un'area estuariale, come evidenziato dall'esame macroscopico e microscopico delle carote campionate. La netta diminuzione del rapporto carboidrati colloidali su biomassa, dovuta ad un calo dei carboidrati e ad un aumento del carbonio microfitobentonico (Fig. 3) ci consente di supporre che durante il secondo anno di studio, l'attività fotosintetica microfitobentonica sia stata indirizzata maggiormente verso la produzione di biomassa. In conclusione il presente studio, sebbene condotto in un intervallo di tempo relativamente breve (due anni), suggerisce che la determinazione della clorofilla *a* può fornire utili indicazioni circa l'andamento temporale della biomassa microalgale anche in ambienti sublitorali quali il Golfo di Trieste. Affiancando a tale parametro l'analisi delle due frazioni di carboidrati, si possono acquisire alcune informazioni anche sullo stato fisiologico della comunità microfitobentonica.

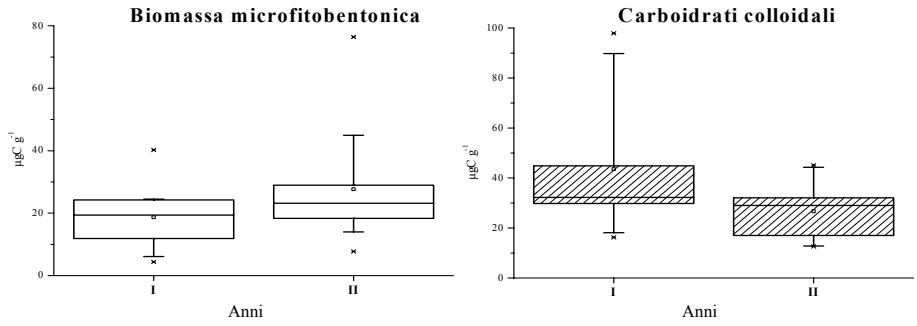


Fig. 3 - Variazione della biomassa microfitobentonica e dei carboidrati colloidali nei due anni oggetto di studio.
Variations of microphytobenthic biomass and colloidal carbohydrates during two years of study.

Summary

The content of chlorophyll *a* and two operational fractions of carbohydrate (water extractable and EDTA extractable) were studied in relation to microphytobenthic community in surficial sediments of the Gulf of Trieste. Sediment samples were monthly collected during two years of study by an automatic corer. Microphytobenthic biomass and gross primary production were also measured. The aim was to investigate while chlorophyll *a* and the two carbohydrate fractions were useful indicators of microphytobenthic biomass and physiological state of microalgal cells. The results evidenced that chlorophyll *a* and microphytobenthic biomass, predominantly composed of epipelic diatoms, were significantly related. Moreover the clear relation between chlorophyll *a* and total carbohydrates confirmed the prevalence of diatoms capable to release copious amounts of extracellular polymeric substances (EPS) that mainly consisted of carbohydrates. The linear regression of gross primary production against to microphytobenthic carbon content and to chlorophyll *a* was also highly significant. Variations of water extractable (colloidal) carbohydrates appeared very similar to those ones observed for primary production suggesting their photosynthetic origin. Concluding, all data collected confirm that, likewise for what concern pelagic environment, the chlorophyll *a* content represents a useful tool to estimate phototrophic benthic biomass. The operational separation of two carbohydrate fractions gives also information about distribution and production of EPS by diatoms in relation to their physiological state and finally, the relationship between colloidal/EDTA extractable carbohydrates ratio and primary production allows us to obtain some indications about metabolic state of the microalgal cells.

Bibliografia

DE BROUWER J.F.C., STAL L.J. (2001) – Short-term dynamics in microphytobenthos distribution and associated extracellular carbohydrates in surface sediments of an intertidal mudflat. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **218**: 33-44.

DE JONGE V.N. (1980) – Fluctuations in the organic Carbon to Chlorophyll *a* ratios for estuarine benthic diatoms populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **2**: 345-353.

DE JONGE V.N., COLIJN F. (1994) – Dynamics of microphytobenthos biomass in the Ems estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **104**: 185-196.

DE WINDER B., STAATS N., STAL L.J., PATERSON D.M. (1999) – Carbohydrate secretion by phototrophic communities in tidal sediments. *J. of Sea Res*., **42**: 131-146.

DUBOIS M., GILLES K.A. HAMILTON J.K., REBERS P.A., SMITH F. (1956) – Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem*., **28**: 350-356.

EDLER L. (1979) – *Recommendations for marine biological studies in the Baltic sea.* National Swedish Env. Prot. Bd.: 38 pp.

FICHEZ R. (1991) – Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments; implication for the biogeochemical cycle of organic carbon. *Oceanol. Acta*, **14**: 369-377.

GERCHACOV S.M., HATCHER P.G. (1972) – Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limnol. Oceanogr*., **17**: 938-943.

GOTO N., KAWAMURA T., MITAMURA O., TERAI H. (1999) – Importance of extracellular organic carbon in the total primary production by tidal-flat diatoms in comparison to phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **190**: 289-295.

HILLEBRAND H., DURSELEN C.D., KIRSCHTEL D., POLLINGHER U., ZOHARY T. (1999) – Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol*., **35**: 403-424.

HOAGLAND K.D., ROSOWSKI J.R., GRETZ M.R., ROEMER S.C. (1993) – Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry and physiology. *J. Phycol*., **29**: 537-566.

LORENZEN C.J., JEFFREY S. (1980) – Determination of chlorophyll in seawater. *UNESCO Technical Papers in Marine Science*, **35**: 1-20.

NINČEVIĆ Z., MARASOVIĆ I., KUŠPILIĆ G. (2002) – Deep chlorophyll-a maximum at one station in the middle Adriatic Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U.K*., **82**: 9-19.

SDRIGOTTI E., DE VITTOR C., BETTOSO N., ALEFFI F., DEL NEGRO P., FONDA S. (2002) - Microalgal production influences nutritional value of Northern Adriatic Sea coastal sediment. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 199-207.

STAATS N., STAL L.J., DE WINDER B., MUR L.R. (2000) – Oxygenic photosynthesis as driving process in exopolysaccharide production of benthic diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **193**: 261-269.

STAATS N., DE DECKERE E.M.G.T., DE WINDER B., STAL L.J. (2001) – Spatial patterns of benthic diatoms, carbohydrates and mud on a tidal flat in the Ems-Dollar estuary. *Hydrobiol*., **448**: 107-115.

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R. (1972) – *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Bd., Canada, Ottawa: 167 pp.

SUNDBÄCK K., GRANÉLI W. (1988) – Influence of microphytobenthos on the nutrient flux between sediment and water: a laboratory study. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **43**: 63-69.

TAYLOR I.S., PATERSON D.M., MEHLERT A. (1999) – The quantitative variability and monosaccharide composition of sediment carbohydrates associated with intertidal diatom assemblages. *Biogeochemistry* ,**45**: 303-327.

VAN DUYL F.C., DE WINDER B., KOP A.J., WOLLENZIEN U. (1999) – Tidal coupling between carbohydrate concentrations and bacterial activities in diatom-inhabited intertidal mudflats. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **191**: 19-32.

WELKER C., NICHETTO P. (1996) – The influences of mucous aggregates on the microphytobenthic community in the Northern Adriatic Sea. PSZN *Mar. Ecol*., **17**: 473-479.

WELKER C., SDRIGOTTI E., COVELLI S., FAGANELI J. (2002) – Microphytobenthos in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea): relationship with labile sedimentary organic matter and nutrients. *Estuar. Coast. Shelf Sci*., **55**: 259-273.

WOLFSTEIN K., COLIJN F., DOERFFER R. (2000) - Seasonal dynamics of microphytobenthos biomass and photosynthetic characteristics in the Northern German Wadden Sea, obtained by the photosynthetic light dispensation system. *Estuar. Coast. Shelf Sci*., **51**: 651-662.

Il presente studio è stato effettuato nell'ambito del Progetto INTERREG 2 Italia – Slovenia, finanziato dalla Comunità Economica Europea e dalla Regione Friuli Venezia Giulia, Direzione dell'Ambiente.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 327-334

L. Cengarle, L.A. Chessa*, A. Pantaleo, G. Tilloca, L. Vitale*

Dipartimento di Scienze Fisiologiche, Biochimiche e Cellulari dell'Università di Sassari,
Via Muroni, 25 – 07100 Sassari, Italia.
*Dipartimento di Scienze Zootecniche dell'Università di Sassari, Sassari, Italia.

ASPETTI DELLA COMPOSIZ.IONE BIOCHIMICA DI ALCUNE SPECIE DI INVERTEBRATI MARINI DI INTERESSE ECONOMICO

ASPECTS OF THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF SOME MARINE INVERTEBRATE SPECIES OF ECONOMICAL VALUE

Abstract

Biochemical analysis have been made on edible portion or integral individuals of the Echinoderms Paracentrotus lividus, Loxechinus albus, Strongylocentrotus *spp., the Cnidaria* Anemonia sulcata*, and the Mollusc* Tapes decussatus*. The differences found seem due to the diversity of species and to various nature of the edible material employed.*

Key-words: *biochemistry,* Anemonia sulcata*,* Tapes decussatus*, sea urchins.*

Introduzione

I prodotti della pesca sono una ricca sorgente di proteine, facilmente digeribili, ma forniscono anche acidi grassi polinsaturi, vitamine e minerali utili alla nutrizione umana (Gonzales *et al*., 2001). Questa ricerca ha lo scopo di presentare dati sulla composizione biochimica di specie marine eduli, localmente molto richieste. La scarsa disponibilità di dati bibliografici a riguardo ha costituito un valido stimolo per ampliare le conoscenze sull'argomento, sono comunque da tener presenti le difficoltà obbiettive che si incontrano nel confronto dei pochi dati esistenti.

In particolare sono state prese in considerazione gonadi di tre diverse specie di riccio di mare (*Paracentrotus lividus, Loxechinus albus, Strongylocentrotus* spp.), campioni del Celenterato *Anemonia sulcata* e del Mollusco Bivalve *Tapes decussatus*.

Materiali e metodi

I campioni vivi di *Paracentrotus lividus* e quelli di *Anemonia sulcata* sono stati pescati sulle coste della Sardegna in momenti diversi durante la stagione invernale; *T. decussatus* è stato raccolto nello stagno di Calich (Alghero) nello stesso periodo. Sono stati considerati esclusivamente esemplari di taglia commerciale. Tutti i campioni sono stati accuratamente sgocciolati ai fini della valutazione del contenuto di umidità residua ed indi liofilizzati.

A scopo di confronto si sono acquistati campioni commerciali, conservati in salamoia, di provenienza spagnola (*Paracentrotus lividus*) o cilena (*Loxechinus albus* e *Strongylocentrotus* spp.).

Determinazione dell'umidità

Su un'aliquota del campione pesata con esattezza è stata determinata l'umidità per perdita di peso in seguito a liofilizzazione. L'umidità è stata riferita a 100 grammi di parte edibile.

Estrazione della frazione lipidica

Le frazioni lipidiche sono state estratte con i seguenti procedimenti :

a)Estrazione con etere dietilico esente da perossidi in Soxhlet dei campioni liofilizzati.

b)Estrazione secondo Bligh e Dyer (1959), tenendo conto dell'umidità previamente calcolata.

Il valore è stato calcolato come % sia sulla sostanza secca che sulla parte edibile.

Sui campioni così ottenuti si è proceduto all'analisi ^{1}H-NMR, GLC e TLC.

^{1}H-NMR:

I campioni sono stati analizzati in soluzione 1:5 in cloroformio deuterato, in presenza di TMS (tetrametilsilano), 0,03%. E' stato utilizzato uno spettrometro di risonanza magnetica nucleare da 200 MHz, modello Varian XL 200.

Analisi Gascromatografica

- 1-Derivatizzazione:

La reazione di transesterificazione necessaria per effettuare l'analisi gas-cromatografica, è stata effettuata con trimetilclorosilano. A derivatizzazione avvenuta si è evaporato a secchezza in corrente di azoto e prima di iniettare si è ripreso con esano.

- 2-Analisi gascromatografica degli esteri metilici degli acidi grassi.

E' stato utilizzato un gascromatografo PERKIN ELMER Mod. 8500, con integratore PERKIN ELMER Modello GP 100; colonna Supelcowax, l=m 30, diametro interno mm 0,53; gas di trasporto: elio; flusso: 5 ml/min; rivelatore a ionizzazione di fiamma. Temperatura della colonna: isoterma a 180 °C per 12', poi gradiente termico di 2 °C/min fino a 205 °C; infine isoterma per 14'. Temperatura iniettore e rivelatore: 250 °C. Come standards sono stati usati esteri metilici degli acidi grassi Supelco (confezionati singolarmente) ed inoltre una miscela calibrata di standards di esteri metilici degli acidi grassi (Human plasma lipid FAME mix, Matreya, Cat. n° 2006) per i fattori di risposta. I risultati per i rapporti polinsaturi /insaturi totali sono stati confrontati con quelli ottenuti per NMR (Cengarle *et al*., 1999).

Cromatografia su strato sottile (TLC)

Sono state utilizzate lastre in vetro per TLC Silicagel 60 F254 (Merck), spessore mm 0,25, dimensioni cm 10×20, e una miscela eluente formata da etere di petrolio (40 °C-60 °C) : etere etilico : acido formico=70 : 30 : 1,5. Rivelazione a vapori di Iodio; standard: miscela di mono-, di- e trioleina e acido stearico. Le lastre, previa scannerizzazione, sono state lette con il software Quantiscan della Biosoft.

Determinazione delle proteine:

Il valore delle proteine è stato calcolato col metodo Kjeldahl in percentuale sia sulla sostanza secca che sulla parte edibile.

Risultati

La Tab. 1 riporta i valori di umidità, lipidi e proteine di tutti i campioni esaminati (cinque per ogni specie, ciascuno costituito da diversi individui).

La specie *Anemonia sulcata* presenta in assoluto la percentuale più elevata di umidità (86,05%) mentre i lipidi totali sono pari al 2% sul peso fresco. Tra gli acidi polinsaturi emergono C16:3, C20:5ω-3, C20:4ω-3, C22:5 e C22:6ω-3; tra i saturi C16:0 e tra i monoinsaturi C16:1 seguito da C18:1 (Tab. 2). Il contenuto di proteine è del 7,26% p.e. A tal proposito si osserva che ricerche condotte da Gonzales *et al.* (2001) dimostrano che le proteine di *Anemonia viridis* possiedono un alto valore nutrizionale, del tutto paragonabile a quello della caseina.

La vongola verace *Tapes decussatus* ha fatto registrare il 78,59% di umidità e lo 0,63% di lipidi totali, un valore molto inferiore rispetto a tutte le altre specie analizzate. Considerando la composizione acidica percentuale è da segnalare il contenuto molto elevato di C22:6ω-3, seguito da C20:5 e C20:4ω-3 tra i polinsaturi, C16:1 per i monoinsaturi e C14:0 e C16:0 tra gli acidi saturi. Il valore di proteine riscontrato è uguale a 10,78% p.e.

Tab. 1 – Contenuto % di umidità, lipidi e proteine nei campioni esaminati. (*Gonadi; n.d.: non determinato)
*% content of the humidity, lipids and proteins in the samples examined. (*Gonades; n.d.: not analysed)*

Specie	Umidità %		Lipidi % parte edibile		Lipidi % sostanza secca		Proteine % parte edibile		Proteine % sostanza secca	
	media	D.S.	media	D.S.	media	D.S.	media	D.S.	media	D.S.
***Strongylocentrotus spp.**	**30,33**	*1,5*	**7,46**	*0,9*	**10,71**	*1,3*	**29,81**	*2,3*	**42,74**	*2,6*
***Loxechinus albus**	**75,50**	*0,1*	**7,80**	*2,3*	**31,82**	*9,2*	n.d.		n.d.	
***Paracentrotus lividus**	**78,41**	*4,0*	**4,11**	*2,0*	**19,01**	*9,1*	**12,2**	*2,88*	**56,04**	*12,3*
***Anemonia sulcata**	**86,05**	*2,8*	**2,00**	*0,4*	**14,34**	*3,2*	**7,26**	*1,6*	**52,06**	*11,2*
***Tapes decussatus**	**79,82**	*0,2*	**0,71**	*0,09*	**3,25**	*0,4*	**10,78**	*0,1*	**53,44**	*0,2*

Confrontando questi dati con quelli riportati da Orban *et al.* (1998), si osserva che, a fronte di un contenuto più scarso di C20:0, C20:1 e C22:1, i nostri campioni presentano valori più elevati di C14:0 e C22:6ω-3.

La specie *Paracentrotus lividus,* raccolta *in situ,* presenta umidità media del 78,41% mentre nei ricci conservati quest'ultima varia tra 75,50% per *Loxechinus albus* e 30,33% per *Strongylocentrotus* spp. E' evidente che il divario nel contenuto di umidità, riscontrato fra i campioni commerciali e quelli freschi di gonadi di Echinoidei, è da attribuirsi prevalentemente al procedimento di conservazione, che utilizza salamoia più o meno concentrata.

Il contenuto di lipidi totali in *P. lividus* (4,11%) è inferiore rispetto a quello delle specie di Echinodermi cilene: 7,80% e 7,46% in *L. albus* e *Strongylocentrotus* spp. rispettivamente. Tra gli acidi grassi saturi l'acido palmitico C16:0 e l'acido miristico C14:0 risultano nettamente i più abbondanti in tutte le specie considerate (Tab. 2). Per quanto riguarda i polinsaturi i più rappresentati sono C20:5ω-3 e C20:4ω-6. Tra gli acidi monoinsaturi i più rilevanti in tutte le specie sono C20:1, C16:1 e C18:1.

Le proteine determinate sulla parte edibile dei ricci cileni sono in media pari a 29,81% mentre nel caso di *P. lividus* tale valore è del 12,2%.

La Fig. 1 riporta la distribuzione degli acidi grassi in funzione del grado di in saturazione. Si nota un elevato valore di acidi grassi polinsaturi: in particolare gli ω-3 hanno un valore massimo nei tessuti di vongola e minimo nelle gonadi di ricci conservati; nelle attinie e nel riccio mediterraneo si equivalgono. E' opportuno far presente

che, contrariamente ai pesci marini, i ricci di mare mostrano straordinarie capacità di allungamento e desaturazione delle catene degli acidi grassi più corte: per esempio i C18 vengono portati a C20 e C22 ω-3e ω-6 (Kennedy *et al.,* 2001) I valori degli acidi grassi polinsaturi rispetto all'insaturazione totale (PUFA/UFA) sono stati confermati

Tab. 2 – Composizione % degli acidi grassi dei lipidi totali estratti dai campioni esaminati. (N.D.: non determinabile)

% composition of the fatty acids in the total lipids from the samples examined. (N.D.: not determinable)

Acidi grassi	Gonadi *Loxechinus albus*		Gonadi *P. lividus*		*Anemonia sulcata*		*Tapes decussatus*	
	media	*D.S.*	**media**	*D.S.*	**media**	*D.S.*	**media**	*D.S.*
C14:0	**13,6**	*0,5*	**13,4**	*4,2*	**4,35**	*1,20*	**13,15**	*3,79*
C14:1	**0,9**	*0,6*	**1,5**	*1,3*	**N.D.**	*N.D.*	**0,94**	*0,60*
C15:0	**0,3**	*0,2*	**0,1**	*0,1*	**N.D.**	*N.D.*	**0,77**	*0,20*
C15:1	**N.D.**	*N.D.*	**0,3**	*0,2*	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*
C16:0	**10,5**	*0,6*	**17,3**	*3,5*	**16,21**	*1,33*	**12,88**	*2,30*
C16:1	**9,2**	*0,9*	**5,6**	*2,0*	**19,63**	*1,03*	**8,59**	*1,69*
C16:2	**0,1**	*0,1*	**0,5**	*0,4*	**N.D.**	*N.D.*	**1,81**	*1,00*
C17:0	**N.D.**	*N.D.*	**0,1**	*0,1*	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*
C16:3	**0,3**	*0,2*	**0,2**	*0,1*	**11,54**	*2,28*	**0,63**	*1,00*
C16:4	**0,7**	*0,4*	**0,9**	*0,7*	**2,67**	*1,83*	**3,18**	*1,78*
C18:0	**0,5**	*0,4*	**1,7**	*1,0*	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*
C18:1	**7,9**	*0,5*	**6,6**	*2,6*	**12,33**	*2,03*	**6,12**	*2,46*
C18:2	**2,4**	*0,1*	**1,2**	*0,7*	**1,15**	*0,53*	**0,89**	*0,41*
C18:3 ω-3	**0,6**	*0,7*	**2,4**	*1,0*	**0,14**	*0,28*	**0,36**	*0,56*
C18:4 ω-3	**1,5**	*0,7*	**2,3**	*1,4*	**1,43**	*0,97*	**1,28**	*1,00*
C20:0	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*	**N.D.**	*N.D.*
C20:1	**14,4**	*6,1*	**9,3**	*1,7*	**2,40**	*1,60*	**2,05**	*1,00*
C20:2	**5,0**	*2,0*	**2,5**	*1,5*	**0,83**	*0,99*	**0,38**	*0,62*
C20:3	**1,1**	*0,8*	**0,8**	*0,4*	**N.D.**	*N.D.*	**0,28**	*0,69*
C20:4 ω-6	**4,3**	*0,5*	**9,0**	*2,5*	**0,92**	*0,50*	**3,13**	*0,95*
C20:4 ω-3	**0,6**	*0,3*	**0,4**	*0,4*	**2,60**	*3,59*	**2,99**	*3,54*
C20:5	**8,2**	*2,4*	**15,3**	*4,2*	**7,61**	*5,39*	**5,19**	*5,52*
C22:0	**N.D.**	*N.D.*	**0,7**	*1,7*	**N.D.**	*N.D.*	**3,03**	*5,07*
C22:1	**2,4**	*1,4*	**4,3**	*5,7*	**0,90**	*1,16*	**1,81**	*2,66*
C22:2	**N.D.**	*N.D.*	**0,8**	*1,6*	**N.D.**	*N.D.*	**2,38**	*3,20*
C22:3	**0,7**	*0,5*	**0,4**	*0,7*	**N.D.**	*N.D.*	**1,22**	*0,98*
C22:4	**0,4**	*0,3*	**0,4**	*0,3*	**N.D.**	*N.D.*	**0,30**	*0,73*
C22:5	**1,1**	*0,2*	**1,0**	*0,5*	**6,28**	*1,51*	**3,96**	*1,52*
C22:6 ω-3	**1,3**	*0,6*	**2,0**	*1,0*	**5,01**	*1,30*	**22,67**	*6,55*

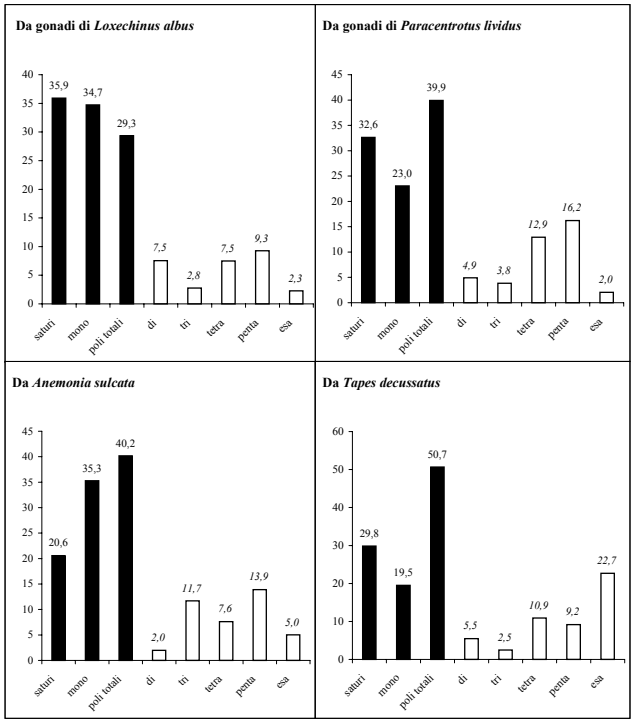


Fig. 1 – Distribuzione % secondo il grado di insaturazione degli acidi grassi dei lipidi totali estratti dalle specie indicate.

Fatty acids % distribution by the insaturation grade of the total lipids extracted from the species indicated.

per ^{1}H-NMR (Cengarle *et al.,* 1999).

Sia dai risultati TLC (Tab. 3) che dagli spettri ^{1}H-NMR si evidenzia la scarsa presenza di trigliceridi rispetto agli acidi grassi liberi. Infatti il multipletto a 4,22 p.p.m., relativo ai CH_2 metilenici esterificati del glicerolo, è scarsamente rappresentato nel caso delle vongole e delle attinie, mentre nel riccio di mare è evidente la presenza di

Tab. 3 - Distribuzione % delle forme gliceridiche nei lipidi totali estratti, determinata per TLC.

% distribution of the glyceridic forms in the total lipids extracted, by TLC.

	L.albus		***P.lividus*** **Spagna**		***P.lividus*** **Bosa**		***Anemonia sulcata***		***Tapes decussatus***	
	media	*D.S.*	media	*D.S*	media	*D.S*	media	*D.S*	media	*D.S*
Polari	**9,1**	*0,6*	**8,9**	*0,5*	**8,6**	*0,8*	**13,7**	*0,5*	**11,0**	*0,8*
Monogliceridi	**1,8**	*0,7*	**2,3**	*0,5*	**3,7**	*0,6*	**9,8**	*0,6*	**6,1**	*1,5*
1,2 Digliceridi	**8,6**	*1,9*	**9,8**	*6,4*	**12,1**	*0,8*	**12,5**	*0,7*	**11,6**	*0,6*
1,3 Digliceridi	**17,8**	*1,3*	**17,7**	*1,7*	**18,6**	*0,5*	**23,4**	*1,2*	**21,9**	*0,5*
Acidi liberi	**12,8**	*1,9*	**15,8**	*10,0*	**18,4**	*1,3*	**13,0**	*1,5*	**30,4**	*1,2*
Trigliceridi	**50,1**	*0,5*	**39,2**	*1,0*	**38,8**	*0,9*	**27,8**	*1,2*	**16,9**	*0,1*

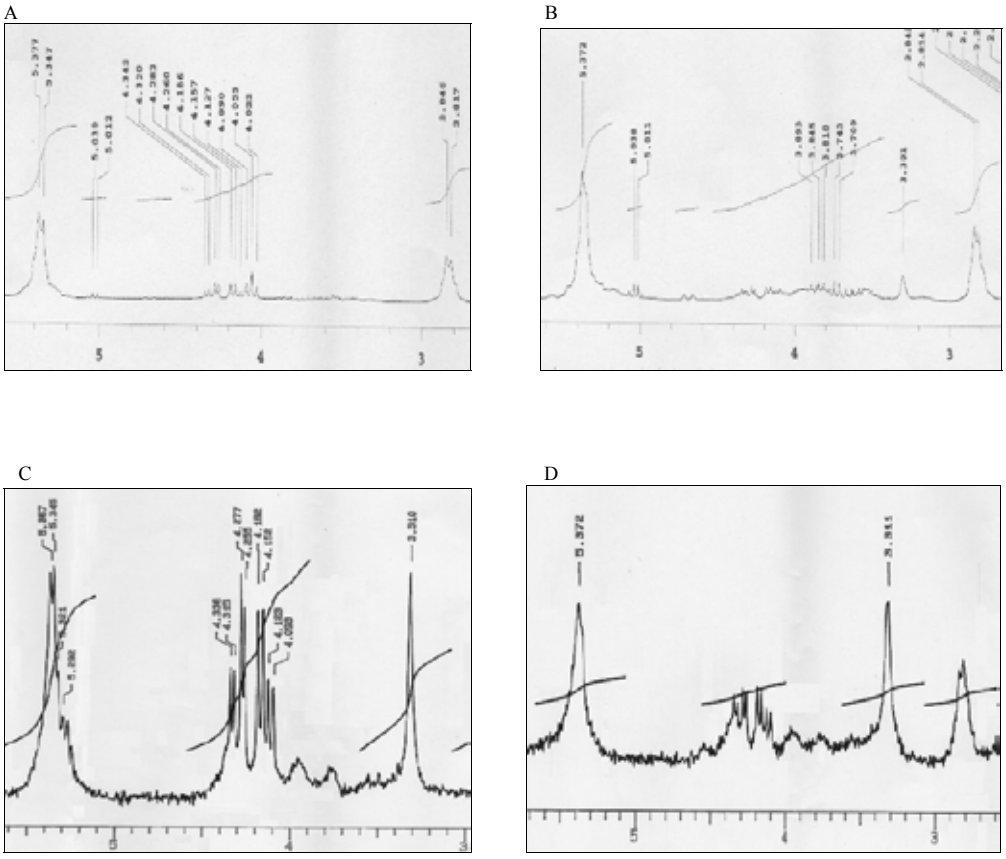


Fig. 2 – Particolari degli spettri ^{1}H-NMR delle frazioni lipidiche estratte dai campioni esaminati: A = *Anemonia sulcata*; B = *Tapes decussatus*; C = *Loxechinus albus* gonadi; D = *Paracentrotus lividus* gonadi.

Details of ^{1}H-NMR spectra of lipid fraction extracted from the samples examined: A = Anemonia sulcata*; B* = Tapes decussatus*; C* = Loxechinus albus *gonads; D* = Paracentrotus lividus *gonads.*

trigliceridi di deposito (Fig. 2 A, B, C, D).

Limitandoci alle parti edibili delle specie fresche si può notare una sostanziale equivalenza del contenuto in acqua, mentre la frazione lipidica è notevolmente più elevata nel caso del riccio di mare, seguita dalle attinie e infine dalle vongole veraci. Occorre osservare che nel primo caso si tratta esclusivamente di gonadi, notoriamente ricche di lipidi di deposito, mentre le due specie rimanenti sono state analizzate *in toto* e le diversità riscontrate sono da attribuirsi alle differenti caratteristiche dei loro tessuti.

Conclusioni

Sebbene questi dati non consentano una efficace comparazione della composizione biochimica sulla base del livello trofico, cionondimeno alcune differenze sostanziali emergono tra *Anemonia sulcata* e *Tapes decussatus*, due specie che hanno un regime

alimentare alquanto diverso.

Non sono state rilevate importanti differenze di carattere nutrizionale nella composizione tra gonadi di ricci di mare fresche e conservate.

Il basso contenuto in lipidi, peraltro di buon valore nutrizionale, grazie all'elevata percentuale di acidi grassi polinsaturi ω-3, rende le specie analizzate appetibili ed idonee ad una corretta alimentazione, rendendole simili al cosiddetto "pesce bianco" della cucina mediterranea. Sarebbe interessante verificare se le variazioni stagionali delle frazioni lipidiche, che interessano svariate categorie di pesce bianco, fino a renderlo paragonabile al "pesce azzurro", riguardino anche gli invertebrati studiati. In caso contrario infatti la loro importanza, sotto il profilo alimentare, sarebbe ancora più rilevante.

Summary

This report concerns the analysis and comparison of the biochemical composition of edible portions or integral individuals of some marine invertebrates. Five different species were considered: 3 Echinoidea (*Paracentrotus lividus*, *Loxechinus albus* and *Strongylocentrotus* spp.), 1 Coelenterata Attiniaria (*Anemonia sulcata*) and 1 Mollusca Bivalvia (*Tapes decussatus*).

Paracentrotus lividus and *Anemonia sulcata* were fished, during winter, in the NW sardinian coasts. *Tapes decussatus* was collected in the Calich lagoon (Alghero). The commercial samples of gonads of *Paracentrotus lividus*, *L. albus* and *Strongylocentrotus* spp. came from Spain, Chile and Northern Pacific.

The % of water content, the % of total lipids and the % of fatty acids composition were determined on specimens of the above mentioned species. The saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid ratios were also compared, as well as the total unsaturated/polyunsaturated fatty acid ratio by ^{1}H-NMR spectrometry (confirmed by GLC data). The glyceridic form distribution was analyzed by TLC with subsequent densitometry, and the protein content was detected by the Kjeldahl method.

The differences found seem due to the diversity of species and to the various nature of the edible material employed.

A high water content and a low % of total lipids were observed in the sea anemones: whereas the other species considered showed low water content and comparatively high lipid levels. In *Tapes decussatus* the lipid content was particularly low. Among the Echinoidea, the fresh gonads in comparison with analogous commercial samples, showed different values for some parameters analysed because of the brine preservation. The chilean species were found to have the highest % of total lipids.

Among the saturated fatty acids C16:0 and C14:0 were the most abundant for all the species. Concerning the polyunsatured and monounsatured fatty acids it must be emphasized the presence of C20:4ω-3 and C20:1, C16:1, C18:1 respectively. Furthermore *Tapes decussatus* showed a very high value of C22:6ω-3.

The TLC and ^{1}H-NMR analysis showed a low presence of triglycerids.

The consistency of the results indicates that the marine species under investigation represent high quality sea food, suitable for mass consumption and easily available on international markets.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Dott. Simonetto Serra, il Sig. Gesumino Spanu per la collaborazione prestata nel campionamento.

Bibliografia

BLIGH E.G., DYER W.J. (1959) - A rapid method of total lipid extraction. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 911-917.

CENGARLE L., CARTA A., MARCEDDU M.F., PINNA L., TILLOCA G. (1999) - La risonanza magnetica nucleare nella determinazione del degrado ossidativo delle sostanze grasse: nota III. Valutazione rapida delle alterazioni di lipidi animali in seguito a cottura. *La rivista italiana delle sostanze grasse,* **75**: 249-256.

GONZALES M., CARIDE B., LAMAS A., TABOADA C. (2001) - Nutritive value of protein from

sea urchin, and its effects on intestinal leucine aminopeptidase and intestinal and hepatic gamma-glutamyltranspeptidase. *Int. J. Food Sci. Nutr.,* **52** (3): 219-224.

KENNEDY E.J., CASTELL J.D., ROBINSON S.M.C., PARSON G.J., BLAIR T.J., GONZALES-DURANT E. (2001) - Effect of dietary lipids on fatty acid composition and metabolism in juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Advanced in Sea urchin production. May 9, 2001.Harbour Suite, A/B.*

ORBAN E., DI LENA G.,RICELLI A., SINESIO F., CASINI I., GAMBELLI L., CAPRONI R., VIVANTI V. (1998) - Valutazione della qualità nutrizionale ed organolettica di molluschi bivalvi provenienti da attività di pesca e da acquacoltura. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 1407-1416.

Ricerca condotta con il contributo del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali e del M.I.U.R.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 335-342

P. Del Negro, S. Fonda Umani

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 - 34010 Trieste, Italia.

MODIFICAZIONE DEL SUBSTRATO ORGANICO AD OPERA DI ENZIMI IDROLITICI DI ORIGINE BATTERICA

HYDROLYTIC ENZYME ACTIVITIES OF MARINE BACTERIA: ITS SIGNIFICANCE FOR DISSOLVED ORGANIC SUBSTRATE PROCESSING

Abstract

Ezymatic hydrolysis is a crucial step in bacterial utilization of polymeric dissolved organic matter (DOM). Variation in the relative activities of different enzymes can indicate modification in the DOM composition. Extracellular lipase, aminopeptidase, phosphatase and glucosidase activities (measured by use of fluorogenic substrate analogs) at three stations in the Gulf of Trieste were detected over a three year period (1998-2001). Lipase, aminopeptidase and phosphatase activities reached the highest hydrolysis rates while those of glucosidase, both alfa and beta, were low. The enzymes phosphatase, aminopeptidase and β-glucosidase progressively increased their activities during the observing period while α-glucosidase and lipase conserved, more or less, the same hydrolytic rate.

Key-words*: bacteria, enzymatic activity, dissolved organic matter.*

Introduzione

L'osservazione che l'età media della sostanza organica disciolta (DOM) presente negli oceani si aggira intorno ai 6000 anni (Williams e Druffel, 1987) ha messo in evidenza come, nonostante la sua origine biogenica, una cospicua frazione del DOM possa avere un turn-over estremamente lento.

La nota suddivisione del DOM, in relazione al peso molecolare dei suoi componenti, in Low Molecular Weight (LMW DOM) e High Molecular Weight (HMW DOM) portava a ritenere che la frazione LMW venisse rapidamente rimineralizzata, mentre la frazione HMW costituisse il materiale refrattario (Saunders, 1976). Ciò derivava dal fatto che i batteri, principali organismi utilizzatori di sostanza organica, sono in grado di assorbire direttamente, attraverso le permeasi di membrana, molecole inferiori a 600-1000 Da (Arrosti, 1996). Amon e Benner, nel 1994, dimostrarono, invece, come la più bassa bioreattività fosse associata ai componenti LMW, nonostante una eterogenea distribuzione di composti refrattari nei due pool. Studi più recenti (Amon e Benner, 1996) hanno evidenziato che soltanto alcuni composti LMW, come gli aminoacidi disciolti, vengono rapidamente utilizzati e contribuiscono alla crescita batterica mentre, in generale, la bioreattività del DOM decresce parallelamente al decremento dimensionale delle molecole.

Il HMW DOM è costituito da composti polimerici come proteine, polisaccaridi, acidi nucleici, lipidi, ed acidi umici. Tali composti non possono venir utilizzati direttamente dai batteri ma, come i colloidi, devono sottostare ad un'idrolisi enzimatica che numerosi autori (Chrost, 1990) considerano il processo limitante la produzione batterica. La sintesi e la liberazione degli enzimi deve essere accoppiata ad un sistema di trasporto attivo che recupera i prodotti dell'idrolisi extracellulare e ad un sistema enzimatico in grado di catabolizzarli (Del Giorgio e Cole, 2000).

I batteri marini producono una gran varietà di enzimi idrolitici che catalizzano la

rottura di legami covalenti C-O, C-N ed O-P. Gli enzimi α- e ß-glucosidasi forniscono indicazioni sull'attività idrolitica svolta nei confronti dei glucidi, l'aminopeptidasi idrolizza i legami peptidici tra aminoacidi, la lipasi catalizza l'idrolisi dei lipidi e la fosfatasi alcalina di una gran varietà di esteri fosforici liberando fosforo inorganico.

Le variazione delle attività enzimatiche batteriche, ed in particolare le modificazioni delle specifiche attività, consentono, pertanto, di ottenere un'informazione indiretta sulla composizione della sostanza organica.

Materiali e metodi

Durante le campagne oceanografiche mensili effettuate nel Golfo di Trieste da giugno 1998 a giugno 2001, sono stati raccolti campioni d'acqua in 3 diverse stazioni: la stazione C1 è posizionata a circa 200 m dalla costa, la stazione A4 in prossimità della foce del fiume Isonzo e la stazione AA1 al centro del Golfo (Fig. 1). I campioni sono stati raccolti a quote discrete (3 o 4 quote in relazione alle caratteristiche idrologiche della colonna d'acqua) utilizzando una "Mini-Rosetta" (1016 GENERAL OCEANIC) equipaggiata con 12 bottiglie Niskin da 5 L. I campioni sono stati conservati in bottiglie di policarbonato (Nalgene), precedentemente lavate con HCl diluito e risciacquate con acqua milli-Ro, e sono stati mantenuti alla temperatura di campionamento ed al buio fino all'arrivo in laboratorio (entro 2 ore dal prelievo).

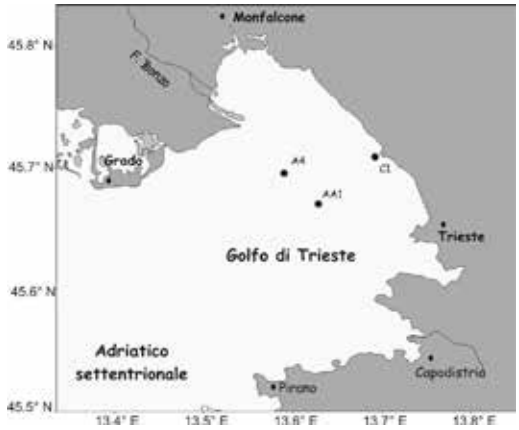


Fig. 1 – Stazioni di campionamento.
Location of sampling stations.

Le attività enzimatiche esocellulari sono state misurate sul campione tal quale secondo il metodo di Hoppe (1983) utilizzando substrati fluorogenici artificiali derivati dal 4-metilumbelliferone (MUF) e dalla 7-amino-4-metil cumarina (AMC).

L'attività glucosidasica è stata misurata come tasso di idrolisi del MUF-α-D-glucoside e del MUF-β-D-glucoside, l'attività aminopeptidasica come tasso di idrolisi della leucina-AMC. Il MUF-oleato è stato utilizzato per stimare l'attività lipasica, il MUF-fosfato per l'attività fosfatasica.

La fluorescenza è stata misurata immediatamente dopo l'aggiunta del substrato artificiale (T_0) e dopo un periodo di incubazione (T_1) alla temperatura di campionamento ed al buio. L'incremento di fluorescenza durante il ΔT è stato comparato alla fluorescenza del fluorocromo (standard) attraverso una curva di calibrazione. Le misure sono state effettuate utilizzando uno spettrofluorimetro (Perkin Elmer LS50B) alla lunghezza d'onda di eccitazione di 365 nm e di emissione 455 nm per il MUF e di 380 nm e di 440 nm per l'AMC. I substrati sono stati solubilizzati in monometil etilen glicol (Metilcellosolve-Sigma) e acqua milliQ e aggiunti in volume tale da ottenere una concentrazione finale pari a 0,2 mM per MUF-α, MUF-β e leucina-AMC e 0,1 mM per il MUF-oleato. La concentrazione finale del MUF-fosfato era, invece, pari a 0,05 mM. Il Metilcellosolve non interferisce con le reazioni enzimatiche (Hoppe, 1983). Per ogni campione sono state analizzate 3 repliche ed un bianco, preparato filtrando il campione su membrane di porosità pari a 0,2 μm.

Risultati e conclusioni

L'enzima che esplica la più spiccata attività idrolitica nelle acque del Golfo di Trieste è la lipasi il cui tasso d'idrolisi è compreso tra 0.013 e 1076.98 nM/h (Fig. 2). Durante il secondo anno di campionamento l'attività aumenta considerevolmente solo nella stazione C1 mentre nelle altre stazioni diminuisce rispetto al primo ed al terzo anno (Fig. 3).

Estremamente attivi risultano anche gli enzimi fosfatasi e aminopeptidasi (Fig. 2). Il primo raggiunge velocità idrolitiche pari a 316 nM/h evidenziando un tasso d'idrolisi progressivamente crescente nel corso del periodo di osservazione (Fig. 3). L'aminopeptidasi segue lo stesso andamento nel tempo (Fig. 3) con valori compresi tra 0.28 e 318.86 nM/h (Fig. 2).

Gli enzimi di tipo glucosidasico risultano sempre scarsamente attivi (Fig. 2): l'α-glucosidasi raggiunge una velocità idrolitica massima pari a 45.01 nM/h mentre la β-glucosidasi raggiunge 62.86 nM/h. L'enzima che catalizza la lisi dei legami α sembra costantemente attivo durante tutto il periodo di studio mentre l'attività della β-glucosidasi aumenta progressivamente raggiungendo i valori più alti durante il 2000-2001 (Fig. 3).

L'elevata attività lipasica, a fronte della relativamente bassa concentrazione di grassi del DOM, concorda con le tesi di Nagata (2000) che ipotizza un accumulo di sostanza organica refrattaria attraverso la formazione di strutture simili ai liposomi, vescicole fosfolipidiche con al centro molecole labili, ove potrebbero avvenire reazioni diagenetiche che favorirebbero la formazione di DOM refrattario (Yamamoto e Ishiwatari, 1989). La produzione di liposomi sembra fortemente collegata alla lisi cellulare virus mediata (Fuhrman e Noble, 1995; Shibata *et al.*, 1997) ed alla produzione di picopellets da parte dei nanobatterivori flagellati (Nagata e Kirchman, 1997). I batteri, pertanto, qualora il substrato a loro disposizione sia caratterizzato da una marcata refrattarietà, cercherebbero di accedere al DOM più labile contenuto all'interno dei liposomi idrolizzando le catene lipidiche che ne costituiscono l'involucro. Un'elevata attività lipasica, pertanto, sarebbe indicatrice di una elevata refrattarietà del DOM disponibile. Nel Golfo di Trieste l'incremento di attività lipasica che si osserva nel 1999-2000 conferma l'ipotesi di un aumento della refrattarietà del substrato organico disponibile. In questo periodo, infatti, la lisi virale sul comparto batterico è estremamente intensa (Fonda Umani, 2001) e probabilmente stimola la produzione di liposomi.

L'enzima aminopeptidasi, invece, risulta fortemente indotto dai prodotti proteici di

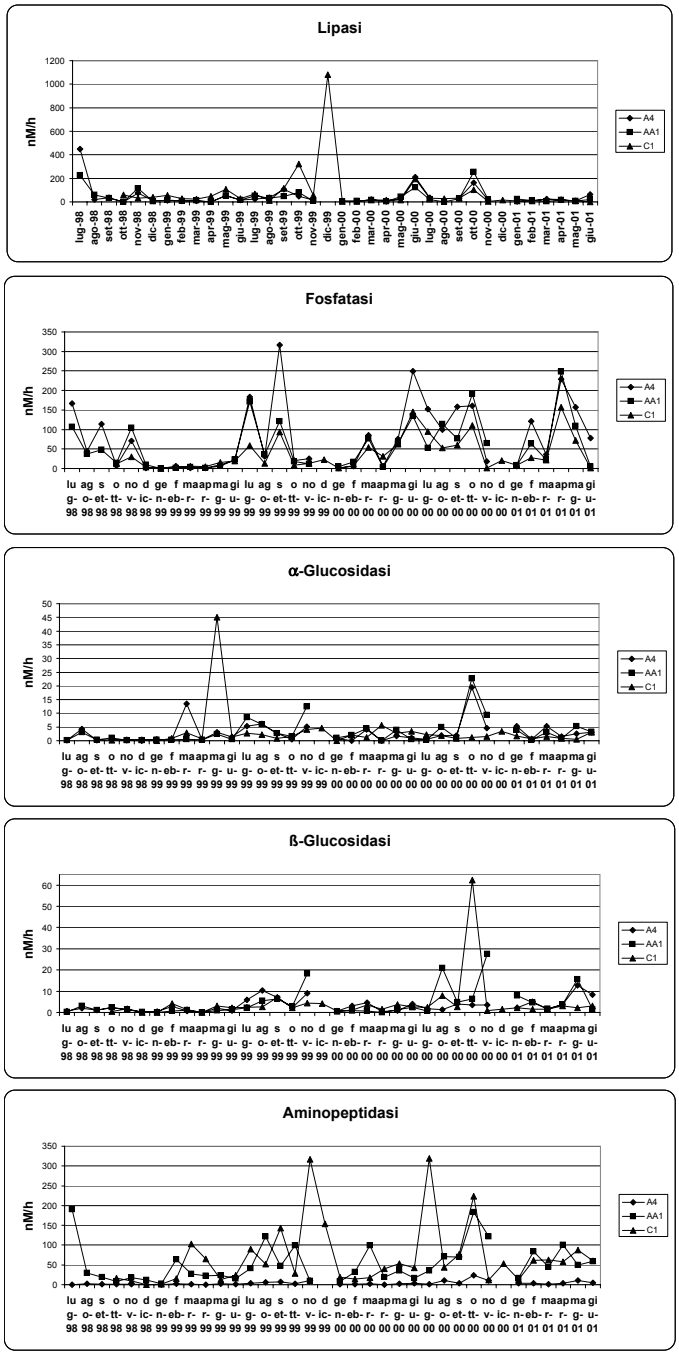


Fig. 2 – Andamento temporale delle attività enzimatiche.
Enzymatic activities trend.

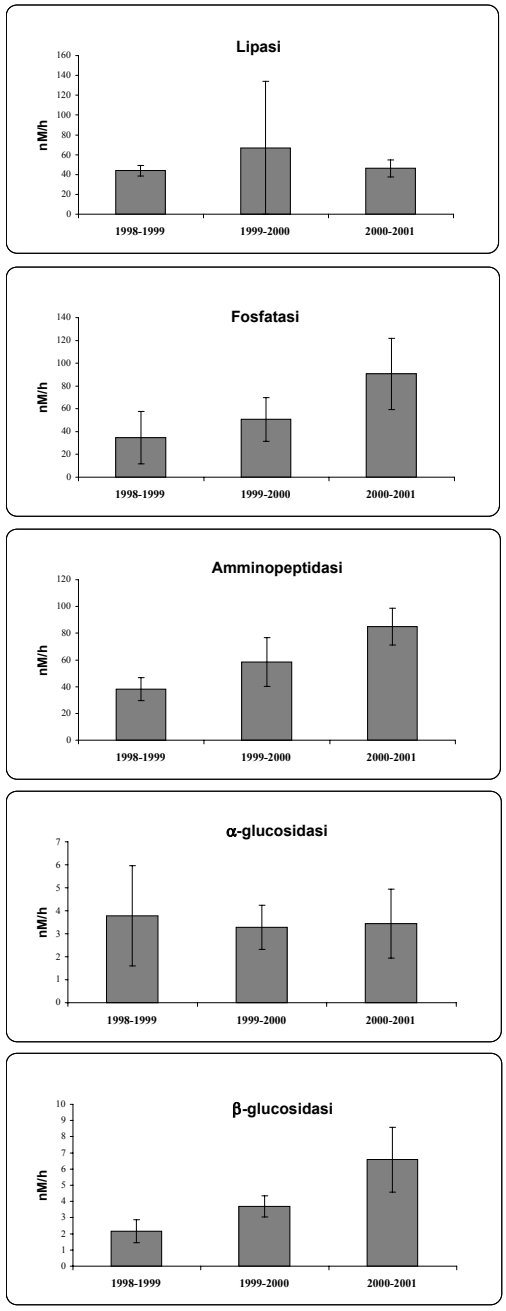


Fig. 3 – Variazione annuale delle attività enzimatiche: ogni punto rappresenta il valore medio (± deviazione standard) di 108 determinazioni.

Annual variation of enzymatic activities: each point represent the mean value (± standard deviation) of 108 detections.

degradazione del fitoplancton ma la sua elevata aspecificità lo rende in grado di recuperare azoto organico necessario per il metabolismo cellulare (Chrost, 1991). La sua attività aumenta proporzionalmente durante i tre anni di osservazione analogamente alla maggior attività del popolamento fotoautotrofo (Mozetic *et al.*, 2002).

Le attività degli enzimi α- e β-glucosidasi sono sempre scarse ma aumentano anch'esse con la maggior attività fotosintetica del popolamento planctonico raggiungendo i valori più elevati nel corso del terzo anno di campionamento.

Nel corso del triennio (1998-2001) la biomassa batterica subisce delle oscillazioni estremamente ampie (Tab. 1) con una generale diminuzione nel 1999-2000 causata da un'intensa infezione virale (Fonda Umani, 2001). In tale periodo la velocità di mobilizzazione del carbonio attraverso l'idrolisi enzimatica aumenta passando dal valore medio annuo di 188.5 mg C m^{-2} h^{-1}, rilevato nel 1998-1999, a 334.8 mg C m^{-2} h^{-1}. Si può ipotizzare che la sostanza organica circolante si sia arricchita in composti ad alto peso molecolare, che richiedono una degradazione enzimatica prima dell'assorbimento cellulare, e sia diminuita quantitativamente la produzione di DOM superlabile. Nel periodo 2000-2001 il tasso decresce nuovamente (191.89 mg C m^{-2} h^{-1}) riportandosi a quanto rilevato nel primo anno di osservazione (Fig. 4).

La mobilizzazione del fosforo organico, invece, aumenta progressivamente dal

Tab. 1 – Abbondanze batteriche espresse come 10^6 cell ml^{-1}. Ogni valore rappresenta la media delle abbondanze determinate nelle 3 stazioni campionate (n=30).
Bacterial abundances (10^6 cell ml^{-1}). Each point represent the mean value of 30 detections corresponding to 3 stations sampled.

	1998-99		1999-2000		2000-01	
	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
Luglio	3,00	0,06	0,87	0,04	2,24	0,38
Agosto	1,08	0,27			1,58	0,08
Settembre	1,15	0,22	1,38	0,56	1,89	0,23
Ottobre	1,48	0,20	0,80	0,23	1,64	0,11
Novembre	1,31	0,22	0,91	0,04	1,38	0,41
Dicembre	0,80	0,09	1,08		1,18	
Gennaio	0,51	0,03	0,71	0,19	1,06	0,03
Febbraio	0,42	0,08	0,33	0,11	1,16	0,08
Marzo	0,47	0,04	0,50	0,02	0,75	0,09
Aprile	0,53	0,04	0,42	0,06	0,80	0,08
Maggio	0,52	0,05	0,54	0,14	1,23	0,34
Giugno	0,62	0,06	0,99	0,11	1,04	0,10

1998 al 2001 passando da valori medi annui pari a 13.73 mg P m^{-2} h^{-1} a 25.69 nel 1999-2000 e successivamente a 30.87 nel 2000-2001. L'aumentata attività del popolamento fototrofo consuma, probabilmente, le limitate risorse di fosforo inorganico e costringe il popolamento batterico ad un recupero dal pool dell'organico. Bisogna sottolineare comunque che l'enzima fosfatasi alcalina viene prodotto anche dalle cellule fitoplanctoniche e che la sua attività risulta indotta in caso di P-limitazione. Anche nel Golfo di Trieste, infatti, le più elevate velocità enzimatiche corrispondono sempre alle fioriture fitoplanctoniche.

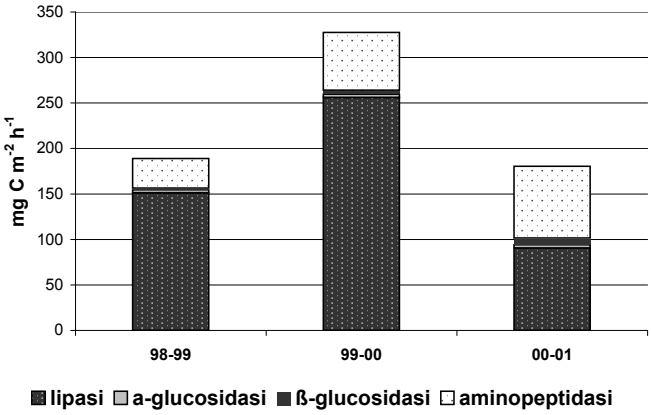


Fig. 4 - Attività enzimatica media, espressa in mg C m^{-2} h^{-1}, nei tre anni di campionamento.
Mean value of enzymatic activities as mg C m^{-2} h^{-1} during the sampling period.

Summary

The bacterial hydrolysis of organic matter is a key step in the carbon cycle. Because bacteria can only ingest substrates with a maximum molecular weight of approximately 600-1000 Da they must use extracellular enzymes to hydrolyze macromolecules such as proteins, polysaccharides, and lipid complexes prior to transport into the cell. Variation in ectohydrolase profiles (types and levels of activity) reflect the trophic status of environment and indicate modification in the organic matter composition. This study evaluates the variability of extracellular enzyme activity over a year's time. Water samples were monthly collected from three stations in the Gulf of Trieste and assayed for glucosidase, lipase, phosphatase and protease activities. The relative amplitude of variations in enzyme activity usually exceed those in bacterial densities and followed more closely variations in organic matter composition. Lipase activity was prominent among the hydrolytic enzymes assayed in this study. Even though lipids are a relatively minor component of DOM, they can be important becouse they can form liposome-like structures. α- and β-glucosidase presented low values of activity. This is surprising in view of the high concentration of polysaccharide in seawater. We found significant alkaline phosphatase activity because bacteria can produce alkaline phosphatase to supply their metabolism with organic carbon substrates, which are also final products of phosphoester hydrolysis.

Ringraziamenti

Un particolare ringraziamento a tutti i colleghi che hanno reso possibile questo lavoro: A. Bertolini, E. Crevatin, A. Degani, C. Larato, M. Lupieri, M. Rorato ma soprattutto a P. Ramani che l'ha cominciato.

Bibliografia

AMON R.M.W., BENNER R. (1994) - Rapid cycling of high-molecular-weight dissolved organic matter in the ocean. *Nature,* **369**: 549-552.

AMON R.M.W., BENNER R. (1996) - Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, **41** (1): 41-51.

ARNOSTI C. (1996) - Evidence of a structural effect on enzyme hydrolysis of polysaccharides in marine sediments. *EOS, Transactions*, American Geophysical Union: 76-41.

CHRÓST R.J. (1990) - Microbial ectoenymes in aquatic environments. In: Overbeck J., Chróst R.J. (eds), *Aquatic microbial ecology. Biochemical and molecular approaches*. Springer-Verlag, Berlin: 47-48.

CHRÓST R.J. (1991) - Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. In: Chróst R.J. (ed), *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York: 29-59.

DEL GIORGIO P.A, COLE J.J. (2000) - Bacterial energetics and growth efficiency. In: Kirchman D.L. (ed), *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss Inc.: 289-325.

FONDA UMANI S. (2001) - Progetto di monitoraggio dell'Alto Adriatico Interreg II Italia-Slovenia: Rapporto annuale Luglio 2000-Giugno 2001, Direzione Regionale dell'Ambiente, Regione Friuli Venezia Giulia.

FUHRMAN J.A., NOBLE R.T. (1995) - Viruses and protist cause similar bacterial mortality in coastal seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **40**: 1236-1242.

HOPPE H.G. (1983). Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl substrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **11**: 299-308.

MOZETIC P., PECCHIAR I., CANTONI C., CABRINI M., COZZI S., CATALANO G., FONDA UMANI S. (2002) - Primary production and nitrogen uptake in a shallow coastal area (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). In: *Phytoplankton Productivity* Abstracts. Bangor, March 18-22, 2002.

NAGATA T. (2000) - Production mechanism of dissolved organic matter. In: Kirchman D.L. (ed), *Microbial ecology of the oceans.* Wiley-Liss Inc.: 121-152.

NAGATA T., KIRCHMAN D.L. (1997) - Roles of submicron particles and colloids in microbial food webs and biogeochemical cycles within marine environments. *Adv. Microb. Ecol.,* **15**: 81-103.

SAUNDERS G. (1976) - Decomposition in fresh water. In: Anderson J., Macfadyen G. (eds), *The role of terrestrial and acquatic organisms in decomposition processes*. Blackwell: 341-374.

SHIBATA A., KOGURE K., KOIKE I., OHWADA K. (1997) - Formation of submicron colloidal particles from marine bacteria by viral infection. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **155**: 303-307.

WILLIAMS P.M., DRUFFEL E.R.M. (1987). Radiocarbon in dissolved organic matter in the central North Pacific Ocean. *Nature,* **330**: 246-248.

YAMAMOTO S., ISHIWATARI R. (1989) - A study of the formation mechanism of sedimentary humic substances. II. Protein-based melanoidin model. *Org. Geochem*., **14**: 479-489.

Il campionamento è stato eseguito nell'ambito del progetto di ricerca "Studio dello stato trofico e delle anomalie del sistema Alto Adriatico" finanziato dall' U.E. e dalla Regione F.V.G. (Direzione Ambiente) nell'ambito del programma Interreg II Italia-Slovenia.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 343-350

A. Pusceddu, C. Fiordelmondo, R. Danovaro

Dipartimento Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.

IMPACT OF TRAWLING ACTIVITY ON THE TROPHIC STATUS OF MARINE SEDIMENTS IN THE THERMAIKOS GULF (AEGEAN SEA): A BIOCHEMICAL APPROACH

IMPATTO DELLA PESCA A STRASCICO SULLO STATO TROFICO DEI SEDIMENTI DEL GOLFO DI THERMAIKOS (MAR EGEO): UN APPROCCIO BIOCHIMICO

Abstract

In order to assess the impact of trawling on the trophic state of the Thermaikos Gulf (Aegean Sea), sediment samples were collected at seven stations along a N-S transect before (September 2001) and after (October 2001) the beginning of trawling activities and analysed for protein, carbohydrate and lipid contents. Results indicate that trawling-induced sediment resuspension plays a key role not only on quantity and biochemical composition of organic matter, and, thus, on trophic status, but also on spatial distribution of sedimentary total organic matter.

Key-words: *trawling, organic matter, biochemical composition, trophic status.*

Introduction

Due to the oligotrophic condition of the Mediterranean Sea, resuspension processes induced by trawling activities are expected to play a key role in carbon, nutrients and pollutants recycling in the coastal ecosystem. Pulse-like upward fluxes of nutrients can have important implications for the type and rates on primary production, by accelerating nutrient turnover and thus enhancing phytoplankton blooms (Fanning *et al.*, 1982; Wainright, 1990; Overnell *et al.*, 1995). Simulation models and few field studies found that resuspended organic material could exert an enhanced demand of dissolved oxygen (Goosen *et al.*, 1995). Enhanced bacterioplankton biomass after events of experimental resuspension of marine sediments suggest their significance on particulate organic matter diagenesis (Wainright, 1987). Resuspension is also expected to affect the biochemical composition of sedimentary organic matter both by limiting burial of labile compounds and enhancing mortality of the benthos (Sloth *et al.*, 1996; Pilskaln *et al.*, 1998). However, there is a lack of information on how these processes affect organic matter early diagenesis in the sediments.

The classification of coastal marine systems trophic status has been almost exclusively based on chemical measurements (e.g. inorganic nitrogen and phosphorous, oxygen) and/or surrogate measurements of algal biomass (Giovanardi & Tromellini, 1992; Ignatiades *et al.*, 1992; Zurlini, 1996; Vollenweider *et al.*, 1998). Nixon (1995) has recently proposed new criteria for the classification of the marine systems trophic state based on the supply of organic C to the system (as g C m^{-2} y^{-1}). A further approach based on the biochemical composition of sediment organic matter has been recently applied in marine coastal and lagoon systems (Dell'Anno *et al*., 2002; Pusceddu *et al*., 2003).

In the frame of the INTERPOL project, financed by the EC, we investigated

changes in protein, carbohydrate and lipid content of sediment organic matter in the Thermaikos Gulf (Aegean Sea) along a 7 stations transect, before and during intensive trawling activity. The aim was to assess changes in the trophic status of marine coastal sediments as affected by intensive trawling activity.

Materials and methods

The Thermaikos Gulf (Fig. 1), an elongated bay characterised by depth ranging between 30 and 200 m, is located in the Northwestern Aegean Sea (E-Mediterranean). The city of Thessaloniki (population ca 1.2 million) is located on its northern coast, and three major river inputs enter the northern Gulf along its western coast.

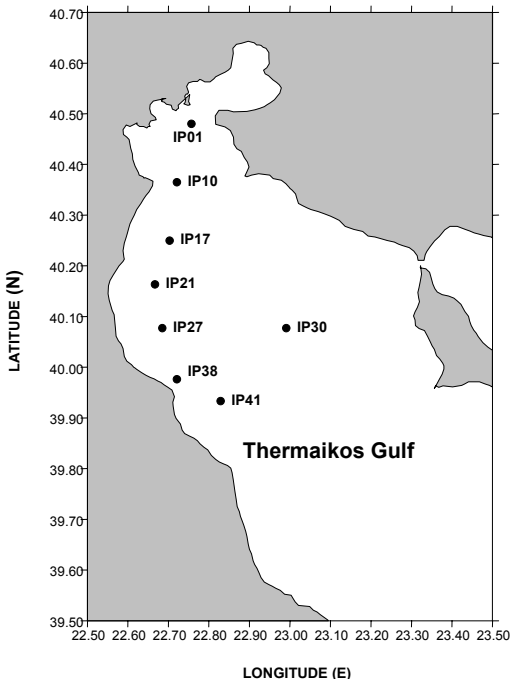


Fig. 1 – Study area and stations location in the Thermaikos Gulf.
Area di studio e localizzazione delle stazioni di campionamento nel Golfo di Thermaikos.

Sediment samples were collected during two oceanographic cruises on board the ship Aegaeo in September and October 2001. The two sampling periods were chosen in order to make a comparison between the trophic status of superficial sediments before (September) and during intensive trawling activities (October).

For the biochemical characterisation of sediment organic matter (proteins, carbohydrates and lipids), sediment samples were collected by means of a multicorer at seven stations in the Thermaikos Gulf (Fig. 1). Six stations (1, 10, 21, 27, 38 and 41, at depths ranging from 30 to 80 m depth) were located along a N-S transect characte-

rised by decreasing riverine impact and intensive trawling activity in October, whereas station 30 (86 m depth) was not impacted by river discharge or trawling. Previous studies have demonstrated that no differences in the sediment grain size are found in the sediments of the study area, with the sandy fraction ranging from 10 to 20% and the clay fraction ranging from 40 to 50% (Karageorgis & Anagnostou, 2001). The top first centimetre of two corers from independent multicorer deployments were collected and immediately stored in Petri dishes at –20 °C.

Total protein, carbohydrate and lipid analyses were carried out on 4 replicates of sediment sub-samples according to Hartree (1972), Gerchacov & Hatcher (1972) and Bligh & Dyer (1959) and Marsh & Weinstein (1966), respectively. For each biochemical assay, blanks were obtained using pre-combusted sediments (450°C for 2h). Carbohydrates, proteins and lipids concentrations were converted into carbon equivalents using 0.40 and 0.49 and 0.75 mg C mg^{-1} conversion factors, respectively and normalised to sediment dry weight (Fabiano *et al.*, 1995). The sum of total protein, carbohydrate and lipid carbon equivalents was reported as sedimentary biopolymeric organic carbon (Pusceddu *et al.*, 2000). Temporal and spatial changes in all the investigated variables were assessed by serial two-way analysis of variance (ANOVA) with time (months) and space (stations) as sources of variation. When a significant difference for the main effect was observed ($p<0.05$) a Tukey's comparison test was also performed.

Results

All investigated parameters displayed clear spatial and temporal changes (Fig. 2). Sedimentary protein concentrations ranged between 0.35 ± 0.10 (IP30, September) and 4.45 ± 0.53 mg g^{-1} (IP01, October) and displayed values in October between two- and three-fold higher than those encountered in September, either in impacted stations (IP01-IP41) and at station IP30. In September, carbohydrate concentrations displayed significant spatial changes (ANOVA, $p<0.01$) with values at intermediate stations (3.53 ± 0.42 mg g^{-1}, on average of stations IP10-IP41) about double than those at Station IP01 (1.48 ± 0.21 mg g^{-1}) and even four-fold higher than those at IP30 (0.45 ± 0.08 mg g^{-1}). In October, sediment carbohydrate content significantly increased (Tukey's test, $p<0.01$ and $p<0.01$, respectively) only at stations IP01 (4.68 ± 0.14 mg g^{-1}) and IP30 (1.64 ± 0.15 mg g^{-1}). In September, lipid concentrations (on average 0.16 ± 0.07 mg g^{-1}) displayed a clear spatial pattern with a clear decreasing pattern from the inner (0.75 ± 0.08 mg g^{-1} at station IP01) toward the southern (0.33 ± 0.05 mg g^{-1}, IP41) and station IP30 (0.06 ± 0.02 mg g^{-1}, IP30). In October, lipid concentrations (on average 0.03 ± 0.01 mg g^{-1}) significantly decreased (ANOVA, $p<0.01$) by an average factor of about 7 (range between 2 and 12). The biochemical composition of sediment organic matter displayed clear temporal changes both at impacted stations and at station IP30, whereas spatial differences were less evident. In particular, an increasing protein contribution to the sedimentary organic C pools was reported from September (on average 32%) to October (51%) at the resuspended stations, whereas at station IP30 a significant increase (ANOVA, $p<0.01$) of the carbohydrate contribution was reported from September (46%) to October (54%).

Conclusions

The trophic status of an aquatic system can be defined both on the basis of the input of organic C reaching the bottom (Nixon, 1995) and on the basis of organic C accu-

mulation into the sediment (Jorgensen, 1996). Organic matter in marine sediments is composed of labile and refractory compounds which relative importance changes as a function of degradation, heterotrophic utilisation, transformation, accumulation and/or export. Therefore, the composition of organic matter (OM) is important both in a biogeochemical perspective (Hartnett *et al.*, 1998) and from a trophodynamic point of view (Jumars & Penry, 1989; Graf, 1992). Recently, the assessment of organic matter quality through the analysis of its biochemical composition has been suggested as a new perspective in the the trophic status assessment of marine ecosystems (Dell'Anno *et al*., 2002)

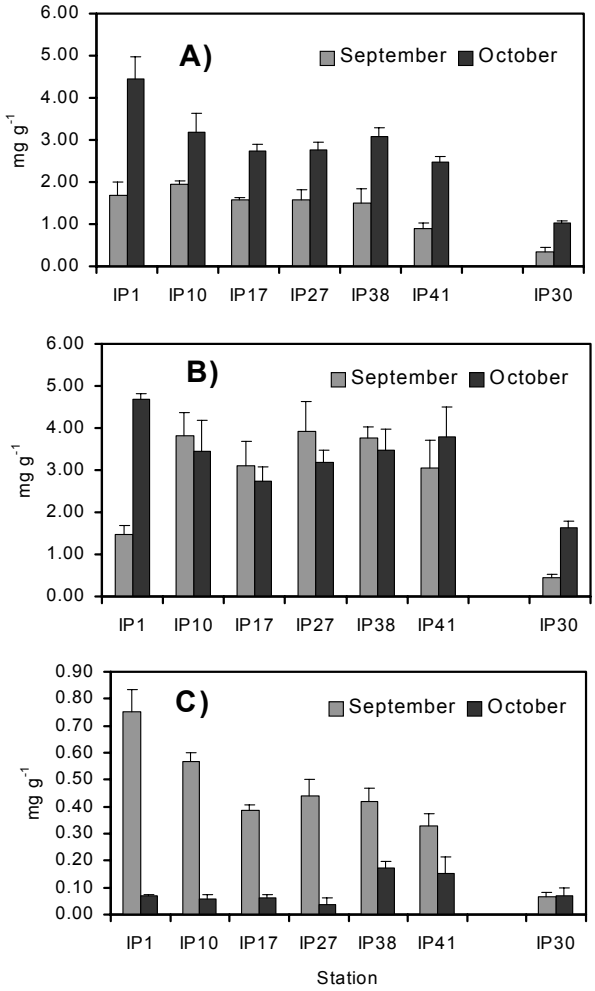


Fig. 2 – Spatial and temporal changes in protein (A), carbohydrate (B) and lipid (C) concentrations in the sediment of the Thermaikos Gulf before (September) and during (October) the trawling activity.

Variazioni spaziali e temporali delle concentrazioni di proteine (A), carboidrati (B) e lipidi (C) nei sedimenti del Golfo di Thermaikos prima (settembre) e durante (ottobre) la pesca a strascico.

Protein, carbohydrate and lipid concentrations in the sediment of the Thermaikos Gulf were comparable with values encountered in several meso- or eutrophic coastal sediments and sensibly higher than those reported for more oligotrophic areas (Tab. 1).

Tab. 1 – Comparison of protein (PRT), carbohydrate (CHO) and lipid (LIP) concentrations in marine sediments from different areas. If unspecified, data are relative to the top 1-cm layer of sediments.

Confronto tra le concentrazioni di proteine (PRT), carboidrati (CHO) e lipidi (LIP) in sedimenti marini di aree differenti.

Area	Water depth (m)	PRT mg g^{-1}	CHO mg g^{-1}	LIP mg g^{-1}	Authors
Baltic Sea	18	3.8-7.7	0.4-4.0	nd	Meyer-Reil, 1983
Adriatic Sea	15-40	0.5-4.0	0.1-0.9	0.03-0.3	Manini *et al.*, 2001
W-Med	10-20	0.5-2.6	0.9-4.2	0.01-0.66	Fichez, 1991
Ross Sea	36-223	1.9	5.3	0.2	Pusceddu *et al.*, 200
Tyrrhenian Sea	20-60	0.3-1.7	0.3-1.9	0.01-0.02	Fabiano & Danovaro, 1994 (*)
Ligurian Sea	4	0.05-1.62	0.28-3.59	0.08-1.07	Danovaro *et al*., 1994
Philippines	3	0.5-1.3	0.7-1.6	nd	Graf & Meyer-Reil, 1985 (**)
Ligurian Sea	10	0.02-0.04	0.18-0.58	0.06-0.23	Danovaro, 1993
Cretan Sea	40-1540	0.2-3.0	0.25-7.9	0.03-0.69	Tselepides *et al.*, 2000
Marsala lagoon	~1	2.2-12.1	0.8-70.5	0.3-4.5	Pusceddu *et al.*, 1999
Thermaikos G.	30-86	0.4-1.4	0.5-3.9	0.1-0.8	This study, before trawling
Thermaikos G.	30-86	1.0-4.5	1.6-4.7	0.1-0.2	This study, during trawling

The clear decreasing spatial pattern observed in September for the three measured parameters was likely to be related to the influence of the river discharge close to station IP01, which is also very close to the Thessaloniki port. However, such trophic status pattern of sediments rapidly disappeared in October, when even higher concentrations were observed at all stations for the three compounds. Such result, although probably biased by seasonal changes (as suggested by the similar temporal patterns in the impacted stations and at station IP30), could be related to the impact of resuspension due to the trawling activity. Such activity probably determined the reworking of deeper sediment layers, likely rich of organic compounds remained not degraded and possibly rich not only in structural carbohydrates but also in labile proteinaceous compounds. This hypothesis is strengthened by the clear increase of the protein to carbohydrate ratio values from September (before resuspension) to October (during trawling). A high protein to carbohydrate ratio (PRT:CHO) suggests the presence of organic matter deriving from primary production, freshly generated and, therefore, promptly available for benthic consumers (Fabiano *et al.*, 1995). This ratio ranges from lower than 0.1 in oligotrophic deep-sea sediments (500-2400 m depth in the Eastern Mediterranean Sea, Danovaro *et al.*, 1993) to higher than 10 in coastal Antarctic sediments (Pusceddu *et al.*, 2000). The clear increase of the ratio during the trawling activity, therefore, could be expected to produce a positive response by benthic consumers.

Even if data relative to the micro-benthic community structure are not yet available, preliminary data (Fiordelmondo, unpublished) indicate a decrease of nanobenthos abundance after sediment resuspension. Such discrepancy could be probably explained by a less important exploitation of available food due to the active removal of organisms from the sediment. However, more data are needed to accomplish such issue.

Results of a multivariate analysis (Fig. 3) indicate that trawling activity determined a clear increase in biopolymeric organic C concentrations but also a homogenisation of the entire basin, with the major exclusion of station 30, selected as a not-trawled area.

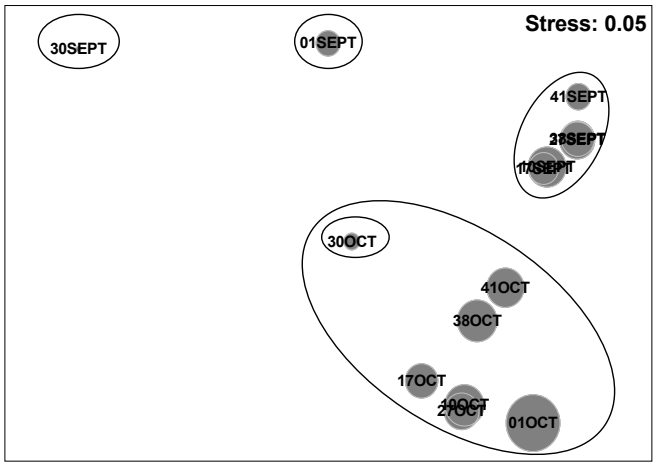


Fig. 3 – Multidimensional scaling plot of organic matter biochemical composition in the sediments of the Themraikos Gulf before (September) and during (October) trawling activity. Bubbles size is proportional to the biopolymeric organic carbon content (as sum of protein, carbohydrate and lipid carbon equivalents; Fabiano *et al.*, 1995).

Grafico MDS della composizione biochimica della sostanza organica sedimentaria nei sedimenti del Golfo di Thermaikos prima (settembre) e durante (ottobre) la pesca a strascico. La taglia delle bolle è proporzionale alla concentrazione del carbonio organico biopolimerico (come somma degli equivalenti in carbonio di proteine, carboidratie lipidi; Fabiano et al*., 1995).*

Sediment resuspension due to the intensive trawling activity in the investigated area exerted therefore a bi-directional effect on the trophic status of the sediments. On one hand, the increase of organic matter concentrations and of the protein to carbohydrate ratio values (i.e. OM nutritional value), probably as a result of reworking of deeper sediment layers and possibly due to lower consumption rates from removed organisms, determined a clear increase of the sediment trophic status. On the other hand, the intense resuspension of the sediment allowed a homogenisation of organic C content in the sediments by masking the possible trophic gradient imposed by the distance from the river discharge.

Riassunto

Al fine di valutare l'impatto della pesca a strascico sullo stato trofico dei sedimenti del Golfo di Thermaikos (Mar Egeo), campioni di sedimento raccolti in sette stazioni lungo un transetto N-S, prima (settembre 2001) e dopo (ottobre 2001) l'inizio delle attività di pesca, sono stati analizzati in termini di proteine, carboidrati e lipidi. I risultati dello studio dimostrano che la risospensione sedimentaria, indotta dall'attività di pesca a strascico, non solo gioca un ruolo importante sulla quantità e composizione biochimica del materiale organico e quindi sullo stato trofico dei sedimenti, ma anche sulla distribuzione spaziale del tenore organico totale.

References

BLIGH E.G., DYER W.J. (1959) - A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian J. Biochem. Physiol,.* **37**: 911-917.

DANOVARO R., FABIANO M., DELLA CROCE N. (1993) Labile organic matter and microbial biomasses in deep-sea sediments (Eastern Mediterranean Sea. *Deep Sea Res*., **40**: 953-965.

DANOVARO R., FABIANO M., BOYER M. (1994) - Seasonal changes of benthic bacteria in a seagrass (Posidonia oceanica) bed in relation to the origin, composition and fate of the sediment organic matter. *Mar. Biol*., **119**: 489-500.

DANOVARO R. (1993) - Analisi della dinamica e struttura trofica di comunità meiobentoniche in relazione al contenuto ed alla composizione della sostanza organica particellata (Mar Ligure). Tesi Dottorale, Università di Pisa: 246 pp.

DELL'ANNO A., MEI M.L., PUSCEDDU A., DANOVARO R. (2002) - Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Mar. Poll. Bull*., **44**: 611-622.

FABIANO M., DANOVARO R. (1994) - Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia*, **277**: 71-84.

FABIANO M., DANOVARO R., FRASCHETTI S. (1995) - Temporal trend analysis of the elemental composition of the sediment organic matter in subtidal sandy sediments of the Ligurian Sea (NW Mediterranean): a three years study. *Continental Shelf Res.,* **15**: 1453-1469.

FANNING K.A., CARDER K.L., BETZER P.R. (1982) - Sediment resuspension by coastal waters: a potential mechanism for nutrient re-cycling on the ocean's margins. *Deep Sea Res.*, **29**: 953-965.

FICHEZ R. (1991) - Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments: implications for the biogeochemical cycle of organic carbon. *Oceanol. Acta*., **14**: 369-377.

GERCHACOV S.M., HATCHER P.G. (1972) - Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limnol. Oceanogr.,* **17**: 938-943.

GIOVANARDI F., TROMELLINI.E. (1992) - Statistical assessment of trophic conditions. Application of the OECD methodology to the marine environment. In: R.A. Vollenweider, R. Marchetti and R. Viviani (eds), *Marine Coastal Eutrophication*: 211-234.

GOOSEN N.K., VAN-RIJSWIJK P., BROCKMANN U. (1995) - Comparison of heterotrophic bacterial production rates in early spring in the turbid estuaries of the Scheldt and the Elbe. *Hydrobiologia,* **311**: 31-42.

GRAF T.R., MEYER-REIL L.A. (1985) - Remineralization of organic substances on benthic surfaces in the intertidal reef off Mactan, Cebu, Philippines. *The Phillippine Scientist*, **22**: 42-46.

GRAF G. (1992) - Benthic-pelagic coupling: A benthic view. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.,* **30**: 149-190.

HARTNETT H.E., KEIL R.G., HEDGES J.I., DEVOL A.H. (1998) - Influence of oxygen exposure time on organic carbon preservation in continental margin sediments. *Nature,* **391**: 572–574.

HARTREE E.F. (1972) - Determination of protein a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.*, **48**: 422-427.

IGNATIADES L., KARYDIS M., VOUNATSOU P. (1992) - A possible method for evaluating oligotrophy and eutrophication based on nutrient concentration scales. *Mar. Poll. Bull.,* **24**: 238-243.

JORGENSEN B.B. (1996) - Material flux in the sediment. In: B.B. Jorgensen and K. Richardson (eds), *Eutrophication in coastal marine ecosystem*s, American Geophysical Union, Washington, D.C.: 115-135.

JUMARS P.A., PENRY D.L. (1989) - Digestion theory applied to deposit feeding. Ecology of Marine Deposit-Feeders, Lecture Notes a Coastal and Estuarine Studies. In: Lopez G, Tagon G, Levinton J (eds), Springer-Verlag, New-York: 114-128.

KARAGEORGIS A.P., ANAGNOSTOU C.L. (2001) - Particulate matter spatial-temporal distribution and associated surface sediment properties: Thermaikos Gulf and Sporades Basin, NW Aegean Sea, *Cont. Shelf Res*., **21**: 2141-2153.

MANINI E., FABIANO M., DANOVARO R. (2001) - Benthic response to mucilaginous aggragates in the norhtern Adriatic Sea: biochemical indicators of eutrophication. *Chemistry and Ecology,* **17**: 171-179.

MARSH J.B., WENSTEIN D.B. (1966) - A simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid. Res*., **7**: 574-576.

MEYER-REIL L.A. (1983) - Benthic response to sedimentation events in the Western Kiel Bight. II Analysis of benthic bacterial populations. *Mar. Biol.,* **77**: 247-256.

NIXON, S.W. (1995) - Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia,* **41**: 199-219.

OVERNELL J., EDWARDS A., GRANTHAM B.E., HARVEY S.M., JONES K.J., LEFTLEY J.W., SMALLMAN D.J. (1995) - Sediment-water column coupling and the fate of the spring phytoplankton bloom in Loch Linnhe a Scottish fjordic sea-loch. Sediment processes and sediment-water fluxes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.,* **41**: 1-10.

PILSKALN C.H., CHURCHILL J.H., MAYER L.M. (1998) - Resuspension of sediment by bottom trawling in the Gulf of Maine and potential geochemical consequences. *Conserv. Biol.,* **12**: 1223-1229.

PUSCEDDU A., SARÀ G., ARMENI M., FABIANO M., MAZZOLA A. (1999) - Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiologia*, **397**: 59-70.

PUSCEDDU A., DELL'ANNO A., FABIANO M. (2000) - Organic matter composition in coastal sediments at Terra Nova Bay (Ross Sea) during summer 1995. *Polar Biol*., **23**: 288-293.

PUSCEDDU A., DELL'ANNO A., DANOVARO R., MANINI E., SARÀ G., FABIANO M. (2003) - Enzymatically hydrolyzable protein and carbohydrate sedimentary pools as indicators of the trophic state of 'detritus sink' systems: a case study in a Mediterranean coastal lagoon. *Estuaries,* (in press).

SLOTH N.P., RIEMANN B., NIELSEN L.P., BLACKBURN T.H. (1996) - Resilience of pelagic and benthic microbial communities to sediment resuspension in a coastal ecosystem, Knebel Vig, Denmark. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **42**: 405-415.

TSELEPIDES A., DELL'ANNO A., POLYCHRONAKI T., AKOUMIANAKI I., MARRALE D., PUSCEDDU A., FABIANO M., DANOVARO R. (2000) - Organic matter composition of the continental shelf and bathyal sediments of the Cretan Sea (NE Mediterranean). *Progr Oceanor.,* **46**: 311-344.

VOLLENWEIDER R.A., GIOVANARDI F., MONTANARI G., RINALDI A. (1998) - Characterization of the trophic conditions of marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic Sea: Proposal for a trophic scale, turbidity and generalized water quality index. *Environmetrics,* **9**: 329-357.

WAINRIGHT S.C. (1987) - Stimulation of heterotrophic microplankton production by resuspended marine sediments. *Science,* **238**: 1710-1712.

WAINRIGHT S.C. (1990) - Sediment-to-water fluxes of particulate material and microbes by resuspension and their contribution to the planktonic food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **62**: 274-281.

ZURLINI G. (1996) - Multiparametric classification of trophic conditions. The OECD methodology extended: combined probabilities and uncertainties - application to the North Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.,* **182**: 169-185.

The present study is part of the project INTERPOL - Impact of natural and trawling events on resuspension, dispersion and fate of pollutants - financed by the EC (EVK3-2000-00023).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 351-356

R. Rossano, N. Ungaro[1], A. D'Ambrosio, G.M. Liuzzi[2], P. Riccio

Dipartimento di Biologia Difesa e Biotecnologie Agro-Forestali, Università della Basilicata,
Campus Macchia Romana - 85100 Potenza, Italia.
[1]Laboratorio Provinciale di Biologia Marina, Molo Pizzoli (Porto) - 70123 Bari, Italia.
[2]Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Bari - 70126 Bari, Italia.

DOSAGGIO DI ISTAMINA NELL'ACCIUGA *ENGRAULIS ENCRASICHOLUS* (L., 1758) MEDIANTE ELETTROFORESI CAPILLARE ZONALE: CONSIDERAZIONI DI INTERESSE BIOMEDICO E COMMERCIALE

DETERMINATION OF HISTAMINE IN ANCHOVIES ENGRAULIS ENCRASICHOLUS *(L., 1758) BY CAPILLARY ZONAL ELECTROPHORESIS: BIOMEDICAL AND COMMERCIAL CONSIDERATIONS*

Abstract

The levels of histamine in anchovies, Engraulis encrasicholus *(L.) were evaluated by using capillary zonal electrophoresis (CZE). Histamine was extracted quantitatively using 5% trichloroacetic acid and applied to CZE. The histamine peak appeared at a migration time of 4,94 min without any apparent interference. The same procedure was applied for other fish species such as Mediterranean hake, red mullet, garfish and horse mackerel. The method is simple, rapid, inexpensive and reliable. We also have assessed the influence of different temperature values on histamine formation in anchovies. Temperatures above 20 °C notably increased the histamine production, whereas freezing treatment clearly prevented or slowed the process down.*

Key-words: *histamine, capillary electrophoresis, fish.*

Introduzione

L'istamina è un'amina biogena normalmente presente nel nostro organismo in piccole quantità. Rappresenta un mediatore primario delle risposte allergiche ed é per tale motivo che talvolta le intossicazioni, causate da dosi elevate di istamina, vengono erroneamente diagnosticate come allergie alimentari (Halàsaz *et al*., 1994; Stratton *et al*., 1991). Per quanto riguarda i livelli di tossicità, quantità di istamina superiori a 500-1000 mg/Kg di prodotto sono considerati potenzialmente tossici per la salute umana. Il D.L. n° 531 del 30/12/1992, attuativo della Direttiva CEE 91/493, prevede che il valore medio di istamina di nove campioni prelevati da un lotto non debba superare i 100 mg/Kg, che due unità campionarie possano avere un tenore compreso fra i 100 e 200 mg/Kg e infine che nessun campione debba avere un tenore superiore ai 200 mg/Kg. Tali limiti si applicano solo ai pesci appartenenti all'ordine degli Sgombridi e Clupeidi non trattati con maturazione enzimatica in salamoia; in questo ultimo caso i tenori di istamina non devono superare il doppio dei valori precedentemente illustrati. La produzione di istamina é strettamente correlata con il contenuto di istidina nei pesci e con la presenza di batteri aventi attività istidina decarbossilasica. Questi ultimi infatti trasformano l'istidina e gli altri aminoacidi derivanti dalle proteine muscolari dei pesci post-mortem in istamina e in altre amine. In questo lavoro é stato condotto uno studio sulla determinazione del contenuto di istamina mediante elettroforesi capillare zonale su estratti da alici ottenuti con acido tricloroacetico (TCA) al 5%. E' stata inoltre valu-

tata l'influenza del tempo di congelamento e della temperatura di conservazione sulla produzione di istamina in diversi campioni di alici. L'analisi dell'istamina mediante elettroforesi capillare zonale si é rivelata molto utile anche per altri pesci quali: suro (trachuro), triglia, nasello ed aguglia.

Materiali e metodi

Alici

I campioni di alici analizzati sono stati forniti in parte dal Laboratorio di Biologia Marina di Bari (lotto BA) e in parte acquistati presso 5 punti di vendita siti nella città di Potenza (lotti C1-C5). Tutti i campioni al momento del prelievo erano mantenuti ad una temperatura compresa tra 4 e 8 °C. Subito dopo il trasporto (in ambiente refrigerato) presso i nostri laboratori, i campioni sono stati suddivisi in aliquote e conservati in parte a 4 °C ed in parte a –20 °C.

Istamina

Per l'allestimento della retta di taratura è stata usata come standard l'istamina idrocloruro acquistata dalla Fluka.

Elettroforesi capillare zonale (CZE)

Per i nostri esperimenti é stato usato l'apparecchio Bio Focus 2000 Capillary Electrophoresis System (Bio-Rad) munito di un detector UV. Le separazioni elettroforetiche sono state condotte utilizzando un capillare del tipo Coated silica capillary (50 μm ID, 46 cm lunghezza totale, 40 cm lunghezza effettiva, Bio-Rad) nelle seguenti condizioni sperimentali: tampone di corsa 100 mM fosfato di sodio, pH 2.5 (Bio-Rad); iniezione del campione nel capillare alla pressione di 20 psi/sec ottenuta mediante bombola di azoto; voltaggio di 15 kV; temperatura di 20 °C; polarità $+ \rightarrow -$; lunghezza d'onda: 210 nm. Dopo ogni corsa elettroforetica il capillare veniva sottoposto a due lavaggi di un minuto ciascuno, rispettivamente con acqua deionizzata e con il tampone di corsa.

Preparazione del campione

Primo estratto: Aliquote di 10 g di alici (eviscerate, decapitate e spinate) sono state omogenate in Waring-Blendor con 50 ml di TCA al 5% a temperatura ambiente per 3 minuti e l'omogenato centrifugato a 48000 × g per 6 minuti a 4 °C. Secondo estratto: Il residuo ottenuto dopo la prima estrazione e la centrifugazione, è stato sottoposto ad una seconda estrazione con 25 ml di TCA al 5% nelle stesse condizioni descritte in precedenza. Aliquote da 2 ml dei due sovranatanti sono state diluite in rapporto di 1:1 con il tampone 10 mM fosfato di sodio pH 2.5, filtrata su filtri Sartorius Minisart (0.2 μm) ed analizzate alla CZE.

Risultati

Dosaggio dell'istamina nelle alici

L'analisi dei due sovranatanti alla CZE ha mostrato la presenza di istamina solo nel primo estratto. In Fig. 1 è mostrato l'elettroferogramma relativo all'estratto di alici in TCA. Come si può osservare il picco relativo all'istamina appare in una regione dell'elettroferogramma privo di picchi interferenti. Il riconoscimento del picco è stato

effettuato osservando l'incremento che si otteneva in seguito all'aggiunta di uno standard di istamina pura. Il tempo di migrazione dell'istamina è risultato essere molto riproducibile (4.84 ± 0.12 min), con un coefficiente di variazione pari a 2.5%. La quantità di istamina è stata determinata mediante l'utilizzo di una retta di taratura. Per ogni campione sono state effettuate tre estrazioni, replicando due volte le analisi alla CZE per ogni estratto ottenuto. In Fig. 2 è mostrato l'andamento della formazione di istamina nel tempo in alici conservate a 4 °C. In tutti i campioni tranne nel BA a partire dal terzo giorno si osservava la presenza di istamina. Dopo cinque giorni la quantità di istamina in tutti i campioni era tanto elevata da superare la soglia critica delle 100 ppm.

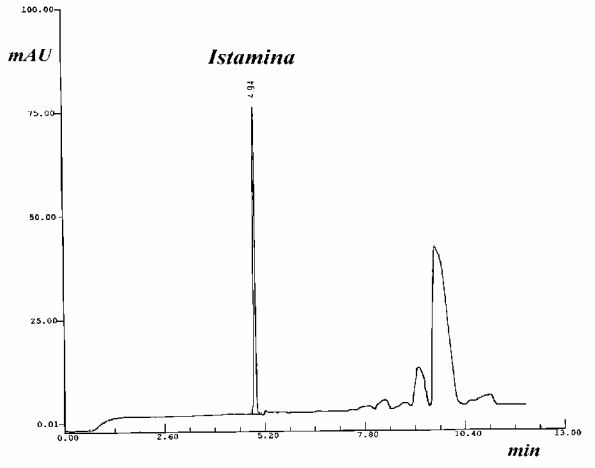


Fig. 1 – Elettroferogramma relativo all'estratto di alici.
Electropherogram of anchovies extract.

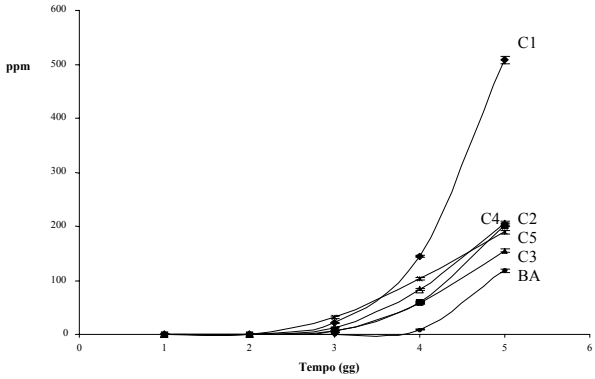


Fig. 2 – Formazione di istamina nel tempo in alici conservate a 4 °C.
Histamine formation in anchovies stored at 4 °C in function of time.

E' stato inoltre valutato l'effetto del tempo di congelamento sulla formazione dell'istamina (Fig. 3): aliquote del lotto C5 sono state conservate a –20 °C e mantenute a questa temperatura per tempi diversi, rispettivamente per 3, 7, 24, 72 ore, e 10 giorni al termine dei quali i diversi campioni sono stati conservati a 4 °C ed analizzati alla CZE. Come riferimento è stata utilizzata un'aliquota dello stesso lotto non sottoposta a congelamento e conservata a 4 °C. Come si può osservare nei campioni sottoposti a congelamento, la velocità di produzione dell'istamina risulta essere inferiore rispetto a quella del riferimento. In particolare, questo effetto risulta essere molto più evidente nei campioni che avevano subito un tempo di congelamento di almeno 7 ore. E' stato esaminato anche l'effetto della temperatura di conservazione sulla formazione di istamina in aliquote del lotto C1 mantenute a temperature di 4, 10, 20 e 30 °C. I campioni così conservati sono stati analizzati in doppio dopo 1, 3, 5, 8 e 24 ore. Nella Tab. 1 si può osservare che dopo otto ore, solo nel campione conservato a 30 °C, si poteva rilevare presenza di istamina. Dopo 24 ore è stata determinata una quantità di istamina superiore a 100 ppm nei campioni mantenuti a 20 e 30 °C. Per quanto riguarda invece il campione conservato a 10 °C, la quantità di istamina presente dopo 24 ore era notevolmente al di sotto della soglia critica, mentre non era determinabile nel campione conservato a 4 °C.

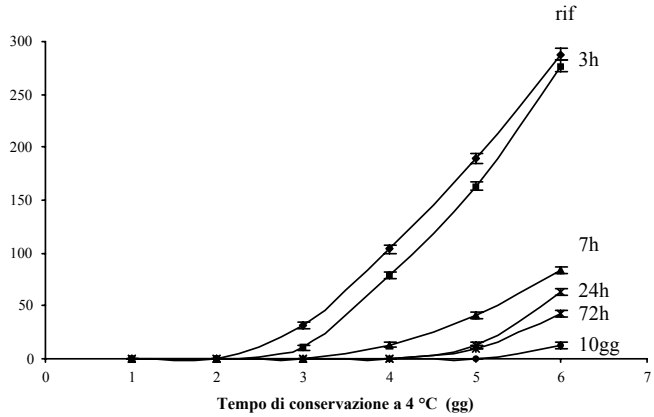


Fig. 3 – Influenza del tempo di congelamento sulla formazione di istamina nelle alici.
Influence of freezing time on the histamine formation in anchovies.

Tab. 1 – Influenza della temperatura di conservazione sulla formazione di istamina.
Influence of storage temperature on histamine formation.

	Tempo	**1 h**	**3 h**	**5 h**	**8 h**	**24 h**
Temperatura				**Istamina (ppm)**		
4 °C		0	0	0	0	0
10 °C		0	0	0	0	11.0 ± 2.8
20 °C		0	0	0	0	749.9 ± 10.2
30 °C		0	0	0	22.6 ± 2.9	1663.8 ± 19.3

Conclusioni

La presenza dell'istamina nei pesci è una delle principali cause delle intossicazioni alimentari che si possono avere in seguito al consumo di pesce non fresco. La produzione di istamina si può attribuire infatti alla decomposizione del pesce a causa del cattivo stato di conservazione, della temperatura e dei tempi di esposizione, tutti fattori che favoriscono la proliferazione di batteri contaminanti aventi attività istidina decarbossilasica. I pesci maggiormente coinvolti nelle intossicazioni appartengono all'ordine degli Sgombridi e dei Clupeidi al quale afferiscono le alici che, nel nostro Paese ed in particolare nell'Italia Meridionale, rientrano tra le specie ittiche maggiormente consumate sia per le loro caratteristiche organolettiche, particolarmente gradite, che per il loro basso costo. L'applicazione dell'elettroforesi capillare per il dosaggio dell'istamina nelle alici e in altri pesci, si è rivelata molto sensibile e ha permesso di apprezzare quantità di istamina dell'ordine di alcune ppm. Se confrontata con altre tecniche, solitamente utilizzate per il dosaggio dell'istamina, come l'HPLC in fase inversa, la procedura da noi utilizzata comporta una serie di vantaggi tra cui: l'assenza di lunghe procedure di derivatizzazione; tempi brevi di separazione e ridotte quantità di reagenti. Questa metodica mostra inoltre notevoli vantaggi rispetto alla procedura con elettroforesi capillare presentata da altri autori (Liao *et al.*, 1999) nella quale veniva utilizzato un altro tipo di capillare e del metanolo come solvente. Il metanolo infatti sembra essere meno efficace del TCA nella fase di estrazione ed è quindi meno adatto per un'analisi quantitativa dei livelli di istamina effettivamente presenti nel pesce. Inoltre il metanolo è più costoso del TCA e, a differenza di quest'ultimo, non elimina completamente le proteine, che potrebbero interferire durante l'analisi. Infine, con il nostro metodo siamo riusciti ad apprezzare quantità di istamina pari a 10 ppm nel campione di partenza, rispetto alle 25 ppm riportate nel lavoro di Liao et al. In conclusione, i risultati ottenuti hanno permesso di stabilire che: 1) Nei campioni di alici conservati a 4 °C, la presenza di istamina si può rilevare solo a partire dal terzo giorno di conservazione; 2) Il congelamento, superiore alle 7 ore, può servire a rallentare notevolmente la velocità di formazione dell'istamina dopo scongelamento e conservazione a 4 °C, e 3) Le temperature di conservazione al di sopra di 4 °C determinano un notevole aumento della velocità di formazione dell'istamina. Un altro aspetto degno di considerazione è che i risultati ottenuti dall'analisi del contenuto di istamina nelle alici sono sostanzialmente confermati dagli studi su altri pesci di largo consumo alimentare quali i suri (trachuri), le triglie, i naselli e le aguglie. Sulla base di queste osservazioni si può pensare che la determinazione dell'istamina nei pesci può servire a controllare il tempo trascorso dalla pesca (conoscendo le condizioni di conservazione) e, ove necessario, può servire a evitare la loro commercializzazione e quindi possibili casi di intossicazione nel consumatore.

Summary

Histamine production in fish is related to the histidine content, the presence of bacterial histidine decarboxylase and to environmental conditions. High histamine levels can induce symptoms that are similar to allergic reactions. The EU has established that 100 ppm represent the limit of acceptance of histamine levels in fish belonging to the Scombridae and Clupeidae families. The aim of our study was to determin the level of histamine in anchovies (*Engraulis encrasicholus).*We used both anchovies captured directly from the Adriatic Sea in the harbour near Bari and supplied by Laboratory of Marine Biology as well as anchovies purchased from five different fish markets in Potenza. Histamine was extracted using 5% Trichloroacetic acid (TCA) and the extracts were analyzed using a capillary zone electrophoresis (CZE). The phosphate buffer (pH 2.5) and UV detection (210 nm) were used for the run. The histamine peak appeared at migration time of 4.94 min without

any apparent interference. The same procedure was applied for other fish species such as Mediterranean hake, mullet, garfish and horse mackerel. The use of CZE for histamine analyses has several advantages: it is simple, rapid, inexpensive and reliable. We also have evaluated the influence of different storage temperature values on histamine formation in anchovies, and the influence of freezing in stopping or slowing down histamine formation. The results showed: 1) The histamine appears in anchovies only after 3 days at 4 °C; 2) freezing time longer than 7 days is important in reducing the rate of histamine production after thawing and storage at 4 °C and 3) histamine formation is strongly increased when storage temperature is higher than 4 °C. In conclusion, our procedure may be useful for determining the level of quality of the fish and to prevent its commercialisation when contamination is present. This in turn will prevent food poisoning due to the high histamine levels.

Bibliografia

HALÀSAZ A., BRÀTH SIMON-SARKADI, L., HALZAPFEL W. (1994) - Biogenic amines and their production by microorganism in food. *Trends Food Sci. Technol.,* **5**: 42-48.

LIAO W., PAEK H., MABUNI C., ANGOLD S., SOLIMAN M. (1999) - Use of capillary elctrophoresis with UV detection as a screening method to determine histamine in fish samples. *Journal of Chromatography B.,* **853**: 541-544.

STRATTON J.E., TAYLOR S.L. (1991) - Scombroid poisoning. In: Ward D., Hackney C. (eds), *Microbiology of Marine Food Products*, Spectrum, New York: 331-335.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 357-366

S. Segato, V. Giaccone[1], D. Gobbato[2], E. Novelli[1], R.M. Lopparelli, P. Catellani[1], S. Balzan[1], I. Andrighetto

Dip. di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Padova, Agripolis - 35020 Legnaro, Padova, Italia.
[1]Dip. di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università degli Studi di Padova, Agripolis - 35020 Legnaro, Padova, Italia.
[2]Amministrazione Comunale di Caorle - 30021 Caorle, Venezia, Italia.

INFLUENZA DELLA STAGIONE DI CATTURA SU CARATTERISTICHE BIOMETRICHE E NUTRIZIONALI DI CEFALOPODI PROVENIENTI DALL'ALTO ADRIATICO

INFLUENCE OF CAUGHT SEASON ON BIOMETRIC AND NUTRITIONAL TRAITS OF CEPHALOPODS FROM THE NORTH ADRIATIC SEA

Abstract

A study carried out in 2000/2001 on Cephalopod Molluscs from the North Adriatic sea by means of trawl surveys is described. Eledone moschata *Lam. (Cephalopoda Octopoda) and* Sepia officinalis *L. (C. Decapoda) biometric and chemical traits in relation to caught season were exploited as well as some marine water physical-chemical and microbiological parameters. Results showed a noteworthy effect of animal size (covariate animal weight) on the main biometric traits while the seasonal effect seems to be relevant on pH of arms and proximate composition of edible portion. Fatty acids composition was influenced by caught season only in* E. moschata.

Key-words*: cephalopod fisheries, quality, biometrics, composition, fatty acids.*

Introduzione

L'Alto Adriatico, nel tratto di mare antistante il litorale veneziano, risulta poco profondo (15-20 m) e riceve le acque di alcuni fiumi (dal Piave al Tagliamento) con elevato carico di nutrienti che stimolano lo sviluppo di un ecosistema marino complesso. Tra le tecniche di cattura che si sono ivi differenziate, molto diffusa è la pesca a strascico con reti a divergenti che opera essenzialmente sul fondale, spesso in aree note come *tegnùe*. Si tratta di ecosistemi costituiti da formazioni rocciose di origine clastica e biogena, il cui dinamismo trofico li rende adatti all'insediamento di varie specie di vertebrati ed invertebrati marini (Stefanon e Mozzi, 1972). Tra i molluschi cefalopodi principalmente catturati vi sono il moscardino rosso (*Eledone moschata* Lam.) e la seppia comune (*Sepia officinalis* L.), due prodotti ittici di notevole importanza economica per le marinerie dell'Alto Adriatico. Il "Moscardino di Caorle" è presente nella lista dei prodotti agro-alimentari tradizionali promossa dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali; entrambe le specie potrebbero essere oggetto di certificazione previe indagini conoscitive dell'influenza di fattori ambientali e tecnologici sulle loro caratteristiche qualitative. La qualità di un prodotto ittico di cattura dipende anche dal bacino idrografico di provenienza (Orban *et al*., 2002) e dalle modalità di cattura e successiva conservazione (Segato *et al*., 2002; Ruíz-Capillas *et al*., 2002). Il concetto di qualità include le caratteristiche biometriche, che influenzano direttamente la propensione all'acquisto, nonché le proprietà nutrizionali che, se valorizzate, possono divenire l'elemento chiave nella scelta del consumatore. In particolare, i prodotti ittici apportano acidi grassi polinsaturi a lunga catena della serie n-3, il cui ruolo positivo

nell'alimentazione umana è stato ampiamente documentato (Di Marco *et al*., 2001). La presente ricerca si è posta la finalità di valutare alcune caratteristiche morfometriche e nutrizionali di moscardino rosso e seppia comune provenienti dall'Alto Adriatico in relazione alla stagione di cattura; si sono inoltre analizzati alcuni parametri fisico-chimici delle acque marine interessate dallo studio.

Materiali e metodi

L'areale (dimensioni approssimative: 4 × 12 miglia marine) oggetto della ricerca è riportato in Fig. 1. In tale tratto di mare sono stati condotti tre rilievi nell'arco di una giornata, nei mesi di dicembre, aprile e luglio (2000/2001) a bordo di due motopescherecci attuanti la pesca con reti a strascico a divergenti. Per ciascun rilievo si sono analizzati alcuni parametri fisico-chimici e microbiologici delle acque (ad eccezione del rilievo di aprile) e raccolti campioni di moscardino rosso e di seppia comune.

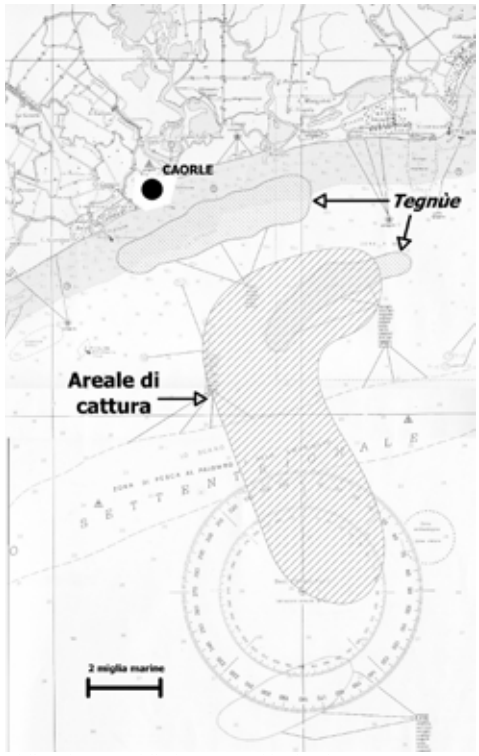


Fig. 1 – Cartografia dell'areale oggetto della ricerca, con evidenziate due *tegnùe*.
Map of the area involved in this research including two tegnùe.

Per quanto concerne le analisi delle acque, condotte a 4 m di profondità e ripetute ad intervalli di circa un'ora (n = 8), sono stati misurati temperatura, pH, ossigeno disciolto, conducibilità e salinità con sonda multiparametrica *Data Sonde 4* (Hydrolab); su campioni prelevati con campionatore di fondo si è proceduto a determinare in laboratorio i coliformi totali (CNR, 1983). In relazione alle tre stagioni di cattura, lo studio

ha interessato complessivamente 109 esemplari di moscardino (peso = 200 ± 112 g) e 88 di seppia (peso = 221 ± 86 g). Dopo il recupero della rete, la frazione commerciale comprendente i cefalopodi è stata separata, lavata con acqua di mare e riposta in contenitori con ghiaccio; dagli stessi sono stati prelevati campioni di moscardino e seppia rappresentativi della popolazione catturata nelle tre o quattro cale operate in circa 12 ore. Per le biometrie, si sono determinati lunghezza e peso totale, nonché quelli di mantello e braccia, dopo sezione lungo il margine superiore degli occhi. Previa asportazione delle componenti non muscolari (apparato gastroenterico, sacca del nero, conchiglia interna, rostro, occhi), si è proceduto a determinare la resa come rapporto tra il peso della residuante parte muscolare (porzione edibile) e quello totale. Il pH (24 ore *post mortem*) è stato determinato in corrispondenza delle estremità prossimali delle braccia con strumento dotato di elettrodo ad infissione. Per definire la composizione della porzione edibile (componenti muscolari), la stessa è stata macinata, liofilizzata e sottoposta ad analisi chimica; umidità, proteina grezza (N-Kjeldhal 6,25), estratto etereo (Soxhlet, etere dietilico) e ceneri sono state determinate secondo le metodiche AOAC (1990), mentre gli estrattivi inazotati sono stati calcolati come complemento a 100. Il valore energetico è stato dedotto dal metodo della termochimica alimentare, adottando dei coefficienti energetici corretti per il valore calorico fisiologico (Venturini, 1998). Previa estrazione dei lipidi (Folch *et al.*, 1957) della porzione edibile, è stato analizzato il contenuto in acidi grassi mediante analisi gas-cromatografica dei metilesteri ottenuti per trans-metilazione (Christie, 1982); i singoli acidi grassi identificati sono stati espressi come percentuale del totale di quelli rilevati. Il contenuto in colesterolo della porzione edibile è stato determinato mediante cromatografia HPLC (Casiraghi *et al.*, 1994). I dati relativi alle acque e ai cefalopodi sono stati sottoposti ad analisi della varianza, adottando modelli lineari sbilanciati che hanno considerato l'effetto della stagione di cattura e, per i secondi, il peso degli animali come variabile covariata. L'analisi statistica è stata realizzata con la procedura *General Linear Model* (GLM) del pacchetto statistico di SAS (1999).

Risultati

I dati relativi alle caratteristiche dell'acqua rilevati a 4 m di profondità nell'areale oggetto della ricerca sono riportati in Tab. 1; in particolare, la variabilità caratterizzante la determinazione dei coliformi totali (un solo campione positivo in estate, con valori pari a 10^4 UFC/ml) fa supporre come casuale il riscontro degli stessi nel campionamento di luglio.

In entrambe le specie l'influenza della covariata peso è risultata statisticamente significativa per tutte le caratteristiche biometriche considerate, ad eccezione della resa in porzione edibile (Tabb. 2 e 5). L'effetto della stagione di cattura è stato riscontrato in moscardino (Tab. 2). Per le dimensioni lineari, si è osservata la maggiore lunghezza totale nella stagione invernale, dovuta a un maggior sviluppo delle braccia a cui, per altro, non è associato un maggior peso; con riferimento alla massa, nel rilievo primaverile si è registrata la combinazione tra minor peso del mantello e maggior peso delle braccia. Anche la resa in porzione edibile (massa muscolare) è stata influenzata dalla stagione di pesca solo nel caso del moscardino, risultando in generale più elevata nella stagione fredda.

La misura del pH 24 ore *post mortem* ha mostrato valori oscillanti tra 5,6 e 5,9 per il moscardino (Tab. 3) e tra 6,2 e 6,4 per la seppia (Tab. 6), con un significativo effetto della stagione di pesca. Per il moscardino, si sono osservati i valori più bassi di pH

Tab. 1 – Parametri fisico-chimici e microbiologici dell'acqua marina dell'areale a 4 m di profondità.
Physical-chemical and microbiological parameters of sea water at 4 m of depth.

	RILIEVO			P	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO		
Temperatura (°C)	10,1	-	21,0	**	1,4
pH	8,0	-	7,8	ns	0,3
Ossigeno disciolto (mg/l)	11,8	-	11,1	ns	1,5
Conducibilità (mS/cm)	56,5	-	54,3	ns	11,2
Salinità (g/l)	34,1	-	34,8	ns	7,1
Coliformi totali (UFC/100 ml)	0	-	1250	ns	2500

ns = P>0,10; * = P<0,05; ** = P<0,01; DSR = Deviazione Standard Residua. *RSD = Residual Standard Deviation.*

Tab. 2 – Caratteristiche biometriche di moscardino in relazione alla stagione di cattura.
Biometric traits of musky octopus in relation to caught season.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE[2]	LUGLIO			
LUNGHEZZA (cm)						
Totale	36,8	33,9	34,3	*	0,0571 **	2,3
Mantello	10,7	10,4	10,7	ns	0,0135 **	0,8
Braccia	26,1	23,5	23,2	*	0,0433 **	2,0
PESO (g)						
Mantello	97,1	74,2	94,1	**	0,3307 **	9,5
Braccia	102,9	125,6	105,6	**	0,6693 **	10,5
PESO PORZIONE EDIBILE (g)						
Mantello	64,6	41,1	50,4	**	0,1754 **	8,6
Braccia	99,6	123,9	103,0	**	0,6714 **	9,9
RESA[1] (%)	81,8	78,8	75,7	**	0,0080	3,2

ns=P>0,10; *=P<0,05; ** = P<0,01; DSR=Deviazione Standard Residua; b=Coefficiente di regressione della covariata peso animali; [1]Rapporto tra porzione edibile e peso totale; [2]Valore medio riferito a soggetti di taglia molto variabile (peso 161±115 g).
RSD = Residual standard deviation; b=Regression coefficient of animals weight covariate; [1]Edible portion to total body weight ratio; [2]Mean due to variable size animals (161±115 g).

durante il rilievo invernale, mentre per la seppia si è riscontrato un risultato esattamente opposto, cioè i valori massimi in dicembre. In entrambe le specie, non si osserva una significativa variazione delle caratteristiche chimiche analizzate in relazione al peso degli animali (covariata peso). A riguardo della stagione di cattura, vi è per le due specie analizzate un simile significativo effetto sulla composizione centesimale e relativo contenuto energetico della porzione edibile, con valori minimi di estratto etereo e proteina grezza rispettivamente in inverno e primavera (Tabb. 3 e 6).

Tab. 3 – pH, composizione centesimale (g), valore energetico (kJ) e colesterolo (mg) di 100 g tal quali di porzione edibile di moscardino.
pH, proximate composition (g), energetic value (kJ) and cholesterol (mg) of 100 g wet weight of edible portion of musky octopus.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO			
pH (24 ore *post mortem*)	5,63	5,94	5,80	**	0,0002 †	0,05
COMP. CHIMICA (su 100 g tal quali)						
Umidità (g)	79,1	83,1	79,3	**	-0,0058	0,7
Proteina grezza (g)	16,1	13,1	16,1	**	0,0045	0,7
Estratto etereo (g)	0,4	0,6	0,6	**	0,0003	0,1
Ceneri (g)	2,2	1,9	2,3	**	-0,0004	0,1
Estrattivi inazotati (g)	2,2	1,3	1,7	**	0,0012	0,2
Valore energetico (kJ)	317	268	318	**	0,1023 †	12
Colesterolo (mg)	139	146	144	ns	0,0258	7

ns=P>0,10; †=P<0,10; **=P<0,01; DSR=Deviazione Standard Residua; b=Coefficiente di regressione della covariata peso animali.
RSD=Residual Standard Deviation; b=Regression coefficient of animals weight covariate.

Tab. 4 – Principali acidi grassi identificati (% sul totale) della porzione edibile di moscardino.
Main identified fatty acids (% of total) of edible portion of musky octopus.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO			
SATURI	26,6	28,0	30,1	*	0,0074	1,6
14:0	1,9	2,0	2,2	ns	-0,0014 †	0,2
16:0	16,0	16,0	17,5	ns	0,0082 †	1,4
18:0	7,1	8,2	8,5	**	0,0016	0,4
MONOINSATURI	12,9	12,6	16,1	*	-0,0042	1,5
18:1*n*-9	4,2	3,7	6,4	**	0,0004	1,0
18:1*n*-7	3,1	3,8	3,7	*	0,0001	0,3
20:1*n*-9	3,1	3,4	3,3	*	-0,0037 *	0,4
POLINSATURI	51,3	50,5	45,0	*	0,0050	2,8
20:4*n*-6	5,3	6,5	5,6	ns	0,0037	1,3
20:5*n*-3	17,7	19,5	16,1	*	0,0017	1,6
22:5*n*-3	1,2	2,0	1,5	*	0,0002	0,3
22:6*n*-3	23,6	20,6	19,6	**	0,0012	0,9
INSATURI/SATURI	2,11	2,05	1,95	ns	-0,0004	0,13
n-6/n-3	0,21	0,20	0,21	ns	0,0001	0,02

ns=P>0,10; †=P<0,10; *=P<0,05; **=P<0,01; DSR=Deviazione Standard Residua; b=Coefficiente di regressione della covariata peso animali.
RSD=Residual Standard Deviation; b=Regression coefficient of animals weight covariate.

Il contenuto di colesterolo non è variato a seconda della stagione di cattura; per 100 g di porzione edibile, esso è stato in media pari a 0,143 g in moscardino e 0,250 g in seppia. In riferimento a entrambe le specie, i dati sugli acidi grassi della porzione edibile evidenziano una prevalenza di 22:6*n*-3 o DHA, di 20:5*n*-3 o EPA, di 16:0 o palmitico, di 18:0 o stearico e di 20:4*n*-6 o arachidonico (Tabb. 4 e 7). Un simile profilo acidico si caratterizza per un rapporto tra insaturi e saturi pari in media a 2,03 e 2,05, mentre quello tra n-6 ed n-3 è pari a 0,20 e 0,12 rispettivamente in moscardino e seppia. L'effetto della covariata peso appare limitato a singoli acidi grassi. Solo in moscardino la stagione di cattura influenza, nel passaggio dal rilievo vernino-primaverile a quello estivo, il profilo acidico in termini di diminuzione dell'incidenza dei polinsaturi a favore sia dei saturi che dei monoinsaturi, coinvolgendo soprattutto DHA e oleico (Tab. 4).

Tab. 5 – Caratteristiche biometriche di seppia.
Biometric traits of cuttlefish.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO			
LUNGHEZZA (cm)						
Totale	24,0	20,9	23,4	ns	0,0552 **	3,6
Mantello	14,1	12,3	14,5	ns	0,0357 **	2,4
Braccia	9,9	8,6	8,9	ns	0,0192 **	1,6
PESO (g)						
Mantello	179,8	181,1	184,5	ns	0,8035 **	7,3
Braccia	40,5	41,0	38,3	ns	0,1871 **	7,6
PESO PORZIONE EDIBILE (g)						
Mantello	118,6	116,5	131,0	ns	0,5533 **	8,0
Braccia	39,1	39,4	36,9	ns	0,1912 **	7,3
RESA[1] (%)	74,3	70,9	75,3	ns	0,0155	2,9

ns = P > 0,10; ** = P < 0,01; DSR = Deviazione Standard Residua; b = Coefficiente di regressione della covariata peso animali; [1]Rapporto tra porzione edibile e peso totale.
RSD = Residual Standard Deviation; b = Regression coefficient of animals weight covariate; [1]Ratio of edible portion to total body weight.

Conclusioni

Le determinazioni biometriche hanno permesso di quantificare l'incremento ponderale e lineare di mantello e braccia in relazione alla taglia del soggetto: al progredire dello stadio di sviluppo il rapporto mantello/braccia risulta a favore delle seconde in moscardino (b = 0,67; P < 0,01) e del primo in seppia (b = 0,80; P < 0,01). In relazione a tale fenomeno, la combinazione tra minor peso del mantello e maggiore delle braccia, registrata nel periodo primaverile, è probabilmente da ricondurre al fatto che il valore medio deriva da dati riferiti a soggetti di taglia disomogenea (peso totale = 181±155 g), per cui la presenza nella popolazione campionata dei soggetti giovani ha concorso ad abbassare il peso medio del mantello, e quella degli adulti ad innalzare il peso

Tab. 6 – pH, composizione centesimale (g), valore energetico (kJ) e colesterolo (mg) di 100 g tal quali di porzione edibile di seppia.
pH, proximate composition (g), energetic value (kJ) and cholesterol (mg) of 100 g wet weight of the edible portion of cuttlefish.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO			
pH (24 ore *post mortem*)	6,40	6,20	6,21	**	-0,0002	0,09
COMP. CHIMICA (su 100 g tal quali)						
Umidità (g)	76,1	79,4	77,6	*	-0,0012	1,0
Proteina grezza (g)	19,6	17,2	18,1	†	-0,0020	1,1
Estratto etereo (g)	0,7	0,9	0,9	†	0,0002	0,1
Ceneri (g)	2,0	1,6	1,9	†	-0,0001	0,2
Estrattivi inazotati (g)	1,6	0,9	1,5	*	0,0007	0,3
Valore energetico (kJ)	378	341	369	*	0,0136	17
Colesterolo (mg)	252	256	242	ns	0,0711	21

ns=P>0,10; †=P<0.,10; *=P<0,05; **=P<0,01; DSR=Deviazione Standard Residua; b=Coefficiente di regressione della covariata peso animali.
RSD=Residual Standard Deviation; b=Regression coefficient of animals weight covariate.

Tab. 7 – Principali acidi grassi identificati (% sul totale) della parte edibile di seppia.
Main identified fatty acids (% of total) of edible portion of cuttlefish.

	RILIEVO			P	b	DSR
	DICEMBRE	APRILE	LUGLIO			
SATURI	28,9	29,6	32,1	ns	0,0078	2,0
14:0	2,6	2,3	2,2	ns	0,0011	0,6
16:0	18,3	18,7	19,8	ns	0,0045	1,4
18:0	6,2	6,9	8,2	ns	0,0029	1,1
MONOINSATURI	11,2	9,1	10,0	ns	-0,0111	2,3
18:1*n*-9	2,7	3,1	3,7	ns	0,0021	0,6
18:1*n*-7	3,5	2,1	2,3	ns	-0,0066	2,6
20:1*n*-9	2,0	1,9	2,0	ns	-0,0060 *	0,6
POLINSATURI	50,2	54,4	50,7	ns	0,0236	4,7
20:4*n*-6	2,6	4,0	2,2	*	0,0012	0,6
20:5*n*-3	16,3	18,3	17,7	ns	0,0071	1,3
22:5*n*-3	1,0	1,1	1,5	*	0,0015 *	0,2
22:6*n*-3	27,3	28,7	27,0	ns	0,0122	3,6
INSATURI/SATURI	1,98	2,20	1,98	ns	0,0001	0,30
n-6/n-3	0,13	0,13	0,10	†	0,0001	0,02

ns=P>0,10; †=P<0,10; *=P<0,05; DSR=Deviazione standard residua; b=Coefficiente di regressione della covariata peso animali.
RSD=Residual Standard Deviation; b=Regression coefficient of animals weight covariate.

medio delle braccia. In altri termini, in primavera, nella fascia costiera compresa tra 3 e 10 miglia al largo, coesistono forme giovanili ed adulte che migrano sotto costa per riprodursi; con l'avanzare della stagione calda, le prime si accrescono ulteriormente mentre gli adulti tendono a riguadagnare il largo (*habitus*). La resa in porzione edibile in moscardino è risultata significativamente minore in estate, a causa della maggior incidenza di organi di accumulo dell'energia di riserva, che non rientrano tra le porzioni considerate edibili. In inverno l'energia viene mobilizzata a vantaggio delle masse muscolari e il tenore lipidico intramuscolare si riduce significativamente passando dalla stagione calda a quella fredda. In seppia la resa non appare influenzata dalla stagione di cattura, anche se il minor valore osservato in aprile potrebbe essere associato allo sviluppo di organi deputati alla fase riproduttiva (ghiandole nidamentali).

A riguardo del pH, i valori riscontrati nelle due specie evidenziano un opposto andamento in relazione alla stagione di cattura. Il pH è un indicatore dell'evoluzione dei processi biochimici *post mortem*: valori relativamente elevati sono associati ad una intensa e precoce degradazione proteica, sia enzimatica che microbica, in relazione a diversi fattori (Ruíz-Capillas *et al*., 2002). In moscardino si conferma che in inverno le basse temperature ambientali favoriscono una migliore conservazione del prodotto, poiché è rallentata l'attività degli enzimi che presiedono ai processi la cui conseguenza è un accumulo di metaboliti alcalini. In seppia invece tendono a prevalere altri fattori, per cui è nella stagione fredda che si osservano i valori di pH più elevati. In proposito, la cattura con reti a strascico potrebbe essere causa in quest'ultima specie di maggior stress acuto, con notevole consumo delle riserve di glicogeno; nella stagione fredda, allorquando le riserve energetiche sono potenzialmente inferiori, il glicogeno residuale dopo cattura potrebbe dunque essere insufficiente a favorire un'adeguata discesa del pH a seguito della glicolisi anaerobica *post mortem.* Inoltre, i più elevati valori di pH osservati in inverno potrebbero essere ricondotti ad un significativo maggior contenuto di azoto non proteico con funzione tampone, come sembrerebbe indicare il più alto tenore in proteina grezza riscontrato in tale stagione (Tab. 6). I molluschi cefalopodi analizzati presentano una composizione centesimale in accordo con i dati riportati in letteratura (Balestrieri e Marini, 1996; Soriguer *et al*., 1997), ad eccezione dei lipidi (estratto etereo), il cui minor tenore potrebbe essere imputato anche al metodo analitico (Fjellanger *et al*., 2001). Ad eccezione dell'umidità, i rapporti relativi tra costituenti della centesimale tendono a rimanere costanti in relazione all'intervallo di taglia indagato; in proposito, Moltschaniwskyj e Jackson (2000) in una prova di allevamento di cefalopodi tropicali hanno riscontrato un simile risultato, tranne appunto una riduzione del tenore di umidità con il progredire dello stadio di sviluppo. Il significativo maggiore contenuto di umidità osservato in entrambe le specie nella stagione primaverile potrebbe quindi essere ricondotto alla maggiore incidenza di giovanili in attivo accrescimento. Nei due cefalopodi, il tenore di lipidi tende a ridursi significativamente in inverno, probabilmente per una minore disponibilità energetica e nutritiva della catena trofica marina, con conseguente mobilizzazione dei lipidi di riserva quali fonte energetica. Profilo acidico e colesterolo della porzione edibile appaiono in linea con la letteratura (Sinanoglou *et al*., 1998; Di Marco *et al*., 2001). In moscardino, si osserva un aumento del rapporto tra monoinsaturi e polinsaturi nella stagione fredda, quale probabile adattamento fisiologico. In condizioni di minimi termici, si osserva una significativa riduzione del rapporto 18:0/22:6*n*-3, con favorevoli ripercussioni sulla fluidità della membrane cellulari in termini di selettività e permeabilità (Higgs e Dong, 2000).

In conclusione, dallo studio emerge che il peso degli animali influisce quasi esclusivamente sulle caratteristiche biometriche, almeno entro l'intervallo di taglie analizzato,

mentre le variazioni stagionali dei parametri nutrizionali si osservano principalmente in moscardino rosso rispetto alla seppia comune.

Summary

A study about two Cephalopod Molluscs catch by trawl fishing in the North Adriatic sea in 2000/2001 was carried out to assess season effects on quality traits. The main physical, chemical and microbiological parameters of marine water were exploited too. Analysis on musky octopus (*Eledone moschata*) and cuttlefish (*Sepia officinalis*) took place in December, April and July and they considered morphometric traits, pH of arms and edible portion chemical composition. Data were submitted to ANOVA according to a linear model which considered animal weight as a covariate. For both species, most biometrics were significantly influenced by the animal weight. Caught season influenced biometrics only in musky octopus. Results evidenced in spring the greatest weight of the arms and the smallest one of the mantle, probably due to size heterogeneity of sample. pH (24 h *post mortem*) of arms was the lowest in winter for *E. moschata* and in summer for *S. officinalis*, depending on enzymatic activity and stress phenomena. Chemical composition, in both species, was significantly affected by caught season, except for cholesterol: there were the lowest content of lipids (ether extract) in winter and the highest of water in spring. Data about fatty acids composition of musky octopus showed decreasing levels of high unsaturated ones and rising of the saturated and monounsaturated ones from winter to summer, probably as a physiological adaptation. Resuming, this research pointed out that animal weight was determinant only on biometrics while seasonal variations on nutritional parameters were significant only in *E. moschata*.

Ringraziamenti

Si ringraziano i pescatori della marineria di Caorle e il personale della relativa Amministrazione Comunale per il supporto logistico e la collaborazione tecnica nella fase di esecuzione dei rilievi a bordo dei motopescherecci.

Bibliografia

AOAC (1990) - *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. In: Helrich K. (ed), published by The Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Inc., Arlington, Virginia, USA.: 1298 pp.

BALESTRIERI F., MARINI D. (1996) - *Metodi di analisi chimica dei prodotti alimentari*. Monolite ed., Roma, **2**: 858 pp.

CASIRAGHI E., LUCISANO M., POMPEI C., DELLEA C. (1994) - Cholesterol determination in butter by high performance chromatography. *Milchwissenschaft*, **49** (4): 194-196.

CHRISTIE W.W. (1982) - A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Res*., **23**: 1072-1075.

CNR (1983) - *Metodi di analisi delle acque di mare*. Schede n° 510.1, 520.1 e 530.1. Quaderno n. 59. Istituto di Ricerche sulle Acque, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma.

DI MARCO P., FERRANTE I., CATAUDELLA S., RANIERI C., RICCI R., PASSI S., COCCHI M., LITTARRU G. (2001) - Contenuto in acidi grassi polinsaturi ω 3 e antiossidanti in pesci, crostacei e molluschi marini del mar Tirreno. *Progress in nutrition,* **3** (2): 39-45.

FJELLANGER K., OBACH A., ROSENLUND G. (2001) - Proximate analysis of fish with special emphasis on fat. In: Kestin S.C., Warriss P.D. (eds), *Farmed Fish quality*, Fishing New Book, Oxford: 307-315.

FOLCH J., LEES M., SLOANE-STANLEY G.H. (1957) - Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**: 497-509.

HIGGS D.A., DONG F.M. (2000) - Lipids and fatty acids. In: Tickney. R.R. (ed), *Encyclopedia of Aquaculture,* Wiley & Sons, Inc., New York: 476-496.

MOLTSCHANIWSKYJ N.A., JACKSON G.D. (2000) - Growth and tissue composition as a function of feeding history in juvenile Cephalopods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **253**: 229-241.

ORBAN E., DI LENA G., NEVIGATO T., CASINI I., MARZETTI A., CAPRONI R. (2002) - Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry*, **77**: 57-65.

RUÍZ-CAPILLAS C., MORAL A., MORALES J., MONTERO P. (2002) – Characterisation of the non-protein nitrogen in the Cephalopods volador (*Illex coindetii*), pota (*Todaropsis eblanae*) and octopus (*Eledone cirrhosa*). *Food Chemistry*, **76**: 165-172.

SAS (1999) - *User's guide: statistics*. Version 8.00 Ed., Statistical Analysis System Institute. Cary, NC.

SEGATO S., CATELLANI P., LOPPARELLI R.M., GOTTARDO F., COZZI G., BALZAN S., ANDRIGHETTO I. (2002) - Evoluzione del pH e delle caratteristiche colorimetriche di molluschi cefalopodi refrigerati. *Atti Società Italiana Scienze Veterinarie*, **56**: 469-470.

SINANOGLOU V.J., MINIADIS-MEIMAROGLOU S. (1998) - Fatty acid of neutral and polar lipids of edible Mediterranean cephalopods. *Food Research International*, **31**: 467-473.

SORIGUER F., SERNA S., VALVERDE E., HERNANDO J., MARTIN-REYES A., SORIGUER M., PAREJA A., TINAHONES F., ESTEVA I. (1997) - Lipid, protein and calorie content of different Atlantic and Mediterranean fish, shellfish and molluscs commonly eaten in the South of Spain. *European J. of Epidemiology*, **13**: 451-463.

STEFANON A., MOZZI C. (1972) - Esistenza di rocce organogene nell'Alto Adriatico al largo di Chioggia. *Atti Ist. Veneto Sc. Lettere ed Arti*, **130**: 495-499.

VENTURINI M. (1998) - *Manuale di dietologia*. Editoriale Italiana, Roma: 523 pp.

Ricerca finanziata dall'Amministrazione Comunale di Caorle (VE).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 367-373

P.G. Giulianini, R. Mettulio, S. Lorenzon, E.A. Ferrero, P. Edomi

BRAIN - Centro per le Neuroscienze, Dipartimento di Biologia, Università di Trieste,
Via L. Giorgieri, 9 - 34127 Trieste, Italia.

GLI ORMONI CHH (IPERGLICEMIZZANTI DEI CROSTACEI) E GIH (GONADO-INIBITORIO) NEL CICLO RIPRODUTTIVO DEI DECAPODI: UN APPROCCIO MOLECOLARE

THE CHH (CRUSTACEAN HYPERGLYCAEMIC HORMONES) AND GIH (GONAD INHIBITING HORMONE) HORMONES IN THE DECAPOD REPRODUCTIVE CYCLE: A MOLECULAR APPROACH

Abstract

In order to study the complex role of the neuropeptides crustacean hyperglycaemic hormone (cHH) and gonad inhibiting hormone (GIH) hormones in physiology of the crustaceans, we adopted a molecular approach. We cloned the cHH and GIH cDNAs of the Norway lobster Nephrops norvegicus *and produced in bacteria the relative recombinant protein. With specific polyclonal antibodies immunocytochemical studies were carried out in N. norvegicus and in other crustaceans. Mutagenesis of conserved amino acids impaired the hyperglycaemic activity of recombinant cHH.*

Key-words: *marine crustaceans, hormone, reproduction, cloning, molecular biology.*

Introduzione

L'importanza delle strutture neuroendocrine, situate all'interno dei peduncoli oculari dei crostacei, sullo sviluppo delle gonadi è stata rilevata per la prima volta da Panouse nel lontano 1946 in *Palaemon serratus*. Negli ultimi anni l'approccio biochimico è stato affiancato da metodologie molecolari che hanno portato al clonaggio dei cDNA dei geni espressi nel principale sistema neuroendocrino presente nel peduncolo oculare: il complesso organo X - ghiandola del seno. La letteratura recente ha messo in evidenza il ruolo degli ormoni iperglicemizzanti (cHH) e gonado-inibitorio (GIH) sul ciclo riproduttivo biennale dell'astice *Homarus americanus*: l'isoforma cHH-B ha effetto gonadotropico contrapposto al GIH (de Kleijn *et al.*, 1998; de Kleijn e van Herp, 1998). Gli ormoni cHH sono inoltre implicati nelle reazioni allo stress dei decapodi (Lorenzon *et al.*, 1997; Chang *et al.*, 1998; Stentiford *et al.*, 2001). Questi neurormoni sono costituiti da un peptide segnale, un peptide precursore (nel caso del cHH) e dal peptide maturo di circa 8 KDa. Gli ormoni appartenenti alla famiglia cHH/MIH/GIH presentano un'omologia di sequenza del 70-90%; in particolare, tutti gli ormoni possiedono, a livello del peptide maturo, 6 cisteine in posizioni conservate (Lacombe *et al.*, 1999). Le differenze di sequenza tra i singoli neuropeptidi riflettono una diversa funzione biologica; quelle maggiori si riscontrano tra cHH e GIH che hanno un ruolo antagonista nella maturazione delle gonadi. La nostra ricerca si è focalizzata su *Nephrops norvegicus*, specie di notevole interesse economico. E' stata descritta l'ultrastruttura funzionale della ghiandola del seno (Giulianini *et al.*, 1998), sono stati clonati i cDNA parziale del cHH-A (Giulianini *et al.*, 2002) e completo del GIH (Edomi *et al.*, 2002) e sono stati prodotti anticorpi specifici a partire dalle rispettive proteine ricombinanti. Le proteine ricombinanti e i loro anticorpi hanno il vantaggio di essere prodotti in grande quantità e di essere funzionali e cross-reattivi con i corrispettivi neuropeptidi di altri taxa di crosta-

cei. Essi, dunque, permettono lo studio dell'espressione e della funzionalità di questi importanti modulatori della riproduzione, della crescita e delle reazioni agli stressogeni ambientali anche in altre specie.

Materiali e metodi

Mediante tecniche di retrotrascrizione e reazione di amplificazione a catena della polimerasi (RT-PCR) e amplificazione rapida dell'estremità di cDNA (RACE) sono stati clonati i cDNA degli ormoni iperglicemizzante, *Nen*cHH, e inibitore delle gonadi, *Nen*GIH, dello scampo *N. norvegicus* (Fig. 1). Mediante FASTA (Embl) sono state calcolate le percentuali di omologia aminoacidica con neurormoni della stessa famiglia di altre specie. Le percentuali più elevate si riscontrano con i peptidi della specie filogeneticamente più vicina, *H. americanus*. Le porzioni degli ormoni relative al peptide maturo sono state espresse in batteri fuse alla proteina glutatione S transferasi (GST); queste proteine ricombinanti sono state utilizzate per la produzione di antisieri policlonali di coniglio che sono stati purificati mediante cromatografia di affinità (Fig. 1). Gli anticorpi policlonali ottenuti sono stati utilizzati per analizzare l'espressione dei neurormoni cHH e GIH in *N. norvegicus* con tecniche immunoistochimiche (Edomi *et al.*, 2002; Giulianini *et al.*, 2002). L'anticorpo anti-GIH mostra una localizzazione più dispersa nell'organo di accumulo, la ghiandola del seno (GS) (Edomi *et al.*, 2002). L'anticorpo anti-cHH invece evidenzia una distribuzione massiva dell'ormone cHH a livello della GS ed individua i neuroni che lo sintetizzano nell'organo X (OX, Fig. 2) (Giulianini *et al.*, 2002). Per valutare il riconoscimento di peptidi cHH anche in altre specie di decapodi, l'anticorpo è stato saggiato su *Astacus leptodactylus, Munida rugosa, Palaemon elegans* e lo stomatopode *Squilla mantis*, individuando in tutti casi una reattività specifica e senza rumore di fondo (Giulianini *et al.*, 2002).

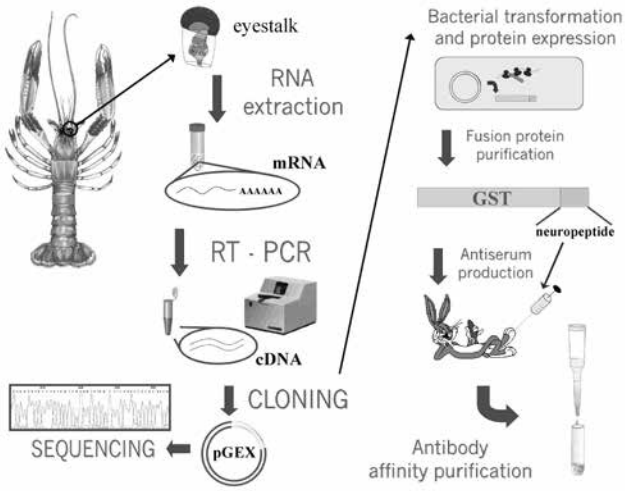


Fig. 1 – Metodologia di produzione e purificazione degli anticorpi anti-*Nen*cHH e anti-*Nen*GIH a partire dal tessuto neuroendocrino peduncolare di *Nephrops norvegicus*.

*Method of production and purification of anti-*Nen*cHH and anti-*Nen*GIH antibodies from the neuroendocrine eyestalk tissue of* Nephrops norvegicus.

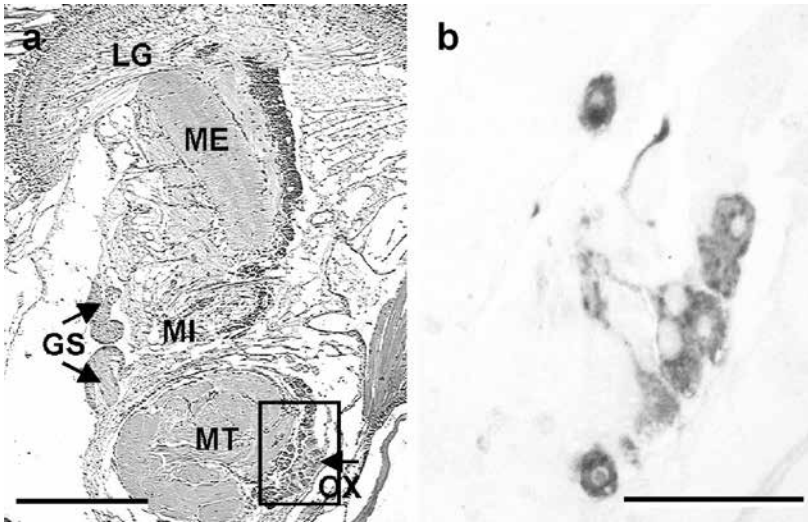


Fig. 2 – a) Sezione longitudinale di peduncolo oculare di *Nephrops norvegicus*. Barra di calibrazione = 500 µm, ematossilina-eosina. Sono presenti i gangli visivi (lamina ganglionaris, LG; medulla externa, ME; medulla intermedia, MI; medulla terminalis, MT) e il complesso neuroendocrino organo X (OX) – ghiandola del seno (GS). b) Ingrandimento dell'organo X (indicato incorniciato in a) in cui sono evidenziati, con colorazione immunoperossidasica, i neuroni reattivi all'anticorpo anti-*Nen*cHH. Barra di calibrazione = 100 µm.

a) Longitudinal section of the eyestalk of Nephrops norvegicus*. Calibration bar = 500 µm, haematoxylin-eosin. The eye ganglia (lamina ganglionaris, LG; medulla externa, ME; medulla intermedia, MI; medulla terminalis, MT) and the X organ (OX) – sinus gland (GS) complex are present. b) Higher magnification of X organ (boxed in a) showing perikarya positive to anti-*Nen*cHH antibody by means of immuno-peroxidase staining. Calibration bar = 100 µm.*

Per identificare altri neurormoni della famiglia cHH/MIH/GIH abbiamo costruito una genoteca di cDNA a partire dai gangli del peduncolo oculare. Il vaglio di 500.000 cloni della genoteca con il cDNA parziale del cHH ha portato all'isolamento di due cloni positivi: uno (di 1489 bp) codifica per il preproormone cHH-A e l'altro (di 1874 bp) codifica per il preprormone cHH-B di *N. norvegicus*. Si sta inoltre procedendo ad esperimenti di mutagenesi del *Nen*cHH, cioè di sostituzione di residui aminoacidi in posizioni ritenute chiave per la funzionalità dell'ormone. I mutanti puntiformi ottenuti vengono espressi in batteri e la proteina ricombinante saggiata *in vivo* su esemplari di *Palaemon elegans* (ad una concentrazione finale nell'emolinfa di 10^{-8}M) precedentemente epeduncolati per eliminare la sorgente endogena di cHH. Gli animali sono stati mantenuti durante la fase sperimentale in vaschette da 20 L con acqua di mare sintetica al 36‰ di salinità, 16 °C di temperatura e fotoperiodo naturale. Il prelievo di emolinfa è stato eseguito dal seno pericardico con una siringa da 1 mL. 50 µL di emolinfa sono stati prelevati a 0 h, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 24 h dopo l'iniezione del neuropeptide ricombinante. Per ogni gruppo sperimentale sono stati utilizzati 10 animali ependucolati. La misura della glicemia è stata eseguita con il reflettometro OneTouch® II Meter (Lifescan) e kit di test strips commerciali. Nei risultati, le variazioni di glicemia sono espresse come media di: (valore sperimentale rilevato/valore rilevato nello

stesso animale al tempo 0 h) –1. In seguito tali valori sono definiti come incrementi (o decrementi se al di sotto del valore 0).

Risultati

Saggi in vivo

La proteina ricombinante GST-*Nen*cHH è stata utilizzata per saggiare *in vivo* la sua attività iperglicemica. A seguito dell'iniezione dell'ormone in animali epeduncolati si sono misurati i valori della glicemia. La specie *P. elegans* è stata scelta come modello animale. In particolare, in questa specie l'anticorpo anti-*Nen*cHH è in grado di immunoprecipitare un fattore iperglicemico presente negli estratti dei peduncoli oculari che una volta iniettati *in vivo* non sono più in grado di provocare un innalzamento della glicemia a dimostrazione della specificità dell'anticorpo e della somiglianza di almeno alcuni epitopi dei cHH delle due specie (Giulianini *et al.*, 2002).

Mutagenesi

E' nota la notevole importanza che i ponti disolfuro hanno nella struttura e, quindi, nella funzione dei polipeptidi. La famiglia di neuropeptidi cHH/MIH/GIH è caratterizzata da 6 cisteine altamente conservate (Lacombe *et al.*, 1999). Si è proceduto alla generazione di forme mutanti dell'ormone cHH: tramite mutagenesi per PCR sono state sostituite le cisteine in posizione 26 e 43 e l'asparagina in posizione 28 con altrettante serine nonché l'aspartico in posizione 12 con una asparagina, e gli ormoni mutanti sono stati ottenuti per via ricombinante fusi a GST. Nella Fig. 3 vengono messe a confronto le sequenze aminoacidiche del *Nen*cHH selvatico e quelle dei mutanti (rcHHasp12, rcHHcys3, rcHHasn28, rcHHcys5) saggiati *in vivo*.

```
          1         10        20        30        40        50        60        70
NencHH    QVFDQACKGVYDRNLFKKLDRVCEDCYNLYRKPFVATTCRENCYSNRVFRQCLDDLLLIDVIDEYVSSVQMVGK
asp12     QVFDQACKGVYNRNLFKKLDRVCEDCYNLYRKPFVATTCRENCYSNRVFRQCLDDLLLIDVIDEYVSSVQMVGK
asn28     QVFDQACKGVYDRNLFKKLDRVCEDCYSLYRKPFVATTCRENCYSNRVFRQCLDDLLLIDVIDEYVSSVQMVGK
cys3      QVFDQACKGVYDRNLFKKLDRVCEDSYNLYRKPFVATTCRENCYSNRVFRQCLDDLLLIDVIDEYVSSVQMVGK
cys5      QVFDQACKGVYDRNLFKKLDRVCEDCYNLYRKPFVATTCRENSYSNRVFRQCLDDLLLIDVIDEYVSSVQMVGK
```

Fig. 3 – Sequenze aminoacidiche dei neurormoni ricombinanti saggiati *in vivo*. Nella prima riga è indicata la sequenza dell'ormone selvatico cHH di *Nephrops norvegicus*; di seguito le sostituzioni dell'acido aspartico (posizione 12), asparagina (28), della terza (26) e della quinta cisteina (43).

Amino acid sequences of recombinant neuro-hormones assayed in vivo*. In the first line the sequence of wild cHH of* Nephrops norvegicus *is shown, below are indicated the substitution of aspartic acid (position 12), asparagine (position 28), and of third (26) and fifth (43) cysteine.*

L'effetto fisiologico, visualizzato come andamento temporale della glicemia emolinfatica in *P. elegans,* dopo iniezione dell'ormone ricombinante selvatico e delle 4 forme mutanti rispetto alla soluzione salina di controllo è mostrato in Fig. 4. L'aumento di glicemia massimo si riscontra dopo 2 h dall'iniezione della proteina di fusione selvatica *Nen*cHH, mentre i 4 ormoni mutati presentano un'attività iperglicemizzante significativamente minore rispetto al *Nen*cHH selvatico ($p < 0.01$) ma maggiore (a 1 h e 2 h) della salina di controllo. In particolare, l'rcHHasp12 mostra l'effetto iperglicemico maggiore e (a 1 h, 2 h e 4 h) significativamente differente da quello della salina di controllo ($p < 0.05$).

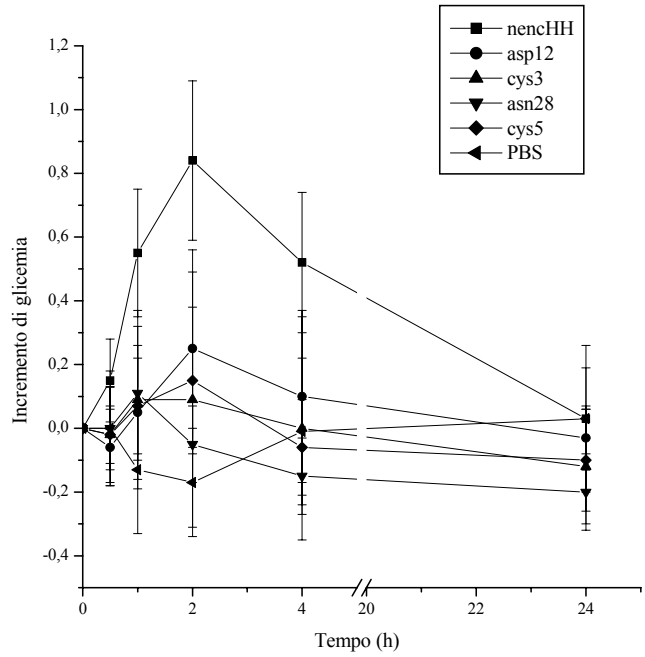


Fig. 4 – Risposta glicemica, nelle 24 h, in *Palaemon elegans* epeduncolati iniettati con l'ormone selvatico, i tre ormoni mutati come illustrato in Fig. 3 e la soluzione salina sterile (PBS) di controllo. I valori sono espressi come media ± deviazione standard, n = 10.

Time course of blood glucose in eyestalk-ablated Palaemon elegans *injected with the wild type hormone, the 3 mutant hormones showed in Fig. 3 and the sterile saline buffer (PBS) as control. Values are expressed as means ± standard deviation, n = 10.*

Conclusioni

Gli esperimenti iniziali di Panouse (1946) dimostrarono che l'ablazione dei peduncolari oculari poteva innescare in *Palaemon serratus* una crescita dell'ovario nelle femmine calcolato come indice gonado somatico (rispetto al cubo della lunghezza dell'animale). Inoltre lo stesso autore aveva già individuato, mediante esperimenti di espianto-reimpianto, la ghiandola del seno come sito di accumulo e rilascio del fattore di inibizione della vitellogenesi. Lavori più recenti hanno messo in luce che l'espianto della ghiandola del seno rimuove l'ormone di inibizione delle gonadi (GIH) così come l'ormone inibitorio della muta (MIH) e gli ormoni iperglicemizzanti dei crostacei (cHH) che sembrano avere, almeno nei decapodi, un ruolo nell'innesco della vitellogenesi (Tensen *et al.*, 1989; de Kleijn *et al.*, 1998; de Kleijn e van Herp, 1998). Gli strumenti molecolari odierni permettono di produrre grandi quantità di ormoni ricombinanti ed i corrispettivi anticorpi. Tali sonde potranno essere usate in futuro per modulare finemente la condizione riproduttiva di stock di riproduttori in impianti di acquacoltura, come già avviene per i pesci. Il nostro approccio ha permesso di clonare i geni per i cHH ed il GIH di *N. norvegicus*, di produrre le relative proteine ricombinanti ed i relativi anticorpi che sono stati saggiati su altre specie di decapodi e su uno stomatopode (Edomi *et al.*, 2002; Giulianini *et al.*, 2002). Si è, inoltre, proceduto ad

esperimenti di mutagenesi del cHH, cioè di sostituzioni di residui aminoacidi in posizioni ritenute chiave per la funzionalità dell'ormone, che è stato poi saggiato *in vivo* per il suo effetto iperglicemizzante sul gamberetto *P. elegans*. La proteina di fusione GST-*Nen*cHH è in grado di provocare un innalzamento della glicemia analogamente all'azione di estratti peduncolari omologhi contenenti la forma endogena dell'ormone. Invece i mutanti puntiformi dei residui di cisteina non causano alcun effetto iperglicemico. La formazione di ponti disulfuro intracatenari al neuropeptide risulta quindi fondamentale per il mantenimento della configurazione tridimensionale e della funzionalità del cHH.

Tutti gli altri mutanti hanno evidenziato un effetto iperglicemico ridotto e, comunque, sempre considerevolmente minore rispetto all'aumento della glicemia tipicamente indotto dal cHH ricombinante selvatico. La continuazione con esperimenti di mutagenesi casuale sul *Nen*cHH e sul *Nen*GIH potrebbe consentire di produrre ormoni ricombinanti che abbiano un'efficienza maggiore o una funzione diversa, propria di altri neuropeptidi della famiglia cHH/MIH/GIH, rispetto alle forme presenti in natura. Questi ormoni, in combinazione con il blocco della funzionalità di altri fattori mediante anticorpi, potrebbero essere utilizzati in prove di manipolazione ormonale di riproduttori.

Summary

The crustacean hyperglycaemic hormone (cHH) and the gonad-inhibiting hormone (GIH) belong to a neuropeptide family synthesized and released in a neurohaemal complex of crustacean eyestalks. In order to study the complex role of these hormones in physiology, gonad maturation, reproduction, and molting, we adopted a molecular approach. With a combination of RT-PCR and RACE techniques we cloned the cHH and GIH cDNAs of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. The deduced open reading frames code for polypeptides showing an high percent of identity (94-96%) with the other known cHH and GIH of *Homarus americanus*. For each neuropeptide a specific polyclonal antibody was raised against a portion of the mature peptide region obtained through expression in *E. coli* fused to GST (glutathione-S-transferase). To validate the specificity to *N. norvegicus* cHH and GIH, and the cross-reactivity with other species of the affinity-purified antibody, we performed standard immunocytochemistry of the eyestalk on sections of the decapod species *N. norvegicus*, *Munida rugosa*, *Astacus leptodactylus* and of the stomatopod *Squilla mantis*. These immunocytochemical studies locate GIH in superficial axon terminals of the releasing organ, the sinus gland, whereas the cHH shows a heavy distribution; the anti-cHH labels precisely the synthesizing X organ. Then recombinant proteins were used to perform biological assays in the animal model *Palaemon elegans*. The wild-type form of cHH has an hyperglycaemic activity comparable to that of eyestalk extracts. Mutant forms of cHH, produced by substitution of highly conserved amino acids (e.g. cysteins), were not able to induce hyperglycaemia *in vivo*. Therefore, the cDNA cloning and the subsequent production of recombinant proteins and the relative antibodies provide molecular tools to analyze and manipulate the function of neuropeptides in Crustaceans.

Ringraziamenti

Si ringraziano la Dott.ssa Nicoletta Pandolfelli e la Dott.ssa Elisabetta Azzoni per il valido contributo critico ed il Sig. Claudio Gamboz (Centro Servizi Polivalenti di Ateneo – Università di Trieste) per l'utile assistenza tecnica.

Bibliografia

CHANG E.S., KELLER R., CHANG S.A. (1998) - Quantification of crustacean hyperglycemic hormone by ELISA in hemolymph of the lobster, *Homarus americanus*, following various stresses. *Gen. Comp. Endocr.,* **111** (3): 359-66.

DE KLEIJN D.P.V., JANSSEN K.P.C. WADDY S.L., HEGEMAN R., LAI W.Y., MARTENS G.J.M., VAN HERP F. (1998) - Expression of the crustacean hyperglycemic hormones and the gonad-inhib-

iting hormone during the reproductive cycle of the female American lobster *Homarus americanus*. *J. Endocrinol.*, **156** (2): 291-298.

DE KLEIJN D.P.V., VAN HERP F. (1998) - Involvement of the hyperglycemic neurohormone family in the control of reproduction in decapod crustaceans. *Invertebr. Reprod. Dev.*, **33** (2-3): 263-272.

EDOMI P. AZZONI E., METTULIO R., PANDOLFELLI N., FERRERO E.A., GIULIANINI P.G. (2002) - Gonad-inhibiting hormone of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*): cDNA cloning, expression, recombinant protein production, and immunolocalization. *Gene*, **284** (1-2): 93-102.

GIULIANINI P.G., SMULLEN R.P., BENTLEY M.G., FERRERO E.A. (1998) - Cytological and Immunocytochemical Study of the Sinus Gland in the Norway Lobster *Nephrops norvegicus* (L.). *Invertebr. Reprod. Dev.*, **33** (1): 57-68.

GIULIANINI P.G., PANDOLFELLI N., LORENZON S., FERRERO E.A., EDOMI P. (2002) - An antibody to recombinant crustacean hyperglycaemic hormone of *Nephrops norvegicus* cross-reacts with neuroendocrine organs of several taxa of malacostracan Crustacea. *Cell Tissue Res.*, **307** (2): 243-254.

LACOMBE C., GREVE P., MARTIN G. (1999) – Overview on the sub-grouping of the crustacean hyperglycemic hormone family. *Neuropeptides*, **33** (1): 71-80.

LORENZON S., GIULIANINI P.G., FERRERO E.A. (1997) - Lipopolysaccharide-induced hyperglycemia is mediated by CHH release in crustaceans. *Gen. Comp. Endocr.*, **108** (3) :395-405.

PANOUSE J.B. (1946) – Recherches sur les phénomènes humoraux chez les crustacés. L'adaptation chromatique et la croissance ovarienne chez la crevette *Leander serratus*. *Annales de l'Institut Océanographique*, **23**: 65-147.

STENTIFORD G.D., CHANG E.S., CHANG S.A., NEIL D.M. (2001) - Carbohydrate dynamics and the crustacean hyperglycemic hormone (CHH): effects of parasitic infection in Norway lobsters (*Nephrops norvegicus*). *Gen. Comp. Endocr.*, **121** (1): 13-22.

TESSEN C.P., JANSSEN K.P.C. VAN HERP F. (1989) - Isolation, characterization and physiological specificity of the crustacean hyperglycemic factors from the sinus gland of the lobster, *Homarus americanus* (Milne-Edwards). *Invertebr. Reprod. Dev.,* **16** (1-3): 155-164.

Gli studi del presente lavoro sono stati finanziati con fondi MURST 40% "Sistemi lagunari dell'alto Adriatico: genetica, dinamica di popolazione e vulnerabilità eco-tossicologica" e MIPA IVPT U.O.C186 to E.A.F. and VPT U.O. C134 to Shoreline S.c.a.r.l.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 374-378

D. Barletta, A. Pusceddu, C.M. Totti

Istituto di Scienze del Mare, Università di Ancona, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.

COMPOSIZIONE BIOCHIMICA DELLE FOGLIE DI *ZOSTERA MARINA* L. E DEL SUBSTRATO SEDIMENTARIO D'IMPIANTO

BIOCHEMICAL COMPOSITION OF ZOSTERA MARINA L. *LEAVES AND THEIR RELATED SEDIMENTS*

Abstract

Leaves of Zostera marina *and sediments near an eelgrass bed in the Numana harbour (Adriatic Sea) were analyzed on a seasonal basis for protein and carbohydrate contents in order to investigate the potential organic input of the eelgrass to the sediment. Preliminary results suggest that micro-algae are major contributors on sedimentary organic carbon other than Zostera leaves.*

Key-words: Zostera marina, *sediments, carbohydrates, proteins, Adriatic Sea.*

Introduzione

Le fanerogame marine giocano un ruolo chiave nel budget trofico degli ecosistemi marini costieri (Oshima *et al.*, 1999). Infatti, oltre che costituire una potenziale sorgente diretta di alimento per alcuni erbivori (Dawes e Guiry, 1992), il detrito che si origina da queste macrofite può costituire un discreto input organico al sedimento. Inoltre, il rilascio di C organico e di O_2 attraverso l'apparato radicale può cambiare la quantità e la qualità del materiale organico nei sedimenti occupati da tali macrofite (Eldridge e Morse, 2000; Terrados *et al.*, 1999). Il valore alimentare della sostanza organica nei sedimenti è strettamente dipendente dalla sua composizione biochimica (Pusceddu *et al.*, 1999); in particolare, il contributo delle proteine al pool organico totale è uno dei principali fattori in grado di controllare la dinamica dei popolamenti eterotrofi bentonici (Albertelli et al., 1999). Questa ricerca ha l'obiettivo di valutare il ruolo di *Z. marina* L. quale potenziale sorgente di C organico per i sedimenti del porto di Numana (Ancona), mediante il confronto della composizione biochimica (proteine e carboidrati) delle foglie e del substrato di impianto della pianta.

Materiali e metodi

I campioni di foglie e di sedimento (in triplicato) sono stati raccolti in immersione nel porto di Numana (Ancona) da agosto 2001 a febbraio 2002 secondo la metodologia riportata da Barletta (2002), stimando la densità dei ciuffi e l'altezza media del prato. Le foglie di *Z. marina,* liberate dagli epifiti e separate in porzione verde e bruna, ed il primo cm di sedimento, sono stati analizzati per determinare le relative concentrazioni di proteine e carboidrati, secondo metodiche standard (Pusceddu *et al.*, 1999).

Ad ogni data di campionamento è stata misurata la temperatura lungo la colonna d'acqua, ad intervalli di un metro, con termometro a rovesciamento.

Risultati

I valori di temperatura, costanti lungo la colonna d'acqua, sono variati fra i 25.8 °C in agosto 2001 ed i 5.9 °C in gennaio 2002.

Tutti i parametri analizzati hanno mostrato variazioni temporali statisticamente significative (Tab. 1).

Tab. 1 – Risultati dell'ANOVA e dei post-hoc Tukey's tests per i parametri analizzati (Media ± ds; n=3).
Results of ANOVA and post-hoc Tukey's tests for the investigated parameters (Mean ± sd; n=3).

Variabile	df	F	p<0.01
Sedimento			
Proteine *mg* g_{DW}^{-1}	5	10.60	0.0004
Carboidrati *mg* g_{DW}^{-1}	5	7.64	0.0019
Tessuto Fogliare Verde			
Proteine *mg* g_{DW}^{-1}	5	12.43	0.0002
Carboidrati *mg* g_{DW}^{-1}	5	62.39	0.0000
Tessuto Fogliare Bruno			
Proteine *mg* g_{DW}^{-1}	3	175.11	0.0000
Carboidrati *mg* g_{DW}^{-1}	3	914.43	0.0000
Caratteristiche strutturali del prato			
Densità dei ciuffi *ciuffi* m^{-2}	5	15.14	0.0001
Altezza dei ciuffi *cm*	5	7.83	0.0017
Numero di foglie per ciuffo *foglie ciuffo*$^{-1}$	5	11.28	0.0003
Biomassa fogliare g_{DW} m^{-2}	5	28.10	0.0000

Nel sedimento di impianto proteine e carboidrati hanno mostrato massimi in estate ed inizio autunno (1.58 ± 0.11 e 0.82 ± 0.13 mg g^{-1}, rispettivamente) e minimi (0.84 ± 0.15 e 0.17 ± 0.03 mg g^{-1}) in tardo autunno ed inverno (Fig. 1).

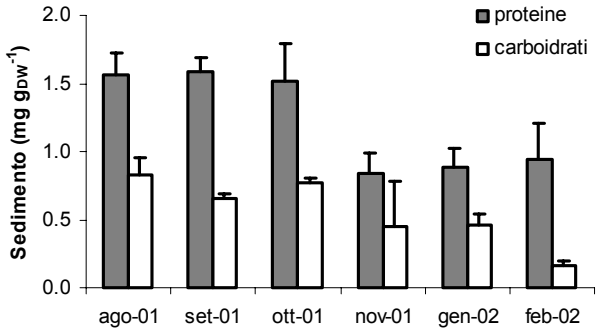


Fig. 1 – Variazioni della composizione biochimica nei sedimenti del Porto di Numana (Media ± ds; n = 3).
Variations of the biochemical composition in the Numana harbour sediment (Mean . ± sd; n=3).

Il contenuto di carboidrati nel tessuto fogliare verde di *Z. marina* in settembre (46.4 ± 0.2 mg g^{-1}) è stato mediamente 1.8 volte più elevato che negli altri mesi di campionamento. Analogamente, le concentrazioni di proteine erano più elevate nel periodo

autunnale (valore massimo 36.3±4.9 mg g^{-1} in settembre) rispetto all'estate ed all'inverno (valore minimo 22.2±0.5 mg g^{-1} in febbraio) (Fig. 2). Il tessuto fogliare bruno, non rinvenuto in autunno, ha mostrato valori più elevati in inverno per il contenuto di proteine ed in tarda estate per quello in carboidrati (Fig. 3).

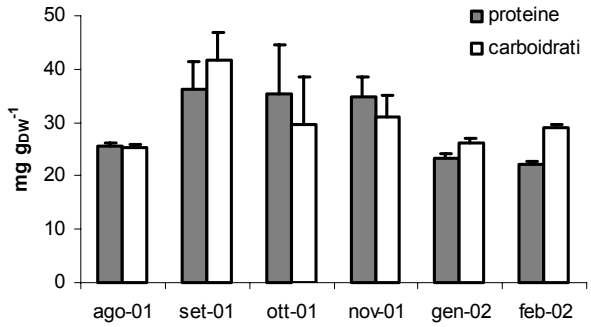


Fig. 2 – Variazioni della composizione biochimica nel tessuto fogliare verde di *Z. marina* nel Porto di Numana (Media±ds; n=3).
Variations of the biochemical composition of Z. marina *green leaves in the Numana harbour (Mean.±sd; n=3).*

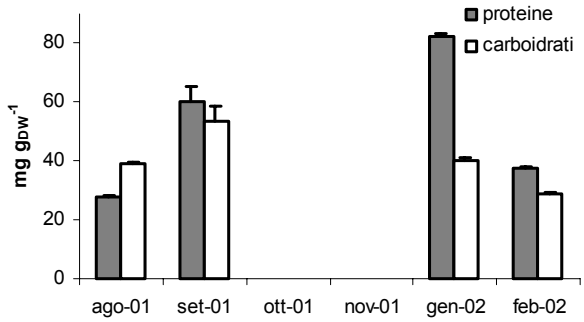


Fig. 3 – Variazioni della composizione biochimica nel tessuto fogliare bruno di *Z. marina* nel Porto di Numana (Media±ds; n=3).
Variations of the biochemical composition of Z. marina *brown leaves in the Numana harbour (Mean ±sd; n=3).*

L'accrescimento delle lamine fogliari è stato evidente nel periodo tardo autunnale ed in inverno (Fig. 4). Densità dei ciuffi e biomassa fogliare hanno mostrato un trend meno netto, con valori più elevati nei mesi di agosto, ottobre e febbraio (Fig. 5).

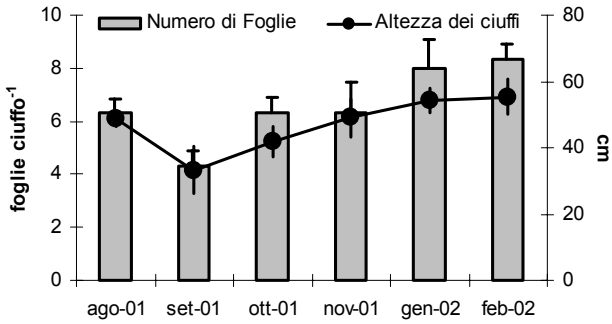


Fig. 4 – Variazioni del numero medio di foglie per ciuffo e dell'altezza dei ciuffi in *Z. marina* nel Porto di Numana (Media±ds; n=3).

Changes in the number of leaves and shoots height of Z. marina *in the Numana harbour (Mean±sd; n=3).*

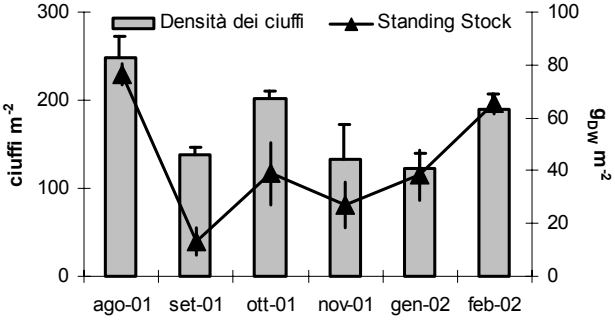


Fig. 5 - Variazioni della densità dei ciuffi nel prato e della biomassa fogliare di *Z. marina* nel Porto di Numana (Media±ds; n=3).

Changes in shoot density and standing stock of Z. marina *in the Numana harbour (Mean±sd; n=3).*

Conclusioni

La composizione biochimica del materiale organico nei sedimenti del Porto di Numana è confrontabile con quella descritta in altre aree costiere adriatiche (Danovaro *et al.*, 2000).

Le variazioni temporali nei contenuti di proteine e carboidrati nelle foglie di *Z. marina* mostrano una rilevante asincronia tra accumulo di riserve e loro utilizzazione. L'accumulo di carboidrati, quale substrato immediatamente disponibile per la respirazione (Burke *et al.*, 1996), osservato in tarda estate - autunno, indica che in tale periodo i prodotti dell'attività fotosintetica erano maggiori della domanda per l'accrescimento e la respirazione. L'evidente riduzione del contenuto di carboidrati delle foglie durante l'inverno, è invece determinato dalla riduzione delle performances fotosintetiche (Barletta, 2002) e dal loro utilizzo come fonte di energia per la crescita strutturale del prato (Zimmerman *et al.*, 1995).

I coefficienti di correlazione tra i tenori di carboidrati e proteine nei sedimenti e nelle foglie di *Z. marina* e tra i primi ed i parametri strutturali del prato indicherebbero un mediocre contributo della pianta al pool di C sedimentario. Tuttavia, la mancanza di dati idrodinamici non permette di identificare con certezza eventuali fenomeni di trasporto laterale che potrebbero spiegare la varianza residua. Infatti, l'input di C dalla pianta al sedimento, come atteso dai valori del rapporto proteine:carboidrati fogliare, determinerebbe un aumento della frazione glucidica rispetto a quella proteica. L'elevato rapporto proteine:carboidrati nei sedimenti, soprattutto in febbraio, suggerisce quindi la presenza di un'altra fonte di materia organica, probabilmente di natura microfitobentonica (Pusceddu *et al.*, 1999) o dovuta al decadimento degli epifiti algali di *Zostera*.

Pur in mancanza di dati dinamici è possibile inferire che il contributo delle foglie di *Z. marina* al pool di C organico sedimentario nel Porto di Numana sia stato, nel periodo studiato, minimo rispetto a quello microalgale.

Bibliografia

ALBERTELLI G., COVAZZI-HARRIAGUE A., DANOVARO R., FABIANO M., FRASCHETTI S., PUSCEDDU A. (1999) - Differential responses of bacteria, meiofauna and macrofauna in a shelf area (Ligurian Sea, NW Mediterranean): role of food availability. *J. Sea Res.*, **42** (1): 11-26.

BARLETTA D. (2002) - Caratteristiche strutturali e funzionali della macchia di *Zostera marina* L. nel porto di Numana (Ancona, Mare Adriatico). *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 220-224.

BURKE M.K., DENNISON W.C., MOORE K.A. (1996) – Non-structural carbohydrate reserves of eelgrass *Zostera marina*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **137**: 195-201.

DANOVARO R., GAMBI C., MANINI E., FABIANO M. (2000) – Meiofauna response to a dynamic river plume front. *Mar. Biol.*, **137**: 359-370.

DAWES C.J., GUIRY M.D. (1992) – Proximate constituents in the seagrasses *Zostera marina* and *Z. noltii* in Ireland: seasonal changes and the effect of blade removal. *P.S.Z.N.I: Mar. Ecol.*, **13** (4): 307-315.

ELDRIDGE P.M., MORSE J.W. (2000) – A diagenetic model for sediment-seagrass interactions. *Mar. Chem.*, **70**: 89-103.

OSHIMA Y., KISHI M.J., SUGIMOTO T. (1999) – Evaluation of the nutrient budget in a seagrass bed. *Ecol. Model*, **115**: 19-33.

PUSCEDDU A., SARÀ G., ARMENI M., FABIANO M., MAZZOLA A. (1999) – Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiologia*, **397**: 59-70.

TERRADOS J., DUARTE C.M., KAMP-NIELSEN L., AGAWIN N.S.R., GACIA E., LACAP D., FORTES M.D., BORUM J., LUBANSKI M., GREVE T. (1999) – Are seagrass growth and survival constrained by reducing conditions of the sediment?. *Aquat. Bot.*, **65**: 175-197.

ZIMMERMAN R.C., REGUZZONI J.L., ALBERTE R.S. (1995) – Eelgrass (*Zostera marina* L.) transplants in San Francisco Bay: role of light availability on metabolism, growth and survival. *Aquat. Bot.*, **51**: 67-86.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 379-382

R. Cannas, A.M. Deiana, J. Tagliavini*

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 - 09126 Cagliari, Italia.
*Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università di Parma, Italia.

AFLP-FINGERPRINTING DELLE ARAGOSTE MEDITERRANEE *PALINURUS ELEPHAS* E *P. MAURITANICUS*. DATI PRELIMINARI

AFLP-FINGERPRINTING OF THE MEDITERRANEAN SPINY LOBSTERS PALINURUS ELEPHAS *AND* P. MAURITANICUS. *PRELIMINARY DATA*

Abstract

We use the AFLP fingerprinting to study the genetic diversity between and within the Mediterranean spiny lobsters Palinurus elephas *and* P. mauritanicus *(Crustacea, Decapoda). The AFLP technique allowed to describe a considerable number of polymorphisms and to identify possible species-specific markers. Furthermore in* Palinurus elephas*, it was possible to find a genetic differentiation among specimens of different geographical origin suggesting the usefulness of this technique for future genetic population studies of these species.*

Key-words: *marine crustaceans, commercial species, genetics, DNA, biopolymorphism.*

Introduzione

In questo lavoro viene impiegata la tecnica "AFLP *fingerprinting*" (Amplified Fragment Lenght Polymorphism) (Zabeau e Vos, 1993) per acquisire marcatori utili alla descrizione della variabilità genetica intra- ed inter-specifica nelle aragoste mediterranee *Palinurus elephas* e *P. mauritanicus*. Di queste specie sono attualmente noti pochi polimorfismi morfo-meristici e molecolari; l'acquisizione di nuovi marcatori molecolari costituisce un importante contributo alla gestione delle specie ed alla regolamentazione della loro pesca.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati esemplari di specie diverse di aragoste: *Palinurus elephas*, *P. mauritanicus*, *P. charlestoni* e *Panulirus regius* (le ultime due specie, entrambe provenienti dall'Atlantico centro-orientale, sono state reperite presso la grande distribuzione). Il DNA totale è stato estratto da tessuto muscolare secondo i protocolli convenzionali (Sambrook *et al.*, 1989). Tutte le analisi AFLP sono state realizzate secondo la metodica descritta in Vos *et al.,* 1995, modificata da Ajmone-Marsan *et al*., 1997 per quanto riguarda l'uso della endonucleasi TaqI. Le reazioni di PCR "preselettive" sono state realizzate con primers con sequenza complementare a quella dei rispettivi adattatori EcoRI e TaqI ed un nucleotide A aggiunto in 3'. Per le reazioni di amplificazione PCR selettive, sono stati utilizzati primers con 3 basi aggiunte in 3'; in particolare sono stati usati due diversi "primer EcoRI", marcati con il fluoroforo Cy51 (EcoRI-AAT, EcoRI-AAC) ed un "primer TaqI" (TaqI-AAC) in due reazioni PCR. I frammenti amplificati sono stati separati con elettroforesi capillare in condizioni denaturanti con un sequenziatore automatico CEQ2000 (Beckman Coulter). Dai fingerprints sono stati calcolati i valori di similarità genetica a coppie (programma RAPdistance Package 1.04 - Armstrong *et al*., 1994), usando i coefficienti di Dice e di Rogers e Tanimoto.

Le matrici di distanza a coppie sono state utilizzate per l'analisi a cluster con il metodo UPGMA e con neighbour joining (NJ) inclusi nel programma PHYLIP 3.6a2 (Felsenstein, 1993). Per definire la validità di una ipotetica differenziazione intraspecifica in *P. elephas* gli individui di provenienza sarda e ligure sono stati raggruppati a costituire popolazioni distinte e la conseguente struttura genetica è stata testata con analisi gerarchica della varianza AMOVA utilizzando il programma Arlequin (Schneider *et al*. 2000). I componenti della covarianza sono stati utilizzati per calcolare gli indici di fissazione Φ_{ST} (stime di Fst secondo Weir e Cockerham, 1984). La significatività degli indici di fissazione è stata testata per mezzo di permutazioni non parametriche (Excoffier *et al.,* 1992).

Risultati

Ciascuna coppia di primers ha permesso di identificare più di 100 bande con un livello di polimorfismo molto elevato (92.98%). Nessuno dei campioni analizzati ha prodotto un fingerprint identico a nessun altro. I fingerprintings hanno sempre consentito di discriminare nettamente le specie; sono stati individuati probabili marcatori specie-specifici (Tab. 1). L'analisi dei dati di similarità genetica con i metodi UPGMA e NJ ha prodotto risultati simili. In entrambe i casi sono sempre nettamente definiti i raggruppamenti principali corrispondenti alle diverse specie (*P. mauritanicus, P. elephas, P. charlestoni* e *P. regius*). L'interpretazione del risultato all'interno del raggruppamento che racchiude gli individui di *P. elephas* è più complessa: si delineano clusters distinti in base alla diversa provenienza geografica dei campioni (Fig. 1). I risultati dell'analisi AMOVA (Tab. 2) evidenziano come la maggior parte della variazione genetica è dovuta a differenze all'interno delle specie (69.72%). La differenze tra i due raggruppamenti di *P. elephas*, ognuno contenente i campioni delle due aree geografiche di origine, sono statisticamente significative e contribuiscono al 14.54% della varianza totale. Il calcolo degli indici di fissazione a coppie Φ_{ST} (=0.15, P<0.03) tra *P. elephas* provenienti dalla Sardegna e *P. elephas* provenienti dalla Liguria conferma che esistono differenze significative tra i campioni di diversa origine.

Tab. 1 – AFLP fingerprints: numero di bande totali, bande polimorfiche e bande specie-specifiche ottunute con le diverse combinazioni di primer.
AFLP fingerprints: numbers of total bands, polymorphic bands and species-specific bands obtained with the two combination of primers.

Combinazione dei primer	N° bande	N° bande polimorfiche	N° bande specie-specifiche			
			PE	PM	PC	PR
EcoAAC/TaqAAT	140	125 (89.29%)	2	0	2	10
EcoAAT/TaqAAT	106	102 (96.23%)	0	0	1	11
Totale	246	227 (92.98%)	2	0	3	21

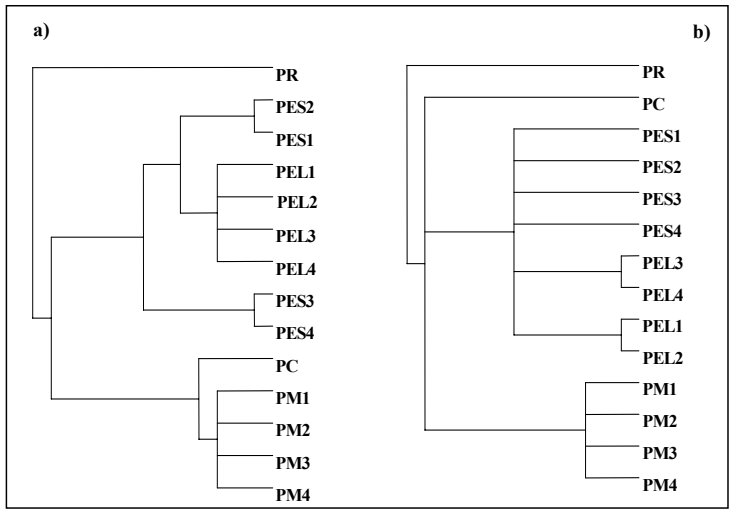


Fig. 1 – Dendrogrammi ottentuti a) con il metodo NJ secondo l'indice RT e b) con il metodo UPGMA secondo l'indice di Dice. Le sigle PES si riferiscono ad esemplari di *P. elephas* Sardi, PEL a *P. elephas* Liguri, PC a *Palinurus charlestoni,* PM a *Palinurus mauritanicus* e PR a *Panulirus regius*.

Dendrograms obtained with two different methods and indexes of genetic similarity: a) the NJ method and the RT (Rogers and Tanimoto) index and b) the UPGMA method and the Dice's index. The acronym PES refers to P. elephas *specimens from Sardinian seas, PEL to* P. elephas *from the Ligurian Sea, PC to* Palinurus charlestoni, *PM to* Palinurus mauritanicus *and PR to* Panulirus regius.

Tab. 2 – Analisi della varianza molecolare (AMOVA) basata sui dati AFLP. Per "popolazioni" si intendono i tre raggruppamenti di *P. elephas* Liguria, *P. elephas* Sardegna e *P. mauritanicus*; per "gruppi" l'insieme di *P. elephas* Liguria+*P. elephas* Sardegna e *P. mauritanicus*. La significatività è stata testata con un analisi non parametrica effettuando 50175 permutazioni, NS = non significativo.

Analysis of molecular variance (AMOVA) based on AFLP data. Specimens of P. elephas *from Liguria,* P. elephas *from Sardegna and* P. mauritanicus *are grouped in three distinct "popolazioni". Instead "gruppi" refers to* P. elephas *Liguria*+P. elephas *Sardegna and* P. mauritanicus*. Significativity has been tested by 50175 no-parmetric permutations, NS=not significant.*

sorgente di variazione	**gradi di libertà**	**somma dei quadrati**	**Componenti della varianza**	**percentuale di variazione**	**Significatività**
tra gruppi	1	82.625	6.14062 Va	15.74[3]	NS
tra popolazioni nei gruppi	1	49.875	5.67014 Vb	14.54[2]	P<0.03
nelle popolazioni	9	244.750	27.19444 Vc	69.72[1]	P<0.0001
totale	11	377.250	39.00521		

Conclusioni

La tecnica AFLP si è rivelata uno strumento utile alla rapida ed economica identificazione di marcatori molecolari. I risultati dei polimorfismi di amplificazione si sono rivelati in grado di discriminare nettamente le specie; sono stati individuati probabili marcatori specie-specifici. La specie *P. elephas* evidenzia una certa quota di differenziazione tra esemplari di diversa provenienza geografica. L'esiguità del campione analizzato e la preliminarietà dei dati non permettono tuttavia di trarre conclusioni definitive sull'esistenza di stock discreti di questa specie nel Mediterraneo, ma candidano la tecnica AFLP come ideale per identificare marcatori molecolari utili nel controllo e nella gestione di stock (Congiu *et al.,* 2001).

Bibliografia

AJMONE-MARSAN P., VALENTINI A., CASSANDRO M., VECCHIOTTI-ANTALDI G., BERTONI G., KUIPER M. (1997) - AFLP markers for DNA fingerprinting in cattle. *Anim. Genet*., **28** (6): 418-26.

ARMSTRONG J.S., GIBBS A.J., PEAKALL R., WEILLER G. (1994) - 'The RAPDistance Package' ftp://life.anu.edu.au/pub/software/RAPDistance.

CONGIU L., DUPANLOUP I., PATARNELLO T., FONTANA F., ROSSI R., ARLATI G., ZANE L. (2001) -Identification of interspecific hybrids by AFLP: the case of sturgeons. *Mol. Ecol*., **10**: 2355-2359.

EXCOFFIER L., SMOUSE P.E., QUATTRO J.M. (1992) - Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics,* **131** (2): 479-91.

FELSENSTEIN J. (1993) - PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6a2. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.

SAMBROOK J., FRITSCH E.F., MANIATIS T. (1989) - *Molecular cloning, a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, **2**: 916-919.

SCHNEIDER S., ROESSLI D., EXCOFFIER L. (2000) - Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.

VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., RIJANS M., VAN DE LEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., KUIPER M., ZABEAU M. (1995) - AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*., **23**: 4407-4414.

WEIR B.S., COCKERHAM C.C. (1984) - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution,* **38**: 1358-1370.

ZABEAU M., P. VOS. (1993) - Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Publication 92402629 (Publication no. EP0534858A1).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 383-387

O. Cattani, M. Monari, G.Vitali, S. Bosi, P. Cortesi, P. Serratore[1], A. de Zwaan[2]

Dipartimento di Biochimica, Università di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano Emilia Bologna, Italia.
[1]Centro di Ricerche Marine, Cesenatico, Forlì Cesena, Italia.
[2]C.E.M.O., Yerseke, Olanda.

STUDIO DELLE CAUSE CHE INFLUENZANO LA MORTALITÀ DI *CHAMELEA GALLINA*

STUDY ON CAUSES AFFECTING CHAMELEA GALLINA *MORTALITY*

Abstract

The effects of the antibiotics chloramphenicol and penicillin G on the survival of Chamelea gallina *(Mollusca Bivalvia) in anoxia and in normoxia were tested. Chloramphenicol strongly affected the presumptive vibrios (PV) concentration (mainly the saccarose fermenting bacteria). The correlation beetwen decrease of PV and increase of survival suggests an important role of these bacteria in clam mortality both in anoxia and normoxia. The high decrease of glycogen content in animals not exposed indicates a major energy expenditure to counteract the negative effect of bacteria.*

Key- words: Chamelea gallina, *antibiotics, glycogen, presumptive vibrios, anoxia.*

Introduzione

Chamelea gallina è una specie di alto interesse commerciale attivamente pescata dalle marinerie adriatiche (Froglia, 1989). L'ampia fluttuazione della consistenza degli stock (periodiche ed intense morie nei banchi naturali) influenzano negativamente l'attività economica legata alla pesca e all'industria conserviera. Le morie degli anni '70-'80 sono state ampiamente documentate ed attribuite a condizioni di ipossia/anossia dei fondali. I risultati di studi comparati portati avanti negli ultimi 20 anni al Centro di Cesenatico, in collaborazione con ricercatori stranieri, hanno chiarito le ragioni della maggiore vulnerabilità di *C. gallina* in condizioni anossiche (Brooks *et al*., 1991), tuttavia ulteriori ricerche hanno portato a ritenere che i risultati sperimentali ottenuti potessero essere viziati da artefatti (de Zwaan *et al*., 2002). E'stato osservato che nelle incubazioni sperimentali anossiche in sistema statico si verifica una proliferazione di batteri che alterano le condizioni del mezzo a causa dell'abbassamento del pH e dell'escrezione nel mezzo di sostanze tossiche (ammonio e solfuro) che possono accelerare i tempi di morte indipendentemente dalle capacità anaerobiche dell'animale. Infatti nelle incubazioni in presenza di antibiotico si ha un significativo aumento della sopravvivenza. Ulteriori ricerche hanno tuttavia dimostrato che né l'abbassamento del pH né l'accumulo di solfuro si sono rilevati determinanti nell'accelerare i tempi di morte, che verosimilmente è dovuta alla proliferazione di patogeni opportunisti che attaccano i tessuti dei molluschi indeboliti dallo stress anossico (de Zwaan *et al*., 2001). Negli ultimi anni sono stati rilevati gravi casi di mortalità di *C. gallina* in condizioni di normale ossigenazione dei fondali, suggerendo che la sopravvivenza della vongola comune nei banchi naturali è legata a cause non sempre riferibili all'anossia ed alle sue conseguenze. L'ambiente marino è ricco di microrganismi, assunti per filtrazione dai molluschi, fra i quali i vibrioni, che sono potenzialmente patogeni (Sindermann, 1990).

I dati riportati in questo lavoro sono riferiti alla mortalità di *C. gallina*, in anossia ed in normossia, in relazione alla carica batterica del genere *Vibrio*, determinata come concentrazione dei presunti vibrioni (PV) associati al bivalve. Gli effetti metabolici dell'azione batterica sono stati valutati come contenuto di glicogeno.

Materiali e metodi

Le vongole sono state prelevate con una draga idraulica in una stazione tra Cervia e Cesenatico a circa 5 m di profondità. Gli animali, dopo acclimatazione, sono stati studiati utilizzando acqua sterile (autoclavata a 120 °C per 20 min) in diversi sistemi sperimentali utilizzando 5 mg/L cloramfenicolo (CA) antibiotico a largo spettro e penicillina G (62 mg/L), antibiotico che agisce principalmente contro i batteri gram positivi.

1. Incubazioni anossiche semistatiche (rinnovo periodico del mezzo di incubazione) per il controllo della mortalità con e senza CA.
2. Incubazioni anossiche statiche (senza alcun cambiamento del mezzo) per la determinazione del glicogeno e della carica batterica dei PV in varie condizioni: A) molluschi trattati con CA; B) controlli non trattati; C) animali preesposti per una settimana al CA; D) controlli non preesposti.
3. Valutazione del tempo di sopravvivenza all'aria dopo preesposizione al CA e alla penicillina G per verificare lo stato di stress degli animali.
4. Incubazioni normossiche per valutare gli effetti del CA anche in ambiente con normali livelli di ossigeno.

La stima dei PV, anaerobi facoltativi gram-negativi, è stata effettuata su TCBS agar (Serratore *et al.*, 1999) a 2, 4 e 6 giorni di anossia.

Il glicogeno è stato determinato spettrofotometricamente secondo il metodo Keppler e Dekler (1974).

Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il programma SPSS per Windows (Release 6, 1995).

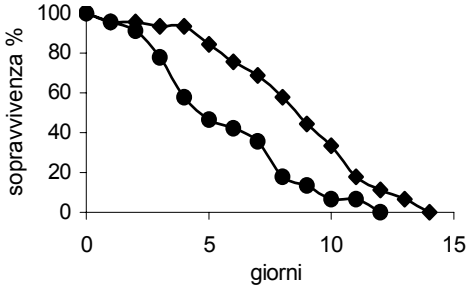


Fig. 1 – Tempo di sopravvivenza all'aria di *C. gallina* preesposta al cloramfenicolo. Preesposti (−♦−); Controlli (−●−).

Air survival time of C. gallina *pre-exposed to chloramphenicol. Pre-exposed (−♦−); Control (−●−).*

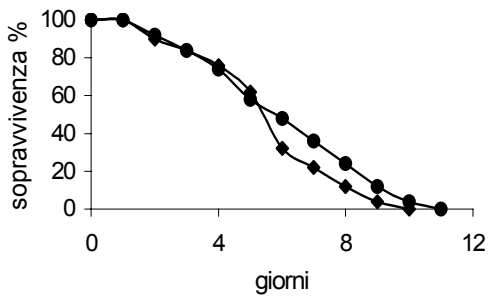


Fig. 2 – Tempo di sopravvivenza all'aria di *C. gallina* preesposta alla penicillina G. Preesposti (−●−); Controlli (−♦−).

Air survival time of C. gallina *pre-exposed to penicillin G. Pre-exposed (−●−); Control (−♦−).*

Risultati e conclusioni

L'incubazione di *C. gallina* in acqua anossica sterile (sistema semistatico), ha messo in evidenza la notevole incidenza del cloramfenicolo sulla sopravvivenza: i valori di LT_{50} in assenza ed in presenza di cloramfenicolo sono stati rispettivamente di 6 e 36 giorni. Nella sopravvivenza all'aria (Fig. 1) i bivalvi preesposti per una settimana al CA hanno mostrato valori di LT_{50} di 9 giorni rispetto ai 5 giorni dei controlli (non preesposti). Le differenze sono risultate altamente significative ($p < 0,05$). Il glicogeno rappresenta la riserva energetica fermentabile in anaerobiosi ed è naturale rilevarne il consumo durante lo stress anossico. E' importante tuttavia osservare che l'intensità del consumo è influenzata dalla presenza o meno del CA nel mezzo.

Durante l'anossia in acqua sterile (sistema statico) in presenza di CA i livelli di glicogeno sono passati, in due giorni, da 346,7 a 254,9 μmoli/g di peso fresco con una diminuzione del 27%. Il consumo è risultato più intenso nei controlli (assenza di CA) con valori di 154,05 μmoli/g di peso fresco corrispondente ad una diminuzione del 55,6%. A quattro giorni di incubazione anossica le vongole trattate hanno mostrato un calo del 48,7%, mentre tutti gli animali di controllo erano morti. Similmente nell'incubazione anossica sterile di bivalvi preesposti al CA, il consumo di glicogeno degli animali trattati è risultato, alla fine dell'anossia, più basso (–38%) rispetto a quello degli animali non trattati (–52,3%) (Tab. 1).

Tab. 1 – Variazione delle concentrazioni di glicogeno in *C. gallina,* incubata in acqua anossica sterile. A: presenza di cloramfenicolo; B: assenza di cloramfenicolo. C: animali preesposti; D: controllo (non preesposti).

Glycogen concentration in C. gallina *after incubation in steril anoxic water. A. With chloramphenicol; B: without chloramphenicol, C: pre-exposed animals, D: controls (not pre-exposed).*

Giorni/ prove	**Tempo 0**	**2 giorni**	**4 giorni**
	μmoli / g pf	μmoli / g pf	μmoli / g pf
A	346,70 ± 63,05	254,94 ± 52,36	177,90 ± 54,23
B	346,70 ± 63,05	154, 05 ± 55,71	
C	346.70 ± 63,05	244,67 ± 24,23	214,94 ± 30,88
D	346,70 ± 63,05	242,56 ± 32,10	165,48 ±30,77

In anossia sterile (sistema statico) senza CA, l'andamento della carica batterica mostra un plateau per 4 giorni (tra 10^5 e 10^6 UFC/g, Unità Formanti Colonie per grammo di tessuto), mentre in presenza di antibiotico si assiste ad una costante e marcata diminuzione dei PV (10^3 UFC/g dopo 6 giorni). Degna di nota è la variazione percentuale dei PV fermentanti il saccarosio, in quanto la presenza di CA induce una maggiore repressione delle forme saccarosio negative sia nell'acqua di incubazione sia nei tessuti.

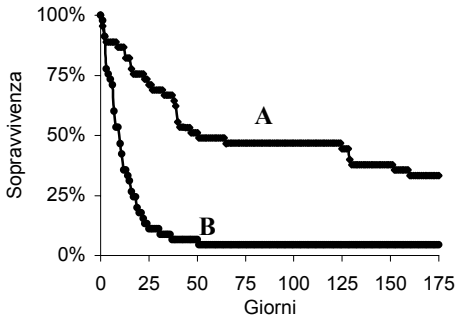


Fig. 3 – Curve di sopravvivenza di *C. gallina* incubata in acqua normossica in presenza (A) ed in assenza (B) di cloramfenicolo.

Survival curves of C. gallina *after anoxic water incubation with (A) and without (B) chloramphenicol.*

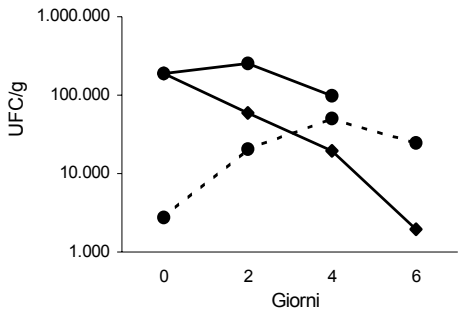


Fig. 4 – Concentrazione dei PV in acqua anossica sterile in presenza (−♦−), in assenza (−•−), in esemplari preesposti al cloramfenicolo (− −•− −).

PV concentration in sterile anoxic water with (−♦−), without (−•−), in chloramphenicol pre-exposed animals (− −•− −).

La diminuzione ad opera del CA del livello dei presunti vibrioni (Fig. 4), ed in particolare delle forme saccarosio negative (Tab. 2), associati a *C. gallina* trova corrispondenza nell'aumento della sopravvivenza (Fig. 1) suggerendo che i PV giochino un ruolo importante nella mortalità della vongola. Questa osservazione, in parziale disaccordo con quanto rilevato per altre specie di molluschi bivalvi, che sembrano più sensibili a batteri gram positivi (de Zwaan *et al*., 2002), risulta confermata dalla mancanza di effetti sulla sopravvivenza da parte della penicillina G (Fig. 2), prevalentemente attiva contro batteri gram-positivi.

Tab. 2 – Cariche batteriche dei presunti vibrioni espresse in UFC/g rilevate in *C. gallina* incubata per quattro giorni in acqua anossica sterile in assenza (A) ed in presenza (B) di CA. Sacc+: batteri fermentanti e Sacc-: non fermentanti il saccarosio.

PV number in UFC/g in C. gallina *incubated for 4 days in sterile anoxic water with out (A) and with (B) CA., Sacc +: saccharose fermenting bacteria and Sacc –: saccharose non fermenting bacteria.*

Prelievi/ Prove	**Tempo 0**		**2 giorni**		**4 giorni**		**6 giorni**	
A (+CA)	189.011	Sacc+ 52%	58.831	Sacc+ 72%	19.529	Sacc+ 67%	1.950	Sacc+ 60%
		Sacc- 48%		Sacc- 28%		Sacc- 33%		Sacc- 40%
B (-CA)	189.011	Sacc+ 52%	253.835	Sacc+ 50%	98.832	Sacc+ 38%		
		Sacc- 48%		Sacc- 50%		Sacc- 62%		

La più rapida mobilizzazione della riserva da parte degli animali non trattati, indica una maggiore richiesta energetica in risposta all'ulteriore stress determinato dall'azione dei batteri (Tab. 1).

Infine particolarmente interessante risulta l'effetto positivo del cloramfenicolo sul tempo di morte degli animali anche in normossia. Infatti la presenza di CA nelle incubazioni in acqua aerata (Fig. 3) aumenta significativamente la sopravvivenza delle vongole (LT_{50} di 48 gg) rispetto ai controlli non trattati (LT_{50} di 9 gg). Ciò indica che l'azione dei batteri (PV) ed il loro effetto patogeno è in qualche modo indipendente dall'anossia.

Bibliografia

BROOKS S.P.J., DE ZWAAN A., VAN DEN THILLART G., CATTANI O., CORTESI P., STOREY K.B. (1991) – Differential survival of Venus gallina and Scapharca inaequivalvis during anoxic stress: covalent modifications of phosphofructokinase and glycogen phosphorylase during anoxia. *J. Comp. Physiol*., **B 161**: 207-212.

DE ZWAAN A., BABARRO J.M.F., MONARI M., CATTANI O. (2002) – Anoxic survival potential of bivalves: (arte)facts. *Comp. Biochem. Physiol*., **A 131**: 615-624.

DE ZWAAN A., BABARRO J.F., CATTANI O., CORTESI P. (2001) – Anoxic survival potential of bivalves. Pathogen versus biochemical adaptations. *It. J. Bioch.*, **50** (1-2): 27-34.

FROGLIA C. (1989) - Clam fisheries with hydraulic dredges in the Adriatic Sea. In: Caddy J.F (ed), *Marine invertebrate fisheries: their assessment and management.* Wiley & Sons, Inc.: 507-523.

KEPPLER D., DECKER K. (1974) - *Methods of Enzymatic Analyisis*. Ed. Bergameyer H.U., Academic Press, New York, **4**: 1492-1495.

SERRATORE P., TURTURA G.C., RINALDINI E., MILANDRI S., PRESEPI D. (1999) – Phenotypic characterization of some bacterial populations belonging to the genus *Vibrio. Annali di Microbiologia ed Enzimologia*, **49**: 79-88.

SINDERMANN C.J. (1990) - Bacteria. In: *Principal disease of marine fish and shellfish.* Academic Press, Inc. San Diego California, **2**: 41-70.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 388-391

M. Cigliano, E. Manini[1,2], M.C. Gambi

Laboratorio di Ecologia del Benthos, Stazione Zoologica "A. Dohrn"
Punta S. Pietro - 80077 Ischia Porto, Napoli, Italia.
[1]Istituto di Scienze del Mare, Università di Ancona, Ancona, Italia.
[2]Actual address: Istituto per lo Studio degli Ecosistemi Costieri, C.N.R., Lesina, Foggia, Italia.

FIRST DATA ON CELLULOLYTIC ENZYME ACTIVITY IN POLYCHAETE BORERS ASSOCIATED TO *POSIDONIA OCEANICA* SHEATHS

PRIMI DATI SULL'ATTIVITA' ENZIMATICA CELLULOSOLITICA IN POLICHETI PERFORATORI DELLE SCAGLIE DI POSIDONIA OCEANICA

Abstract

The activity of the cellulolytic enzymes β-*1,4 Glucanase and* β-*Glucosidase was tested for* Lysidice ninetta *and* L. collaris *(Polychaeta, Eunicidae), borers and consumers of the sheaths of* Posidonia oceanica*. The analyses confirmed for both species a specific activity for both enzymes. The mean values of* β-*Glucosidase activity in* L. ninetta *and* L. collaris *were, 38.28 and 45.55 µmol/h/mg Prt, respectively, while mean values of* β-*1,4Glucanase were 6.69 and 5.18 µmol/h/mg Prt, respectively.* β-*1,4Glucanase activity was quantifiable only in the intestinal portions of the body, and not in the anterior parts of the worms.*

Key-words: *polychaetes, cellulolytic enzymes,* Posidonia oceanica*, detritus, borers.*

Introduction

The cellulose is the most abundant carbohydrate polymer in nature and it is a major food source for many omnivore and herbivore animal species. Utilisation of cellulose requires cellulolytic enzymes (C_1 Cellulase, C_X Cellulase, β-Glucosidase), and the majority of animals that use the cellulose as glucose source, do not produce cellulases themselves (endogenous synthesis), but live in symbiosis with cellulolytic organisms as bacteria and fungi (exogenous synthesis).

The number of organisms on which the presence of cellulolytic activity was tested is relatively high, in particular cellulases have been reported in the digestive organs of many marine invertebrates (Yokoe & Yasumasu, 1964), and their presence seems more closely related to their phylogenetic relationships than to their feeding habits (Yokoe & Yasumasu, 1964). More recent studies are focused on species of commercial interest (Xue *et al*., 1999), while still scarce information is available for most marine herbivorous invertebrates or consumers of plant detritus, including those associated to *Posidonia oceanica* meadows.

The *Posidonia oceanica* sheaths (bases of old leaves persisting along the rhizome) present a high content of structural carbohydrates (cellulose, lignocellulose) with consequent high C/N ratios, slow decay and long persistence (some decennia) (Romero *et al*., 1992). This unique type of detritus is consumed only by some borer organisms, isopod Limnoriidae and polychaete Eunicidae (Guidetti *et al*., 1997). Among polychaetes, the most abundant borer forms are represented by *Lysidice ninetta* Audouin & Milne Edwards and *Lysidice collaris* Grube (Gambi, 2000), taxa that, besides *P. oceanica* sheaths, are common in other coastal plant dominated biotopes. Studies with seasonal frequency in different *P. oceanica* meadows along the Italian coasts, revealed

high level of colonisation of both species of *Lysidice* (Gambi, 2000; Gambi & Cafiero, 2001; Cigliano, 2001), while gut content analyses showed the high presence of dead and live *P. oceanica* tissues (Gambi *et al*., 2000). To estimate if the ecological and trophic relationships found among these borer polychaetes and the peculiar substratum represented by the sheaths, also have a biochemical-physiological implication, a preliminary study has been initiated to check the occurrence of cellulolytic enzyme activities in these worms.

Materials and methods

Specimens of *Lysidice* spp. were obtained from sheaths collected in March 2000 in a meadow off the island of Ischia (Gulf of Naples): Cava dell'Isola, between 11 and 28 m depth (Cigliano, 2001). Length and wet weight of the specimens were measured before freezing them at –80 °C for the analysis. On some worms, the anterior part (about the first 20 segments) and the intestinal portions were isolated before freezing. The samples were homogenised at 4 °C in a citrate/phosphate buffer (1:1 p:v) 0.05M (pH 4.8). Then they were treated in ultrasound bath at 3 cycles of 15 seconds each. The homogenate was centrifuged at 15.000 g and the supernatant was used for the biochemical analyses. In this pilot study, β-1,4Glucanase and β-Glucosidase activities were measured.

β-1,4Glucanase (C_X Cellulase) activity was estimated modifying assays developed by Biely *et al.* (1985) and Bucholz & Saborowski (1996). The samples were incubated for 30 min at 30 °C in a hydroxymethylcellulose-OBR (Sigma) solution at final concentration of 0.8 mg/ml. The absorbance was analysed spectrophotometrically at 550nm. The enzymatic activity was estimated respect to a calibration curve of the enzyme β-1,3D-Glucanase (from a stock solution at 3U/ml) which was incubated with the same substratum. The cellulolytic activity values were normalized to protein content and reported as μmol of glucose released after 1 hour (μmol/h/mg Prt). Proteins were measured according to the Hartree method (Hartree, 1972), a modification of the Lowry method (Lowry *et al*., 1951), using bovine albumine as standard solution.

β-Glucosidase activity was tested using assays developed by Meyer-Reil (1987). The samples were incubated in dark conditions for 30 min adding 50 μM of 4-Methylumbelliferone-β-glucoside (Sigma) solution. Fluorescence intensity was measured at 365/455nm. A solution of Methylumbelliferone was used as standard; the values were normalized and reported as μmol of substratum released in 1 hour per mg proteins (μmol/h/mg Prt).

For both species of *Lysidice* and both enzymes, the assays were performed on three entire specimens, while for β-1,4Glucanase activity the assays were repeated on the anterior and intestinal portions of other two animals per species. For each assay, and each individual, three sub-samples were considered.

Results and conclusions

The use of synthetic substrates, analogous of the natural degraded cellulose (hydroxymethylcellulose, and 4-Methylumbelliferone-β-glucoside), allowed to confirm the presence of a specific activity for both the enzymes and both species of *Lysidice* (Tab. 1). The absorbance (and fluorescence) values were linear and proportional to enzyme concentration, and always within the calibration curves. Furthermore, testing different animals' portions (anterior and intestine), the activity was quantifiable only in intestinal portions, with as high values as the entire animals' ones (Tab. 1).

Tab. 1 – Mean values (± s.d.) of cellulase activity in different species of *Lysidice* and different body portions.
Valori medi (± d.s.) dell'attività enzimatica cellulosolitica nelle diverse specie di Lysidice *e nelle diverse parti dell'animale.*

	ß-1,4Glucanase (µmol/h/mg Prt)			ß-Glucosidase (µmol /h/mg Prt)
Species	Entire animals	Anterior part	Intestine	Entire animals
Lysidice ninetta	6.69 ± 1.7	0*	6.36 ± 0.8	38.28 ± 10.8
Lysidice collaris	5.18 ± 0.7	0*	4.85 ± 1.3	45.55 ± 6.3

*=values not detectable

β-Glucosidase often occurs in invertebrates and it testifies that they are able to digest the simplest polysaccharides. β-1,4Glucanase has been more rarely demonstrated, and it confirms the capability to cleave β-1,4 glycosidic bonds in the polymers cellulose-derived. There are little data about the cellulolytic activity in polychaetes, despite the high trophic variety of this group (Michel & De Villez, 1978). In the synthesis provided by Yokoe & Yasumasu (1964), the eunicid *Eunice aphroditois*, phylogenetically close to borer species, the sabellid *Sabellastarte indica* and the terebellid *Loimia medusa* showed an endogenous cellulolytic activity. Moreover, cellulase (probably from endogenous synthesis) was documented in the omnivorous nereidid *Nereis virens* (Lewis & Whitney, 1968) and in the filter feeder sabellid *Sabella penicillus* (Lewis, 1980). However, data from previous studies were obtained with a different technique, and did not identify which specific enzymes are involved in the cellulolytic activity. Assays performed for β-Glucosidase and β-1,4Glucanase, on both species of *Lysidice,* demonstrated the presence of specific enzymatic activity, that for β-1,4Glucanase in particular is concentrated in the intestinal part.

Our further approach will be to verify if cellulolytic enzyme synthesis in these species is endogenous, or it is due to associated bacteria in the intestine. Information to this respect are commonly obtained by measuring the cellulolytic activity before and after having eliminated the microrganisms living in digestive organs, generally treating the tissues with antibiotic substances (Yokoe & Yasumasu, 1964). Some isopod Limnoriidae, which are wood borers and include the unique species up to date reported as borer of *Posidonia oceanica* sheaths, *Limnoria mazzellae* (Cookson & Lorenti, 2001), do probably digest cellulose and wood due to the presence of cellulolytic activity of fungi and bacteria occurring on their exoskeleton (El-Shanshoury *et al*., 1994).

These preliminary data confirm that the cellulolytic activity recorded in both species of *Lysidice* is consistent with their ecology, since these taxa mainly occur in vegetated biotopes, as well as with their diet, which is preferentially based on detritus and fresh plant material (Gambi *et al.*, 2000; Castriota *et al.*, 2003). In these worms, the cellulolytic activity may be a further eco-physiological adaptation, or pre-adaptation, to the trophic exploitation of the unique source of detritus represented by *Posidonia oceanica* sheaths.

Acknowledgements

Thanks are due to Prof. R. Danovaro and to his collaborators, Drs A. Dell'Anno and C. Gambi (Univ. of Ancona) for assistance in laboratory assay preparation and analysis, and to Dr V. Zupo (Stazione Zoologica, Napoli) for help in worm's dissection.

References

BIELY P., MISLOVICOVA D., TOMAN R. (1985) - Soluble chromogenic substrates for the assay of endo-1,4-β-xylanases and endo-1,4-β-Glucanases. *Analyt. Biochem.*, **144**: 142-146.

BUCHOLZ F., SABOROWSKI R. (1996) - A field study on the physiology of digestion in the Antarctic krill, *Euphausia superba*, with special regard to chitinolytic enzymes. *J. Plankton Res.,* **18** (6): 895-906.

CASTRIOTA L., GAMBI M.C., ZUPO V., SUNSERI G. (2003) - Structure and trophic ecology of a population of *Lysidice ninetta* (Polychaeta), associated to rhodoliths off the Island of Ustica (Southern Tyrrhenian Sea). *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 517-520.

CIGLIANO M. (2001) - Distribuzione spazio-temporale ed ecologia trofica dei policheti perforatori di "scaglie" di *Posidonia oceanica* (L.) Delile in alcune praterie dell'isola d'Ischia (Golfo di Napoli). Master Thesis (not published), Università "Federico II" di Napoli: 77 pp.

COOKSON L., LORENTI M. (2001) - A new species of limnoriid seagrass borer (Isopoda) from the Mediterranean. *Crustaceana*, **74** (4): 339-346.

EL-SHANSHOURY A.R., MONA M.H., SHOUKR F.A., EL-BOSSERY A.M. (1994) - The enumeration and characterization of bacteria and fungi associated with marine wood-boring isopods, and the ability of these organisms to digest cellulose and wood. *Mar. Biol*., **119**: 321-326.

GAMBI M.C. (2000) - Polychaete borers of the *Posidonia oceanica* (L.) Delile scales: distribution patterns and ecological role. *Biol. Mar. Medit*., **7** (2): 215-219.

GAMBI M.C., CAFIERO G. (2001) - Functional diversity in the *Posidonia oceanica* ecosystem: an example with polychaete borers of the scales. In: F.M. Faranda, L. Guglielmo, G. Spezie (eds), *Mediterranean ecosystems: structure and processes*. Springer-Verlag, Italia: 399-405.

GAMBI M.C., ZUPO V., LORENTI M. (2000) - Borer organisms of the *Posidonia oceanica* scales: trophic role and ecological implications for the ecosystem. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 253-261.

GUIDETTI P., BUSSOTTI S., GAMBI M.C., LORENTI M. (1997) - Invertebrate borers in *Posidonia oceanica* scales: relationship between their distribution and lepidochronological parameters. *Aquat. Bot*., **58**: 151-164.

HARTREE E.F. (1972) - Determination of proteins: a modifications of the Lowry methods that give a linear photometric response. *Analyt. Biochem.,* **48**: 422-427.

LEWIS D.B. (1980) - Cellulase production in *Sabella penicillus* (Annelida, Polychaeta). *J. Mar. Biol. Ass.* U.K.*,* **60**: 1069-1070.

LEWIS D.B., WHITNEY P.J. (1968) - Cellulase in *Nereis virens. Nature*, **220**: 603-604.

LOWRY O.H., ROSEMBROUGH N.S., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) - Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.,* **193**: 265-275.

MEYER-REIL L.A. (1987) - Seasonal and spatial distribution of extracellular enzymatic activities and microbial incorporation of dissolved organic substrates in marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.,* **53**: 1748-1755.

MICHEL C., DE VILLEZ E.J. (1978) - Digestion. In: Mill P.J. (ed), *Physiology of Annelids*. Academic Press: 509-522.

ROMERO J., PERGENT G., PERGENT- MARTINI C., MATEO M., REGNIER C. (1992) - The detritic compartment in a *Posidonia oceanica* meadow: litter features, decomposition rates, and mineral stocks. *P.S.Z.N.I: Mar. Ecol*., **13** (1): 69-83.

XUE X.M., ANDERSON A.J., RICHARDSON N.A., ANDERSON A.J., XUE G.P., MATHER P.B. (1999) - Characterization of cellulase activity in the digestive system of the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Acquaculture,* **180**: 373-386.

YOKOE Y., YASUMASU I. (1964) - The distribution of cellulases in invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, **13**: 323-338.

This project was carried out in the framework of a research program funded by the Municipality of Forio (Ischia-Naples) and the Ministry of the Environment.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 392-395

C. Farchi, L. Alcaro, I. Corsi*, C. Della Torre, M. Penna, C. Balocchi*, S. Bonacci*, E. Amato, A. Rinaldi, S. Focardi*

I.C.R.A.M., Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena,
Via della Cerchia, 3 - 53100 Siena, Italia.

BIOMARKERS D'ESPOSIZIONE E D'EFFETTO IN *CONGER CONGER* (L.) IN RELAZIONE ALLA PRESENZA DI RESIDUATI BELLICI SUI FONDALI DELL'ISOLA DI PIANOSA (ARCIPELAGO DELLE ISOLE TREMITI): ANALISI PRELIMINARE

BIOMARKERS OF EXPOSURE AND EFFECT IN CONGER CONGER *(L.) RELATED TO THE PRESENCE OF WAR RESIDUALS ON THE SEAFLOOR OF PIANOSA ISLAND (TREMITI ISLANDS ARCHIPELAGO): A PRELIMINARY ANALYSIS*

Abstract

Specimen of Conger conger *(L.) have been collected from the island of Pianosa (Tremiti islands, Mediterranean Sea) and analysed in order to assess the noxious effects related to the presence of war residuals on the seafloor. Samples of muscle, gills, liver and brain were collected for biomarker analyses (EROD, BaPMO, NADH ferry-red and AChE). Through this study unpublished data concerning molecular and biochemical responses to pollution of* Conger conger *(L.) were obtained.*

Key-words: Conger conger *(L.), Pianosa island (Mediterranean Sea), war residuals, biomarkers, TNT.*

Introduzione

L'Isola Pianosa è compresa nell'Area Naturale Marina Protetta Isole Tremiti. Sino all'isobata di 70 metri vi insiste il regime di riserva integrale che prescrive i divieti di transito, balneazione e pesca, eccezion fatta, previa autorizzazione, per svolgervi ricerca scientifica. Sui fondali dell'isola sono dispersi numerosi residuati bellici risalenti alla seconda guerra mondiale, in particolare le osservazioni subacquee hanno rivelato la presenza di diverse bombe d'aereo. Obiettivo delle campagne di campionamento svolte nel giugno 2000 e 2001, è stata la sperimentazione di una metodologia d'indagine volta alla valutazione degli effetti sulla fauna bentonectonica infralitorale degli inquinanti persistenti rilasciati da ordigni convenzionali soggetti alla corrosione marina.

Materiali e metodi

Ottenuti i permessi necessari, sono state svolte due campagne di ricerca sui fondali dell'isola di Pianosa tra il 17 e il 24 giugno 2000 e tra il 7 e il 16 giugno 2001 rispettivamente. Al fine di poter apprezzare l'eventuale nocività ambientale delle sostanze xenobiotiche (trinitrotoluene e prodotti di idrolisi) fuoriuscite dai residuati bellici corrosi, ventuno esemplari di *Conger conger* (L.) sono stati raccolti mediante palangaro.

Rilevati peso e lunghezza totale (Tab. 1), sono stati prelevati gli otoliti, campioni di sangue, di tessuto muscolare, epatico, branchiale e cerebrale. I campioni di tessuto destinati alle analisi dei *biomarkers* sono stati conservati in azoto liquido, mentre por-

zioni di muscolo, di branchie e di fegato sono stati conservati in appositi contenitori per la determinazione di metalli pesanti e derivati del TNT.

Tab. 1 – Misure biometriche.
Biometric data.

Periodo di Campionamento	Numero di esemplari	Lunghezza (cm)[a]	Peso (kg) [a]
Giugno 2000	11	89,5 (50 – 115)	1,44 (0,30 – 3,00)
Giugno 2001	10	82 (66 – 103)	1,13 (0,45 – 2,00)

[a] = i valori sono espressi come: Media (min – max)

Nei campioni di tessuto epatico sono stati ricercati markers di esposizione, come l'attività del sistema delle monossigenasi a funzione mista (MFO). È stata misurata l'attività enzimatica 7-etossiresorufina-*O*-deetilasi -EROD (Burke e Mayer, 1974), benzo(a)pirene monossigenasi -BaPMO (Kurelec *et al*., 1979) e NADH ferricianuro reduttasi -ferrired (Livingstone e Farrar, 1984). In campioni di tessuto cerebrale, muscolare e branchiale è stata invece determinata l'attività dell'enzima acetilcolinesterasi-AChE (Ellman *et al*., 1961). Infine è stato misurato il contenuto in proteine totali (Bradford, 1977) sia nella frazione microsomiale epatica sia in campioni di muscolo, branchie e cervello.

Risultati

Dal confronto tra l'espressione dell'enzima AChE nei tre tessuti analizzati è stato rilevato, come per altre specie (Mineau, 1991), l'andamento cervello > muscolo > branchie (Tab. 2).

Tab. 2 – Attività AChE (nmol min^{-1}mg $prot^{-}$) in campioni di *Conger conger* (L.) prelevati nel 2000 e 2001.
AChE activity (nmol min^{-1}*mg* $prot^{-}$*) in samples of* Conger conger *(L.) collected in 2000 and 2001.*

Periodo di Campionamento	Attività AChE (nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$)		
	Tessuto cerebrale	Tessuto muscolare	Tessuto Branchiale
Giugno 2000	77,5 (18,1 – 211,1) n = 11	31,5 (12,5 – 77,1) n = 10	19,9 (11,7 – 32,2) n = 11
Giugno 2001	46,6 (31,1 – 61,8) n = 9	29,7 (15,7 – 50,1) n = 10	23,6 (16,1 – 40,6) n = 10

[a] = i valori sono espressi come: Media (min – max)

Si sottolinea che per quanto concerne l'attività AChE rilevata nel tessuto muscolare, gli individui di taglia maggiore prelevati nel 2000 (n=6) e 2001 (n=5) (86-120 cm) hanno evidenziato una attività media dell'enzima pari a 19,3 e 22,5 nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$ rispettivamente. L'attività media rilevata negli individui di taglia minore (50-85 cm), è risultata, invece, pari a 49,7 e 36,9 nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$ per i campioni prelevati nel 2000 (n=4) e nel 2001 (n=5) rispettivamente. L'attività AChE misurata nel tessuto branchiale, nei due periodi di campionamento, è risultata in media pari a 17,0 e 19,8 nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$ per gli individui di taglia maggiore mentre è risultata in media pari a 23,3 e 27,4 nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$ per quelli di taglia minore. L'attività AchE cerebrale, infine, è risultata, per gli individui di taglia maggiore, in media pari a 47,8 e 63,0 nmol min^{-1}mg $prot^{-1}$ mentre, per quelli di taglia minore, è risultata in media pari a 45,8 e 90,5 nmol min^{-1}mg $prot^{-1}$.

Per quanto riguarda le MFO epatiche, nei diversi individui ed in entrambi gli anni di campionamento, si registra una forte variabilità dell'attività BaPMO, una variabilità intermedia dell'attività EROD e infine una debole variabilità dell'attività NADH ferrired (Tab. 3).

Tab. 3 – Attività EROD (pmol min^{-1}mg $prot^{-}$), BaPMO (UAF min^{-1}mg $prot^{-}$) e NADH ferrired (nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$) in campioni di *Conger conger* (L.) prelevati nel 2000 e 2001.
EROD (pmol min^{-1}mg $prot^{-}$), BaPMO (UAF min^{-1}mg prot) and NADH ferry-red (nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$) activity in samples of Conger conger *(L.) collected in 2000 and 2001.*

Periodo di Campionamento	Attività MFO [a]		
	EROD (pmol min^{-1} mg $prot^{-1}$)	BaPMO (UAF min^{-1} mg $prot^{-1}$)	NADH ferrired (nmol min^{-1} mg $prot^{-1}$)
Giugno 2000	62,4 (43,1 – 75,5) n = 3	6,74 (0,03 - 27,92) n = 9	599,6 (265,8 – 905,1) n = 10
Giugno 2001	27,1 (4,5 – 45,9) n = 8	1,50 (0,04 – 4,84) n = 9	832,4 (449,1 – 1025,8) n = 9

[a] = i valori sono espressi come: Media (min – max)

Conclusioni

La presente indagine ha permesso di ottenere i primi dati riguardo *biomarkers* d'esposizione e d'effetto in *Conger conger* (L.) che potrebbero rivelarsi utili in future ricerche ecotossicologiche in ambiente marino. I risultati ottenuti circa l'attività AChE nel muscolo sono in accordo con le osservazioni condotte su altre specie come la triglia di fango *Mullus barbatus* (Burgeot *et al*., 1996). Analizzando inoltre le poche informazioni disponibili sull'autoecologia della specie studiata, potrebbe essere ipotizzabile l'utilizzo del *Conger conger* (L.) come organismo sentinella in programmi di biomonitoraggio.

Al fine di verificare l'ipotesi che le risposte osservate siano ascrivibili alla presenza di contaminanti, attualmente sono in corso ulteriori studi in aree libere da residuati bellici in modo tale da poter confrontare i dati ottenuti con quelli relativi ad aree di riferimento.

Bibliografia

BRADFORD M.M. (1976) - A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analitycal Biochemistry*, **72**: 248-254.

BURGEOT T., BOCQUÉNÉ G., PORTE C., DIMEET J., SANTELLA R.M., GARCIA DE LA PARRA L.M., PFHOL-LESZKOWICZ A., RAOUX C., GALGANI F. (1996) - Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, **131**: 125-141.

BURKE M.D., MAYER R.T. (1974) - Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal-*O*-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholantrene. *Drug Metabolism and Disposition*, **2**: 583-588.

ELLMANN G.L., COURTNEY K.D., ANDREAS V. JR., FEATHERSTONE R.M. (1961) - A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochemistry Pharmacology*, **7**: 82-88.

KURELEC B., BRIVTIC S., RIJAVED M., MULLER W.E.G., ZAHN R.K. (1977) - Benzo(a)pyrene monooxigenase induction in marine fish. Molecular response to oil pollution. *Marine Biology*, **44**: 211-216.

LIVINGSTONE D.R., FARRAR S.V. (1984) - Tissue and subcellular distibution of enzyme activities of mixed-function oxygenase and benzo[*a*]pyrene metabolism in the common mussel *Mytilus edulis* L. *The Science of the Total Environment*, **39**: 209-235.

MINEAU P. (1991) - Cholinesterase-inhibiting insecticides. Their impact on wildlife and the environment. *Chemicals in Agriculture*, Elsevier, **2**: 349 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 396-397

A. Pagliarani, V. Ventrella, M.P. Manuzzi, M. Pirini, F. Trombetti, G. Trigari, A.R. Borgatti

Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Sezione di Biochimica Veterinaria, Università di Bologna, Ozzano Emilia, Bologna, Italia.

NA^+-ATPASI INSENSIBILE ALL'OUABAINA IN BRANCHIE DI MOLLUSCHI BIVALVI DELL'ADRIATICO: EFFETTI AMBIENTALI

OUABAIN-INSENSITIVE NA^+-ATPASE IN GILLS OF BIVALVE MOLLUSCS FROM THE ADRIATIC SEA: ENVIRONMENTAL EFFECTS

Abstract

Environmental effects on the ouabain-insensitive Na^+-ATPase were evaluated in the bivalve molluscs Chamelea gallina *and* Tapes philippinarum. *Gill Na^+-ATPase changes in the two clam species kept under mussel culture in the Adriatic Sea during Summer, and especially the enzyme inhibition, were apparently unrelated to a possible ammonia increase since a Na^+-ATPase enhancement was elicited in ammonia exposed clams.*

Key-words: *environmental factors, ammonia, enzymatic activity, gills, marine molluscs.*

Introduzione

L'attività Na^+-ATPasica Mg^{2+}-dipendente, non inibita da ouabaina a concentrazioni che annullano la coesistente (Na^++ K^+)-ATPasi, riscontrata in numerose specie animali e definita come Na^+-ATPasi, in alcuni molluschi bivalvi bentonici (*Chamelea gallina*, *Tapes philippinarum*, *Scapharca inæquivalvis*) ha attività paragonabile alla (Na^++ K^+)-ATPasi. In *Mytilus galloprovincialis* dove la Na^+-ATPasi è costantemente molto superiore alla (Na^++ K^+)-ATPasi, è stata dimostrata sensibile ad azoto ammoniacale e metalli pesanti (Pagliarani *et al*., 1996). Su tali basi la Na^+-ATPasi, particolarmente in tessuti direttamente esposti al mezzo esterno, sembra potenzialmente un buon candidato per saggiare effetti ambientali.

Materiali e metodi

L'approccio sperimentale si è avvalso di prove in campo (A) e in ambiente controllato (B). A) La Na^+-ATPasi branchiale è stata determinata in esemplari di *C. gallina* e *T. philippinarum* posizionati in ceste a circa 8 m di profondità sotto impianti di mitilicoltura dell'Adriatico a circa 6 Km al largo di Cesenatico (FC) e in parallelo in vongole delle due specie prelevate dal pescato della stessa area geografica (controlli). I campionamenti sono stati effettuati mensilmente nella stagione estiva, periodo in cui, per il sovrapporsi di possibili condizioni ipossiche favorenti l'accumulo di ammoniaca sul fondale, sono amplificate le condizioni di stress degli animali dovute all'affollamento in un ambiente limitato. I dati di mortalità sono stati ottenuti in collaborazione con il Centro Ricerche Marine di Cesenatico.

B) L'effetto dell'esposizione ad ammoniaca sulla Na^+-ATPasi branchiale è stato quindi saggiato esponendo vongole delle due specie in acquari termostatati a 15-16 °C, contenenti acqua di mare artificiale alla salinità del 33‰ per 96 ore a 0,3 e 0,5 mg L^{-1} di azoto ammoniacale ($N\text{-}NH_3$), concentrazioni ritenute ambedue elevate nell'ambiente marino (ARPA-Regione Emilia-Romagna, 1998). Ciascun trattamento è stato effettuato in duplicato. Per verificare la corrispondenza dei valori nominali con quelli effettivi, la determinazione del contenuto di azoto ammoniacale è stata effettuata in tutte le vasche

prima e dopo il cambio dell'acqua, effettuato giornalmente prima dell'aggiunta della soluzione di cloruro d'ammonio nelle vasche relative ai trattamenti sperimentali.

La Na^+-ATPasi è stata valutata spettrofotometricamente in preparazioni microsomali di branchie, determinando il fosfato inorganico (Pi) liberato da quantità note di proteina (Pagliarani *et al*., 1996) nelle condizioni ottimali di saggio per questo tessuto per ciascuna specie e cioè pH 6,0, MgATP 5 mM, Na^+ 10 mM per *C. gallina* e pH 7,5, MgATP 5 mM e Na^+ 80 mM per *T. philippinarum*. I valori di attività Na^+-ATPasica sono stati analizzati statisticamente, utilizzando il programma Sigma-Stat, mediante ANOVA ($p<0,05$), seguita da test di Tukey quando necessario, valutando in A le differenze tra stoccati e controlli nei vari prelievi e in B le differenze tra specie e tra i trattamenti sperimentali.

Risultati

In luglio, dopo circa un mese di stabulazione (A), è stato evidenziato un significativo aumento della Na^+-ATPasi branchiale in *C. gallina* rispetto ai controlli, che di fatto ha preceduto la morte di tutti gli esemplari stoccati. Invece in *T. philippinarum* l'attività della Na^+-ATPasi, è risultata significativamente più alta dai controlli in luglio e fortemente depressa in agosto, in concomitanza di una mortalità di circa il 30% negli animali stoccati, e di nuovo sovrapponibile ai controlli in settembre, quando la mortalità è salita al 39%. L'analisi statistica ha evidenziato che le due specie si comportano diversamente rispetto ai trattamenti sperimentali (nessuna risposta in *C. gallina* e stimolazione dell'attività enzimatica in *T. philippinarum*); la risposta è apparsa invece indipendente dalle due diverse concentrazioni di azoto ammoniacale a cui sono stati esposti gli animali.

Nelle prove in ambiente controllato (B), l'esposizione a $N\text{-}NH_3$, le cui concentrazioni effettive sono risultate in buon accordo con quelle previste, ha prodotto effetti sulla Na±ATPasi branchiale solo in *T. philippinarum.* In tale specie infatti è stato evidenziato un raddoppio di attività enzimatica da 0,7 a 2,0 micromoli $Pi \cdot mg\ proteina^{-1} \cdot ora^{-1}$ ad entrambe le concentrazioni di esposizione. In *C .gallina* non si è manifestato alcun effetto e l'attività enzimatica è risultata costantemente attorno a 1,0 micromoli $Pi \cdot mg\ proteina^{-1} \cdot ora^{-1}$.

Conclusioni

L'attivazione della Na-ATPasi negli esemplari di *T. philippinarum* esposti ad ammoniaca non ha apparentemente alcun riscontro nelle differenze di attività Na-ATPasica tra stoccati e controlli riscontrata nelle prove in campo. E' chiaro quindi che tali differenze, in particolare la depressione enzimatica, sono difficilmente correlabili ad accumulo di ammoniaca, ma possono essere dovute piuttosto alla concomitanza di fattori di stress.

Bibliografia

ARPA-REGIONE EMILIA ROMAGNA (1998) - *Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna*. *Rapporto Annuale*. Assessorato Territorio, Programmazione e Ambiente della Regione Emilia-Romagna: 223 pp.

PAGLIARANI A., VENTRELLA V., TROMBETTI F., PIRINI M., TRIGARI G., BORGATTI A.R. (1996) -Mussel microsomal Na^+-Mg^{2+}-ATPase sensitivity to waterborne mercury, zinc and ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.,* **113C** (2): 185-191.

Il lavoro è stato finanziato dal MiPAF.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 398-400

D.M. Pampanin, M.G. Marin

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova,
Via U. Bassi, 58/B - 35131 Padova, Italia.

VARIAZIONI STAGIONALI DI ACIDI NUCLEICI E PROTEINE IN *TAPES PHILIPPINARUM* DELLA LAGUNA DI VENEZIA

SEASONAL VARIATIONS OF NUCLEIC ACIDS AND PROTEINS IN TAPES PHILIPPINARUM *COLLECTED IN THE LAGOON OF VENICE*

Abstract

*Nucleic acid and protein contents and RNA/DNA ratio were measured in gill and digestive gland of the Manila clam (*Tapes philippinarum*) monthly collected in the Lagoon of Venice. These biochemical parameters, previously applied to larval stages, are proposed as growth indices for evaluating the well-being of clam populations.*

Key-words*: clams, nucleic acids, proteins, Venice Lagoon, growth index.*

Introduzione

La necessità di valutare la crescita e lo stato di benessere di animali marini, in relazione alle fluttuazioni naturali dei parametri ambientali e ad un sempre crescente impatto delle attività umane, ha portato all'individuazione di una serie di indici biologici in grado di fornire informazioni sulle modalità di crescita degli organismi, sui loro limiti fisiologici ed ecologici e sulla loro distribuzione in natura. In questo contesto il contenuto in acidi nucleici e proteine e i loro relativi rapporti, in particolare il rapporto RNA/DNA, sono da tempo utilizzati come indici di crescita degli stadi larvali di pesci e invertebrati acquatici (Dortch *et al*., 1983; Buckley, 1984; Bergeron, 1997). E' stata evidenziata una stretta relazione tra il tasso di sintesi proteica ed il rapporto RNA/DNA che risulta riflettere lo stato nutrizionale delle larve (Clemmensen, 1987), nonchè variazioni legate alla disponibilità alimentare, alla taglia e all'età (Clemmensen, 1994). L'applicazione di queste metodiche ai molluschi bivalvi, soprattutto negli stadi giovanili ed adulti, è avvenuta solo di recente (Chicharo e Chicharo, 1995; Bracho *et al*., 2000; Chicharo *et al.,* 2001).

Materiali e metodi

I campionamenti di vongole (*Tapes philippinarum*) sono stati effettuati con cadenza mensile per un anno, da luglio 2000 fino a luglio 2001, nel bacino centrale della Laguna di Venezia (S.Angelo della Polvere). Gli animali raccolti con un rastrello manuale sono stati immediatamente trasportati in laboratorio per le analisi; campioni di branchia e di ghiandola digestiva, prelevati da 20 individui, sono stati analizzati singolarmente secondo la tecnica spettrofluorimetrica di Caldarone e Buckley (1991), per gli acidi nucleici, e secondo il metodo di Bradford (1976), per le proteine. Tutte le misure sono state riferite al peso secco del tessuto relativo.

Risultati

Si è osservata una relativa stabilità del contenuto di DNA (µg DNA/mg peso secco di tessuto), riconducibile alla sua presenza in quantità costante nelle cellule somatiche

(Fig. 1a). Poiché la sua misura fornisce una stima del numero di cellule per unità di peso di tessuto nonché delle dimensioni cellulari, si possono spiegare i valori più elevati ottenuti nel tessuto branchiale. Il lieve aumento in DNA registrato per entrambi i tessuti nel periodo primaverile-estivo potrebbe rispecchiare una diminuzione del volume cellulare correlata alle richieste della maturazione gonadica ed alle aumentate necessità metaboliche associate alle alte temperature, anche se l'osservato incremento della parassitosi può far ipotizzare una quantificazione di DNA esogeno. Un'analoga quantificazione di RNA e proteine può risultare invece più facilmente mascherata dalla maggior variabilità di entrambi in relazione alle mutevoli condizioni metaboliche dell'animale. In particolare, le variazioni nel contenuto di RNA (µg RNA/mg peso secco di tessuto), sempre maggiore nella ghiandola digestiva, risultano funzione dell'ammontare della sintesi proteica e quindi correlabili alle esigenze metaboliche individuali degli organismi ed a tutti i fattori ambientali che influiscono sui processi di crescita (Fig. 1b). Il rapporto RNA/DNA, misura dell'attività di sintesi proteica per cellula, presenta valori massimi nei mesi primaverili, in corrispondenza di una fase di elevata attività gametogenetica (Fig. 1c). L'andamento del contenuto proteico mostra valori maggiori nella ghiandola digestiva e minimi autunnali per entrambi i tessuti (Fig. 1d).

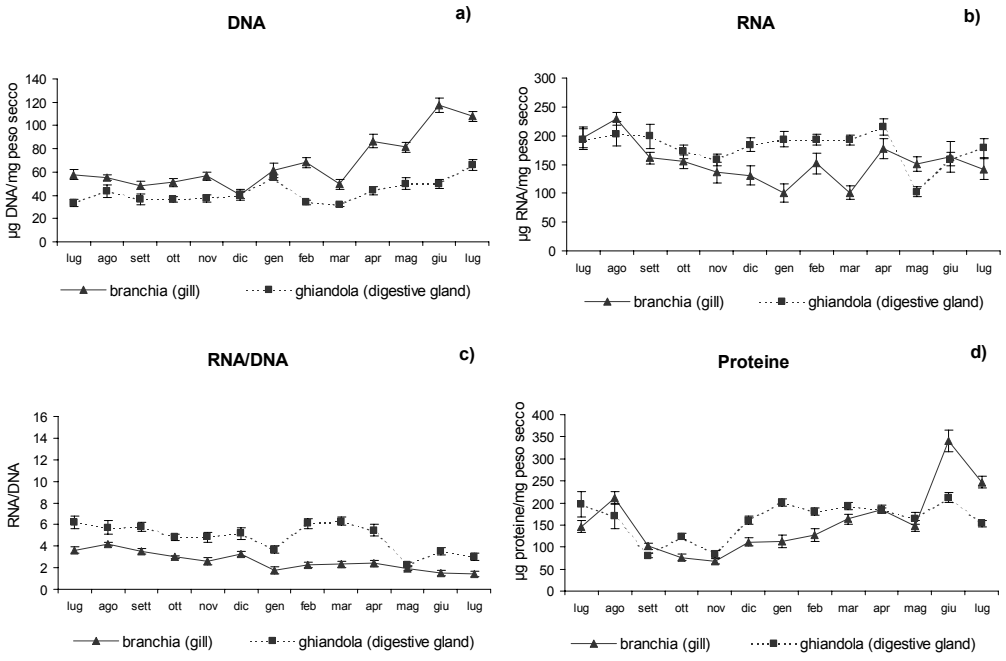


Fig. 1 – Variazioni mensili del contenuto di DNA (a), RNA (b) e proteine (d), espressi in µg/mg di peso secco di tessuto, e del rapporto RNA/DNA (c) (medie±e. s., n=20).

Monthly variations of DNA (a), RNA (b) and proteins (d) contents, as µg/mg of tissue dry weight, and RNA/DNA ratio (c) (mean±s.e., n=20).

Conclusioni

La quantificazione degli acidi nucleici e delle proteine può rappresentare un utile strumento di ricerca, considerando l'elevata sensibilità del contenuto in RNA, e di conseguenza del rapporto RNA/DNA, alle variazioni di molteplici fattori, sia esogeni (temperatura e disponibilità di cibo) che endogeni (ciclo riproduttivo, parassitosi). Si cercherà pertanto di valutare in futuri studi le variazioni di questi parametri in popolazioni di vongole soggette a diverse condizioni ambientali.

Bibliografia

BERGERON J.P. (1997) – Nucleic acid in ichthyoplankton ecology: a review, with emphasis on recent advance for new perspectives. *J. Fish Biol.*, **51**: 284-302.

BRACHO B.M.A., SEGNINI DE BRAVO M.I., VINOLES I., CHUNG K.S. (2000) – Food effect on the physiological condition of the mussel Perna viridis (Bivalvia: Mytilidae), using the RNA/DNA ratio. *Revista de Biologia Tropical,* **48**: 171-182.

BRADFORD M.M. (1976) – A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**: 248-254.

BUCKLEY L.J. (1984) – RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Mar. Biol.*, **80**: 291-298.

CALDARONE E.M., BUCKLEY L.J. (1991) – Quantitation of DNA and RNA in crude tissue extracts by flow injection analysis. *Anal. Biochem*., **199**: 137-141.

CHICHARO L.M.Z., CHICHARO M.A. (1995) – The RNA/DNA ratio as a useful indicator of the nutritional condition in juveniles of Ruditapes decussatus. *Sci. Mar.,* **59**: 95-101.

CHICHARO L.M.Z., CHICHARO M.A., ALVES F., AMARAL A., PEREIRA A., REGALA J. (2001) - Diel variation of the RNA/DNA ratios in Crassostrea angulata (Lamarck) and Ruditapes decussatus (Linnaeus 1758) (Mollusca : Bivalvia). *J. exp. Mar. Biol. Ecol.,* **259**: 121-129.

CLEMMENSEN C.M. (1987) – Laboratory studies on RNA/DNA ratios of starved and fed herring (Clupea harengus) and turbot (Scophthalmus maximus) larvae. *J. Cons. Int. Explor. Mer,* **43**: 122-128.

CLEMMENSEN C.M. (1994) – The effect of food availability, age of size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. *Mar. Biol.*, **118**: 377-382.

DORTCH Q., ROBERTS T.L., CLAYTON J.R. Jr, AHMED S.I. (1983) – RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic marine organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **13**: 61-71.

La ricerca è stata finanziata dalla Comunità Europea nell'ambito del progetto Studies 99/062: "Assessing the impact of bivalve fisheries on the benthic ecosystems of the Ria Formosa lagoon (Portugal), Venice lagoon (Italy), Aegean Sea (Kavala-Greece) and on the juvenile flatfish in the South coast of Portugal (IMPACTO)".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 401-403

M.M. Storelli, M. Gallo, R. Giacominelli-Stuffler, E. Ceci, R. D'Addabbo, G.O. Marcotrigiano

Dip. Farmaco-Biologico, Sez. Chimica e Biochimica, Facoltà Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Bari, Italia.

DISTRIBUZIONE CELLULARE DI METALLI (ZN, CU E CD) NEL FEGATO E RENE DI TARTARUGHE MARINE

CELLULAR DISTRIBUTION OF METALS (ZN, CU AND CD) IN LIVER AND KIDNEY OF SEA TURTLES

Abstract

*Negli organi di entrambi gli esemplari (*Caretta caretta *e* Chelonia mydas*) le concentrazioni dei metalli sono nell'ordine Zn>Cu>Cd. La distribuzione quantitativa di questi elementi tra il pellet e il surnatante ha evidenziato, salvo alcune eccezioni, livelli più elevati nel pellet. Nel surnatante sono stati riscontrati metalli legati a tioneine.*

Key-words*: chemical pollution, metallothioneins, aquatic reptiles.*

Introduzione

Le metallotioneine, proteine citoplasmatiche, svolgono un importante compito nel controllo intracellulare di metalli essenziali quali Zn e Cu, nonché di metalli che non hanno alcun ruolo biologico come il Cd. L'elevato contenuto di gruppi tiolici (-SH) in queste proteine le rende capaci di legare numerosi ioni metallici a formare gruppi metallo-tiolato. Poiché la loro induzione è strettamente correlata all'esposizione ad alcuni metalli, esse possono essere utilizzate come biomarkers cellulari per valutare il livello di inquinamento da metalli tossici negli organismi viventi. Attualmente tra i vertebrati maggiormente studiati per la presenza di metallotioneine vi sono anche i mammiferi quali foche (Olafson e Thompson, 1974), leoni marini (Lee *et al*., 1977) e delfini (Storelli e Marcotrigiano, 2002), mentre mancano dati sui rettili quali le tartarughe marine, organismi oggi in pericolo di estinzione. Nel presente lavoro sono state determinate le concentrazioni di Zn, Cu e Cd, e relative metallotioneine in tartarughe marine delle specie *Caretta caretta* e *Chelonia mydas*.

Materiali e metodi

Da un esemplare di *Caretta caretta* (kg 20) e da uno di *Chelonia mydas* (kg 2,5), entrambi di sesso maschile, spiaggiati lungo la costa pugliese (Mare Adriatico), sono stati prelevati il fegato e il rene. Per Zn, Cu, e Cd, 2 g di tessuto omogeneizzato, sono stati disgregati con HNO_3 e $HClO_4$ (Ciusa e Giaccio, 1984); per le metallotioneine 1 g di tessuto addizionato di tampone Tris-HCl 16 mM, pH 8.6 è omogeneizzato. L'omogenato viene centrifugato e il sovranatante, dopo filtrazione, viene caricato su colonna di vetro impaccata con resina Sephadex G-75, ed eluito con lo stesso tampone (Deeds e Klerks, 1999). Su 45 frazioni di eluito vengono determinati i metalli legati alle metallotioneine (Viarengo *et al*., 1997). La determinazione quantitativa, effettuata in spettrofotometria ad A. A., a fiamma per l'atomizzazione dello Zn e fornetto a grafite per il Cu e Cd.

Risultati

Nel fegato di *C. caretta* lo Zn è presente in concentrazioni più elevate, seguito dal Cu e dal Cd. Un diverso andamento è stato osservato per il fegato di *C. mydas*, dove il Cu e lo Zn sono presenti in concentrazioni dello stesso ordine di grandezza, seguiti dal Cd. L'analisi della distribuzione quantitativa di questi elementi tra il pellet e il surnatante evidenzia, salvo alcune eccezioni, livelli più elevati nel pellet. Nell'eluato relativo al fegato di *C. caretta,* la percentuale di metallo legata a metallotioneine risulta pari al 28.13% per lo Zn e al 56.16% per il Cu, mentre in *C. mydas* si riscontrano percentuali di Zn, Cu e Cd rispettivamente di 13.69%, 53,45% e di 41.66%. Nel rene di entrambi gli esemplari le concentrazioni dei metalli determinati sono generalmente nell'ordine Zn>Cu>Cd. Il pellet costituisce la frazione che presenta le più elevate concentrazioni dei metalli per entrambi gli esemplari (Tab. 1). Per il rene di *C. mydas* lo Zn ed il Cu legati a metallotioneine mostrano percentuali rispettivamente di 31.19% e di 10.71% mentre in *C. caretta* nessun metallo risulta legato a tali proteine.

Tab. 1 – Concentrazione dei metalli Cd, Cu, Zn (µg/g p.u.) e loro distribuzione tissutale.
Concentration (µg/g p.u.) and tissutal distribution of Cd, Cu and Zn metals.

		Cd		Cu		Zn	
		(µg/g)	%	(µg/g)	%	(µg/g)	%
C. caretta	Tessuto	0.15		3.95		22.28	
	Pellet	0.12	-	3.10	80.94	11.98	52.98
FEGATO	Sovranatante	-	-	0.73	19.06	10.63	47.01
RENE	Tessuto	0.14		1.19		22.07	
	Pellet	0.10	-	0.43	38.39	13.89	63.69
	Sovranatante	-	-	0.69	61.61	7.92	36.31
C. mydas	Tessuto	4.62		36.09		32.16	
	Pellet	4.51	97.41	20.63	55.95	24.45	75.44
FEGATO	Sovranatante	0.12	2.59	16.24	44.05	7.96	24.56
RENE	Tessuto	4.66		15.10		27.76	
	Pellet	4.43	94.66	9.26	66.05	20.24	80.28
	Sovranatante	0.25	5.34	4.76	33.95	4.97	19.71

Conclusioni

Anche se la mancanza di lavori in letteratura sulla presenza di metallotioneine in tartarughe marine rende impossibile una comparazione dei risultati, i dati ottenuti evidenziano, tuttavia, il ruolo primario di queste proteine nel controllo intracellulare dei metalli essenziali Zn e Cu. Per quanto concerne il Cd la totale assenza nel surnatante del fegato e rene nella specie *C. caretta* e la sua presenza, anche se a livelli modesti e non sempre legato a tioneine ma a proteine ad elevato peso molecolare, nella specie *C. mydas* può essere imputabile alle basse concentrazioni con cui questo metallo è presente. È noto, infatti, che in presenza di metalli tossici, in particolare di Cd, viene indotta la sintesi di metallotioneine che esplicano un'azione detossificante, legandosi a questi e riducendone sensibilmente la loro tossicità.

Bibliografia

CIUSA W., GIACCIO E.M. (1984) - *Il problema degli oligoelementi nelle specie ittiche dei mari italiani*. Ed. Cacucci: 227 pp.

DEEDS J.R., KLERKS P.L. (1999) - Metallothionein-like proteins in the freshwater oligochaete *Limnodrilus udekemianus* and their role as a homeostatic mechanism against cadmium toxicity. *Environ. Pollut*., **106**: 381-389.

LEE S.S., MATE B.R., VON DER TRENCH K.T., RIMERMAN R.A., BUHLER D.R. (1977) - Metallothionein and the subcellular localization of mercury and cadmium in the California Sea Lion. *Comp. Biochem. Physiol.,* **57C**: 45-53.

OLAFSON R.W., THOMPSON J.A.J. (1974) - Isolation of heavy metal binding proteins from marine vertebrates. *Mar. Biol*., **28**: 83-86.

STORELLI M.M., MARCOTRIGIANO G.O. (2002) - Subcellular distribution of heavy metals in livers and kidneys of *Stenella coeruleoalba* and *Tursiops truncatus* from the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull*., **44**: 74-79.

VIARENGO A., PONZANO E., DONDERO F., FABBRI R. (1997) - A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to mediterranean and antartic molluscs. *Mar. Environ. Res*., **44**: 69-84.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 404-407

L. Ballarin, M. Dall'Oro, D. Bertotto*, A. Libertini*, A. Barbaro*

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via U. Bassi, 58 b - 35100 Padova, Italia.
*Istituto di Biologia del Mare, CNR, Venezia, Italia.

CARATTERISTICHE EMATOLOGICHE NELL'OMBRINA (*UMBRINA CIRROSA*). CONFRONTO TRA INDIVIDUI TRIPLOIDI E DIPLOIDI

*HAEMATOLOGICAL CHARACTERISTICS IN THE SHI DRUM (*UMBRINA CIRROSA*). COMPARISON BETWEEN TRIPLOID AND DIPLOID SPECIMENS*

Abstract

Some haematological characteristics of diploid and triploid shi drums were compared. Significant differences in the size of erythrocytes were reported, whereas no significant variations in both haematocrit and haemoglobin concentration were observed. Diploid red blood cells resulted more fragile than triploid ones to osmotic stress and plasma glucose levels were significantly higher in triploids. The latter results are probably related to reduced exchange through the plasma membrane as a consequence of lower surface:volume ratio in triploids.

Key-words: *shi drum, polyploids, hematology.*

Introduzione

Negli ultimi anni è aumentato l'interesse dell'acquacoltura per l'ombrina (*Umbrina cirrosa* L.) per il consolidarsi delle sue tecniche di allevamento e per l'elevato prezzo che tale specie spunta sul mercato (Barbaro *et al.*, 2002). Questa specie, riproducendosi in estate, consente di utilizzare le avannotterie anche in periodi normalmente non sfruttati per la produzione delle specie più allevate (orata e branzino). Inoltre, la possibilità di applicare la poliploidizzazione e la conseguente produzione di ombrine triploidi sterili, con il loro potenziale incremento nella crescita postpuberale ed il ridotto impatto genetico sulle popolazioni naturali, offrono ulteriori prospettive per lo sfruttamento bio-compatibile di questa specie (Libertini *et al*., 1999). La condizione poliploide è generalmente accompagnata da modificazioni nella morfologia e nella fisiologia cellulare che, nel caso degli elementi figurati del sangue, possono variare la fitness degli individui originati da manipolazione del corredo cromosomico. Pertanto, sono state intraprese alcune indagini sulle caratteristiche ematologiche dell'ombrina confrontando individui triploidi e diploidi.

Materiali e metodi

Le ombrine utilizzate sono state ottenute per riproduzione controllata. La triploidia è stata indotta sottoponendo le uova, dopo fecondazione artificiale, a shock freddo (5-10 °C) al fine di provocare la ritenzione del secondo polocita; l'efficacia dell'induzione è risultata del 100%. Gli individui triploidi e diploidi sono stati campionati periodicamente fino a 18 mesi di età. La ploidia è stata determinata in ciascun individuo tramite citofluorimetria a flusso.

Il sangue è stato prelevato dalla vena caudale con una siringa sterile da 5 ml (ago 23G × 1¼) e conservato in provette di polietilene contenenti eparina (70 U/ml di sangue) come anticoagulante. La concentrazione di eritrociti è stata valutata mediante

conteggio con camera di Bürker. Per l'osservazione al microscopio ottico, sono stati allestiti preparati a fresco su vetrino portaoggetti, diluendo il sangue 1:1000 in tampone fosfato salino (PBS: 0,8% NaCl, 0,02% KCl, 0,02% KH_2PO_4, 0,115% Na_2HPO_4, pH 7,2), e strisci di sangue *in toto* fissati al calore e colorati con May Grünwald-Giemsa. Le immagini, acquisite con telecamera, sono state analizzate con un sistema di analisi di immagine CASTI Image. Per l'analisi al microscopio elettronico a scansione, 100 µl di sangue diluito 1:100 in PBS sono stati posti su vetrini coprioggetto precedentemente trattati con poli-L-lisina e lasciati aderire per 30 min in camera umida. Le cellule sono state poi fissate in 1% glutaraldeide in PBS contenente 1% saccarosio, disidratate attraverso una serie crescente di soluzioni di etanolo in acqua e "critical point" finale (con acetone come fluido di transizione), e metallizzate con oro. L'ematocrito è stato valutato centrifugando il sangue, introdotto in appositi capillari, per 5 min a 8700× g (Testi e Rossi Ferrini, 1981). La fragilità osmotica degli eritrociti è stata valutata secondo il metodo di Daces e Lewis (Testi e Rossi Ferrini, 1981) sospendendo le cellule in soluzioni a concentrazione decrescente di NaCl. La quantità di emoglobina è stata determinata secondo la metodica della cianometaemoglobina di Drabkin e Austin (1935). La concentrazione ematica di glucosio è stata valutata con il metodo colorimetrico di Raabo e Terkildsen (1960). I valori ottenuti sono stati confrontati con il test *t* di Student.

Risultati e conclusioni

L'analisi ha evidenziato una differenza significativa ($P<0,001$) tra la concentrazione ematica degli eritrociti circolanti nelle ombrine triploidi e quella dei diploidi; la minore concentrazione degli eritrociti nei triploidi risulta controbilanciata dall'aumento significativo ($P<0,001$) delle dimensioni cellulari. Anche le dimensioni nucleari risultano significativamente diverse ($P<0,001$) tra eritrociti diploidi e triploidi. Analogamente, le dimensioni dei trombociti sono significativamente ($P<0,001$) maggiori nei triploidi rispetto ai diploidi. Il valore di ematocrito non risulta significativamente diverso in entrambe le ploidie, così come la quantità di emoglobina totale (Tab. 1, Fig. 1). Fra-

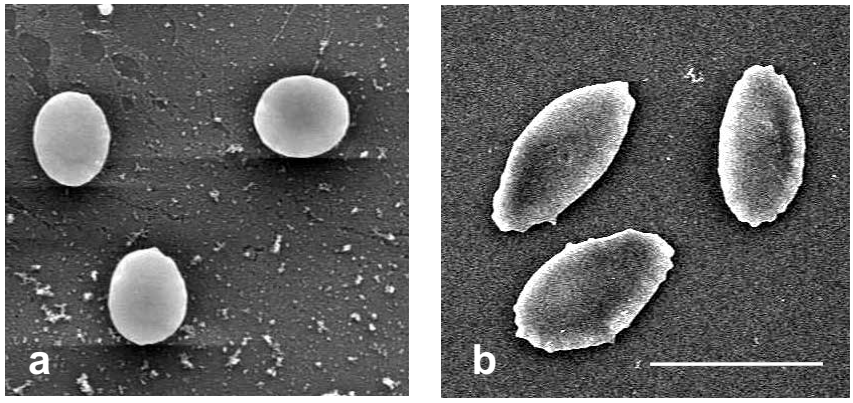


Fig. 1 - Micrografie al microscopio elettronico a scansione di eritrociti diploidi (a) e triploidi (b). Barra: 10 µm.
SEM micrographs of diploid (a) and triploid (b) erythrocytes. Bar: 10 µm.

gilità osmotica e concentrazione di glucosio ematico sono, invece, diverse nei triploidi rispetto ai diploidi: per quanto riguarda la fragilità gli eritrociti dei triploidi risultano in grado di sopportare un maggior stress osmotico del mezzo rispetto alle cellule diploidi (Fig. 2), mentre la glicemia risulta significativamente maggiore ($P<0,05$) nei triploidi rispetto ai diploidi (Tab. 1). Entrambi gli ultimi risultati vanno ricondotti alle maggiori dimensioni delle cellule triploidi e alla conseguente diminuzione del rapporto

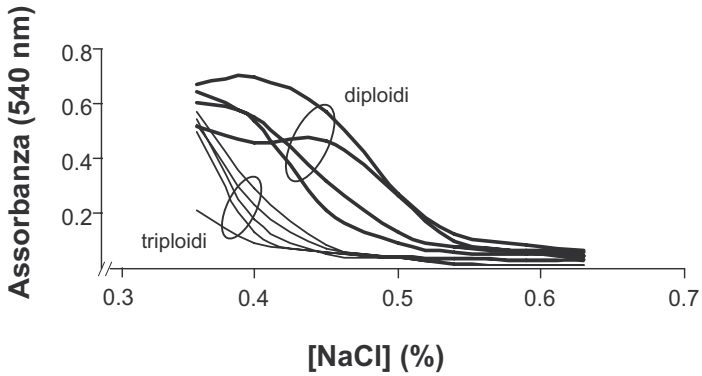


Fig. 2 – Curve di fragilità osmotica di eritrociti da individui diploidi e triploidi.
Osmotic fragility curves of erythrocytes from diploid and triploid specimens.

Tab. 1 – Confronto tra alcuni parametri ematologici in individui diploidi e triploidi di *Umbrina cirrosa*. Le differenze significative sono indicate da asterischi. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.
Comparison between some haematological parameters in diploid and triploid specimens of Umbrina cirrosa*. Significative differences are marked by asterisks*. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

PARAMETRO	DIPLOIDI	TRIPLOIDI
Ematocrito (%)	28,47 ± 4,42	26,79 ± 7,25
Conteggio eritrociti (10^6cellule/mm^3)	5,09 ± 1,17	2,22 ± 0,38 ***
Diametro maggiore eritrociti *in vivo* (µm)	10,26 ± 1,01	12,78 ± 1,27 ***
Diametro minore eritrociti *in vivo* (µm)	7,61 ± 0,79	9,22 ± 0,86 ***
Diametro maggiore eritrociti su strisci (µm)	10,85 ± 0,93	13,50 ± 1,10 ***
Diametro minore eritrociti su strisci (µm)	6,19 ± 0,52	6,85 ± 0,58 ***
Diametro maggiore eritrociti al SEM (µm)	9,06 ± 0,98	10,83 ± 1,17 ***
Diametro minore eritrociti al SEM (µm)	5,81 ± 0,52	7,14 ± 0,72 **
Diametro maggiore trombociti su strisci (µm)	5,99 ± 0,74	6,32 ± 0,67 ***
Diametro minore trombociti su strisci (µm)	3,46 ± 0,34	3,89 ± 0,39 ***
Diametro maggiore trombociti al SEM (µm)	4,43 ± 0.74	5,02 ± 0,65 ***
Diametro minore trombociti al SEM (µm)	2,15 ± 0,18	2,53 ± 0,18 ***
Concentrazione glucosio (mg/ml)	7,30 ± 2,25	9,16 ± 1,88*
Emoglobina totale (g/l)	0,86 ± 0,59	0,86 ± 1,74

superficie/volume che riduce significativamente gli scambi per diffusione e trasporto (quali l'assunzione di acqua e di glucosio) attraverso la membrana plasmatica (Benfey e Biron, 2000). A 18 mesi di età la maturazione sessuale delle ombrine non è stata ancora raggiunta ed il confronto delle caratteristiche produttive tra triploidi e diploidi sarà perciò effettuato nella fase postpuberale. Attualmente il diverso accrescimento sembra legato più alle condizioni di allevamento che a differenze della ploidia; infatti, in condizioni di isotermia annuale (19 °C) le ombrine triploidi crescono più delle diploidi (1083 ± 32 g e 1034 ± 24 g, rispettivamente) mentre con fluttuazioni stagionali della temperatura avviene l'inverso (442 ± 7 g e 472 ± 7 g).

In generale, i nostri dati sulle caratteristiche ematologiche dell'ombrina concordano con quanto già riportato in letteratura per altre specie tradizionalmente allevate (Benfey, 1999) e suggeriscono una maggiore cura nell'allevamento dei triploidi, fornendo loro condizioni quanto meno stressanti possibile.

Ringraziamenti

Si ringrazia l'Impianto Ittico Sperimentale di Veneto Agricoltura (Pellestrina, Venezia) per il supporto logistico.

Bibliografia

BARBARO A., FRANCESCON A., BERTOTTO D, BOZZATO G., DI MARIA I., PATARNELLO P., FURLAN F., COLOMBO L. (2002) - More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable canditate for Mediterranean mariculture *J. Appl. Ichthyol*., **18**: 1-8.

BENFEY T.J. (1999) – The physiology and behaviour of triploid fishes. *Rev. Fish. Sci.*, **7**: 39-67.

BENFEY T.J., BIRON M. (2000) – Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, **184**: 167-176.

DRABKIN D.L., AUSTIN J.H. (1935) – Spectrophotometric studies. II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. *J. Biol. Chem*., **112**: 51-65.

LIBERTINI A., FRANCESCON A., BOZZATO G., BARBARO A. (1999) - The shi drum, *Umbrina cirrosa* (L.), an unexploited resource for Mediterranean aquaculture: recent advances in captive reproduction and applied cytogenetics. In: Enne G., Greppi G.F. (eds), *New Species for Mediterranean Aquaculture*, Biofutur: 237-244.

RAABO E., TERKILDSEN T.C. (1960) – On the enzymatic determination of blood glucose. *Scand. J. Clin. Invest*., **12**: 402-407.

TESTI A., ROSSI FERRINI P. (1981) – Ematologia. In: Pasquinelli (ed), *Diagnostica e tecniche di laboratorio*. Rossini Ed., Firenze, **2**: 835-983.

La ricerca è stata finanziata dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali nell'ambito del V Piano Triennale per la Pesca e l'Acquacoltura.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 408-411

D. Bertotto, A. Barbaro, E. Veronese, C. Poltronieri*, A. Francescon

Istituto di Biologia del Mare, CNR, Castello 1364a – 30122 Venezia, Italia.
*Impianto Ittico Sperimentale di Pellestrina, Veneto Agricoltura, Venezia, Italia.

OTTIMIZZAZIONE DELL'OVODEPOSIZIONE IN CATTIVITA' DELLA SOGLIOLA (*SOLEA SOLEA*) MEDIANTE TRATTAMENTO ORMONALE CON GNRH A RILASCIO PROLUNGATO

*SOLE (*SOLEA SOLEA*) OVIPOSITION IMPROVEMENT IN CAPTIVITY WITH LONG-ACTING GNRH HORMONAL TREATMENT*

Abstract

*To improve controlled reproduction of the common sole (*Solea solea*) in captivity a long-acting commercial preparation of GnRH (20 or 40 µg/kg body weight) was injected in two broodstock lots of wild soles caught in the Gulf of Venice. The best result was achieved using the dose of 20 µg with a production of 10,300 viable eggs/kg/day; the untreated control lot spawned only 5,200 eggs/kg/day. Moreover the oviposition period was shortened of 50% in the hormonal treated lots.*

Key-words: Solea solea*, induced breeding, gonadotropic hormones.*

Introduzione

La riproduzione in cattività e l'allevamento della sogliola comune (*Solea solea* L.) sono da alcuni anni oggetto di studio grazie al rilevante interesse economico che caratterizza questa specie. Le varie sperimentazioni effettuate a tutt'oggi hanno rilevato in molti casi una buona adattabilità dei riproduttori alle condizioni di cattività con l'ottenimento a volte di ovodeposizioni spontanee (Howell, 1997; Bertotto *et al*., 2001). Alcuni fattori, tuttavia, sembrano inibire la riproduzione spontanea della specie mantenuta in cattività (Howell, 1997). La sogliola inoltre depone gruppi di uova rilasciandole durante tutto il periodo riproduttivo che può durare anche oltre 60 giorni.

L'esigenza perciò di garantire e di programmare negli impianti le ovodeposizioni così da poter disporre in un periodo ristretto di adeguati quantitativi di uova e le poche sperimentazioni effettuate finora in proposito ci hanno indotto a condurre prove di stimolazione di riproduttori di sogliola utilizzando un preparato che libera l'ormone rilasciante la gonadotropina (GnRH) in modo costante e prolungato; questo preparato si è dimostrato particolarmente efficace nelle specie ittiche di allevamento con sviluppo asincrono dell'ovario ed ovodeposizioni multiple durante la stessa stagione riproduttiva (Mylonas e Zohar, 2001; Barbaro *et al.*, 2002).

Materiali e metodi

I riproduttori selvatici di sogliola sono stati pescati nell'alto Adriatico ed adattati alla cattività presso un impianto ittico (Pellestrina, Venezia) in vasche di stabulazione in cemento (superficie libera 30 m^2, volume totale 29 m^3) con fondo in sabbia. Un sistema elettronico di marcatura interna applicato dopo 90 giorni dalla cattura ha permesso di seguire ciascun animale individualmente nelle varie fasi, dall'acclimatazione all'evento riproduttivo, mediante biometrie e osservazioni periodiche. Tutte le sogliole sono state termicamente condizionate mantenendo la temperatura media dell'acqua di

stabulazione tra 12 e 14 °C da novembre a marzo e lasciandola seguire il naturale andamento stagionale negli altri periodi. All'inizio di marzo, quando si è rivelata la presenza di alcune uova nella vasca di stabulazione, gli animali sono stati pescati, misurati, pesati e distinti per sesso; date le contenute dimensioni (27-32 cm) ed il limitato dimorfismo tra i maschi e le femmine di questa specie, il riconoscimento è stato possibile solamente basandosi sulla forma, sulla posizione e sullo sviluppo della massa delle gonadi viste in trasparenza. Con tale metodo si sono formati tre lotti sperimentali (Tab. 1) che sono stati posti in altrettante vasche di deposizione (superficie libera 9 m^2, volume totale 10 m^3) con fondo in sabbia. Il rapporto sessi è stato mantenuto pressoché unitario in base al numero di maschi e di femmine mature rinvenute. Due lotti sono stati ormonalmente trattati rispettivamente con 20 o 40 µg (per kg di peso corporeo del riproduttore) di un analogo di sintesi dell'ormone GnRH (des-Gly^{10}, [D-Leu^6] -LH-RH ethylamide, Enantone depot, Takeda, Giappone) incapsulato in microsfere in modo da garantire un rilascio costante e prolungato nel tempo; le dosi sono state iniettate un'unica volta all'inizio della sperimentazione sia ai maschi che alle femmine. Il terzo lotto, non trattato, è stato usato come controllo.

Tab. 1 – Dati biometrici, all'inizio della sperimentazione, dei tre lotti di sogliola (due trattati con GnRH a lento rilascio e uno non trattato di controllo) e produzione di uova; i dati sono espressi come medie ± i limiti fiduciali al 95%.

Biometric data, at the beginning of study, of the three sole lots (two treated with long-acting GnRH and one untreated control lot) and egg production; data are expressed as means ±95% confidence limits.

	Controllo	**GnRH 20 µg/kg**	**GnRH 40 µg/kg**
MASCHI			
numero	**9**	**8**	**8**
lunghezza totale (cm)	**27** ± 2	**30** ± 1	**30** ± 3
peso (g)	**189** ± 46	**279** ± 49	**272** ± 91
biomassa (kg)	**1,7**	**2,2**	**2,2**
FEMMINE			
numero	**10**	**7**	**7**
lunghezza totale (cm)	**28** ± 2	**32** ± 2	**32** ± 1
peso (g)	**228** ± 72	**425** ± 44	**413** ± 71
biomassa (kg)	**2,3**	**3,0**	**3,0**
UOVA			
durata ovodeposizione (giorni)	**69**	**25**	**24**
deposizione effettiva (giorni)	**49**	**23**	**22**
uova totali (n/kg)	**321.100**	**302.400**	**162.700**
fecondazione (%)	**79** ± 5	**74** ± 10	**67** ± 13
uova vitali (n/kg)	**255.600**	**237.500**	**118.200**
uova vitali (n/kg/giorno)	**5.200**	**10.300**	**5.400**
diametro corionico (µm)	**961** ± 7	**1011** ± 6	**984** ± 4

Ciascun lotto è stato seguito giornalmente, dal trasferimento nelle vasche di deposizione alla fine dell'emissione (durata dell'ovodeposizione), in modo da poter rilevare i giorni in cui erano presenti le uova (deposizione effettiva). Per ogni lotto, veniva determinato il numero totale di uova deposte e la loro percentuale di fecondazione; da questi si è calcolato il numero di uova vitali. Inoltre, due volte alla settimana, si è misurato il diametro corionico equatoriale di 20 uova vitali. Dopo due settimane consecutive di mancata emissione di uova la sperimentazione è stata sospesa.

Risultati

L'emissione ha avuto inizio dopo 2-4 giorni dal trasferimento delle sogliole nelle vasche di deposizione e si sono ottenute uova quasi ogni giorno in tutti e tre i lotti; l'ovodeposizione è durata 69 giorni nel lotto di controllo, 25 nel lotto trattato con 20 µg di GnRH e 24 nel lotto con 40 µg con una deposizione effettiva di 49, 23 e 22 giorni rispettivamente (Tab. 1).

La produzione totale di uova è stata di 321.100 per chilogrammo di femmina nel controllo, 302.400 nel lotto trattato con 20 µg di GnRH e 162.700 in quello con 40 µg; le percentuali medie di fecondazione sono state rispettivamente di 79±5, 74±10 e 67±13. Nel complesso i lotti che hanno dato i risultati migliori sono stati quello trattato con la dose ridotta di GnRH (20 µg) e quello di controllo (non trattato) con una produzione totale di uova vitali rispettivamente di 237.500/kg e di 255.600/kg; il lotto trattato con 40 µg ha deposto soltanto 118.200 uova vitali/kg. Tuttavia, la quantità di uova vitali/kg deposte giornalmente è risultata essere nettamente superiore nel lotto trattato con la dose ridotta di GnRH (10.300 uova contro 5.200 del lotto di controllo e 5.400 del lotto trattato con 40 µg). Nel lotto trattato con 20 µg, infatti, la durata dell'ovodeposizione si è dimezzata e l'80% delle uova vitali è stato emesso entro i primi 22 giorni contro i 52 del controllo (Fig. 1). In altre sperimentazioni condotte nel medesimo periodo stagionale, 4 lotti di riproduttori di sogliola, simili ai precedenti e sottoposti al medesimo condizionamento termico dell'acqua, non hanno mai iniziato l'ovodeposizione; questa è, invece, avvenuta solo dopo un trattamento con GnRH a rilascio prolungato (20 o 40 µg/kg) con alte produzioni di uova vitali.

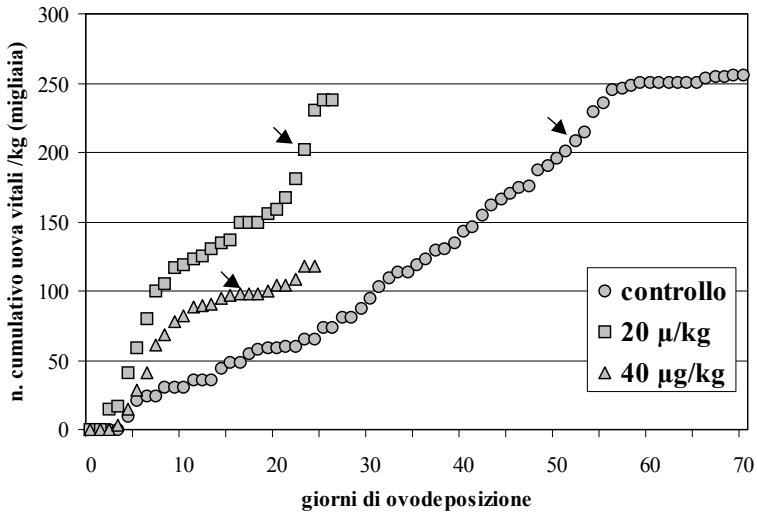


Fig. 1 – Produzione cumulativa delle uova vitali (numero/kg di peso corporeo di femmina) dei tre lotti di sogliola (due trattati con GnRH a lento rilascio e uno non trattato di controllo); per ogni lotto è indicato (freccia) dopo quanti giorni viene raggiunta una produzione di uova pari all'80% di tutte quelle deposte.

Cumulative viable egg production (number/kg of female body weight) of the three sole lots (two treated with long-acting GnRH and one untreated control lot); for each lot the number of days to reach 80% of the total egg production is indicated (arrow).

Produzioni totali di 11.000-471.000 uova/kg per stagione (fecondazione da 0 a 95%) sono riportati per sogliole allevate in ambienti mediterranei ed atlantici dove la deposizione, naturale o indotta con trattamento ormonale (250-1500 UI di hCG/kg o 10 µg di LH-RH/kg a rilascio acuto), è durata da quattro giorni a nove mesi a seconda della consistenza del gruppo dei riproduttori e della loro taglia (Baynes *et al*., 1993).

Conclusioni

La somministrazione ai riproduttori di sogliola di una dose appropriata (20 µg/kg) di GnRH a rilascio costante e prolungato può garantire, perciò, deposizioni programmate e l'ottenimento di una quantità di uova vitali comparabile a quella ottenuta mediante il solo condizionamento termico. Inoltre questo trattamento consente di ottimizzare nell'impianto i tempi e la manodopera grazie al quantitativo giornaliero di uova nettamente superiore che può essere raccolto in un periodo dimezzato rispetto ai normali tempi di ovodeposizione della sogliola.

Bibliografia

BARBARO A., FRANCESCON A., BERTOTTO D., BOZZATO G., DI MARIA I., PATARNELLO P., FURLAN F., COLOMBO L. (2002) - More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable canditate for Mediterranean mariculture. *J. Appl. Ichthyol*., **18**: 1-8.

BAYNES S.M., HOWELL B.R., BEARD T.W. (1993) - A review of egg production by captive sole, *Solea solea* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management,* **24**: 171-180.

BERTOTTO D., FRANCESCON A., POLTRONIERI C., BARBARO A. (2001) - La sogliola comune *Solea solea*. *Il Pesce,* **6**: 97-107.

HOWELL B.R. (1997) - A re-appraisal of the potential of the sole, *Solea solea* (L.) for commercial cultivation. *Aquaculture,* **155**: 355-365.

MYLONAS C.C., ZOHAR Y. (2001) – Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries,* **10**: 463-491.

Lavoro finanziato dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali nell'ambito del VI Piano triennale per la pesca e l'acquacoltura.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 412-414

S. Caberlotto, T. Galvan, M. Pellizzato

Agri.Te.Co., Via Mezzacapo, 15 – 30175 Marghera, Venezia, Italia.

MOLLUSCHICOLTURA SPERIMENTALE IN BIOTOPI MARGINALI DELLA LAGUNA DI VENEZIA

SHELLFISH CULTURE IN MARGINAL AREAS OF THE VENICE LAGOON

Abstract

*The present paper reports data related to shellfish culture as an ecologically sustainable activity to improve the productivity of marginal areas of the Venice Lagoon. Juveniles of different species (*Crassostrea gigas, Mytilus galloprovincialis, Tapes (Ruditapes) philippinarum[1], Modiolus barbatus*) have been cultured according to different methods. Growth, mortality rates, chemical, physical and biological parameters have been collected and processed for two years (2000 and 2001).*

Key-words: Crassostrea gigas, Mytilus galloprovincialis, Tapes (Ruditapes) philippinarum, Modiolus barbatus*, Venice lagoon.*

Introduzione

E' stato intrapreso uno studio atto a verificare l'efficacia di nuove pratiche di molluschicoltura in alcuni biotopi marginali della Laguna di Venezia, quali le valli da pesca. Il settore richiede la diversificazione della produzione e l'estensione, ad altre zone potenzialmente vocate, di pratiche culturali innovative. Complessivamente sono state utilizzate quattro specie di molluschi bivalvi: *Crassostrea gigas*, *Mytilus galloprovincialis*, *Tapes* (*Ruditapes*) *philippinarum*[1] e *Modiolus barbatus*; esse sono state coltivate utilizzando metodiche differenti e ricercando soluzioni per ridurre e mitigare l'eventuale impatto ambientale in caso di una loro futura applicazione su larga scala.

Materiali e metodi

La sperimentazione si è sviluppata negli anni 2000 e 2001 in diverse zone della Valle Dogà, nel bacino nord della laguna di Venezia. I parametri biometrici considerati per valutare la riuscita produttiva delle specie impiegate riguardavano la lunghezza, il peso e la mortalità (%). Le caratteristiche dell'ambiente di allevamento sono descritte in Pellizzato *et al*. (1998), in quanto l'area è stata oggetto di una precedente ricerca.

Crassostrea gigas: il 28 Febbraio 2000 circa 10.000 ostriche di 16,4±3,9 mm di lunghezza media della specie *C. gigas*, provenienti da Archachon (Cap Ferret – Francia), sono state poste ad allevare in contenitori in sospensione (ceste e "poches").

Mytilus galloprovincialis: da marzo 2000 168 kg di mitili proveniente da un allevamento commerciale situato in laguna di Venezia (Bacino di Chioggia) sono stati allevati in sospensione in "reste" in un parco vivaio appositamente allestito per la

---

([1]) Ci si attiene alla sistematica specifica e alle sinonimie della sottofamiglia Tapetinae P. Fischer, 1887 (ovvero Tapetinae, H. & A. Adams, 1857, oggi Tapesinae, Gray, 1851). *Ruditapes*, Chiamenti, 1900, può essere considerato a livello generico oppure quale sottogenere di *Tapes*, Von Mühlfeld, 1811. Le divergenze tra *Tapes* e *Ruditapes*, fondate su caratteri conchigliologici di scarso rilievo, ci inducono a scartare la discriminazione a livello generico.

sperimentazione. I giovani esemplari impiegati (la lunghezza media iniziale era di 30,57 ± 5,1 mm) sono stati allevati secondo i più diffusi sistemi in uso in laguna ed in mare, opportunamente adattati (Pellizzato *et al*., 1998).

Tapes philippinarum: in primavera 2001 sono stati seminati nei fondali della valle giovani esemplari di *T. philippinarum* provenienti dalla laguna di Venezia al fine di valutare, in un esperimento a breve termine, il loro accrescimento nel nuovo ambiente.

Modiolus barbatus: nel settembre 2000 è stata condotta una prova di allevamento con seme molto piccolo (1.200 es./g) ottenuto, per mezzo di riproduzione controllata dall'impianto C.Ri.M. di Goro – FE). Sono stati impiegati vari contenitori di plastica, alcuni dei quali ricoperti da substrato coralligeno.

Risultati

Crassostrea gigas: questa specie ha mostrato nei bacini vallivi una rapida crescita, soprattutto nel primo periodo di allevamento (febbraio-giugno 2000), tanto da raggiungere in appena 4 mesi la taglia commerciale (6 cm); l'indice di mortalità raggiunge nel primo mese, valori attorno al 2%, sino ad arrivare in sei mesi ad una perdita di circa il 50% del prodotto, sia per l'effettiva mortalità che per perdite dovute a cernita e pulizia; raggiunta la taglia minima di vendita la mortalità si riduce sensibilmente e si attesta intorno al 6% nei successivi 12 mesi di crescita. Nella successiva stagione primaverile le ostriche allevate in sospensione hanno sviluppato un consistente bordo conchigliare (1-3 cm di conchiglia neo formata ed un peso superiore ai 100 g), che testimonia il buono stato di salute e le loro ottime qualità mercantili (Tab. 1).

Tab. 1 – *C. gigas*: pesi e lunghezze medie degli esemplari nel corso della sperimentazione.
C. gigas: *mean weight and length reached during the oysters trial.*

C. gigas	**feb-00**	**mag-00**	**giu-00**	**ago-00**	**ott-00**	**gen-01**	**apr-01**	**giu-01**	**set-01**
Lunghezza media (mm)	16,40	38,85	61,57	62,59	75,36	80,76	94,77	96,33	102,42
D. S. della lunghezza	3,90	6,80	13,5	14,3	14,9	16,2	15,9	17,7	21,2
Peso medio (g)	0,516	7,3	26,9	30,0	51,8	63,6	101,9	106,9	128,0

Mytilus galloprovincialis: nel corso del primo anno di allevamento i valori di mortalità si sono mantenuti ad un livello produttivo accettabile (20%), mentre la crescita è stata elevata (raddoppio in lunghezza ed aumento in peso superiore al 700% in dieci mesi, Tab. 2). L'andamento riscontrato nel secondo anno di sperimentazione (modesta crescita ed elevate mortalità nel periodo estivo non dovute a particolari fattori contingenti), fanno ritenere opportuno commercializzare il prodotto entro il mese di luglio.

Tab. 2 – *M. galloprovincialis*: pesi e lunghezze medie degli esemplari nel corso della sperimentazione.
M. galloprovincialis: *mean weight and length reached during the trial.*

M. galloprovincialis	**mar-00**	**gen-01**	**mag-01**	**lug-01**	**ott-01**
Lunghezza media (mm)	30,57	61,85	66,49	63,88	67,77
D. S. della lunghezza	5,1	12,8	12,5	13,2	15,7
Peso medio (g)	3,30	25,40	31,40	27,81	33,33

Tapes philippinarum: gli esemplari seminati nella primavera hanno mostrato soddisfacenti livelli di accrescimento; ad ogni campionamento la distribuzione delle lunghezze degli esemplari (ripartita in classi di 5 mm), migrava verso quella di categoria superiore, mentre la variabilità interna (evidenziata dalla deviazione standard) rimaneva abbastanza omogenea, indicando una crescita costante dell'intera popolazione seminata (Tab. 3).

Tab. 3 – *T. philipppinarum:* lunghezza media e deviazione standard durante sette mesi di crescita.
T. philipppinarum: *mean length and standard deviation during a seven-months growth period.*

T. philippinarum	**apr-01**	**giu-01**	**ago-01**	**ott-01**
Lunghezza media (mm)	13,5	20,4	23,59	27,13
D. S.	2,46	2,59	1,93	2,86

Modiolus barbatus: gli esemplari hanno presentato un andamento non ottimale ed un'elevata mortalità probabilmente dovuta alla taglia iniziale particolarmente piccola con cui si è iniziata la sperimentazione; inoltre tali esemplari, probabilmente non ancora completamente "svezzati", sono andati incontro ad un periodo climatico particolarmente sfavorevole per il verificarsi di notevoli variazioni metereologiche ed ambientali.

Conclusioni

Le ostriche hanno dimostrato un'ottima adattabilità all'allevamento vallivo. Anche i mitili e le vongole veraci filippine sembrano mantenere nell'ambiente di valle le loro elevate caratteristiche di rusticità e la possibilità di praticarne l'allevamento; i mitili, tuttavia, durante la seconda estate di coltura per il loro notevole accrescimento e le alte densità a cui vengono comunemente allevati, risultano particolarmente sensibili alle elevate temperature estive ed alle conseguenti ipossie. I mitili pelosi allevati non hanno prodotto i risultati auspicati, soprattutto per l'elevata mortalità registrata.

Per i mitili il cui ciclo produttivo non viene completamente supportato con efficienza dall'ambiente vallivo, è comunque proponibile una mirata attività di coltura limitata alle fasi più vantaggiose (i.e. "nursery" e "finissaggio"), bene integrabili sia con l'economia valliva che con la filiera della molluschicoltura alto-adriatica.

Bibliografia

PELLIZZATO M., LIBRALATO M., NESTO N. (1998) – Molluschicoltura in biotopi marginali della laguna di Venezia. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (3): 1917-1926.

Questo studio è stato condotto con il contributo del Ministero per le politiche agricole e forestali, Direzione Generale della Pesca e dell'Acquacoltura. Esso non riflette necessariamente il punto di vista dell'Amministrazione e non anticipa in alcun modo le future decisioni gestionali.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 415-417

S. Caberlotto, M. Pellizzato, M. Bressan*

Agri.Te.Co., Via Mezzacapo 15 – 30175 Marghera, Venezia, Italia.
*Università di Padova, Dip. Biologia, Via Bassi, 58/B – 35131 Padova, Italia.

A SUCCESSFUL METHOD OF COLLECTING MANILA CLAM (*TAPES PHILIPPINARUM*) SPAT IN THE VENICE LAGOON

UN EFFICACE METODO DI RACCOLTA PER IL SEME DI TAPES PHILIPPINARUM *IN LAGUNA DI VENEZIA*

Abstract

The use of specifically designed collectors enable the collection of juveniles of the species Tapes philippinarum. *In the years 2000 and 2001 the settlement of this species showed peaks in June and August and a drop in July. The collected spat can be seeded in licensed areas which have been assigned for aquaculture purposes.*

Key-words: *settlement, seed collection, spat,* Tapes philippinarum*, Venice lagoon*.

Introduction

Since its fast spread and acclimation, *Tapes philippinarum* has represented one of the most important fishery products of the Venice Lagoon. To preserve that delicate ecosystem from intensive dredging by fishery vessels, several licensed water areas (concessions) have been assigned for aquaculture purposes. Even if the natural environment withstands settlement and growth of manila clams, yearly seeding is necessary to increase the productivity of the concessions. Spat could be purchased from hatcheries, with a considerable increase of costs, or gathered from the lagoon by means of fishing gear provided with very fine nets. But it can be also carried out by means of specifically designed collectors (Bressan *et al.*, 2002a). The present work aims at quantifying the capacity of collection of a particular type of artificial collectors, in order to define a suitable harvesting strategy. One complete cycle, from spawning to settlement has been considered.

Materials and methods

Artificial collectors, consisting of polyethylene-perforated tubes (diameter 10 cm, length about 30 cm), provided with an internal substrate "geotexil", were suspended horizontally 30-50 cm above the lagoon bottom, from April to October both in 2000 and 2001. Two experimental sites were located in two channels of Venice central basin (Canale Vittorio E. III and Canale Contorta), one in a channel of the southern basin (Canale Perognola). The time of immersion could vary, but two weeks was the mean period. In the laboratory, all retrieved collectors were rinsed, samples were collected in a 100 μm net, preserved in 4% buffered formaldehyde and observed by means of stereomicroscope. Values correspond to the monthly mean of settled clams per square meter per day (ind. m^{-2} d^{-1}).

Results

Although in 2001 the mean settlement rate was about ten times higher than in 2000, settlement trends were similar in both years (Fig. 1): mean values showed peaks in June

(31 ind. m^{-2} d^{-1}, 2000; 181 ind. m^{-2} d^{-1}, 2001) and August (20 ind. m^{-2} d^{-1}, 2000; 292 ind. m^{-2} d^{-1}, 2001) and a drop in July (13 ind. m^{-2} d^{-1}, 2000; 133 ind. m^{-2} d^{-1}, 2001). Such a drop was probably due to the time required by the gonads to ripen (Privitera, pers. comm.). The other months were characterized by low values (4-10 ind. m^{-2} d^{-1} in 2001) with the exception of May 2001 (146 ind. m^{-2} d^{-1}). As far as settlement abundance is concerned, the sampling sites showed remarkable variations in the same period, which was probably due to the different hydrodynamic features of the two lagoon basins; in 2001 the highest collecting rate of juveniles occurred in the sites located in the central basin (Fig. 2, Fig. 3). Other bivalve species were also identified, most of which belonged to the Mytilidae, Cardiidae, Pectinidae and Donacidae families, but only *Mytilus galloprovincialis* showed remarkable abundance.

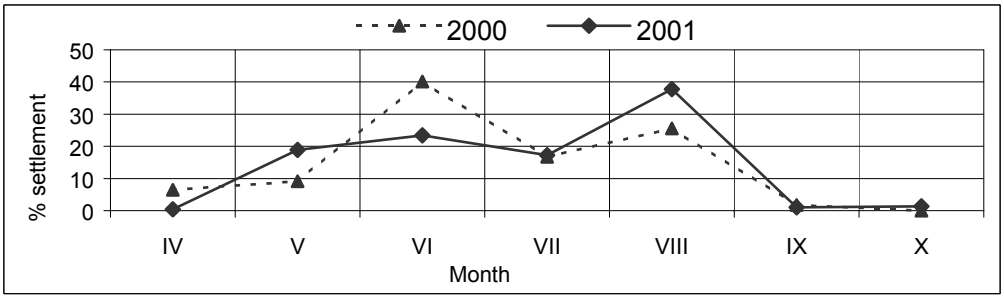


Fig. 1 – 2000 and 2001 trends of *Tapes philippinarum* settlement (three sites total percentage).
Distribuzione percentuale dell'insediamento di T. philippinarum *nelle stagioni 2000 e 2001 (delle tre stazioni complessivamente).*

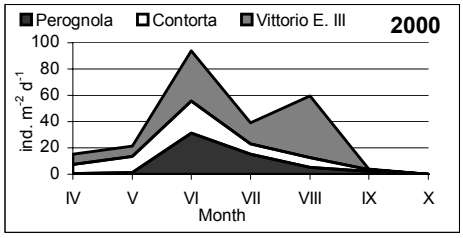


Fig. 2 – Cumulative representation of the monthly mean settlement of *T. philippinarum* in all sites from April to October 2000.
Rappresentazione cumulativa dell'insediamento di T. philippinarum *nelle tre stazioni da aprile ad ottobre 2000.*

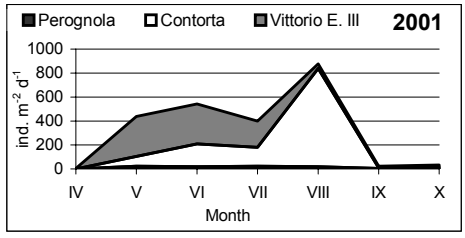


Fig. 3 – Cumulative representation of the monthly mean settlement of *T. philippinarum* in all sites from April to October 2001.
Rappresentazione cumulativa dell'insediamento di T. philippinarum *nelle tre stazioni da aprile ad ottobre 2001.*

Conclusions

The results of this study suggest the suitability of artificial substrates for collecting *T. philippinarum* spat even in areas which are not optimal for recruitment and survival

of stocks of adults, because of the sediment texture and composition or the high level of pollution. The setting-up of artificial spat collectors for commercial purposes can also favour the collection of important quantities of spat at low cost even in areas not suitable for farming and the spread of the previously collected spat in licensed on-growing grounds (Bressan *et al*., 2002b). Moreover, the risk of adding no target species is very low, in fact *M. galloprovincialis*, the other abundant species in the collectors, does not choose soft bottoms, preferring the solid ones.

References

BRESSAN M., BARICHELLO B., GATTO T., PELLIZZATO M. (2002a) - Utilizzo di substrati artificiali per monitorare l'insediamento larvale di molluschi bivalvi nella laguna di Venezia. *Lavori Soc. Ven. Sc. Nat.*, **27**: 33-46.

BRESSAN M., BARICHELLO B., GATTO T., STELLATO M., ZAMPIERI S., PELLIZZATO M. (2002b) – Insediamento larvale di molluschi bivalvi di interesse commerciale in Laguna di Venezia. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 244-246.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 418-420

A. Cannas, E. Lecca[1], G. Lenti[2]

C.i.r.s.pe - Centro italiano ricerche e studi sulla pesca, Via De' Gigli d'Oro, 21 – Roma, Italia.
[1]Acquacoltura e Ricerca, Cagliari, Italia.
[2]Ittica Nora Cagliari, Italia.

PRODUZIONE DI AVANNOTTI DI *MUGIL CEPHALUS* (L.) PER IL RIPOPOLAMENTO DI LAGUNE SARDE

PRODUCTION OF JUVENILES OF MUGIL CEPHALUS *(L.) USED TO RESTOCK SARDINIAN COASTAL LAGOONS*

Abstract

The present paper shows the results of a research lasted three years with the aim to produce juveniles of Mugil cephalus *(L.) for a restocking program in coastal lagoons, using big volumes. The research showed good results in term of quantity and qualtiy of the juveniles.*

Key-words: Mugil cephalus*, induced breeding, larval rearing.*

Introduzione

Negli ultimi anni si è assistito in molte lagune sarde, ad un progressivo calo delle produzioni ittiche (Cannas A. *et al*., 1997). Una delle specie soggette a calo è il *Mugil cephalus* (L.), particolarmente significativo dal punto di vista economico per il valore aggiunto conferito dalla produzione di bottarga. E' pertanto importante incrementare le rese lagunari attraverso azioni di ripopolamento attivo. Finora la disponibilità di avannotti di *M. cephalus* in Italia deriva esclusivamente da seme catturato in natura. In questo lavoro si riportano i risultati di tre anni di ricerca (1999-2001) che hanno consentito la messa a punto di tecniche di riproduzione di *Mugil cephalus*, per ottenere seme di qualità e in quantità adeguate per il ripopolamento lagunare.

Materiali e metodi

La tecnica utilizzata, messa a punto dal prof. Stefano Cataudella dell'Università Tor Vergata di Roma ed innovativa per questa specie, è basata su sistemi di allevamento larvale in grandi volumi. Le prove sono state effettuate presso un'avannotteria sperimentale di Pula (Cagliari), utilizzando riproduttori pescati in agosto e settembre. Nei tre anni sono state selezionate 23 femmine di peso compreso tra 800 e 1.500 g. Per l'induzione ormonale si è utilizzato il leuprolide acetato. I maschi non sono stati trattati perché fluenti naturalmente. I riproduttori sono stati stoccati in una vasca di 3 m^3 ad una densità non superiore a 2,5 kg/m^3, con fotoperiodo naturale. Le uova, deposte dopo 36-40 ore, sono state raccolte allo scarico con un cestello di rete (maglia di 500 μm) e trasferite in vasche di incubazione ombreggiate di 350 l, munite di aerazione e lieve ricambio, ad una densità non superiore a 2000 uova/litro. Le larve sono state poi trasferite nella vasca di allevamento larvale (60 m^3) al 3° giorno dalla schiusa (densità massima di 20 larve/litro) in cui era stata avviata in precedenza una coltura di fitoplancton (*Nannochloropsis* sp., *Isochrysis* sp. e *Chlorella* sp). Le larve si sono nutrite inizialmente delle microalghe presenti in vasca e dei rotiferi (*Brachionus plicatilis)* opportunamente arricchiti in acidi grassi con prodotti specifici e somminis-

strati giornalmente. Successivamente si è passati a nauplii di *Artemia* appena schiusi (430 µm) di alta qualità e, in seguito, a metanauplii di *Artemia* arricchiti per almeno 24 ore. L'alimento vivo è stato integrato e poi sostituito con mangime artificiale granulare (da 150 a 800 µm) e nelle ultime fasi del ciclo con mangime sfarinato utilizzato per i Mugilidi (Fig. 1).

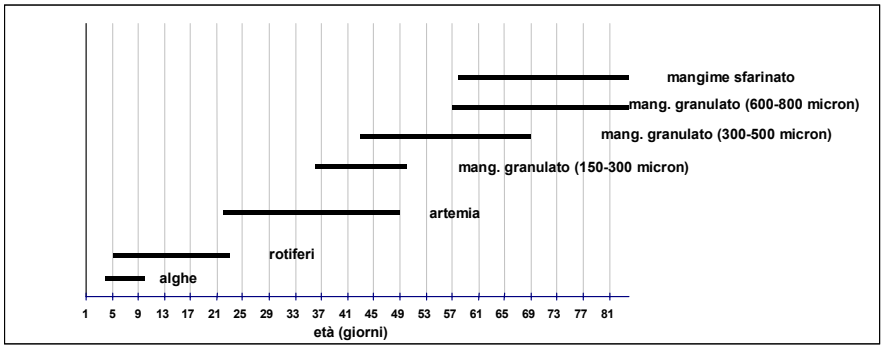


Fig. 1 - Programma alimentare adottato per le larve di *Mugil cephalus.*
Feeding programme adopted for larvae of Mugil cephalus.

Risultati e conclusioni

Nei tre anni della ricerca sono state prodotti in tutto circa 11,5 kg di uova, parte di queste (4,6 kg) sono state utilizzate per tre cicli di produzione di avannotti. Per i trattamenti ormonali è stata utilizzata, nei cicli 1999 e 2000, la dose di 800 µg/kg con esiti soddisfacenti in termini di qualità di uova e larve prodotte.

Tab. 1 - Sintesi delle induzioni ormonali e deposizioni in *Mugil cephalus.*
Summary of induced spawning and deposition in Mugil cephalus.

Data iniezione	N° femmine	Peso (g)	Trattamento	Temp °C	Data deposizione	Peso tot uova (g)
03/10/99	3	800-1000	En 800 ug/Kg	23	05/10/99	2000
18/09/00	4	1200-1490	En 800 ug/Kg	25	20/09/00	4100
20/09/00	4	1060-1300	En 800 ug/Kg	25	22/09/00	2950
07/10/00	4	950-1100	En 800 ug/Kg	23	i maschi sono morti	
17/09/01	3	1400-1500	En 700 ug/Kg	24	19/09/01	2412 (2 femmine)
25/09/01	2	1400-1500	En 700 ug/Kg	24	27/09/01	non buone
02/10/01	3	1400-1500	En 700 ug/Kg	24	04/10/01	non buone

L'alimentazione dei primi stadi larvali non ha comportato particolari problemi come invece è riportato da altri autori (Lumare e Villani, 1972, Brasola *et al*., 1979, Crosetti *et al*., 1998) in relazione alle ridotte dimensioni delle larve (3 mm) e della loro bocca. In totale sono stati prodotti circa 260.000 avannotti con una sopravvivenza compresa tra il 10 e il l2% (Tab. 2).

Tab. 2 - Principali dati di produzione di avannotti di *Mugil cephalus*.
Main data of Mugil cephalus *juveniles production.*

Anno	N° larve	Allevamento (gg)	Temp. °C (min-max)	N ° avannotti	Peso medio (g)	Sopravvivenza (%)
1999	800.000	69	15-21	90.000	0,18	11
2000	1.200.000	90	13-24	140.000	0,20	12
2001	300.000	54	21-25	30.000	0,38	10

I problemi maggiori riscontrati sono stati la reperibilità dei riproduttori e la loro manipolazione che ha limitato la possibilità di trasporto da altre lagune. Sarebbe pertanto opportuno poter disporre di un parco riproduttori in modo da limitare i fattori di stress e poter programmare il protocollo di induzione.

Bibliografia

BRASOLA V., KALFA A.M., CANNAS A. (1978) – Esperienze positive di riproduzione artificiale di *Mugil cephalus* (L.) effettuate nella laguna di Orbetello. *Riv. It. Piscic. Ittiop*., A. **14** (1): 15-20.

CANNAS A., CATAUDELLA S., ROSSI R. (1997) - Gli stagni della Sardegna. *C.I.R.S.PE. (Centro Italiano Ricerche e Studi sulla Pesca)*: 46-96.

CROSETTI D., CABIATI A., CORDISCO C., DE INNOCENTIIS S., FINOIA M.G., GORNUNG E., PUCCI P., ROSSI A.R., SOLA L., VENTURINI G. (1998) – Ruolo ecologico e produttivo di mugilidi in acquacoltura. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 1161-1168.

LUMARE F., VILLANI P. (1972) – Contributo alla fecondazione artificiale di *Mugil cephalus* (L.). *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol*., **27** (2): 255-261.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 421-425

S. Capuano, D. Sonetti*, P.G. Borasio, G. Sbrenna

Dipartimento di Biologia, Università di Ferrara, Via Borsari, 46 - 44100 Ferrara, Italia.
*Dip. di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.

UN PROBABILE "SITO NEUROEMALE" CEREBRALE IN *VENUS VERRUCOSA* (VENERIDAE, BIVALVIA)

A PROBABLE NEUROHEMAL SITE IN THE CEREBRAL GANGLIA OF VENUS VERRUCOSA *(VENERIDAE, BIVALVIA)*

Abstract

An antibody raised against CDCH, (caudodorsal cell hormone), the egg-laying hormone of Lymnaea stagnalis *(Lymnaeidae, Gasteropoda) has been used to identify neurosecretory cells and a neurohemal site in the cerebral ganglia of* Venus verrucosa *(Veneridae, Bivalvia). Results show that, as in* Lymnaea*, a cortical layer including the part of the ganglia close to the intercerebral commissure and the commissure itself, may constitute the site for storage and release of the neurosecretion in the hemolymph. In both sexes, CDCH-immunoreactive neurons have been labelled, suggesting their homology with the caudodorsal cells of* Lymnaea*.*

Key-words: Venus verrucosa, *cerebral ganglia, CDCH-immunoreactivity, neurohemal site.*

Introduzione

Nel Gasteropode Polmonato *Lymnaea stagnalis*, particolari cellule neurosecretorie, le cellule caudo-dorsali (CDCs), controllano l'ovulazione e la deposizione delle uova (Geraerts *et al*., 1988). Questi neuroni sono localizzati nei gangli cerebrali, dove formano due clusters simmetrici situati in posizione mediale e adiacente alla commissura intercerebrale. La periferia della commissura è il sito neuroemale di accumulo e di rilascio in circolo dell'ormone secreto (CDCH) (Roubos, 1984). Qui gli assoni delle CDCs si ramificano in numerosissime terminazioni dalle quali, per esocitosi, il contenuto dei granuli secretori viene liberato nell'emolinfa (Roubos, 1984).

L'ormone CDCH è un peptide di 36 residui derivato da un precursore (preproormone) che può dare origine a 12 diverse molecole (Geraerts *et al*., 1985), tra cui i peptidi funzionali α e β–CDCP (Li *et al*., 1994). Sostanze antigenicamente simili a CDCH e α-CDCP sono state individuate nel sistema nervoso di alcuni Molluschi Bivalvi (Croll *et al*., 1993), nonché in Anellidi (Salzet *et al*., 1997) e Insetti (Theunis *et al*., 1990), suggerendo una possibile conservazione evolutiva. Nei Bivalvi, l'identificazione di sostanze omologhe a tali peptidi può costituire la base per la purificazione e la caratterizzazione degli specifici fattori neuroendocrini coinvolti nel ciclo riproduttivo di questi animali (Croll *et al*., 1993).

Conseguentemente, la possibile presenza di un ormone CDCH-simile è stata oggetto di un'indagine immunocitochimica da noi condotta sul Bivalve Veneride *Venus verrucosa*, specie di pregiato valore commerciale, per la quale i meccanismi endogeni che regolano l'emissione dei gameti non sono ancora chiari. In particolare si è cercato di individuare, nel ganglio cerebrale di entrambi i sessi, sia cellule neurosecretorie omologhe alle cellule caudo-dorsali, sia la possibile zona corrispondente ad un sito neuroemale.

Materiali e metodi

Esemplari di *Venus verrucosa* raccolti nel Golfo di Trieste e mantenuti in acquario sono stati dissezionati, e una volta stabilito il sesso dall'esame della gonade, il ganglio cerebrale è stato isolato.

Per l'immunocitochimica, i gangli sono stati fissati in GPA (miscela di glutaraldeide e acido picrico 1:3 più 1% di ac. acetico glaciale) overnight a 4 °C, disidratati in soluzioni alcoliche crescenti e inclusi in paraffina. Alcuni gangli sono stati fissati in paraformaldeide 4% e inclusi in O.C.T. Sezioni seriali di 7 μm di spessore tagliate al microtomo e sezioni di 14 μm tagliate al criostato sono state sottoposte alla colorazione immunocitochimica: dopo idratazione e lavaggio in tampone PBS, i siti di legame non specifici sono stati saturati con Normal Serum diluito 1:100, quindi le sezioni sono state incubate overnight a 4 °C con l'anticorpo primario anti-CDCH (1:100). L'anticorpo, policlonale, è stato ottenuto dal peptide di sintesi CDCH 1-36, da noi fatto produrre (Primm s.r.l., Italia) sulla base della sequenza codificata da Ebberink *et al.* (1985). La rivelazione dei siti antigenici è stata effettuata mediante incubazione con un anticorpo secondario FITC-coniugato (1 h a temperatura ambiente). I nuclei delle cellule sono stati evidenziati mediante contro-colorazione con ioduro di propidio 0,005%. Per i controlli è stato utilizzato il siero preimmune (1:100). Anti-CDCH è stato inoltre testato su sezioni dei gangli cerebrali di *L. stagnalis*, al fine di verificarne la specificità per le CDCs. Le sezioni sono state osservate con un microscopio Zeiss Axioplan equipaggiato per la fluorescenza e le immagini sono state acquisite con una CCD camera (Diagnostic Instr., USA).

Per la microscopia elettronica, alla fissazione in glutaraldeide 3% per 2,5 h a 4 °C è seguita una post-fissazione in tetrossido di osmio 4%, i gangli sono stati quindi disidratati e inclusi in resina Epon-Araldite. Sezioni ultrafini sono state tagliate con un ultramicrotomo Reichert Ultracut, colorate con acetato di uranile e citrato di piombo e osservate con uno Zeiss EM9.

Risultati

Il ganglio cerebrale di *V. verrucosa* è costituito da due masse nervose simmetriche di forma sferoidale unite da una commissura intercerebrale, situate in posizione sopraesofagea. I neuroni si trovano alla periferia del ganglio, dove costituiscono un cortex multistratificato di cellule che inviano i loro assoni verso il neuropilo centrale. Tra i neuroni e nel neuropilo sono presenti cellule gliali, distinguibili dai neuroni per le minori dimensioni.

L'anticorpo anti-CDCH, che ha confermato la propria specificità per le CDCs e per la commissura intercerebrale di *L. stagnalis*, ha evidenziato in *Venus* la presenza di neuroni CDCH-positivi, monopolari, di piccola-media dimensione, con una differenza significativa tra femmine e maschi per quanto riguarda numero e distribuzione. Negli individui di sesso femminile, le cellule sono disposte a cluster allargato, che in una visione frontale dei gangli, con l'esofago posto superiormente, interessa la zona corticale latero-inferiore; altri neuroni sono osservabili in posizione dorso-laterale, in vicinanza dell'emergenza dei connettivi cerebro-viscerali e cerebro-pedali. Nei gangli maschili un numero assai inferiore di cellule immunopositive è visibile verso la fine della parte posteriore del ganglio.

Sia nei maschi sia nelle femmine si può notare, nello strato corticale del ganglio adiacente alla commissura, appena sotto la guaina connettivale di rivestimento, un accumulo di materiale immunoreattivo disposto a formare una trama intercellulare di

consistenza flocculare. L'immunopositività localizzata in questa zona si continua nella superficie interna dei margini della commissura, a costituire una specie di manicotto (Fig. 1). Ciò fa ritenere che, similmente a quanto avviene in *Lymnaea*, questo sito possa rappresentare un deposito temporaneo del materiale secreto dalle cellule CDCH-immunoreattive identificate. Nella parte mediana della commissura sono visibili sottili fibre positive che la attraversano per la sua lunghezza (Fig. 1).

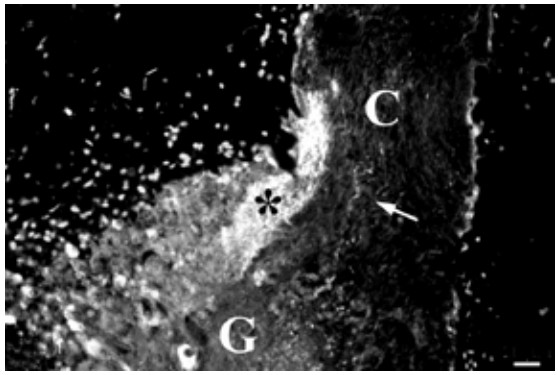


Fig. 1 - Ganglio cerebrale di *V. verrucosa*: una intensa immunopositività al CDCH (*) è localizzata ai margini della commissura intercerebrale (C), nel punto di collegamento con il ganglio (G). La freccia indica fibre CDCH-immunoreattive decorrenti nella parte mediana della commissura. Barra = 20 μm.

Cerebral ganglia of V. verrucosa*: a strong CDCH-immunopositivity (*) is located at the periphery of the intercerebral commissure (C), close to its connection with the ganglion (G). Immunopositive fibers run through the commissure in its central part (arrow). Scale bar = 20 μm.*

Nel neuropilo è presente una immunopositività distribuita sia in fasci compatti di fibre, che costituiscono dei veri e propri tratti nervosi all'interno del ganglio, sia in singoli assoni, che in sezione trasversale hanno un aspetto granulare, possibile indice di rilascio di tipo sinaptico. Un consistente fascio di fibre assonali positive decorre dalla commissura al connettivo cerebro-viscerale attraversando medialmente tutto il ganglio. Fibre positive alla reazione anticorpale, anche di notevole diametro, sono state osservate in tutti i nervi emergenti dal ganglio.

A livello ultrastrutturale sono state osservate sezioni di assoni decorrenti nella commissura contenenti granuli uniformemente elettron-densi. Ai margini della commissura, dove gli assoni sono a diretto contatto con la guaina connettivale di rivestimento del ganglio, la membrana assonale assume un aspetto frastagliato e vescicoloso, probabilmente correlato ad un'attività esocitosica (Fig. 2a). La guaina inoltre presenta numerose fenestrature, nelle quali sono raccolti ammassi di granuli elettron-densi molto simili a quelli rinvenuti negli assoni (Fig. 2b).

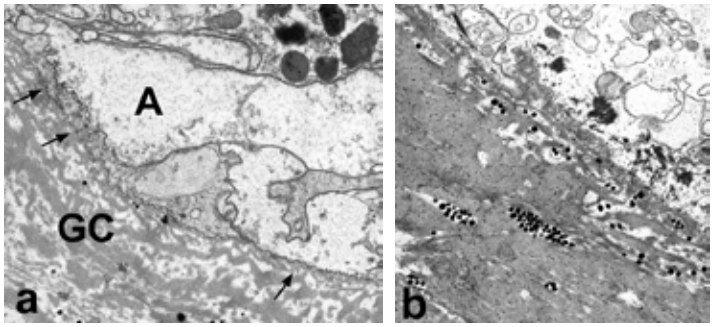


Fig. 2 - Commissura intercerebrale: a) Margini della commissura, zona di contatto tra gli assoni (A) e la guaina connettivale di rivestimento (GC) Le frecce indicano l'aspetto frastagliato della membrana assonale (×12000); b) presenza di ammassi di granuli elettron-densi nelle fenestrature della guaina connettivale di rivestimento (×6000).

Intercerebral commissure: a) at the periphery of the commissure, axons (A) are juxtaposed to the connectival sheath (GC), showing an indented membrane (arrows) (×12000); b) Groups of electron-dense granules lie in the gaps within the connectival sheath (×6000).

Conclusioni

L'indagine ha permesso di accertare la presenza, nel ganglio cerebrale di *V. verrucosa*, di cellule neurosecretorie che potrebbero essere coinvolte nella produzione di un ormone CDCH-simile, avente funzioni di controllo sul ciclo riproduttivo (Croll *et al*., 1993); è stata inoltre identificata la possibile zona di rilascio neuroemale di tale secreto, che, analogamente a quanto avviene in *Lymnaea* (Roubos, 1984), è costituita dai margini della commissura intercerebrale e dalle zone corticali mediali dei due gangli, adiacenti alla commissura stessa.

Per la morfologia e la distribuzione del materiale immunoreattivo, possono attualmente essere ipotizzati, nel ganglio cerebrale di *V. verrucosa*, almeno due tipi di rilascio: quello neurosecretorio, a livello della commissura, e quello sinaptico classico nel neuropilo (neurotrasmissione o neuromodulazione a livello centrale). La presenza di fibre positive nei nervi cerebrali fa supporre per la sostanza CDCH-simile individuata anche un ruolo di neurotrasmettitore periferico (neurotrasmissione-neuromodulazione di organi bersaglio coinvolti nella riproduzione).

Bibliografia

CROLL R.P., NASON J., VAN MINNEN J. (1993) – Characterization of central neurons in bivalves using antibodies raised against neuropeptides involved in gastropod egg-laying behavior. *Inv. Repr. Dev.,* **24** (3): 161-168.

EBBERINK R.H.M., VAN LOENHOUT H., GERAERTS V.P.M., JOOSSE J. (1985) – Purification and aminoacid sequence of the ovulation hormone of *Lymnaea stagnalis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* **82**: 7767-7771.

GERAERTS W.P.M., VREUGDENHIL E., EBBERINK R.H.M., HOGENES T.M. (1985) – Synthesis of multiple peptides from a larger precursor in the neuroendocrine caudodorsal cells of *Lymnaea stagnalis*. *Neurosci. Lett.,* **56**: 241-246.

GERAERTS W.P.M., TERMAAT A., VREUGDENHIL E. (1988) – The peptidergic neuroendocrine control of egg-laying behavior in *Aplysia* and *Lymnaea*. In: Laufer H., Downer R. (eds), *Invertebrate Endocrinology*, Alan R. Liss, New York, **2**: 141-231.

LI K.W., JIMENEZ C.R., VAN VEELEN P.A., GERAERTS W.P.M. (1994) – Processing and targeting of a molluscan egg-laying prohormone as revealed by mass spectrometric peptide fingerprinting and peptide sequencing. *Endocrinol.,* **134**: 1812-1819.

ROUBOS E.W. (1984) – Citobiology of the ovulation-neurohormone producing neuroendocrine caudodorsal cells of *Lymnaea stagnalis. Int. Rev. Cytol.,* **89**: 295-346.

SALZET M., VERGER-BOCQUET M., VANDENBULCKE F., VAN MINNEN J. (1997) – Leech egg-laying-like hormone: structure, neuronal distribution and philogeny. *Mol. Brain Res.,* **49**: 211-221.

THEUNIS W., VAN MINNEN J., DE LOOF A. (1990) – Immunocytochemical localization in the central nervous system of four different insect species of molecules that immunoreact against peptides present in the caudodorsal cells of *Lymnaea stagnalis. Gen. Comp. Endocrinol.,* **79**: 415-422.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 426-429

P. Cardellini, M. Massironi, E. Righi, D. Bertotto*, A. Libertini*, A. Francescon*

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Bassi, 58 - 35100 Padova, Italia.
*Istituto di Biologia del Mare, CNR, Castello 1364/a - 30122 Venezia, Italia.

EFFETTI DELLA TRIPLOIDIA SULLO SVILUPPO GONADICO DELL'OMBRINA, *UMBRINA CIRROSA* L.

TRIPLOIDY EFFECTS ON THE GONADAL DEVELOPMENT OF THE SHI DRUM, UMBRINA CIRROSA *L.*

Abstract

*Induced triploidy in fish confers usually a delayed gonadal differentiation and sterility in both sexes. Histological analysis of gonads in diploid and triploid juveniles of the shi drum (*Umbrina cirrosa*, Sciaenidae, Teleosts) was performed to evaluate the degree of differentiation and development during the first 18 months of life. Triploid males developed testis one year later than diploid controls and, at the same time, no sign of ovary differentiation was enhanced in triploid females.*

Key-words: *poliploid, gonads, histology, development, aquaculture.*

Introduzione

Negli ultimi anni l'interesse dell'acquacoltura per l'ombrina (*Umbrina cirrosa* L.) è in continuo aumento per il consolidarsi delle tecniche di allevamento e per l'elevato prezzo che tale specie ancora spunta sul mercato (Barbaro *et al*., 1998; Mylonas *et al*., 2000).

Per diversificare la produzione, nel rispetto dei moderni criteri di biocompatibilità, è considerato con particolare attenzione l'ottenimento di pesci triploidi sterili, per il loro potenziale incremento nella crescita postpuberale e per l'assenza di impatto genetico sulle popolazioni naturali (Cotter *et al*., 2000) e, con tali prospettive, è stata sperimentata la triploidia anche sull'ombrina (Libertini *et al*., 1999). Allo scopo di verificare gli effetti di questa manipolazione cromosomica sullo sviluppo gonadico dell'ombrina, con particolare riferimento all'insorgere della sterilità, è stata avviata un'analisi istologica comparata in individui diploidi e triploidi. Il presente lavoro riporta i risultati dei primi 18 mesi di osservazioni.

Materiali e metodi

I lotti di diploidi e triploidi utilizzati nella sperimentazione sono stati ottenuti tramite riproduzione controllata di ombrine allevate in cattività. I riproduttori, di circa tre anni d'età, avevano un peso compreso tra 980 e 1800 g. Dopo la raccolta degli oociti e dello sperma è stata praticata la fecondazione artificiale; una parte delle uova fecondate è stata allevata tal quale (lotto diploide di controllo) mentre una parte è stata sottoposta a shock freddo (5-10 °C per 10-20 minuti) al fine di provocare la ritenzione del secondo polocita ed indurre la triploidia. Individui diploidi e triploidi sono stati sacrificati periodicamente (5-10 animali per lotto, per ogni campionamento) per un periodo di 18 mesi. Le condizioni di allevamento dei due lotti sono state mantenute simili durante la sperimentazione. Per ogni individuo è stato calcolato l'indice gonado-somatico (GSI); i valori medi sono seguiti dalla deviazione standard. La ploidia di tutti gli esemplari

utilizzati è stata verificata tramite citofluorimetria a flusso, determinando il contenuto di DNA nucleare degli eritrociti (Libertini *et al*., 1999). Le gonadi sono state fissate in Dietrich (30% alcool, 10% formaldeide 2% ac. acetico), incluse in paraffina, sezionate e colorate con Azan Mallory.

Risultati

Dopo il primo anno di allevamento i diploidi (peso corporeo compreso tra i 40 e i 99 g) mostrano un differenziamento completo della gonade maschile con presenza di spermatozoi e un GSI medio di 0,038 ± 0,006; nelle femmine le gonadi hanno oociti previtellogenici ben evidenziabili (diametro massimo [Ø max] di 65 μm) e un GSI di 0,225 ± 0,017. I triploidi di pari età hanno una taglia più ridotta (16-81 g), non mostrano ancora un differenziamento delle gonadi e il GSI è di appena 0,027 ± 0,014.

A 16 mesi di età tra le ombrine diploidi (71-237 g) i maschi hanno le gonadi ben differenziate tuttavia, non essendo in fase riproduttiva, presentano soltanto spermatozoi immaturi; il GSI è di 0,031 ± 0,012. Nelle femmine diploidi l'ovario ha oociti in fase iniziale di vitellogenesi (Ø max 80 μm) e il GSI è leggermente aumentato (0,256 ± 0,04) rispetto al campionamento precedente. Invece, in tutte le ombrine triploidi (86-250 g; GSI 0,042 ± 0,017) le gonadi non sono ancora differenziate, essendo organizzate in nidi di goni in proliferazione.

A 18 mesi, tra i diploidi (149-426 g), i maschi hanno gonadi maggiormente sviluppate e il GSI è ora di 0,063 ± 0,009, ma, essendo ancora lontano il periodo riproduttivo, queste contengono solo pochi spermatozoi (Fig. 1a, b). Nelle gonadi delle femmine diploidi gli oociti in vitellogenesi si sono accresciuti (Ø max 90 μm) e il GSI è ora di 0,299 ± 0,043 (Fig. 1c, d). Tra i triploidi della medesima età (144-344 g) alcuni individui iniziano a differenziare i testicoli e presentano un GSI di 0,039 ± 0,005 mentre altri con GSI paragonabile (0,043 ± 0,016) (Fig. 1e, f), probabilmente di sesso femminile, presentano ancora gonadi non differenziate (Fig. 1g, h).

Le ombrine diploidi allevate in cattività hanno tempi di maturazione gonadica che possono variare in relazione alla temperatura di allevamento, ma in genere maturano piuttosto precocemente. Infatti, da precedenti indagini istologiche (Cardellini *et al.,* 2001), si è potuto osservare che già al primo anno di sviluppo le gonadi dei maschi sono mature, pur non essendo stata verificata la capacità fecondante dello sperma, mentre le gonadi femminili presentano soltanto oociti in previtellogenesi. Al secondo anno di età le femmine sviluppano un limitato numero di oociti maturi, e soltanto al termine del terzo anno inizia un'apprezzabile attività riproduttiva per ambedue i sessi. D'altra parte nei pesci triploidi la sterilità è spesso causata da una gametogenesi incompleta e, come verificato dall'analisi istologica in branzini triploidi, risulta di tipo gonadico nelle femmine e gametica nei maschi confermandosi stabile anche in animali di 4-7 anni di età (Francescon *et al*., 2002).

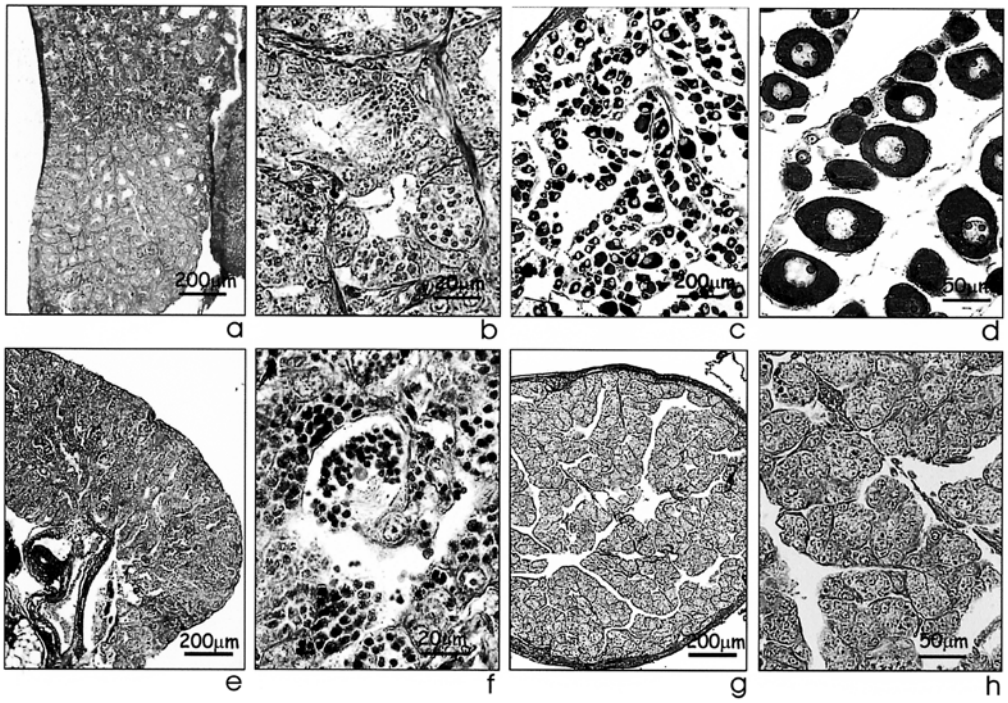
Conclusioni

La triploidia nell'ombrina sembra aver determinato, almeno per ora, un ritardo di quasi un anno nel differenziamento e nello sviluppo della gonade maschile; tuttavia soltanto alla fine della seconda stagione riproduttiva sarà possibile verificare per i maschi il grado di funzionalità delle gonadi e degli spermatozoi e l'eventuale insorgere di una sterilità di tipo gametico. Per il resto degli individui triploidi (probabilmente femmine), che presentano ancora a 18 mesi gonadi indifferenziate, sarà necessario attendere la

terza stagione riproduttiva per verificare se lo sviluppo gonadico è stato ritardato o bloccato a livello vestigiale come avviene per le femmine triploidi di branzino.

Fig. 1 – Sezioni istologiche di gonadi di ombrine al 18 mese di età. (a-b) gametogenesi avanzata in un testicolo di diploide con numerosi spermatozoi; (c-d) presenza di numerosi oociti in previtellogenesi in un ovario diploide; (e-f) gametogenesi in un testicolo di triploide, sono presenti spermatozoi anche se meno numerosi del controllo diploide; (g-h) gonade indifferenziata di triploide probabilmente di sesso femminile.

Histological sections of shi drum gonads at 18th month of life. (a-b) gametogenesis in progress in diploid testis with plenty of spermatozoa; (c-d) presence of several previtellogenetic oocytes in diploid ovary; (e-f) gametogenesis in progress in triploid testis with a lower amount of spermatozoa than diploid control; (g-h) undifferentiated triploid gonad in a probable female specimen.



Ringraziamenti

Si ringrazia l'Impianto Ittico Sperimentale di Pellestrina ed il Biotopo Bonello di Veneto Agricoltura per l'allevamento delle ombrine.

Bibliografia

BARBARO A., FRANCESCON A., LIBERTINI A. (1998) - Riproduzione e manipolazione gametica dell'ombrina, *Umbrina cirrosa* (L.), per la diversificazione dell'acquacoltura nazionale. *Biol. Mar. Medit.,* **5** (3): 1052-1061.

CARDELLINI P., FRANCESCON A., ZANELLA S., BASTIANELLO K., BERTOTTO D., BARBARO A. (2001) - Avanzamento degli studi sull'*Umbrina cirrosa* L. in cattività: differenziamento

e maturazione gonadica, verifica istologica dell'esame bioptico dell'ovario ed induzione precoce alla riproduzione. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 570-573.

COTTER D., O'DONOVAN V., O'MAOILEIDIGH N., ROGAN G., ROCHE N., WILKINS N.P. (2000) - An evaluation of the use of triploid atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in minimising the impact of escaped farmed salmon on wild populations. *Aquaculture*, **186**: 61-75.

FRANCESCON A., CARDELLINI P., BERTOTTO D., LIBERTINI A., POLTRONIERI C., GASPARINI M., BARBARO A. (2002) - Sterilità indotta nel branzino (*Dicentrarchus labrax* L.) per mezzo della triploidizzazione. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 555-557.

LIBERTINI A., FRANCESCON A., BOZZATO G., BARBARO A. (1999) - The shi drum, *Umbrina cirrosa* (L.), an unexploited resource for Mediterranean aquaculture: recent advances in captive reproduction and applied cytogenetics. In: G. Enne and G.F. Greppi (eds), *New Species for Mediterranean Aquaculture*, Biofutur: 237-244.

MYLONAS C., GEORGIOU G., STEPHANOU D., ATACK T., AFONSO A., ZOHAR Y. (2000) - Preliminary data on the reproductive biology and hatchery production of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in Cyprus. *Cahiers Options Mediterraneennes*, **47**: 303-312.

Lavoro finanziato dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali nell'ambito del V° Piano triennale per la pesca e l'acquacoltura.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 430-433

G. Caruso, L. Genovese, G. Maimone, A. Manganaro[1], M. Mancuso, G.B. Palmegiano[2]

Istituto Sperimentale Talassografico, CNR, Sezione Messina dell'Istituto per lo Studio dell'Ambiente Marino Costiero (I.A.M.C.), Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.
[1]D.B.A.E.M., Università di Messina.
[2]ISPA, Sezione Torino – CNR.

ENZIMI DIGESTIVI IN *PAGELLUS BOGARAVEO*: TRE DIETE SPERIMENTALI A CONFRONTO

DIGESTIVE ENZYMES IN PAGELLUS BOGARAVEO*: COMPARISON AMONG THREE EXPERIMENTAL DIETS*

Abstract

Three experimental diets supplemented with oils (linum, echium and fish oil), and one without supplement, taken as control, were administered to reared Pagellus bogaraveo *(Pisces, Sparidae) in order to study their effects on the digestive enzymes. The different dietary composition seemed to affect significantly the levels of amylase.*

Key-words*: enzymes, digestion, diets.*

Introduzione

Gli oli vegetali di semi di lino ed echium, ricchi in acidi grassi poliinsaturi ω-3, importanti costituenti del regime alimentare dei pesci, possono essere presi in considerazione nelle formulazioni dietetiche dei pesci marini come sostitutivi dell'olio di pesce. Nell'ambito di un progetto di ricerca volto a stimare l'efficacia di oli vegetali in performances zootecniche è stata condotta una valutazione sul corredo enzimatico di *Pagellus bogaraveo*, specie innovativa per l'acquacoltura, al fine di acquisire conoscenze sulla fisiologia della nutrizione (Reimer, 1982; Caruso *et al*., 1996).

Materiali e metodi

Gli esemplari oggetto di studio, aventi una taglia media pari a 91,6 g ed una lunghezza media di 16 cm, sono stati suddivisi in tre differenti lotti, ciascuno dei quali alimentato con diverse diete sperimentali, denominate Pesce, Lino ed Echium. Queste ultime sono state ottenute per sostituzione dell'olio di pesce contenuto in una base standard (farina di pesce 55%, fiocchi di mais 20%, olio 7,5%, amido grezzo 6,5%, farina di soia estrusa 5,5%, crusca fine 5,5%, integratori e leganti 3%) con olio di lino ed olio di echium. Per confronto, un quarto lotto, adoperato come controllo, è stato alimentato con una dieta commerciale (Hendrix). I mangimi sono stati somministrati in ragione dell'1,2% della biomassa totale calcolata settimanalmente.

Per ciascun lotto è stato effettuato un primo campionamento di 5 esemplari a digiuno, ed un secondo campionamento di un uguale numero di esemplari 4h dopo la somministrazione del mangime, allo scopo di rilevare variazioni nei patterns enzimatici legate al corso dei processi digestivi. I tratti digerenti sono stati prelevati e suddivisi in stomaco, ciechi pilorici ed intestino, quindi riuniti in pools per ciascun organo ed omogenizzati in tampone Tris-HCl 50 mM pH 7,0 in rapporto 1:10 (peso/volume). Tutte le operazioni sono state eseguite a +5 °C.

Per la determinazione del contenuto in enzimi digestivi sono stati seguiti i protocolli di routine presso il nostro laboratorio: l'attività proteolitica totale ed il contenuto

in pepsina sono state saggiate secondo Kunitz (1947) e Anson (1938). Il contenuto in tripsina e chimotripsina è stato determinato secondo Hummel (1947). Il contenuto in carbossipeptidasi A e B è stato stimato secondo Appel (1974), quello in lipasi secondo Tietz and Fiereck (1966). Per la stima del contenuto di amilasi è stato adoperato il metodo di Bernfield (1955). I valori ottenuti sono stati espressi in termini di attività specifiche (U/mg proteina). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA test).

Risultati

I livelli di attività proteolitica totale misurati a valori di pH compresi fra 1 e 10 sono risultati generalmente più elevati negli esemplari del lotto Echium (Tab. 1) , che differisce significativamente dal lotto Lino ($F = 16{,}66$, $P < 0{,}01$, Tab. 2). Nello stomaco il picco di attività è stato registrato a pH variabile da 1 a 3 (dato non mostrato); ciò è da attribuirsi al contenuto in pepsina registrato in tale organo, che ha presentato valori compresi tra $0{,}059 \pm 0{,}021$ (Pesce) e $0{,}847 \pm 0{,}05$ (Echium) (Tab. 1). Nei ciechi pilorici e nell'intestino i valori di attività proteolitica presentavano un optimum di pH compreso fra 8 e 10, riferibile al contenuto in tripsina e carbossipeptidasi (Tab. 1).

Tab. 1 - Contenuto in enzimi digestivi (media ± deviazione standard) riscontrato in esemplari di *Pagellus bogaraveo* alimentati con differenti mangimi sperimentali. Sono riportati in grassetto i valori più elevati registrati nei due prelievi.

Digestive enzymes (mean ± standard deviation) found in specimens of Pagellus bogaraveo *fed on different diets. In bold are reported the highest values recorded during the two samplings.*

DIETA	Enzima	Stomaco		Ciechi		Intestino	
		0h	4h	0h	4h	0h	4h
LINO	proteasi totali	0,361±0,01	**0,517±0,03**	0,582±0,005	**0,896±0,002**	0,221±0,001	**0,489±0,001**
	pepsina	0,188±0,002	**0,688±0,014**	0,095±0,005	**0,537±0,014**	0,00±0,00	**0,312±0,007**
	tripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	0,084±0,029	**0,088±0,017**	**0,074±0,043**	0,045±0,007
	chimotripsina	**0,003±0,001**	0,00±0,00	0,082±0,015	**0,090±0,055**	0,001±0,0003	**0,007±0,040**
	carbossipeptidasi A	0,0002±0,0004	**0,004±0,02**	0,0002±0,0004	**0,013±0,07**	0,037±0,009	**0,053±0,040**
	carbossipeptidasi B	0,00±0,00	**0,0002±0,000035**	0,005±0,001	**0,041±0,010**	0,002±0,003	**0,011±0,009**
	lipasi	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,10	**3,20±0,30**	2,0±0,10	2,0±0,2
	amilasi	0,34±0,02	**0,40±0,05**	**0,53±0,03**	0,445±0,040	0,383±0,040	**0,568±0,05**
PESCE	proteasi totali	1,33±0,01	**1,944±0,001**	8,567±0,002	**13,72±0,004**	3,55±0,002	**12,03±0,005**
	pepsina	**0,119±0,008**	0,059±0,021	0,064±0,004	**0,179±0,0001**	**0,024±0,012**	0,00±0,00
	tripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	**0,286±0,030**	0,033±0,007	**0,051±0,038**	0,013±0,017
	chimotripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	**0,145±0,081**	0,140±0,042	**0,381±0,010**	0,108±0,042
	carbossipeptidasi A	**0,009±0,01**	0,00±0,00	0,080±0,060	**0,099±0,050**	0,012±0,002	**0,064±0,009**
	carbossipeptidasi B	0,0005±0,00	**0,184±0,104**	0,005±0,002	**0,153±0,027**	0,018±0,012	**0,082±0,065**
	lipasi	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,10	**5,60±0,60**	0,40±0,10	**0,80±0,10**
	amilasi	0,36±0,02	**0,43±0,04**	**0,463±0,04**	0,441±0,037	0,345±0,03	**0,452±0,030**
ECHIUM	proteasi totali	3,03±0,07	**7,84±0,06**	20,54±0,005	**24,36±0,09**	13,07±0,02	**17,51±0,003**
	pepsina	0,475±0,017	**0,847±0,005**	0,190±0,025	**0,443±0,004**	0,119±0,033	**0,189±0,0005**
	tripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	**0,132±0,010**	0,073±0,002	0,082±0,040	**0,110±0,013**
	chimotripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	0,064±0,014	**0,431±0,059**	0,086±0,012	**0,144±0,024**
	carbossipeptidasi A	0,00±0,02	0,00±0,02	**0,058±0,010**	0,053±0,020	0,005±0,010	**0,041±0,03**
	carbossipeptidasi B	**0,019±0,013**	0,00±0,00	0,009±0,0011	**0,087±0,072**	0,008±0,003	**0,089±0,018**
	lipasi	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,10	**6,40±0,50**	0,80±0,30	**2,80±0,20**
	amilasi	0,08±0,005	**0,12±0,01**	0,121±0,010	**0,234±0,02**	0,135±0,01	**0,276±0,022**
CONTROLLO	proteasi totali	1,289±0,001	**3,04±0,05**	7,85±0,006	**15,51±0,03**	6,97±0,005	**11,58±0,03**
	pepsina	**0,363±0,025**	0,293±0,004	**0,235±0,002**	0,00±0,00	**0,183±0,001**	0,00±0,00
	tripsina	0,00±0,00	0,00±0,00	0,028±0,005	**0,141±0,003**	0,071±0,005	**0,079±0,002**
	chimotripsina	0,00±0,00	**0,007±0,001**	**0,546±0,022**	0,416±0,096	**0,072±0,012**	0,07±0,04
	carbossipeptidasi A	0,00±0,00	0,00±0,00	0,103±0,040	**0,118±0,12**	0,085±0,060	**0,119±0,010**
	carbossipeptidasi B	**0,018±0,017**	0,017±0,013	0,017±0,007	**0,108±0,110**	0,026±0,002	**0,113±0,017**
	lipasi	0,00±0,00	0,00±0,00	2,0±0,5	**3,60±0,30**	0,40±0,10	**1,60±0,20**
	amilasi	0,09±0,02	**0,13±0,01**	0,139±0,03	**0,273±0,030**	0,104±0,030	**0,195±0,020**

La dieta a base di olio di pesce ha comportato un decremento significativo dei valori di pepsina a livello gastrico, contrariamente a quanto riscontrato nel lotto Echium; tale risultato è stato confermato anche dai valori del test ANOVA calcolati sui due prelievi ($F=6,71$, $P<0,05$ fra stomaco ed intestino; $F=7,02$, $P<0,05$ fra lotti Pesce ed Echium) (Tab. 2).

Tab. 2 - Risultati del test ANOVA (*P<0,05; **P<0,01).
*Results of ANOVA test (*P<0,05; **P<0.01).*

	proteasi totali	pepsina	tripsina	chimotripsina	carbossi A	carbossi B	lipasi	amilasi
Lino vs Pesce	7,117*	4,227	0,102	2,728	2,039	3,724	0,004	0,51
Pesce vs Echium	3,676	7,018*	0,002	0,0089	0,741	1,142	0,154	46,84**
Lino vs Echium	16,66**	0,226	0,403	1,757	0,498	2,289	0,162	35,67**
Lino vs Controllo	9,492*	0,998	0,029	2,517	4,896	3,86	0,0001	40,80**
Pesce vs Controllo	0,076	2,434	0,045	0,252	0,876	0,407	0,0039	57,63**
Echium vs Controllo	2,915	2,429	0,169	0,305	3,043	0,338	0,157	0,015
stomaco vs ciechi	8,211*	1,864	13,72**	12,278**	21,11**	0,457	10,72**	1,259
ciechi vs intestino	0,655	2,176	1,873	2,662	0,495	0,105	2,443	0,086
stomaco vs intestino	7,141*	6,71*	40,24**	6,412*	14,263**	0,259	18,83**	0,661
0h vs 4h	0,537	1,864	0,473	0,0016	0,595	12,59**	5,649*	1,324

Negli esemplari del lotto Pesce è stata osservata una riduzione non significativa del contenuto in tripsina a livello intestinale, ed un picco nei ciechi pilorici. Un decremento non significativo è stato osservato anche nei valori di chimotripsina registrati nei ciechi pilorici e nell'intestino dei pesci appartenenti al lotto Lino. Rispetto al lotto Controllo, gli esemplari alimentati con le tre diete sperimentali hanno presentato valori più bassi, anche se non significativamente, di carbossipeptidasi A a livello di ciechi pilorici ed intestino, mentre il contenuto in carbossipeptidasi B ha mostrato valori significativamente ridotti nel lotto Lino ($F=31,69$, $P<0,01$, a digiuno)**.** I valori di lipasi sono apparsi aumentati, ma non significativamente, nell'intestino degli esemplari alimentati con olio di Lino. Differenze significative, con un incremento rispetto al controllo, sono state evidenziate nei livelli di amilasi dei pesci appartenenti ai lotti Lino e Pesce, come indicato dai valori del test ANOVA ($F=40,80$ e $57,63$, $P<0,01$ rispettivamente). Ulteriori differenze significative, evidenziate dal test riguardo ai valori di chimotripsina, carbossipeptidasi A e lipasi, sono apparse invece attribuibili ai diversi patterns di distribuzione enzimatica lungo il tratto digerente, essendo tali enzimi concentrati in prevalenza nei ciechi pilorici.

Conclusioni

La presente indagine rappresenta un ulteriore approfondimento nello studio delle potenzialità digestive di *Pagellus bogaraveo* che potrebbe avere interessanti risvolti applicativi nella formulazione di diete più adeguate alle capacità metaboliche delle specie allevate. I livelli enzimatici riscontrati nel nostro studio sono confrontabili con quelli determinati nella stessa specie da Caruso e Genovese (2000), ma più bassi rispetto a quelli di altre specie di *Pagellus*, quali *acarne* ed *erythrinus*. Anche la distribuzione enzimatica riscontrata a livello dei vari organi esaminati non si discosta dai patterns osservati in differenti specie ittiche (*Dicentrarchus labrax*, Genovese *et al*.,

1995; *Diplodus puntazzo*, Savona, 1999; *Pagellus* spp., Caruso e Genovese, 2000).

Il confronto fra i patterns enzimatici riscontrati nei diversi lotti sperimentali mette in rilievo negli esemplari alimentati con olio di pesce un effetto deprimente sulle proteasi acide; ciò potrebbe alterare la fase iniziale, gastrica, di scissione dei componenti della dieta comportando un allungamento dei tempi di digestione. Un ulteriore studio condotto a tempi successivi dall'ingestione del cibo potrebbe permettere di verificare tale andamento durante l'intero svolgimento del processo digestivo. Variazioni nei patterns enzimatici imputabili al tipo di dieta somministrata si evidenziano nei livelli di amilasi, che risultano significativamente differenti fra tutte le tre diete saggiate. Il riscontro di tale effetto nel lotto Lino induce ad ipotizzare che la natura vegetale dell'olio integrato nella dieta stimoli in qualche modo le capacità digestive sulla componente in carboidrati.

Bibliografia

ANSON M.L. (1938) – The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with haemoglobin. *J. Gen. Physiol*., **22**: 79-89.

APPEL W. (1974) – Carboxypeptidases. In: Bergmeyer H.U. (ed), *Methods of Enzymatic analysis*, Academic Press, New York, **2**: 996-997.

BERNFIELD P. (1955) – Amylase α and β. In: Colowich S.P. (ed), *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, **1**: 149-150.

CARUSO G., GENOVESE L., GRECO S. (1996) – Preliminary investigation on the digestive enzymes of reared *Pagellus acarne* (Risso, 1826) juveniles in relation to two different diets. *Oebalia*, **22**: 3-13.

CARUSO G., GENOVESE L. (2000) – Osservazioni sugli enzimi digestivi di differenti specie di Sparidi. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 621-623.

GENOVESE L., PATTI F., CARUSO G. (1995) – Studies on the digestive cycle in the amberjack (*Seriola dumerilii*) (Risso, 1810) in intensive rearing. *Oebalia*, **21**: 5-15.

HUMMEL B.C.W. (1947) – A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Bioch. Physiol.,* **37**: 1393-1399.

KUNITZ M. (1947) – Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *J. Gen. Physiol*., **320**: 291-310.

REIMER G. (1982) – The influence of diet on the digestive enzymes of the amazon fish Matrincha, *Bricon* cf. *melanopterus*. *J. Fish Biol.*, **21**: 637-642.

SAVONA B. (1999) – Dati preliminari sulle attività digestive in *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 340-342.

TIETZ N.W. AND FIERECK E.A. (1966) – A specific method for serum lipase determination. *Clin. Chim. Acta*, **13**: 352-358.

La presente ricerca è stata condotta con finanziamento MIPAF (V Piano triennale).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 434-437

S. Cavallini, A. Siniscalchi, D. Sonetti[1], S. Capuano[2], G. Sbrenna[2]

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Sez. di Farmacologia, Università di Ferrara,
Via Fossato di Mortara, 17-19 - 44100 Ferrara, Italia.
[1]Dip. di Biologia Animale, Università di Modena, Italia.
[2]Dip. di Biologia, Università di Ferrara, Italia.

SEROTONINA: LOCALIZZAZIONE NEL GANGLIO VISCERALE E FLUTTUAZIONI DURANTE LA MATURAZIONE GONADICA DI *VENUS VERRUCOSA*

SEROTONIN: LOCALIZATION IN THE VISCERAL GANGLION OF VENUS VERRUCOSA *AND CHANGES DURING GONADAL MATURATION*

Abstract

The localization of serotonergic elements (neurons and nervous fibers) in the visceral ganglion of the clam Venus verrucosa *(Veneridae, Bivalvia) has been investigated by the use of immunocytochemical technique. A biochemical assay on the [^{3}H] 5-HT uptake of the visceral ganglion has demonstrated a correlation between 5-HT assumption rate and the gonadic cycle.*

Key-words: *Venus verrucosa,* ganglia, *neurotransmitters, reproduction.*

Introduzione

La relazione esistente tra serotonina (5-HT) e riproduzione è stata ampiamente studiata nei Bivalvi, nel cui tessuto nervoso questa monoamina risulta essere particolarmente abbondante (Welsh e Moorehead, 1960). La 5-HT sembra intervenire come fattore endogeno nel meccanismo di emissione dei gameti (Matsutani e Nomura, 1986). Il Bivalve Veneride *Venus verrucosa* presenta immunoreattività alla serotonina nei gangli e nella gonade (Sbrenna *et al*., 2001). Abbiamo ora ulteriormente approfondito la localizzazione del neurotrasmettitore nel ganglio viscerale di *Venus*, scelto per i suoi rapporti con la gonade, valutando contemporaneamente le variazioni di captazione di serotonina da parte del ganglio in relazione al grado di maturazione gonadica.

Materiali e metodi

Immunocitochimica. I gangli viscerali di individui maschi e femmine di *V. verrucosa* sono stati isolati e fissati in paraformaldeide al 4% in tampone fosfato (PB) a pH 7.4, successivamente inclusi in O.C.T. Compound (Lab-Tek Products, USA) mantenendo l'orientamento dorso-ventrale, e tagliati al criostato. Sezioni seriate di 14 µm di spessore sono state sottoposte a colorazione immunocitochimica impiegando un anticorpo anti 5-HT policlonale alla concentrazione di 1:200. La fase di incubazione in anticorpo primario è stata omessa per le sezioni di controllo. La rivelazione dei siti antigenici è stata effettuata mediante incubazione in anticorpo secondario anti-rabbit FITC-coniugato. I preparati sono stati quindi sottoposti a colorazione nucleare con ioduro di propidio 0,005%. Le sezioni sono state osservate con un microscopio Zeiss Axioplan equipaggiato per la fluorescenza e le immagini acquisite con una CCD camera (Diagnostic Instr., USA)

Captazione della 5-HT. I gangli viscerali di esemplari maschi e femmine di *Venus*

verrucosa sono stati isolati nel più breve tempo possibile e posti ad incubare per 30 min, a temperatura ambiente (22±2 °C), in 1 ml di acqua di mare artificiale (ASW), pH 7.6, contenente acido ascorbico 0.1% e [^{3}H]5-HT 0.1 μM, sotto costante agitazione.

Dopo l'incubazione i gangli sono stati lavati due volte in 2 ml di ASW in bagno di ghiaccio e trasferiti in una camera di perfusione di plexiglass contenente 2 ml di ASW. Dopo 45 min di wash out sono stati solubilizzati in 1 ml di NaOH 1 N. La radioattività contenuta è stata determinata mediante scintillazione liquida. La quantità di [^{3}H]5-HT assunta dai gangli è espressa in pmoli/mg di tessuto±ES. La significatività delle differenze è valutata con il test t di Student.

Risultati

Il ganglio viscerale di *V. verrucosa* presenta una forma approssimativamente sferica, con diametro di circa 1 mm, e una simmetria bilaterale. Due connettivi cerebro-viscerali, al polo inferiore, collegano il ganglio viscerale al ganglio cerebrale; sotto ai connettivi si trovano i due nervi branchiali. Dal polo superiore emergono due nervi diretti ai sifoni. Una guaina connettivale riveste il ganglio e i nervi, estendendosi fra questi ultimi a formare una specie di velo. La struttura interna del ganglio è quella tipica rinvenibile nei molluschi, con uno strato corticale periferico di neuroni di diversa taglia e cellule gliali, e un neuropilo centrale costituito da fibre assonali fra cui sono sparse poche cellule gliali.

La reazione anticorpale ha evidenziato, sia nei maschi che nelle femmine, due gruppi di qualche centinaio di cellule 5-HT positive (con diametro da 12 a 20 μm), prevalentemente monopolari, disposte a manicotto nei nervi branchiali per un tratto di circa 1 mm dal loro punto di emergenza, dove la base del manicotto forma una coppa (Fig. 1).

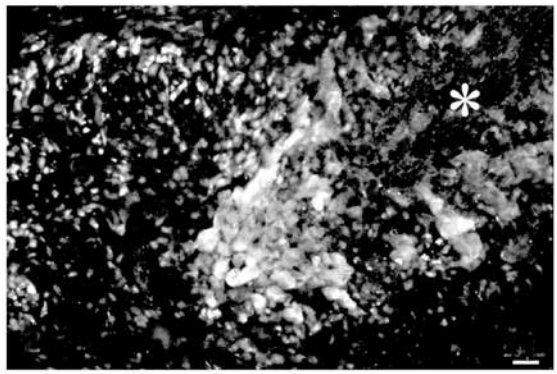


Fig. 1 – Ganglio viscerale di *V. verrucosa*: gruppo di cellule 5-HT positive disposte a coppa alla base del nervo branchiale (*) emergente dal corpo del ganglio. Barra=20 μm.

Visceral ganglion of V. verrucosa: *a cup-shaped cluster of 5-HT immunopositive cells is located at the base of the branchial nerve (*). Scale bar=20 μm.*

Solo nel maschio, altre cellule del cortex, oltre a questi due cluster principali, risultano immunoreattive, e sono riunite in piccoli gruppi simmetrici. Anch'esse sono monopolari, tranne due cellule isolate situate in vicinanza dei due nervi sifonali e di apparenza bipolare o addirittura tripolare.

Il neuropilo, in entrambi i sessi, è percorso sia trasversalmente sia longitudinalmente da numerose fibre assonali serotoninergiche, singole oppure organizzate in tratti che collegano nervi e connettivi omologhi; le fibre presentano spesso delle varicosità lungo il loro decorso. In tutti i nervi e connettivi l'anticorpo ha marcato fasci consistenti di fibre o singoli assoni, a volte di spessore notevole. La formazione a velo che circonda il ganglio è caratterizzata da una cospicua rete di sottili fibre serotoninergiche con andamento radiale e di aspetto varicoso. Tali fibre sembrano emergere direttamente dall'interno del ganglio, senza passare quindi attraverso nervi.

Il contenuto di [^{3}H]5-HT nei gangli viscerali prelevati da maschi è 0.887±0.042 pmoli/mg di tessuto (n=98) e non è significativamente differente rispetto ai gangli prelevati da femmine (0.893±0.034, n=141). Per verificare se l'assunzione di [^{3}H]5-HT da parte del ganglio coinvolgesse specifici trasportatori, sono stati eseguiti esperimenti in cui l'incubazione aveva luogo in presenza di agenti farmacologici che, nel mammifero, inibiscono selettivamente il trasportatore della serotonina (Arranz e Marcusson, 1994). Il citalopram, alla concentrazione 10 µM, impedisce in modo sostanziale l'assunzione di [^{3}H]5-HT da parte del ganglio, che viene infatti ridotta del 75%; viceversa la paroxetina, 3 µM, non è in grado di modificarla in modo significativo. Non si sono evidenziate differenze fra maschi e femmine. Scomponendo i dati in base alla stagionalità, (i gruppi sperimentali hanno dimensione variabile da n=6 a n=59), si osserva che la captazione di [^{3}H]5-HT nel ganglio è significativamente superiore nei mesi estivi, in cui raggiunge circa il 35% in più rispetto alla media dei mesi invernali (Fig. 2); anche questo fenomeno non appare legato al genere degli animali.

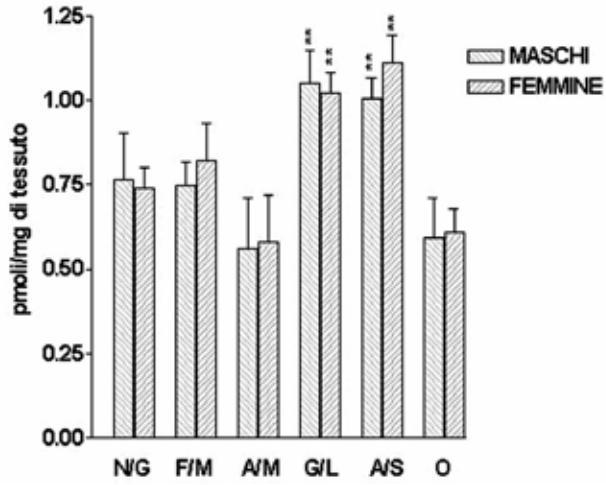


Fig. 2 – Andamento stagionale della captazione di [^{3}H]5-HT da parte dei gangli viscerali di *Venus verrucosa*, incubati per 30 min con [^{3}H]5-HT 0.1 µM (i gruppi hanno dimensione variabile da n=6 a n=59). I livelli di [^{3}H]5-HT (pmoli/mg di tessuto, media±ES) nei mesi estivi (G/L e A/S) sono significativamente differenti (**) dai valori relativi agli altri mesi. (P<0.01, test t di Student).

Seasonal variations of [^{3}H]5-HT uptake in the visceral ganglion of Venus Verrucosa, *after incubation with [^{3}H]5-HT 0.1 µM for 30 min* (*experimental groups size varies from n=6 to n=59). [^{3}H]5-HT levels (pmol/mg of tissue, mean±SE) are significantly higher* (**) *during the summer (G/L and A/S) than in the other months (Student t test; P<0.01).*

Conclusioni

La localizzazione della serotonina nel ganglio viscerale di *Venus verrucosa* risulta simile a quella rinvenuta in altre specie di Bivalvi: i due raggruppamenti cellulari osservati in *Venus* richiamano per la loro posizione i gruppi serotoninergici individuati in alcuni Pettinidi (Matsutani e Nomura, 1986; Paulet *et al*., 1993). Significativa è la vicinanza di questi neuroni ai connettivi cerebro-viscerali, che attraversano la gonade. Attualmente non abbiamo una spiegazione funzionale per la presenza nel ganglio viscerale degli esemplari maschi di cellule supplementari a questi due cluster principali.

Da approfondire con ulteriori studi è anche la presenza, nel velo connettivale che circonda il ganglio, di numerose sottili fibre di aspetto varicoso, possibile indice di una modalità di rilascio di tipo neuroemale.

I dati biochimici indicano che la 5-HT è assunta dal ganglio viscerale di *Venus verrucosa* con un meccanismo che coinvolge un trasportatore specifico, sensibile al citalopram. Poichè questo bloccante, almeno nel mammifero, è considerato altamente selettivo per il trasportatore della serotonina (Arranz e Marcusson, 1994), possiamo assumere che la captazione di [^{3}H]5-HT che ha luogo in sua presenza, pari a circa il 25% del totale, rifletta l'uptake aspecifico a strutture diverse dai neuroni serotoninergici. E' da notare che la paroxetina, inibitore della captazione di serotonina altrettanto efficace del citalopram nell'uomo (Arranz e Marcusson, 1994), nei nostri esperimenti è risultata assolutamente inefficace, suggerendo che i trasportatori presenti nel sistema nervoso di *Venus verrucosa* abbiano caratteristiche differenti da quelli umani. Naturalmente questa ipotesi deve essere verificata con ulteriori esperimenti.

Di notevole interesse è l'osservazione di un andamento stagionale della capacità di assunzione di [^{3}H]5-HT, da attribuire probabilmente alle variazioni di temperatura dell'acqua, che si verificano nell'ambiente naturale e sono riprodotte nella stabulazione. Mettendo in relazione questi dati con il grado di maturazione delle gonadi (Barbin *et al*., 2001) si può supporre che le variazioni osservate corrispondano a situazioni diverse dal punto di vista delle funzioni riproduttive, essendo la captazione aumentata durante i mesi estivi, caratterizzati dalla piena maturità gonadica, e ridotta invece in corrispondenza dello svuotamento delle gonadi (mese di ottobre). In conclusione, i dati biochimici, uniti a quelli morfologici, suggeriscono un importante ruolo della serotonina nella regolazione delle funzioni riproduttive in *Venus verrucosa*.

Bibliografia

ARRANZ B., MARCUSSON J. (1994) – [^{3}H]paroxetine and [^{3}H]citalopram as markers of the human brain 5-HT uptake site: a comparison study. *J. Neural Transm. Gen. Sect.*, **97**: 27-40.

BARBIN L., SBRENNA G., MICCIARELLI SBRENNA A. (2001) - Ciclo gonadico annuale in *Venus verrucosa* (Bivalvia, Veneridae): studio ultrastrutturale dell'oogenesi e della spermatogenesi. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 34-36.

MATSUTANI T., NOMURA T. (1986) – Serotonin-like immunoreactivity in the central nervous system and gonad of the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Cell. Tissue Res.*, **244**: 515-517.

PAULET Y-M., DONVAL A., BEKHADRA F. (1993) – Monoamines and reproduction in *Pecten maximus*, a preliminary approach. *Inv. Repr.Dev.*, **23** (2-3): 89-94.

SBRENNA G., BIZZARO D., SONETTI D., BARBIN L., BORASIO P.G. (2001) - Studio delle caratteristiche ultrastrutturali, istochimiche ed immunocitochimiche del sistema nervoso di *Venus verrucosa* (Bivalvia, Veneridae). *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 41-45.

WELSH J. H., MOOREHEAD M. (1960) – The quantitative distribution of serotonin in invertebrates, especially in their nervous system. *J. Neurochem.*, **6**: 146-169.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (1): 438-440

A. Cavallo, A. Giangrande

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università di Lecce,
Via Prov.le Lecce-Monteroni - 73100 Lecce, Italia.
gianadri@ilenic.unile.it

PROVE DI SPERIMENTAZIONE AI FINI DELL'UTILIZZAZIONE DI *SABELLA SPALLANZANII* (POLYCHAETA) COME BIORIMEDIATORE IN ACQUACOLTURA

EXPERIMENTAL TESTS ON SABELLA SPALLANZANII *(POLYCHAETA) FOR ITS UTILIZATION AS BIOREMEDIATOR IN AQUACOLTURE*

Abstract

Laboratory feeding experiments on Sabella spallanzanii *Gmelin are reported. The species was proposed to be used as bioremediator in the treatment of intensive aquacolture wastes.A positive effect of its feeding activity was showed on suspended solids, while the presence of the species produced an increase of nitrogen compounds.*

Key-words: *bioremediation, polychaete*, Sabella spallanzanii, *aquaculture wastes.*

Introduzione

Molte specie di animali filtratori sono state utilizzate nel trattamento dei reflui derivanti da impianti di acquacoltura come organismi biorimediatori, organismi cioè capaci di depurare le acque che, se immesse direttamente in mare determinerebbero un notevole impatto ambientale (Wu *et al.*, 1994). L'utilizzo di organismi filtratori potrebbe essere una soluzione economicamente vantaggiosa per la rimozione del particolato organico e dei nutrienti disciolti. Ad oggi le specie maggiormente utilizzate appartengono ai molluschi (Shpigel *et al.*, 1993). La specie da noi considerata come potenziale biorimediatore è invece un polichete Sabellidae *Sabella spallanzanii* Gmelin, una specie tipica di ambienti eutrofici con caratteristiche idonee per un allevamento su ampia scala e che potrebbe essere allevato a scopi commerciali. Il presente lavoro illustra alcuni esperimenti, condotti in laboratorio allo scopo di valutare l'azione dell'attività filtratoria del verme sui solidi sospesi e sui composti dell'azoto.

Materiali e metodi

Gli esperimenti, sono stati condotti in acquari di 25 litri, utilizzando acqua reflua proveniente da un impianto ittico, tre controlli (senza vermi) e tre trattamenti in cui venivano collocati 5 vermi la cui biomassa misurava circa 11 g in peso secco. Per la determinazione del particolato in sospensione, a tempi stabiliti (ogni ora per 4 ore) sono stati prelevati campioni di un litro di acqua che veniva processata su filtri di vetro Whatman GF/F (0,45 µm di porosità nominale) precedentemente trattati in muffola (450 °C, 4 h) e in seguito essiccati a 60 °C. Successivamente questi filtri venivano pesati e dalla differenza si calcolava il peso dei solidi sospesi. Per la determinazione dei composti dell'azoto venivano prelevati 50 ml di acqua a tempi stabiliti (ogni ora per 7 ore) e conservati a –20 °C per le successive analisi condotte seguendo procedure standard. La significatività degli esperimenti è stata valutata mediante l'ANOVA a due vie.

Risultati e conclusioni

La quantità di solidi sospesi nei controlli rimane pressoché costante, mentre il trend relativo al trattamento presenta un decremento riscontrabile fino a 3 ore dopo l'inizio dell'esperimento (Fig. 1a). La differenza tra controlli e trattamenti è evidenziata anche dalle foto dei filtri utilizzati (Fig. 1b). Il trend è confermato dall'andamento del tasso di rimozione (Fig. 1d) nel quale si può osservare un andamento positivo fino alla terza ora, momento in cui si ottiene il massimo della capacità di rimozione. E' stato inoltre rilevato che nell'arco delle prime tre ore il valore massimo di efficienza di filtrazione, pari a 2,57 mg/h era evidenziabile nella prima ora (Fig. 1c).

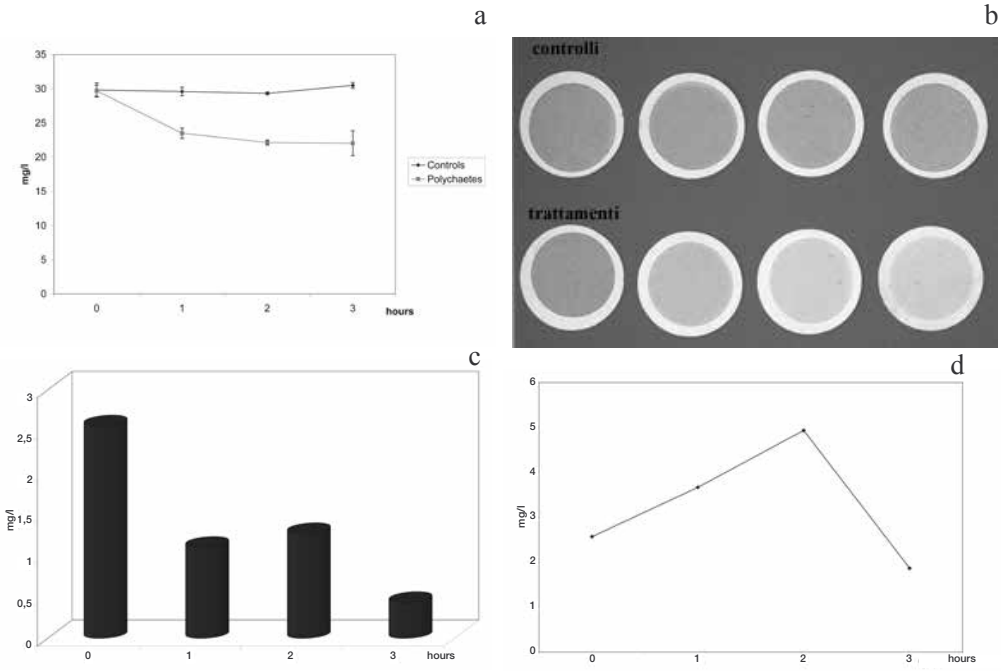


Fig. 1 – Andamento dei solidi sospesi nelle 4 ore dell'esperimento (a); filtri utilizzati (b); efficienza di rimozione (c); tasso di rimozione (d).

Trend of the suspended solids during 4 hours of exsperiment (a), utilised filters (b), efficency of removal (c), removal rate (d).

I dati relativi all'influenza sui composti dell'azoto delineano un'attività positiva sui nitriti ($P<0.005$) (Fig. 2a). Tale abbattimento risulta però contrastato da un aumento della concentrazione di ammoniaca ($P<0.005$) (Fig. 2b) e nitrati ($P<0.01$) (Fig. 2c).

I nostri risultati mostrano che mediamente nelle prime 3 ore, un quantitativo di vermi di *Sabella spallanzanii* pari a circa 11 g peso secco, riesce a rimuovere 4,938519 mg/l di solidi sospesi, con una conseguente chiarificazione dei 25 l di acqua già visibile nei primi trenta minuti. I dati relativi ai composti dell'azoto indicano invece un'azione positiva sui nitriti, contrastata però da un aumento di ammoniaca e nitrati. I nostri dati

di laboratorio propendono quindi verso un potenziale utilizzo di *S. spallanzanii* come biorimediatore della colonna d'acqua per la sola componente della sostanza organica, con un possibile accoppiamento con alghe nitrofile che intervengano sull'abbattimento delle sostanze azotate.

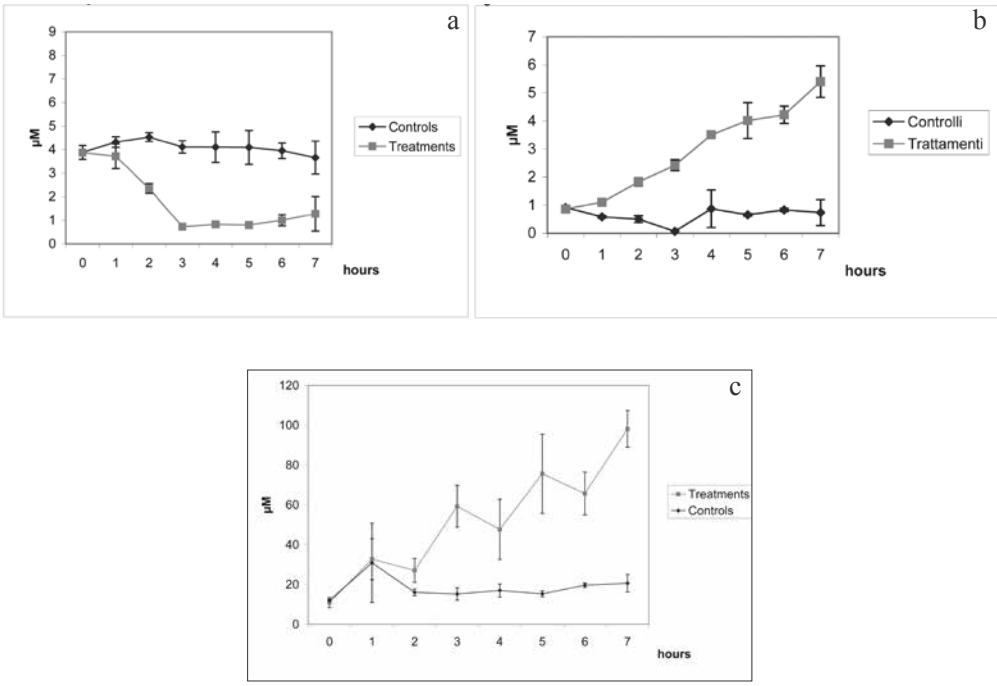


Fig. 2 – Andamento dei nitriti (a), dell'ammoniaca (b) e dei nitrati (c) durante sei ore di trattamento.
Trend of nitrite (a), ammonia (b), nitrate (c), during 7 hours of treatment.

Bibliografia

APHA (1992) - *Standard Methods for Examination of Water and Westewater*, 18th ed, AWWA, WPCF, APHA, Washington DC, USA.

SHPIGEL M., NEORI A., POPPER D.M., GORDIN H. (1993) - A proposed model for "environmental clean" land-based culture of fish, bivalve and seaweeds. *Aquaculture,* **117**: 115-128.

STRICKLAND J.D.H., PERSON T.R.,(1992) - A pratical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. B. Canada,* **167**: 310 pp.

WU R.S.S., LAM K.S., MACKAY D.W., LAU T.C., YAM V. (1994) - Impact of marine fish farming on water quality and bottom sediment: a case study in the sub-tropical environment. *Mar. Res.*, **38**: 115-145.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 441-443

R. De Murtas, S. Sini, S. Serra*, P. Pelusi*

R.E.Mar.T.E. S.c.r.l., Via Asproni, 3 - 09100 Cagliari, Italia.
*Consorzio Mediterraneo, Roma, Italia.

PROVE DI ALLEVAMENTO ESTENSIVO DI *DIOPATRA NEAPOLITANA* (ANNELIDA, POLYCHAETA) NELLA LAGUNA DI S. GILLA (CAGLIARI)

EXTENSIVE FARMING TESTS ON DIOPATRA NEAPOLITANA *(ANNELIDA, POLYCHAETA) CARRIED OUT IN SANTA GILLA LAGOON (CAGLIARI)*

Abstract

The experimentation consisted in extensive farming tests of the Anellid Polichaete Diopatra neapolitana *(Delle Chiaje, 1841). A breeding and farming system was set up, thanks to a fully modular pilot facility, in which the examples was kept in different farming conditions. The data collected at the end of the experimentation give useful bases in order to improve farming techniques of this species, used as a bait for recreational fishing.*

Key-words: *bait culture, bait fishing,* Diopatra neapolitana*, lagoons, worm culture.*

Introduzione

La specie oggetto dello studio, considerata una delle migliori esche per la pesca sportiva, rappresenta un'importante fonte di reddito integrativo per una buona parte dei pescatori che operano all'interno della laguna di S. Gilla, adiacente alla città di Cagliari, e che da essa traggono parte del proprio sostentamento.

Per ovviare ai problemi dovuti alla stagionalità delle catture ed al fine di razionalizzare lo sfruttamento della risorsa rappresentata dalle popolazioni di questo anellide polichete, è stato messo a punto un sistema di allevamento e stabulazione attraverso l'allestimento di un impianto sperimentale completamente modulare.

La permanenza nei moduli di un elevato numero di individui ha permesso di studiarne l'accrescimento e il tasso di sopravvivenza a differenti condizioni di densità e disponibilità di alimento. Tutti gli individui allevati nei moduli sono stati trasferiti in una seconda fase in laguna in un'area controllata e debitamente bonificata dai predatori. Il loro accrescimento è stato confrontato con quello di altri individui prelevati direttamente in ambiente naturale e seminati in 2 aree adiacenti a quella dei policheti allevati nei moduli.

Materiali e metodi

Per la sperimentazione è stato predisposto un impianto costituito da 9 moduli in polietilene della capacità di 500 litri ciascuno. Il medium di allevamento utilizzato è costituito da acqua della laguna, addotta da una pompa sommersa. Ciascuno dei moduli è provvisto di regolatori di flusso e di un dispositivo di troppo pieno. I reflui vengono convogliati in un bacino di decantazione, per l'abbattimento del carico organico, prima della remissione in laguna. All'interno di ciascun modulo, sono state collocate due cassette forate in plastica per alimenti, con il fondo e i lati rivestiti da una rete a maglia sottile per trattenere il substrato fangoso nel quale sono presenti i policheti. In ciascuna

cassetta sono stati seminati, a seconda della dimensione e della sperimentazione che si è inteso effettuare, da 100 a 350, per un totale di 4000, individui disposti, come in natura, con il tubo in posizione verticale.

I valori di accrescimento sono stati rilevati con cadenza bisettimanale sul 10% degli individui presenti in ciascuna cassetta misurando il peso dell'individuo, compreso il tubo, ritenuto unico parametro utile per la definizione delle classi di frequenza (Oglesby, 1968).

Durante la sperimentazione sono stati monitorati costantemente i valori di ossigeno disciolto, salinità, pH e temperatura.

La fase 1 si è svolta da marzo a maggio 2001. Per verificare le differenti risposte adattative e le performance di crescita dei giovanili, sono state create nei moduli le seguenti condizioni:

1. elevata densità di allevamento e assenza di alimentazione ausiliaria (n. 1 modulo);
2. densità normale e alimentazione ausiliaria a base di mitili tritati, alghe e vitamine (n. 1 modulo);
3. densità normale e assenza di alimentazione ausiliaria (n. 7 moduli).

La fase 2 si è svolta da aprile a settembre 2001. I 3.375 individui sopravvissuti alla fase di stabulazione nei moduli sperimentali sono stati trasferiti, all'interno delle loro stesse cassette, in un'area recintata all'interno della laguna, di 400 metri quadrati, preventivamente bonificata dai predatori, per verificare le performance di crescita degli stessi individui in condizioni naturali e confrontarle con quelle di altri 20.000 individui, prelevati direttamente in ambiente naturale e seminati in due aree adiacenti.

Risultati

Allevamento nei moduli senza alimentazione ausiliaria (moduli 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9): l'accrescimento dei policheti è stato regolare. Il maggior incremento ponderale è stato osservato nel modulo 1, dove i valori medi iniziale e finale misurati sono risultati rispettivamente di 0,35 g e 1,25 g con un 257%. Il valore minimo invece è stato rilevato nel modulo 7, con 0,33 g e 0,81 g, con un incremento del peso medio percentuale pari al 145%. La sopravvivenza totale degli individui è stata pari all'88%; il valore massimo, pari al 95%, si è rilevato nel modulo 5, e, quello minimo, pari all'85,6% nel modulo 2.

Allevamento nel modulo con alimentazione ausiliaria (modulo 4): in questo modulo si sono osservati i valori percentuali di incremento in peso più elevati, pari al 406% e al 435%, rispettivamente nelle casse A e B. A valori iniziali, rispettivamente di 0,34 e 0,31 g, hanno corrisposto valori finali rispettivamente di 1,72 e 1,66 g. I tassi di mortalità registrati, di contro, sono stati i più elevati pari al 28,8% nella cassa A e al 38,6% nella B. Ciò è imputabile sia a problemi di anossia (cui si è posto rimedio aumentando il flusso del medium e fornendo ossigenazione supplementare) che all'aumento dei nitriti derivanti dalla decomposizione di eccessive quantità di materiale organico (inconveniente risolto diminuendo la razione giornaliera del cibo somministrato).

Allevamento nel modulo ad alta densità (modulo 6). In questo modulo sono stati seminati 350 individui per ciascuna delle due cassette. Si sono osservati frequenti fenomeni di sofferenza dei policheti, quali: frequenti anastomosi dei tubi, abbandono e tentativi di ricostruzione degli stessi. Ad un peso medio iniziale, pari a 0,28 g nella cassa A e 0,30 g, nella B ha fatto riscontro un peso medio finale rispettivamente di 0,67 e 0,73 g, pari rispettivamente ad un incremento percentuale del peso medio del 139%

per la cassa A e del 143% per la B (minimi incrementi percentuali registrati durante la sperimentazione). Anche la percentuale di sopravvivenza è stata fra le più basse (pari al 78,9%). Tuttavia gli esemplari sopravvissuti al termine del periodo di stabulazione hanno mostrato buone condizioni generali.

Accrescimento nei moduli nell'area lagunare: i valori di accrescimento medio percentuale in peso più elevati sono stati del 110,5% e del 103,8%, rilevati rispettivamente nelle casse A e B dei moduli 1 e 2, mentre i più bassi, pari al 63% e 64,5%, sono stati rilevati nelle casse B dei moduli 4 e 6. Il tasso di mortalità medio registrato sugli individui trasferiti in laguna è stato del 13,5%, con apice modale nel mese di agosto, dovuto principalmente all'aumento della temperatura, della salinità e della predazione naturale da parte di molluschi e crostacei.

Accrescimento dei policheti prelevati in laguna e seminati direttamente nelle aree delimitate: mentre il tasso di crescita medio si è attestato intorno a valori simili a quelli degli individui presenti nelle cassette (pari al 70%-80%), la mortalità si è rivelata leggermente superiore (pari al 15%): ciò è attribuibile soprattutto alla predazione naturale, facilitata dall'assenza della protezione delle tavelle in laterizio con cui era stata delimitata l'area contenente i moduli.

Conclusioni

I risultati, ottenuti al termine del periodo di sperimentazione, si possono considerare soddisfacenti e forniscono un valido contributo per la gestione e la razionalizzazione della risorsa *Diopatra neapolitana*. Tale sperimentazione, inoltre, si propone come un valido modello per quelle lagune nelle quali è presente con buona dinamica di popolazione questo polichete, il cui allevamento razionale potrebbe rappresentare una fonte di reddito integrativo.

Il periodo di allevamento all'interno dei moduli sperimentali ha fatto registrare ottime performance di crescita.

I dati evidenziano come nei moduli vi siano stati incrementi notevoli della biomassa allevata, almeno raddoppiata rispetto ai valori iniziali, mentre i valori della mortalità assoluta si attestano nella maggior parte dei casi entro il 20%.

Anche l'allevamento e la stabulazione dei Policheti in alta densità ed in assenza di alimentazione ausiliaria ha permesso di raggiungere l'obiettivo prefissato dalla sperimentazione, che consisteva nel verificare le risposte adattative dei giovanili di *Diopatra neapolitana* in condizioni limite.

La sperimentazione ha permesso, inoltre, di quantificare una biomassa ideale allevabile all'interno di ciascun modulo pari a 1.000-1.100 giovanili per modulo, per periodi di stabulazione da uno a tre mesi senza fornire alimentazione ausiliaria.

Non si sono registrati incrementi significativi della mortalità rispetto alle popolazioni naturali. La sperimentazione fornisce un valido sistema di stabulazione e allevamento dei giovanili in impianti modulari e contribuisce ad una più razionale gestione di questa risorsa.

Bibliografia

OGLESBY L.C. (1968) - Responses of an estuarine population of the Polychaete, *Nereis limnicola*. *Biol. Bull.,* **134** (1): 111-138.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 444-446

L. Genovese, G. Maimone, G. Maricchiolo, V. Micale, A. Modica*, M. Scilipoti*, M.T. Costanzo

IAMC – C.N.R. Sez. Talassografico, Spianata S. Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.
*CEOM – Centro Oceanologico Mediterraneo, Palermo, Italia.

MONITORAGGIO DI PARAMETRI EMATICI IN *SPARUS AURATA* E *DICENTRARCHUS LABRAX* IN MARICOLTURA OFFSHORE: CONTROLLO SULLO STRESS

MONITORING OF HAEMATOLOGICAL PARAMETERS IN SEA BASS AND SEA BREAM FARMED IN OFF-SHORE CAGES: CONTROL OF STRESS

Abstract

The paper reports the results of a study carried out on gilthead seabream Sparus aurata (*Sparidae, Teleostei) and European seabass* Dicentrarchus labrax *(Serranidae, Teleostei) farmed in off-shore cages. Changes in plasma cortisol, glucose, haemoglobin, as well as haematocrit and muscle lactate were monitored as indicators of stress.*

Key-words: *stress, blood component,* Sparus aurata*,* Dicentrarchus labrax*, maricolture.*

Introduzione

In acquacoltura riveste particolare importanza il problema dello stress che può influire negativamente sulla riproduzione, il tasso di crescita, la resistenza alle malattie nonchè la qualità delle carni (Pickering, 1992). Per monitorare in modo indiretto lo stato di salute dei pesci si sta investigando il possibile uso di una serie di parametri ematologici. E' noto, infatti, che un evento stressante determina, attraverso la stimolazione dell'ipotalamo, la produzione di corticosteroidi e catecolamine (effetto primario) che innescano una serie di reazioni biochimiche corrispondenti ad un ben preciso quadro fisio-patologico (effetti secondari) (Rufus e Wells, 1999). Lo scopo del presente lavoro è quello di verificare quanto la manipolazione influisca sullo stato fisiologico degli esemplari allevati.

Materiali e metodi

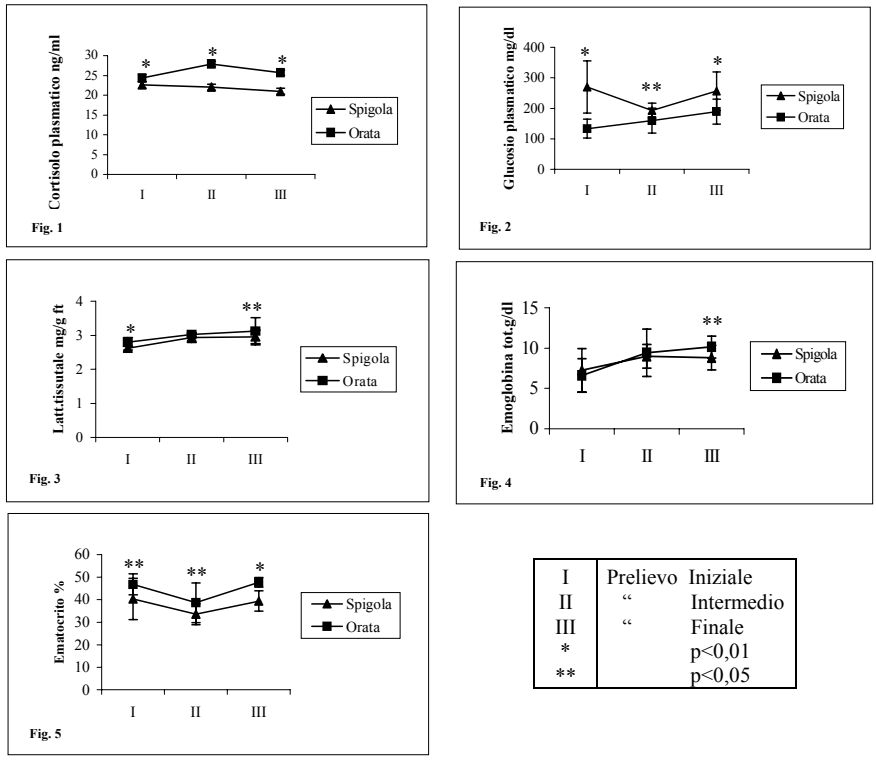
L'esperienza è stata condotta su esemplari di spigola ed orata (il peso medio alla semina era rispettivamente di 50.64 e 33.64 g) allevati in gabbie a Castellammare del Golfo (TP).

Nell'ambito dei campionamenti previsti dal protocollo di qualità e gestione sono stati effettuati dei prelievi su 30 esemplari per ogni specie in tre momenti diversi dell'allevamento a partire dalla semina. L'ematocrito è stato ottenuto per microcentrifugazione del sangue intero. Il glucosio plasmatico e l'emoglobina sono stati dosati utilizzando kit commerciali (Sigma-Diagnostics). Anche il lattato tissutale è stato dosato con un kit commerciale (Sigma) previo trattamento del campione (Santulli *et al.,* 1999). Il cortisolo plasmatico è stato determinato con una metodica basata sull'utilizzo dell'HPLC (Visalli *et al*., 2000). I risultati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA).

Risultati

I risultati ottenuti sono rappresentati nelle Figg. 1-5. Vengono riportati gli andamenti registrati (media±d.s.) nel corso dell'allevamento, per ogni parametro, ed il confronto tra le specie.

Tranne che per il glucosio plasmatico, in *S. aurata* sono stati riscontrati quasi sempre valori più elevati ($P<0.05$; $P<0.01$) rispetto a *D. labrax.*



Figg. 1-5 – Andamento dei principali indici di stress di *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* durante varie fasi di allevamento.

Trend of main indicators of stress in Dicentrarchus labrax *and* Sparus aurata *during different on-growing phases.*

Conclusioni

I risultati ottenuti si prestano a confrontare la risposta delle due specie allo stress, inteso come l'effetto della cattura, del trasporto e della manipolazione in condizioni di maricoltura off-shore. L'andamento dei parametri ematici presi in considerazione come indici di stress è lo stesso per le due specie anche se nell'orata sono stati riscontrati valori più elevati rispetto alla spigola; poiché l'intensità dello stress indotto era esattamente la stessa per entrambe le specie tale risultato è probabilmente da attribuire alla fisiologia della specie piuttosto che all'effetto degli agenti stressanti.

Bibliografia

PICKERING A.D. (1992) - Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture,* **100**: 125-139.

RUFUS M., WELLS G. (1999) - Evaluation of simple instruments for the measurement of blood glucose lactate and plasma protein as stress indicators in fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, **30** (2): 276-284.

SANTULLI A., MODICA A., MESSINA C., CEFFA L., CURATOLO A., RIVAS G., FABIS G., D'AMELIO V. (1999) - Biochemical responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) to the stress induced by off shore experimental seismic prospecting. *Marine Pollution Bulletin*., **38** (12): 1105 -1114.

VISALLI M., MARICCHIOLO G., MICALE V., GENOVESE L. (2000) - Utilizzo dell'HPLC per la determinazione del cortisolo plasmatico in specie ittiche. *Biol. Mar. Medit.,* **7** (1): 933-935.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 447-450

S. Ieropoli[1], A.L. Langellotti[1], P. Masullo[1], G. Perrucci[2], M. do Espirito Santo[1], I.A. Nascimento[3], G. Sansone[1,2]

[1]Dipartimento di Fisiologia Generale ed Ambientale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Via Mezzocannone, 8 – 80134 Napoli, Italia.
[2]"CRIAcq"(Centro di Ricer. Interdip. per l'Acquac.), Università "Federico II" di Napoli, Italia.
[3]Lab. de Biologia Marinha, Universidade Federal da Bahia, Brasile.

EFFETTI DI SOLUZIONI CRIOPROTETTIVE SU EMBRIONI DI MITILE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ALLO STADIO DI TROCOFORA

*EFFECTS OF CRYOPROTECTANS ON MUSSEL (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) TROCHOPHORAE STAGE EMBRYOS*

Abstract

The effects on mussel Mytilus galloprovincialis *trochophorae stage embryos of various cryoprotectants at 30' exposure time were evaluated. The cryoprotectants and their concentrations were 5-20% dimethylsulfoxide (DMSO), ethylene glycol (EG) and propylene glicol (PG), 7%, 14% glycerol (GLOH) and 5%, 10% methanol (METOH). "NOEL" (No Observed Effect Level) was evaluated on the ability of mussel embryos to continue their development from trochophorae stage to larvae D stage. "NOEL" was showed by following cryoprotective agents: 10% DMSO, 14% EG, 7% PG and 7% GLOH.*

Key-words: *freezing storage, embryos toxicity, NOEL*, Mytilus galloprovincialis.

Introduzione

Tra i numerosi fattori che influenzano il successo di una procedura di criopreservazione è fondamentale l'equilibrio tra biotossicità del crioprotettivo e la sua capacità di protezione della cellula da criopreservare (Chao *et al*., 1997). Il tipo di crioprotettivo utilizzato e l'adattamento delle cellule ad esso, dunque, sono essenziali per il successo di una metodica di crioconservazione (Lahnsteiner *et al*., 1996). Molteplici sono i motivi che spingono a studiare ed ottimizzare le procedure di congelamento di embrioni di molluschi (ostriche, mitili, ecc.). Infatti, grazie a queste metodiche è possibile disporre di embrioni al di fuori della stagione riproduttiva ed utilizzarli come cibo per le larve di pesce, nei test ecotossicologici, in protocolli per manipolazioni genetiche o per preservare specie a rischio di estinzione.

Nell'ambito di un più ampio studio teso alla ottimizzazione delle procedure per il congelamento di embrioni di molluschi bivalvi, questo lavoro rappresenta un'indagine preliminare il cui scopo è la valutazione degli effetti di vari crioprotettivi, a varie concentrazioni, sulla base della capacità degli embrioni di mitile di proseguire lo sviluppo dallo stadio di trocofora allo stadio di larva D.

Materiali e metodi

I gameti sono stati ottenuti inducendo l'emissione in ciascun animale mediante iniezione intravalvare di KCl 0.5M. I gameti sono stati riuniti in "pool" in base al sesso e alle valutazioni di qualità (movimento per gli spermatozoi e morfologia per le uova).

La fecondazione è stata eseguita aggiungendo alla sospensione di uova un'aliquota di spermatozoi in rapporto 1:10; dopo 90' si valutava la percentuale di fecondazione e

si diluiva in acqua di mare (34‰) a 10 emb./ml per lo sviluppo allo stadio di trocofora (Gwo, 1995).

200 trocofore/ml sono state incubate a +22 °C per 30 minuti con i crioprotettivi. Successivamente sono lavate e diluite in acqua di mare autoclavata alla concentrazione di 10 troc/ml. Dopo altre 24 h i campioni sono stati fissati con formalina al 4% e successivamente contate le eventuali larve D formatesi regolarmente (Fig. 1A); per larve D anormali si è inteso larve con imperfezioni nelle valve embrionali (Fig. 1C) e ritardo di sviluppo delle stesse (Fig. 1B). Sono stati adoperati i seguenti crioprotettivi: DMSO, EG, PG alle concentrazioni di 5%, 7%, 10%, 14%, 20%, GLOH 7%, 14% e METOH 5%, 10% (v/v). Le valutazioni sono state tese alla individuazione dei livelli "NOEL", No Observed Effect Level, per ciascun crioprotettivo. Si è trattato di trovare le condizioni sperimentali che non mostravano effetti significativamente differenti rispetto al controllo.

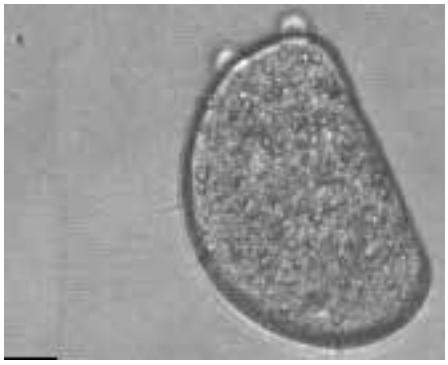


Fig. 1A – Larva D normale.
D larvae.

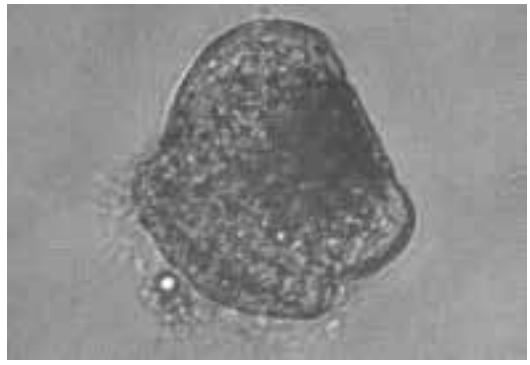


Fig. 1B – Larva D in ritardo di sviluppo.
Late development D larvae.

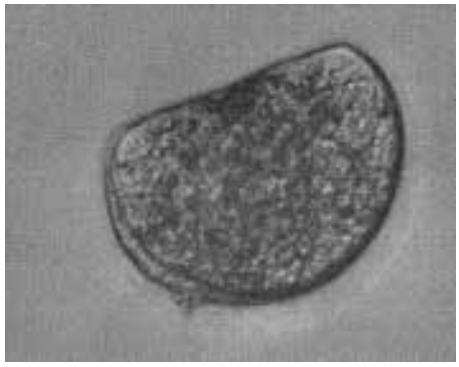


Fig. 1C – Larva D considerata anormale.
Abnormal D larvae.

Ciascuna sperimentazione è stata condotta in triplicato. Le valutazioni statistiche sono state condotte utilizzando il test t di Student ($n \geq 9$). I risultati sono espressi come media ± DS.

Risultati

Le prove di tossicità non hanno mostrato differenze significative rispetto al controllo nella percentuale di larve D sviluppatesi normalmente per i seguenti crioprotettivi: DMSO 5%, 7% e 10%; EG 5%, 7%, 10% e 14%; PG 5%, 7% e GLOH 7%. Come rappresentato in Fig. 2, invece, il DMSO 14% e 20%, l' EG 20%, il PG 10%, 14% e 20%, il GLOH 14% ed il METOH 5% e 10% hanno provocato una diminuzione significativa della percentuale di larve D normali rispetto al controllo.

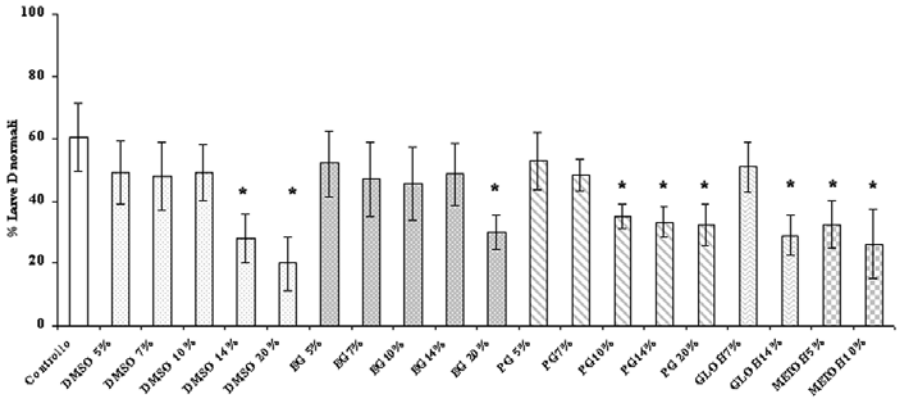


Fig. 2 – Effetti dei crioprotettivi sulle trocofore di *Mytilus galloprovincialis.*
Effects of cryoprotectans on Mytilus galloprovincialis *trochophorae.*

In Fig. 3 sono riassunti i crioprotettivi e le relative concentrazioni che mostrano i migliori risultati e che sono stati considerati valori NOEL.

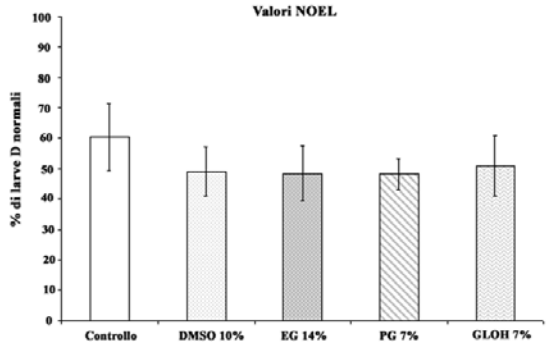


Fig. 3 – Selezione dei crioprotettivi meno tossici (valori NOEL): condizioni sperimentali che non mostrano effetti significativamente differenti rispetto al controllo.
Selection of the less toxic cryoprotectans (NOEL values): experimental conditions showing no significantly different effects with respect to control group.

Conclusioni

Dall'analisi dei risultati, si può concludere che non è stato trovato un particolare crioprotettivo specie/specifico dato che, quelli testati, sembrano non avere effetti particolarmente dannosi sulla capacità degli embrioni, allo stadio di trocofora, di proseguire lo sviluppo a larva D. Anche il glicerolo, infatti, che per altre specie risulta molto tossico anche a basse concentrazioni, per questo sistema biologico, costituito dalle trocofore di *M. galloprovincialis*, non sembra avere elevati livelli di tossicità.

In definitiva, i crioprotettivi alle concentrazioni corrispondenti ai valori NOEL saranno considerati utili ai fini della successiva sperimentazione criobiologica.

Bibliografia

CHAO N.H., LIN T.T., CHEN Y.J., HSU H.W., LIAO I.C. (1997) - Cryopreservation of late embryos and early larvae in the oyster and hard clam. *Aquaculture*, **155**: 31-44.

GWO J.-C. (1995) - Cryopreservation of oyster Crassostrea gigas embryos. *Theriogenology,* **43**: 1163-1174.

LAHNSTEINER F., BERGER B., WIESMANN T., PATZNER R. (1996) - The influence of various cryoprotectants on semen quality of rainbow trout (O. mykiss) before and after cryopresevation. *J. Appl. Ichthyol.,* **112** (2): 99-106.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 451-454

P. Masullo[1], A.L. Langellotti[1], S. Ieropoli[1], G. Perrucci [2], M. do Espirito Santo[1], I.A. Nascimento[3], G. Sansone[1,2]

[1]Dipartimento di Fisiologia Generale ed Ambientale, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via Mezzocannone, 8 - 80134 Napoli, Italia.
[2]CRIAcq - Centro di Ric. Interdip. per l'Acquac., Univ. degli Studi di Napoli "Federico II", Italia.
[3]Lab. de Biologia Marinha e de Biomonitoramento, Universidade Federal da Bahia, Brasil.

QUALITÀ DI GAMETI ED EMBRIONI DI RIPRODUTTORI DI *CRASSOSTREA GIGAS* IN AMBIENTE CONFINATO E CONDIZIONATO

CRASSOSTREA GIGAS *GAMETES AND EMBRYOS BROODSTOCK QUALITY IN RECIRCULATING SYSTEM*

Abstract

In the present study, we have observed the influence of feeding on the quality of Crassostrea gigas *gametes and embryos, in recirculating system. Fecundity and quality of D Larvae were evaluated. At three groups of oysters, sex maturated, three different diet were applied: A 10^9 algae/oyster/die, B $1{,}5 \cdot 10^9$ algae/oyster/die, gruppo C (control) $5 \cdot 10^9$ algae/oyster/die. The % of normal D larvae observed was significantly different, although the % of fecundity was not significantly different.*

Key-words: *embryos, reproduction,* Crassostrea gigas.

Introduzione

Il mantenimento per periodo prolungato dello stato di maturazione sessuale di ostriche *Crassostrea gigas* allevate in ambiente confinato e condizionato offre numerosi vantaggi; la continua disponibilità di gameti ed embrioni di buona qualità può rappresentare un'utile strategia nell'allevamento, una riserva di organismi per effettuare test ecotossicologici e infine, una prospettiva futura nell'alimentazione larvale di numerose specie di pesci di interesse commerciale utilizzando embrioni di molluschi allo stadio di trocofora.

Per il condizionamento ed il mantenimento dei bivalvi in un acquario sono fondamentali il controllo dei parametri chimico-fisici dell'acqua ricircolante ed il regime alimentare (Muranaka e Lannan, 1984).

Il successo del condizionamento dei bivalvi può essere quantificato in termini di qualità dei gameti e delle larve prodotte. In particolare, la qualità delle uova è legata al contenuto lipidico a sua volta legato al tipo di dieta; tutto ciò, infine, è correlato alla sopravvivenza degli embrioni ed al corretto sviluppo larvale.

La finalità di questa sperimentazione è stata l'ottenimento di embrioni e larve di buona qualità mantenendo lo stato di maturità sessuale in riproduttori di ostrica *C. gigas* per un periodo prolungato in acquario a circuito chiuso.

Materiali e metodi

Per la sperimentazione sono state utilizzate ostriche adulte mature della specie *C. gigas* (lunghezza: 120±20 mm) la cui maturazione sessuale è stata indotta applicando un protocollo precedentemente sperimentato (Lubrano *et al.*, 2001). Giunte a maturazione le ostriche sono state divise in tre gruppi sperimentali e stabulate in tre vasche a

circuito chiuso alla densità di 1 ostrica/4 litri, temperatura di 19 °C e salinità 34‰.

Ai tre gruppi sperimentali è stato fornito il seguente regime alimentare: gruppo A : 3 mld alghe/ostrica/die, gruppo B: 1,5 mld alghe/ostrica/die, gruppo C: 5 mld alghe/ostrica/die. La dieta era costituita da alghe unicellulari inerti concentrate (prodotto della *Coast Seafoods Company*) addizionate di 1% di alghe vive delle specie *Tetraselmis suecica* ed *Isocrisis galbana* in rapporto rispettivamente di 1:4.

Dai gruppi sperimentali sono stati effettuati otto campionamenti, ad intervallo di circa 20 giorni l'uno dall'altro, sacrificando un campione minimo di 6 ostriche per gruppo o superiore fino ad avere almeno un esemplare per sesso.

La sperimentazione è stata condotta nell'arco di mesi 6. I gameti, prelevati dalle ostriche tramite incisione del tessuto gonadale, sono stati riuniti in pool per ciascun sesso, filtrati per eliminare residui di tessuto, miscelati rispettando il rapporto di 10-15 spermatozoi/uovo e tenuti insieme per un tempo di 30 minuti, trascorso il quale venivano allontanati gli spermatozoi. Dopo un'ora veniva valutata la percentuale di fecondazione contando il numero di uova con segni evidenti della fecondazione (emissione del globulo polare, prima divisione) su cento uova totali. Dopo due ore gli embrioni sono stati diluiti alla concentrazione di 20 individui/ml e lasciati sviluppare alla temperatura di 24 °C per 48 ore, trascorse le quali lo sviluppo larvale è stato interrotto. È stata valutata la percentuale di larve D normali, ovvero quelle larve che non presentavano alterazioni nella morfologia delle valve e/o ritardi di sviluppo.

Per ogni esperimento sono state effettuate 3 fecondazioni ciascuna in triplicato. I dati sono riportati come Media±DS. Per l'analisi dei risultati è stato utilizzato il test t di Student.

Risultati

Tra i tre gruppi sperimentali non sono state osservate differenze significative sulle percentuali di fecondazione (Fig. 1).

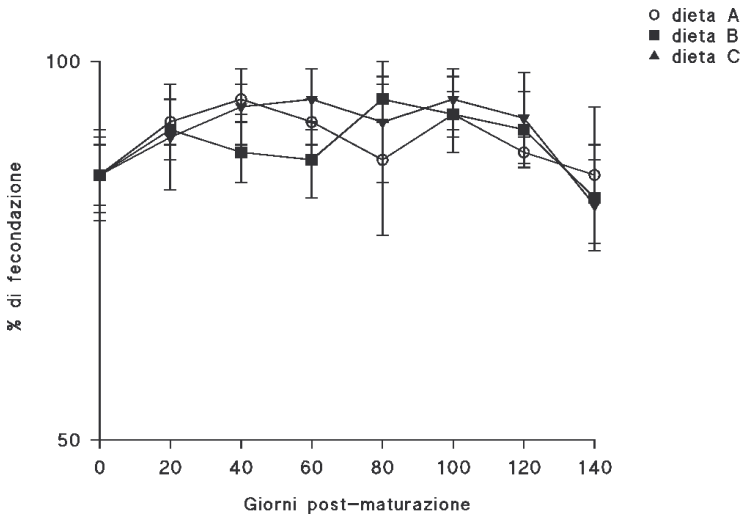


Fig. 1 – Percentuali di fecondazione nei tre gruppi sperimentali.
Percentage of fertilization in each experimental group.

Tuttavia valutando le percentuali di larve D sviluppatesi regolarmente (Fig. 2) si osservano differenze significative tra i gruppi sperimentali. Nella Fig. 3, che rappresenta la media delle percentuali di larve D di tutte le fecondazioni per i tre regimi alimentari, si può notare che mentre per la dieta (C) si è ottenuto circa l'80% di larve D normali, nella dieta A si osserva solo il 60% di larve normali. La dieta meno efficace (30% di larve D normali) è stata quella del gruppo B con 1,5 mld alghe/ostrica/die (A≠C p=0,005; B≠C p=0,0002; A≠B p=0,001).

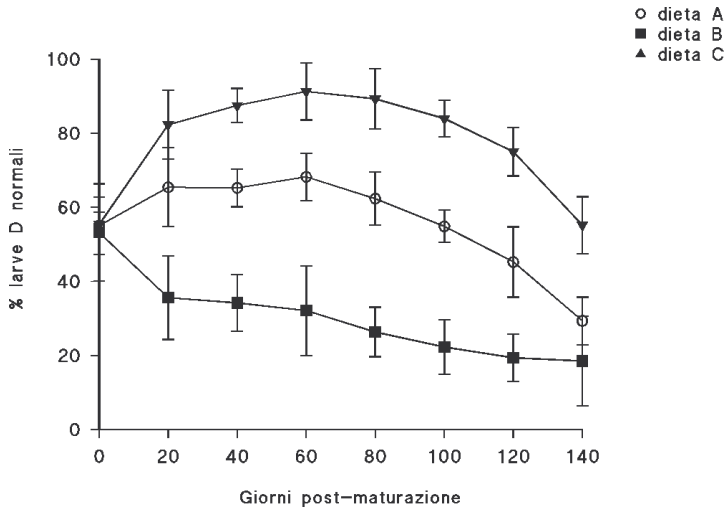


Fig. 2 – Percentuali di Larve D normali nei tre gruppi sperimentali.
Normal D larvae percentage of each experimental group.

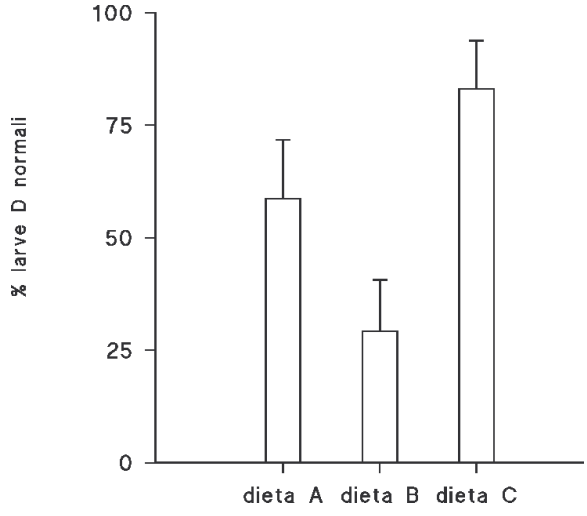


Fig. 3 - Medie complessive delle percentuali di Larve D nei tre gruppi sperimentali.
D larvae total average of each experimental group.

Conclusioni

Mantenendo costanti i parametri ambientali dell'acquario, il regime alimentare si è rivelato un fattore determinante e selettivo nel corretto sviluppo larvale. Infatti, con la stessa dieta utilizzata per l'induzione alla maturità sessuale (Dieta C: 5mld alghe/die/ostrica) si sono ottenuti gameti di buona qualità in grado di fornire elevate percentuali di larve D con sviluppo regolare. Tali risultati preliminari rappresentano anche un utile esperienza nella conoscenza del mantenimento di questa specie in uno stato di maturazione sessuale prolungato in ambiente confinato e condizionato.

Bibliografia

LUBRANO LAVADERA S., FABBROCINI A., RISPOLI S., CONTINI L., NASCIMENTO I., SANSONE G. (2001) - Maturazione sessuale di ostriche *Crassostrea gigas* stabulate in acquario a ricircolo d'acqua con dieta sperimentale. *Biol. Mar. Medit.,* **8** (1): 577-579.

MURANACA M.S., LANNAN J.E. (1984) - Broodstock management of Crassostrea gigas: environmental influences on broodstock conditioning. *Aquaculture,* **39**: 217-228.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 455-458

A.L. Langellotti[1], S. Ieropoli[2], A. Martello[3], P. Masullo[2], M. do Espirito Santo[2], M. Occidente[1-4], G. Sansone[2-3], D. Matassino [1-3-4]

[1]ConSDABI (Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecniche Innovative), Azienda Casaldianni - 82020 Circello, Benevento, Italia.
[2]Dip. di Fisiologia Generale ed Ambientale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Italia.
[3]CRIAcq (Centro di Ricerche Interdipartimentale per l'Acquacoltura), Portici, Napoli, Italia.
[4]Dip. di Sc. Zootec. e Isp. degli alimenti, Università degli Studi di Napoli Federico II, Italia.

EFFETTI DELL'ESPOSIZIONE AI CRIOPROTETTIVI SU EMBRIONI DI ORATA (*S. AURATA*)

*EFFECTS OF CRYOPROTECTIVE AGENTS EXPOSURE ON SEABREAM (*S. AURATA*) EMBRYOS*

Abstract

The effects on the survival of Sparus aurata *embryos at blastula stage after cryoprotective agents exposure were evaluated. The used cryoprotectans were Dimethylsulfoxide (DMSO), 1,2-Propanediol (PG) and Ethylene Glycol (EG) at 1M, 2M, 4M concentrations and for the following exposition times: 1, 2, 5, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 60 min. The obtained results show that the cryoprotective toxicity was PG < DMSO < EG. This results represent a basis for further studies on cryopreservation of* Sparus aurata *embryos.*

Key-words: Sparus aurata, *freezing storage, embryos, toxicity.*

Introduzione

Varie motivazioni spingono alla criopreservazione di gameti ed embrioni dei pesci quali la salvaguardia del patrimonio genetico per le specie a rischio di estinzione e la possibilità di disporre di nuove tecnologie in campo acquacolturale (Chao e Liao, 2001). Sebbene simili protocolli siano stati sviluppati per la criopreservazione degli spermatozoi di ben oltre 80 specie di pesci e nonostante siano state condotte su questo tema numerose ricerche, non sono stati ancora messi a punto protocolli definitivi per la criopreservazione di uova ed embrioni di pesci (Bart, 2000). Ciò a causa del loro ampio diametro, del complesso sistema multicompartimentale di cui l'embrione è composto (vitello e blastoderma), della differente permeabilità delle membrane, dell'elevata sensibilità al danno da freddo (Janik *et al*., 2000). L'utilizzo dei crioprotettivi permeabili della classe di quelli qui sperimentati si rivela indispensabile nelle fasi di preparazione di numerosi sistemi biologici al viaggio verso il profondo freddo (–196 °C). D'altro canto all'interno delle cellule i crioprotettivi rappresentano molecole estranee che in varie modalità interagiscono con i delicati meccanismi cellulari provocando alterazioni dello sviluppo come quelle a carico del sistema scheletrico e/o nervoso. Questo studio rappresenta una indagine preliminare per la valutazione degli effetti sulla sopravvivenza di embrioni di orata (*S. aurata*) allo stadio di blastula dopo esposizione a differenti agenti crioprotettivi. Scopo di questo lavoro è stato l'individuazione, per ogni crioprotettivo utilizzato, delle concentrazioni e dei tempi di esposizione tali da non provocare significative differenze sulla sopravvivenza degli embrioni.

Materiali e metodi

Gli embrioni di orata, raccolti dalle vasche di riproduttori selezionati di un'azienda ittica, sono stati esposti allo stadio di blastula (6-9 ore dalla fecondazione) al DMSO, PG ed EG (15 embr./ml) alle concentrazioni di 1, 2 e 4 M e per i seguenti tempi: 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 60 min. Dopo l'esposizione ai crioprotettivi gli embrioni sono stati sottoposti a lavaggi per allontanare il crioprotettivo, dopodiché si è seguito lo sviluppo valutando la sopravvivenza fino a 96 ore. Tutte le fasi sperimentali sono state condotte alla temperatura di 18 °C (Polo *et al.*, 2001). Per le varie concentrazioni testate sono stati determinati i tempi di esposizione che non presentavano differenze significative della sopravvivenza rispetto al controllo. È stato valutato, inoltre, l'effetto delle manipolazioni sugli embrioni dovuto alle procedure sperimentali (allontanamento del crioprotettivo, eliminazione giornaliera dei non sopravvissuti, cambi di acqua). I risultati sono presentati come medie ± DS. I dati sono stati valutati con il t di Student ($n > 9$).

Risultati

Il maneggiamento degli embrioni (controllo procedura di esposizione) di orata non ha avuto alcun effetto sulla sopravvivenza. Alla concentrazione di 1 M né il DMSO e né il PG mostravano effetti dal momento che la percentuale di sopravvivenza è stata simile a quella del gruppo controllo (90%) anche dopo 60 min di esposizione. Al contrario con l'EG già con 10 min di esposizione la sopravvivenza cadeva al 68% ($p < 0.01$) (Fig. 1).

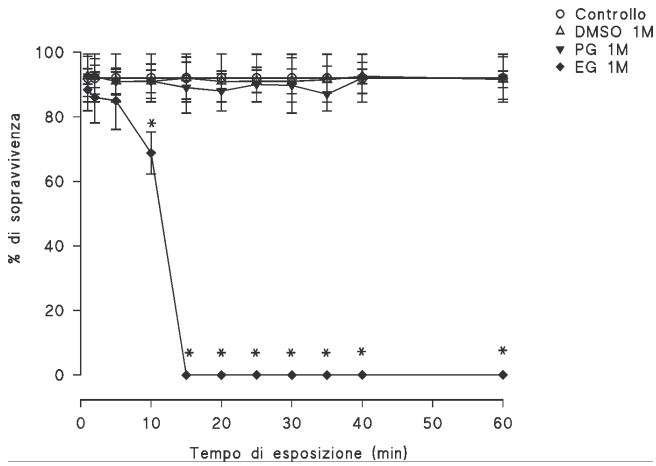


Fig. 1 – Effetti sulla sopravvivenza di embrioni di orata dopo esposizione ai crioprotettivi DMSO, EG, PG alla concentrazione 1M. I gruppi sperimentali sono indicati nella legenda.
Effects on the survival of gilthead seabream embryos after DMSO, EG, PG 1M exposure. Experimental groups are shown in the figure legend.

Alla concentrazione 2M mentre il PG non esercitava alcun effetto sulla sopravvivenza, il DMSO mostrava differenze significative rispetto al controllo dopo i 35 min di esposizione. L'EG al contrario ha dato effetti significativi già dopo 5 min di esposizione ($p < 0.05$) (Fig. 2). Tanto l'EG quanto il DMSO alla concentrazione di 4M esplicavano

la loro azione tossica immediatamente invece dopo 15 minuti di esposizione al PG la percentuale di sopravvivenza cadeva al 38% ($p<0.01$).

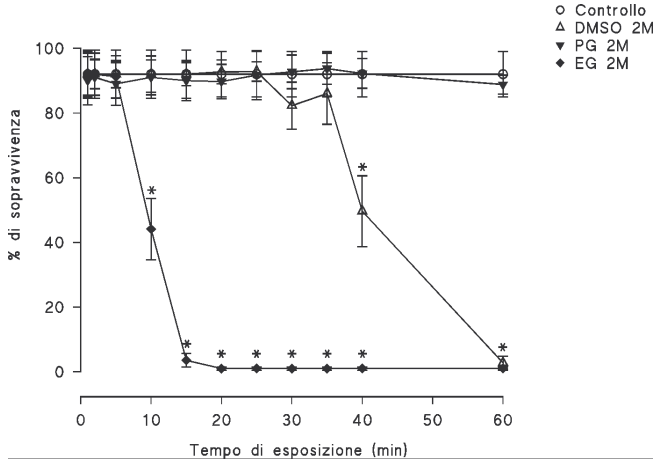


Fig. 2 – Effetti sulla sopravvivenza di embrioni di orata dopo esposizione ai crioprotettivi DMSO, EG, PG alla concentrazione 2M. I gruppi sperimentali sono indicati nella legenda.
Effects on the survival of gilthead seabream embryos after DMSO, EG, PG 2M exposure. Experimental groups are shown in the figure legend.

L'esposizione all'EG ed al DMSO 4M ha avuto effetti ancora più rilevanti in quanto dopo appena 1 min di esposizione la percentuale di sopravvivenza si dimezzava rispetto al controllo ($p<0.01$) (Fig. 3).

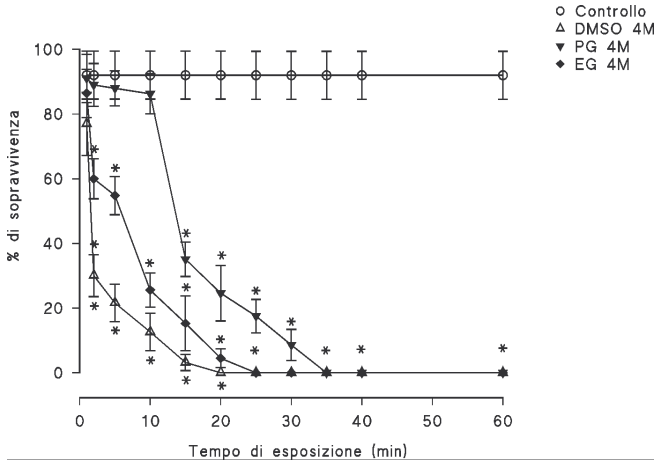


Fig. 3 – Effetti sulla sopravvivenza di embrioni di orata dopo esposizione ai crioprotettivi DMSO, EG, PG alla concentrazione 4M. I gruppi sperimentali sono indicati nella legenda.
Effects on the survival of gilthead seabream embryos after DMSO, EG, PG 4M exposure. Experimental groups are shown in the figure legend.

Conclusioni

I risultati ottenuti nella valutazione della sopravvivenza degli embrioni di questa specie alle nostre condizioni sperimentali indicano la seguente scala di tossicità dei crioprotettivi utilizzati: PG < DMSO < EG. In particolare l'EG ha mostrato gli effetti più marcati sulla sopravvivenza rispetto al PG e al DMSO alle concentrazioni minime di 1 e 2 M. Tali dati preliminari sulla sopravvivenza saranno approfonditi con le valutazioni delle malformazioni. La definizione di condizioni sperimentali che non mostravano differenze significative rispetto al controllo (Tab. 1) rappresenta una base per una valutazione di tossicità di crioprotettivi sperimentabili nelle fasi successive di crioconservazione di embrioni di *S. aurata* allo stadio di blastula.

Tab. 1 – Condizioni sperimentali alle quali non si osservavano differenze significative rispetto al controllo.
Experimental conditions under which there were no significant differences with respect to control group.

Crioprotettivi	**Sopravv. %**
Controllo	92 ± 1,51
DMSO 1M 60min	91,62 ± 3,51
DMSO 2M 35 min	86,05± 4,11
PG 1M 60 min	90± 1,12
PG 2M 60min	91,79± 6,70
PG 4M 10min	86,25± 4,20
EG 1M 1min	90,15± 7.40
EG 2M 2min	91,25± 3,23

Ringraziamenti

Si ringrazia l'azienda Panittica Pugliese per il materiale biologico fornito.

Bibliografia

BART A.N. (2000) - New approaches in cryopreservation of fish embryos. In: Tiersch T.R. and Mazik P.M. (eds), *Cryopreservation in Acquatic Species*, World Aquaculture Society, Baton rouge, Louisiana: 179-187.

CHAO N.H., LIAO C.I. (2001) - Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos. *Aquaculture*, **197**: 161-189.

JANIK M., KLEINHANS F.W., HAGEDORN M. (2000) - Overcoming a permeability barrier by microinjecting cryoprotectants into Zebrafish embryos (*Brachidanio rerio*). *Cryobiology*, **41**: 25-34.

POLO A., YUFERA M., PASCUAL E. (2001) - Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata L*., *Aquaculture,* **92**: 367-375.

Ricerca effettuata con il contributo MiPAF progetto C150 e CNR PF 49.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 459-461

P. Melotti, A. Roncarati, P.P. Gatta*, O. Mordenti, E. Magi

Centro Universitario di Ricerca e Didattica in Acquacoltura e Maricoltura, Università di Camerino
Viale Europa, 6 – 63039 San Benedetto del Tronto, Ascoli Piceno, Italia.
*D.I.M.O.R.F.I.P.A. Università di Bologna, Italia.

IMPIEGO DI MATERIE PRIME DI ORIGINE ACQUATICA E/O VEGETALE NELL'ALIMENTAZIONE DELL'ORATA (*SPARUS AURATA* L.): EFFETTI SULLE PERFORMANCE ZOOTECNICHE E SULLA FRAZIONE LIPIDICA DEL PRODOTTO

*USE OF FEEDSTUFFS OF AQUATIC AND/OR VEGETABLE ORIGIN IN THE FEEDING OF SEABREAM (*SPARUS AURATA *L.): EFFECTS ON THE ZOOTECHNICAL PERFORMANCES AND ON THE LIPID COMPOSITION OF THE FILLET*

Abstract

Seabream were fed with different diets (vegetable; vegetable plus fish oil; commercial) and reared for 90 days in 12 closed system 1 mc tanks in order to compare zootechnical performances and total and fatty acid composition. As expected, the best results were observed with the commercial diet that showed statistical differences from the point of view of final mean weight and food conversion rate compared with the other two. The fatty acid composition did not show any statistical difference among the three diets.

Key-words*:* Sparus aurata, *artificial feeding, performance, fish fillets, fatti acid.*

Introduzione

Le problematiche connesse con l'utilizzo di farine ottenute da animali terrestri nell'alimentazione di specie di interesse zootecnico ed il conseguente divieto di produzione ed impiego di tali materie prime su tutto il territorio europeo hanno dischiuso scenari del tutto imprevedibili fino a pochi anni fa. Le farine di carne e di sangue, infatti, nel volgere di un brevissimo periodo sono state sostituite con farine di pesce a loro volta non del tutto sicure sia per le possibili contaminazioni con farine di animali terrestri e, nel caso del prodotto proveniente dai mari del nord Europa, per la possibile presenza di diossina e PCB. Questa situazione ha creato nel consumatore una notevole diffidenza nei confronti degli animali allevati con proteine animali inducendo talune categorie di produttori all'impiego di mangimi alternativi totalmente privi della componente animale. Poiché i pesci marini allevati sono carnivori, l'impiego di una dieta totalmente vegetale od integrata con olio di pesce può apparire contrario alle loro esigenze nutrizionali, tuttavia un'esperienza in tal senso è parsa opportuna al fine di saggiare le risposte sia dal punto di vista delle performance zootecniche che della composizione lipidica (Burel *et al*., 2000; Keshavanath e Jagadeesh, 1994; Allan *et al*., 2000).

Materiali e metodi

Sono state valutate le principali caratteristiche qualitative del filetto di orate, del peso medio iniziale di 198±31 g, allevate per 90 giorni in 12 vasche, del volume unitario di 1 m^3, alla densità iniziale di 5 kg/m^3. I pesci sono stati suddivisi in 3 gruppi

sperimentali (4 vasche/gruppo) a ognuno dei quali è stata assegnata una differente dieta pellettata, isoenergetica (19,3 MJ/kg) ed isoproteica (47%).

La dieta DOG, totalmente vegetale, è stata formulata utilizzando come principale fonte proteica il concentrato proteico della soia e il concentrato proteico di patata; lo *Schizochytrium* e l'olio di soia hanno garantito il necessario apporto lipidico; anche la dieta DOM è stata realizzata mediante l'esclusivo impiego di materie prime di origine vegetale (concentrato proteico di soia, concentrato proteico di patata e glutine di frumento); in questo caso la frazione lipidica è stata in larga parte fornita da olio di pesce; DOS, rappresentata da un mangime del commercio, conteneva farina di pesce, amido pregelatinizzato e olio di pesce (Hertrampf *et al.*, 2000).

Al termine, un campione di pesci è stato macellato e, dopo aver rimosso la pelle ed il pannicolo adiposo sottocutaneo, sul filetto di 8 esemplari/tesi sono stati determinati i lipidi totali (Folch *et al.*, 1956) e gli acidi grassi sotto forma di esteri metilici (Christie, 1989). Ad intervalli mensili, le risultanze relative a peso, tasso di accrescimento specifico (lnPf-lnPi/giorni di prova) (Steffens, 1989)e indice di conversione alimentare e le principali categorie di acidi grassi delle tre tesi sono state poste a confronto mediante analisi della varianza (ANOVA); le differenze tra le medie ($P<0,05$) sono state valutate con il test Student-Newman-Keuls mediante pacchetto SAS System (1989).

Risultati e conclusioni

Nel corso ed al termine della prova sono state riscontrate differenze statisticamente significative in termini ponderali e indice di conversione alimentare (Tab. 1). Come prevedibile, i risultati più favorevoli sono stati rilevati nei pesci alimentati con la dieta DOS mentre il profilo acidico non ha mostrato differenze significative tra i due gruppi sperimentali e quello alimentato con la dieta commerciale (Tab. 2).

Tab. 1 – Performance zootecniche rilevate nel corso ed al termine della prova. Lettere diverse (a, b, c) sulla stessa riga indicano differenze tra le medie statisticamente significative ($P<0,05$).
Zootechnical performances monitored during and at the end of the trial. Different letters on the same line show significant differences ($P<0.05$) among the mean values.

	DOG	DOM	DOS
Peso medio iniziale (g):	198±31	198±31	198±31
-a 30 giorni	219±20	221±22	227±23
-a 60 giorni	230±21b	254±15b	276±17a
-a 90 giorni	256±24b	294±14b	330±13a
Tasso di accrescimento specifico	5,48±0,1	5,62±0,3	5,74±0,2
Indice di conversione alimentare	2,3±0,2a	1,95±0,1b	1,65±0,1c

Tab. 2 – Composizione in acidi grassi (% sul totale degli acidi grassi) del filetto di orate alimentate con le diverse diete.

Amount of fatty acid (as % total fatty acids) of the fillet in seabream fed the different diets.

	DOG	**DOM**	**DOS**
Saturi	24,35±2	24,81±2,5	28,48±1,9
Monoinsaturi	29,34±1,9	29,77±2,3	30,28±2,2
Polinsaturi	46,3±3,8	45,41±2,4	41,22±4,2
EPA	6,22±2,1	6,83±2,8	8,27±3,2
DPA	3,56±1,1	3,39±1,3	3,05±1,4
DHA	20,47±4	18,73±3	18,33±3,8

Bibliografia

ALLAN G.L., PARKINSON S., BOOTH M.A., STONE D.A.J., ROWLAND S.J., FRANCES J., WARNER-SMITH R. (2000) – Replacement of fish meal in diets for australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, **186**: 293-310.

BUREL C., BOUJARD T., KAUSHIK S.J., BOEUF G., VAN DER GEYTEN S., MOL K.A., KUHN E.R., QUINSAC A., KROUTI M., RIBAILLIER D. (2000) – Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilisation and thyroid status. *Aquaculture*, **188**: 363-382.

CHRISTIE W.W. (1989) - *Gas-chromatography and lipid*. The Oily Press, Ayr: 45-109.

FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G.H. (1956) - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*., **60**: 497-509.

HERTRAMPF J.W., PIEDAD-PASCQUAL F. (2000) – *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*. Kluwer Academic Publishers. Boston: 14-24.

KESHAVANATH P., JAGADEESH B.R. (1994) – Influence of sardine oil on growth and flesh quality of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.). *Fish Nutr. in Asia*: 85-91.

STEFFENS W. (1989) – *Principles of fish nutrition*. John Wiley & Sons. New York: 27-39.

Ricerca condotta con fondi MURST Anno 2000 “Sostituzione nell’alimentazione ittica delle materie prime ottenute da animali terrestri con alimenti di origine acquatica e/o vegetale: effetti sulle caratteristiche qualitative e sulla frazione lipidica del prodotto”.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 462-464

M. Mercurio, C. Longo, C. Nonnis Marzano, L. Scalera Liaci, G. Corriero

Dipartimento di Zoologia - Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 - 70126 Bari, Italia.

L'ALLEVAMENTO DI SPUGNE COMMERCIALI NELLA RISERVA NATURALE MARINA "ISOLA DI USTICA"

COMMERCIAL SPONGE FARMING IN THE MARINE RESERVE "ISOLA DI USTICA"

Abstract

A methodology for rearing Mediterranean commercial sponges in plastic cages is described. The mortality and growth rates of 1100 explants of Spongia officinalis *and* S. agaricina *(Porifera, Demospongiae) cultured for 16 months in the marine reserve of Ustica Island (North Sicily, Tyrrhenian Sea) are given. The impact of sponge culture activity on natural sponge populations is discussed.*

Key-words: *commercial species, sponge culture, marine reserve.*

Introduzione

L'eccessivo ed incontrollato sforzo di pesca (Gaino e Pronzato, 1992; Gaino *et al*., 1994), unitamente ad una serie di eventi epidemici (Pronzato e Gaino, 1991), hanno drasticamente ridotto la presenza di spugne commerciali in Mediterraneo. Una specie, *Hippospongia communis* (Lamarck 1813), è praticamente scomparsa dal bacino occidentale, mentre di *Spongia officinalis* L. 1759 e *S. agaricina* Pallas 1766 sopravvivono popolazioni di ridotte dimensioni, caratterizzate da una distribuzione fortemente dispersa (Vacelet, 1991). Il Dipartimento di Zoologia dell'Università di Bari da alcuni anni conduce ricerche finalizzate alla sperimentazione di tecniche di coltura e di ripopolamento di spugne commerciali allo scopo di individuare una strategia di gestione programmata di questa risorsa. In questo lavoro vengono descritte le nuove metodologie adottate per l'allestimento di un impianto sperimentale di spongicoltura in un'area soggetta a vincoli di tutela. Vengono riportati i dati relativi al tasso di mortalità e di accrescimento di un lotto di 1100 frammenti di *S. officinalis* e *S. agaricina* posti in coltura da 16 mesi. Viene inoltre valutato l'impatto dell'attività di allevamento sulle popolazioni naturali, nell'ipotesi della eventuale realizzazione di un'attività di spongicoltura su scala commerciale.

Materiali e metodi

E' stata prescelta per l'allestimento dell'impianto un'area dell'estensione di 2 ettari, dislocata nel settore nord-occidentale della costa di Ustica (Tirreno meridionale). Gli esemplari di spugne commerciali da utilizzare come seme per l'allevamento sono stati individuati nelle immediate vicinanze di quest'area, su substrati rocciosi posti tra 35 e 45 metri di profondità. Nel giugno 2000 è stata prelevata, in immersione, la porzione superiore di 30 esemplari di *S. officinalis* e di 47 di *S. agaricina* lasciando in sito la parte basale della spugna. Tali porzioni basali, in numero di 10 per ognuna delle due specie, sono state monitorate in immersione per 12 mesi, allo scopo di valutarne le capacità rigenerative e la mortalità. La porzione superiore delle spugne è stata utiliz-

zata come seme per l'allevamento. Dal suo taglio sono stati ottenuti 1100 frammenti di spugna equi ripartiti tra le due specie. I frammenti, del peso umido di 65,2±29,0 g per *S. officinalis* e 60,7±22,6 g per *S. agaricina*, sono stati posti in 110 gabbie di plastica forata (dimensioni, 27×40×20 cm; maglia, 2 cm); ogni gabbia, contenente 10 frammenti di spugna non fissati ad alcun supporto è stata chiusa superiormente mediante una rete in plastica forata (maglie di 1 cm di lato). Completate le fasi di riempimento, le gabbie sono state legate a gruppi di cinque, ancorate ad una catena in ferro e mantenute ortogonali al fondo mediante galleggianti sommersi. La mortalità relativa a tutti i frammenti posti in coltura è stata stimata semestralmente, in immersione. L'accrescimento è stato stimato su circa il 10% dei frammenti di spugna posti in coltura. Con criterio random, in immersione, i frammenti venivano prelevati, portati in superficie, lasciati sgocciolare per alcuni secondi e successivamente pesati. Dopo la pesatura, i frammenti di spugna erano riposizionati nelle gabbie di allevamento.

Risultati

Le strutture d'allevamento realizzate sono risultate adeguate alle condizioni d'intenso idrodinamismo presenti lungo le coste usticesi. In confronto a sistemi precedentemente sperimentati (Scalera Liaci *et al*., 1999), la semplicità strutturale di questa metodologia di allevamento ha consentito di ridurre drasticamente i tempi di allestimento dell'impianto. Sulle gabbie tuttavia, lo sviluppo di comunità del fouling (in particolare: alghe filamentose, ascidie, idrozoi, briozoi e policheti tubicoli), ha comportato la necessità di operazioni di manutenzione con cadenza semestrale.

I frammenti di *S. officinalis* e *S. agaricina* posti in coltura non hanno evidenziato differenze statisticamente significative per quanto concerne la mortalità e l'accrescimento. Il tasso di mortalità, dopo un picco iniziale, pari rispettivamente a 10,8% e 12,2%, ha mostrato valori pressoché trascurabili. L'accrescimento, pur evidenziando una notevole variabilità, ha mostrato nel complesso un andamento esponenziale (Fig. 1). A livello indicativo, è possibile stimare in circa 36 mesi il periodo di coltura necessario al raggiungimento della taglia commerciale (circa 300 g in peso umido) per entrambe le specie.

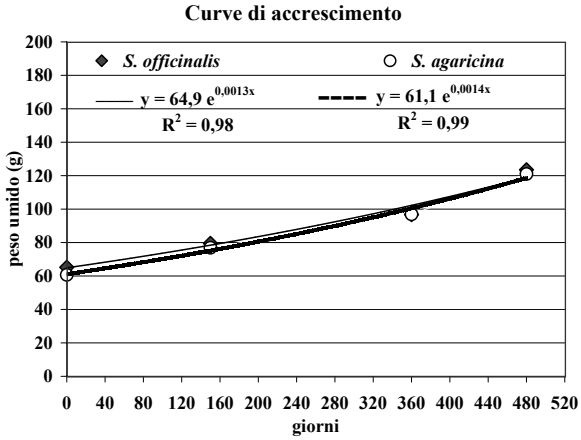


Fig. 1 – *Spongia officinalis* e *S. agaricina*: curve di accrescimento dei frammenti posti in coltura.
Spongia officinalis *and* S. agaricina: *growth curves of the cuttings.*

Il 77,5% degli esemplari di *S. agaricina* e il 71% di *S. officinalis*, da cui è stata prelevata la porzione superiore utilizzata come seme per l'allevamento, ha portato a termine in circa 1 mese il processo di cicatrizzazione della superficie tagliata. Dopo un anno di indagine la mortalità registrata per questi esemplari è risultata pari al 25,4%.

Conclusioni

I frammenti di spugna posti in coltura hanno mostrato in entrambe le specie valori di mortalità contenuti e accrescimento esponenziale. I risultati di questa sperimentazione appaiono simili a quelli ottenuti nelle colture di *S. officinalis e S. agaricina* su fili sospesi realizzate lungo le coste ioniche pugliesi (Scalera Liaci *et al.*, 1999) e le coste mediterranee francesi presso Marsiglia (Verdenal, 1986).

Sebbene la spongicoltura in aree marine protette possa contribuire al processo di riconversione di attività di prelievo verso forme di gestione programmata della risorsa, il trasferimento sul piano applicativo dei risultati conseguiti nel corso di questa ricerca deve essere preceduto da un'attenta e rigorosa valutazione della consistenza e della distribuzione delle popolazioni di spugne naturali. Il prelievo del seme, infatti, anche se esercitato con precauzione ed in forma parziale, pur non alterando in maniera sensibile la densità della popolazione naturale, comporta comunque un decremento della sua biomassa.

Ringraziamenti

Gli Autori desiderano ringraziare: i signori Umberto Pitruzzella, Gaetano Caminita, Tonino Licciardi e Giacomo Lo Schiavo per il supporto tecnico-logistico offerto; il sig. Alberico Barbato per il supporto nell'attività subacquea e per la realizzazione della documentazione fotografica e cinematografica.

Bibliografia

GAINO E., CORRIERO G., PRONZATO R. (1994) - La spongocultura in Mediterraneo. *Quad. Accad. Int. Sc. Tecn. Sub.*: 41-60.

GAINO E., PRONZATO R. (1992) - Epidemie e pesca intensiva minacciano la sopravvivenza delle spugne commerciali del bacino Mediterraneo. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **56-57**: 209-224.

PRONZATO R., GAINO E. (1991) - La malattia delle spugne commerciali: considerazioni storico-economiche. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **54-55**: 17-26.

SCALERA LIACI L., MERCURIO M., PALLADINO F., MASSARI S., CORRIERO G. (1999) - L'allevamento di spugne commerciali nella Riserva Marina di Porto Cesareo. *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 110-118.

VACELET J. (1991) - Status des éponges commerciales en Méditerranée. In: Boudouresque C.F., Avon M., Gravez V. (eds), *Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée.* GIS Posidonie publ.: 35-42.

VERDENAL B. (1986) - Spongiculture en Méditerranée nord-occidentale: aspects cultural, molysmologiques et économiques. *Doctoral dissertation, Université d'Aix-Marseille*: 1-163.

Lavoro eseguito nell'ambito della ricerca «Prima esperienza di spongicoltura lungo le coste italiane» finanziato dal Comune di Ustica, Ente Gestore della Riserva Naturale Marina "Isola di Ustica".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 465-467

C. Messina, C. Foderà, A. Santulli

Istituto di Biologia Marina, Lungomare D. Alighieri - 91016 Erice C.S., Trapani, Italia.

QUALITÀ DEL TONNO ROSSO MEDITERRANEO (*THUNNUS THYNNUS*) PROVENIENTE DA UN ALLEVAMENTO COMMERCIALE UBICATO NEL GOLFO DI CASTELLAMMARE (TRAPANI, ITALIA)

*QUALITY OF MEDITERRANEAN BLUE FIN TUNA (*THUNNUS THYNNUS*) REARED IN A COMMERCIAL FARM LOCALIZED IN CASTELLAMMARE DEL GOLFO (TRAPANI, ITALY)*

Abstract

*Mediterranean Blue fin Tuna (*Thunnus thynnus*) reared in a commercial farm in Castellammare del Golfo (Western Sicily) shows a noticeable increment of lipid tissue content from 4.9 al 40.8%, during 5 month rearing, as a response to the high lipid content (17.4%) of the diet administered. This increment, determines the high commercial value of tuna fish produced and its commercial success on Japanese market. It is also evident an increment of the ratio trygliceride/ phospholipid, respect to wild blue fin Tuna.*

Key-words: Thunnus thynnus*, cage culture, quality, fat content.*

Introduzione

Il ricco mercato nipponico, dove viene commercializzata la maggior parte del tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*), richiede un prodotto di alta qualità, che viene valutata sulla base di vari fattori, quali: la taglia, la freschezza, lo stato di conservazione, il colore e la consistenza della carni ed il loro contenuto lipidico (Doumenge, 1996; Messina *et al.*, 2001; Messina *et al.*, 2002).

In natura, i tonni raggiungono la qualità richiesta dal mercato giapponese, soltanto in un breve periodo dell'anno, in relazione al ciclo riproduttivo (Messina *et al.*, 2002; Mourente *et al.*, 2002). Allo scopo di garantire la stabilità della disponibilità del prodotto, il raggiungimento ed il mantenimento degli elevati requisiti di qualità, negli ultimi anni in Mediterraneo sono sorti diversi impianti di allevamento (Bernal, 2001).

In questi impianti viene immessa la quasi totalità (80%) dei tonni pescati in mare (Bernal, 2001). Dopo un breve periodo di finissaggio di 4-6 mesi, i tonni alimentati con pesce fresco ad elevato contenuto di grassi, ripristinano le riserve lipidiche, che si erano ridotte con la riproduzione. Il contenuto lipidico, il principale parametro di qualità richiesto dal mercato nipponico, infatti, può essere facilmente modificato durante l'allevamento attraverso la dieta somministrata.

Sulla base di esperienze precedenti (Messina *et al.*, 2001; Messina *et al.*, 2002) ci siamo proposti di monitorare l'evoluzione della composizione lipidica nel muscolo dei tonni allevati, in un impianto di allevamento commerciale, installato nel Golfo di Castellammare nel 2001, in relazione alla dieta somministrata.

Materiali e metodi

Nelle gabbie, nel mese di giugno sono stati immessi tonni con un peso medio di circa 140 kg, che sono stati alimentati con una dieta costituita principalmente da

aringhe (*Clupea* spp.) con una razione media giornaliera di circa il 3%. Nel mese di novembre 2001, tutti i tonni in allevamento sono stati pescati ed avviati alla commercializzazione.

Durante tutta la fase di allevamento, da giugno a novembre, sono stati prelevati mensilmente campioni di muscolo, da circa 100 esemplari, per la determinazione gravimetrica e strumentale dei lipidi totali tissutali (Messina *et al.*, 2002). Il contenuto in trigliceridi e fosfolipidi è stato determinato gravimetricamente dopo separazione in fase solida.

Il contenuto lipidico è stato determinato anche campioni di pesce congelato utilizato per alimentare i tonni in allevamento.

Risultati e conclusioni

Al momento dell'immissione in gabbia, nel mese di giugno, i tonni presentavano un contenuto lipidico tissutale medio del 4,9 ± 0,8%. I campionamenti successivi hanno mostrato un incremento progressivo di questo valore al 40,8 ± 5,4% nei pesci pescati a novembre. Questo notevole incremento è stato determinato dalla composizione della dieta utilizzata. Il pesce congelato usato come alimento, costituito essenzialmente da *Clupea* spp., presentava infatti un contenuto lipidico medio del 17,4% (in peso secco), notevolmente più elevato rispetto a quello (4,1%) della dieta utilizzata in esperienze sperimentali precedenti (*Boops boops*, *Sardinella aurita*, *Trachurus trachurus*, *Scomber* spp., *Sardina pilchardus*).

L'analisi delle classi lipidiche ha indicato che nei tonni allevati nelle gabbie di Castellammare del Golfo il rapporto tra il contnuto percentuale in trigliceridi ed in fosfolipidi (33,7) è notevolmente più elevato rispetto a quello osservato in esemplari di tonno rosso pescato a Favignana (2,6) e in Adriatico (4,9) (Messina, comunicazione personale) e a Gibilterra (2,2) (Mourente *et al.*, 2002).

Questo accumulo di trigliceridi è determinato dall'elevato tenore lipidico della dieta.

Il finissaggio in gabbia ha avuto, quindi, un effetto positivo sull'accumulo di lipidi e quindi sulla qualità dei tonni allevati. Tutti i tonni prodotti nelle gabbie di Castellammare sono stati, infatti, classificati di "classe A" secondo la scala di valutazione utilizzata nel mercato giapponese (Messina *et al.*, 2001, 2002).

Per ottenere la qualità richiesta, la dieta somministrata ai tonni allevati deve garantire un elevato apporto di grassi.

A parità di razione alimentare, le specie di scarto della pesca in Mediterraneo non sembrano possedere i requisiti richiesti.

L'impiego di specie ad elevato contenuto calorico consente di ottenere prodotto di qualità e, contemporaneamente, di ridurre la razione fornita, contribuendo a limitare l'impatto sull'ambiente marino di questo tipo di allevamento (Santulli *et al*., 2003).

Bibliografia

BERNAL A. (2001) - L'allevamento del tonno rosso in Mediterraneo. *L'allevamento del tonno rosso mediterraneo nel golfo di Castellammare: primi risultati e prospettive*. Castellammare del Golfo, 16 dicembre 2001.

DOUMENGE F. (1996) - L'aquaculture des thons rouges. *Biol. Mar. Medit*, **3** (1): 258-288.

MESSINA C., BERTOLINO F., LOMBARDO S., SANTULLI A. (2001) - A rapid method for determination of quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*). *International Aquaculture Conference.* Verona, 26th-27th April 2001.

MESSINA C.M., BERTOLINO F., LA BARBERA L., GUNNELLA F., SANTULLI A. (2002) - Caratterizzazione della qualità del tonno rosso (*Thunnus thynnus*) per la commercializzazione sul mercato giapponese. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 566-567.

MOURENTE G., MEGINA C., DÍAZ-SALVAGO E. (2002) - Lipids in female northern bluefin tuna *(Thunnus thynnus* L.) during sexual maturation. *Fish Physiol. Biochem.,* **24**: 351–363.

SANTULLI A., BERTOLINO F., ASARO E., LOMBARDO S., MODICA A., PORRELLO S., MISTRETTA G., ARENA R., MESSINA C.M. (2003) - Impatto ambientale di un allevamento commerciale di tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*) ubicato nel golfo di Castellammare (Trapani): risultati preliminari. *Biol. Mar. Medit*, **10** (2): 477-481.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 468-469

C. Monetti, D. Vigetti, M. Prati, G. Bernardini, G. Terova, M. Saroglia, R. Gornati

Università degli Studi dell'Insubria, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale,
Via J.H. Dunant, 3 - 21100 Varese, Italia.

I LIVELLI DI OSSIGENO INFLUENZANO L'ESPRESSIONE GENICA NELLE BRANCHIE DI *DICENTRARCHUS LABRAX*

GENE EXPRESSION IN DICENTRARCHUS LABRAX *GILLS IS INFLUENCED BY OXYGEN LEVELS*

Abstract

The aim of this work is to study the modifications of gene expression in sea bass gills, after a stress caused by hypoxia and hyperoxia. By differential display technique, we isolated 6 cDNA fragments expressed in the stress-exposed specimens. Differentially expressed genes can be used as molecular biomarkers.

Key-words: *oxigen levels,* Dicentrarchus labrax*, gene expression, differential display.*

Introduzione

Il problema relativo al benessere animale negli allevamenti ittici è di crescente interesse, sia per una maggiore consapevolezza generalizzata, sia per la relazione tra benessere animale e qualità del prodotto finale destinato al consumo alimentare.

In generale, il monitoraggio della concentrazione dei cataboliti azotati (NH_3 e NO_2^-) e della pressione parziale (o semplicemente della concentrazione) dell'ossigeno disciolto, sono sufficienti a definire le condizioni ambientali che garantiscono un sufficiente benessere animale che viene poi confermato da dati sulle performances zootecniche, quali efficienza di conversione, sopravvivenza a fine ciclo, crescita ponderale. Con l'impiego di nuove tecnologie, quali il ricircolo dell'acqua e l'impiego dell'ossigeno liquido, il semplice monitoraggio dei parametri di qualità dell'acqua, i test sulle risposte immunologiche e i parametri ematici potrebbero non essere sufficienti per prevedere o descrivere in modo attendibile lo stato di benessere del pesce. Quindi descrittori più diretti, dovranno essere presi in considerazione prima che i dati sulle prestazioni zootecniche si rendano disponibili.

In questo lavoro abbiamo analizzato le risposte a condizioni di ipossia e iperossia nelle branchie di spigola, in termini di modifiche nella sintesi di specifici mRNA, sfruttando la tecnica del differential display (Liang e Pardee 1992).

Materiali e metodi

Gli mRNA sono estratti, con TRIzol™, dalle branchie di esemplari di spigola esposti rispettivamente a 140%, 100% o 70% di saturazione di O_2, quindi retrotrascritti. I frammenti di cDNA, amplificati e marcati con ^{35}S mediante PCR, sono separati mediante elettroforesi su gel di poliacrilamide al 6% ed evidenziati mediante autoradiografia. Le bande di interesse sono clonate e sequenziate. Le sequenze sono quindi analizzate per la ricerca di omologie in banca dati mediante BLAST.

Risultati

Utilizzando il primer arbitrario P49 (AAGCTTTAGTCCA) sono state evidenziate 6 bande differenzialmente espresse: 4 di queste sono indotte dalla condizione di ipossia, una è indotta dall'iperossia e un'altra da entrambe le condizioni (Fig. 1).

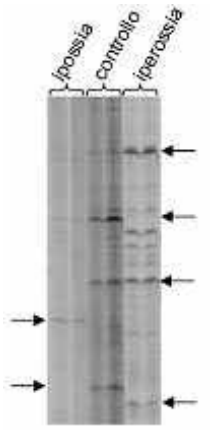


Fig. 1 - Esempio di differential display in cui sono state evidenziate alcune bande analizzate.
Example of differential display analysis. Arrows indicate the analysed bands.

La dimensione delle 6 bande sequenziate varia da 180 a 550 paia di basi. Nessuna delle 6 bande ha mostrato omologia con sequenze già note presenti in banca dati.

Conclusioni

Delle sei bande differenzialmente espresse, nessuna ha mostrato omologie con sequenze note: questo non indica necessariamente che si tratti di 6 geni nuovi. Infatti, con questa tecnica si ottengono frammenti localizzati in posizione 3' del gene dove spesso si trovano sequenze non codificanti specie-specifiche che quindi non sono conservate evolutivamente.

Inoltre, poiché le sequenze nucleotidiche di spigola depositate in banca dati sono attualmente limitate a poche decine, al fine di identificare le bande ottenute, si renderà necessaria la costruzione e la selezione di librerie di cDNA. Infine, queste sequenze potranno essere usate come biomarkers dopo conferma della loro espressione differenenziale mediante tecniche complementari di biologia molecolare quali il reverse northern dot blot, northern blot e RT-PCR.

References

LIANG P., PARDEE A.B. (1992) - Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*, **257** (5072): 967-971.

Questa ricerca è stata finanziata nell'ambito del V Programma triennale Pesca e Acquacoltura, Legge n° 41/82, Direzione Generale della Pesca, Ministero Politiche Agricole e Forestali.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 470-472

A.C. Pati, G. Belmonte, F. Boero

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università di Lecce,
Centro Ecotekne, Via Prov.le Lecce-Monteroni – 73100 Lecce, Italia.

SEEKING FOR NEW FODDER SPECIES IN AQUACULTURE

NUOVE SPECIE COME MANGIME IN ACQUACOLTURA

Abstract

Hexarthra fennica *Levander (Rotifera, Monogononta, Flosculariaceae) and* Fabrea salina *Henneguy (Ciliophora, Heterotrichida) were cultured to establish their usefulness as live food for fish larvae rearing. On the contrary of* H. fennica, F. salina *shows many favourable characteristics (easy separation from sediment and easy storage of cysts, high percentage and synchrony of cyst hatching, low culture requirements, fast reproduction of active individuals, etc.) so it could be suitable as feed in aquaculture farming, if also nutritional features will be good.*

Key-words: *aquaculture, ciliates, cyst, rotifers.*

Introduction

Artemia franciscana and *Brachionus plicatilis* are species usually utilised as a diet for larval culture of many fish species (Lavens and Sorgeloos, 2000), but in natural ecosystems several rotifers and ciliates are food for fishes and shellfishes (Kuroshima *et al.*, 1987). Furthermore, also in aquaculture farming breeding species grow better when receive supplementary food in the form of ciliates (Thompson *et al.*, 1999).

In this study, we cultured *F. salina* and *H. fennica*, in order to obtain both active individuals (by excystment of resting forms and/or asexual reproduction of individuals) to administer as food, and cysts (by encystment of individuals) useful for storage and possible marketing as feed.

Materials and methods

Resting eggs of *H. fennica* and cysts of *F. salina* were extracted from sediment of a salt basin ("Vecchia salina", Torre Colimena, Gulf of Taranto coast of the Salento Peninsula, Italy). Extraction procedure is described in Quarta *et al.* (1992). Incubation of cysts was carried out at salinity of 36‰, temperature of 24 °C, and photoperiod of 14L:10D. For all experiments, sea-water 0.45 µm vacuum-filtered was utilised. Counts of the hatches were carried out daily.

Active individuals of the ciliate were extracted, by 20 µm filtering, from the water column of the site above and cultured at the same salinity (124‰) at the extraction period. Encystment (E) and/or population increase (PI) of *F. salina* were tested in different culture conditions: summer (24 °C) and winter (14 °C) temperature, light presence (no light, and summer or winter photoperiod, that is 14L:10D and 10L:14D respectively), food availability (nothing, particulate of source site <20 µm, and bacteria deriving from barley kernels infusion). Incubation lasted six weeks. Counts of the new individuals and cysts were carried out every three weeks.

All experiments were performed in triplicate with 30 individuals or cysts everyone.

Results are analysed by one- and two-way ANOVA; differences were considered significant when $p < 0.05$.

Results

Cyst hatching

As regards *H. fennica* hatching occurred for 28.8±3.84% of tested cysts. Hatching occurred after 2 days of incubation and continued until to the 16th one. Hatching time, therefore, was very wide (hatching synchrony=13 d). In *F. salina* hatching percentage was 72.2±6.93%. The hatches occurred within 24 hours from incubation start (hatching synchrony=1 d).

Culture of active individuals of F. salina

Population increase occurs in the first three weeks (Tab. 1); regression analysis shows that it is related with temperature ($p=0.03$) so it is greater in summer than in winter.

Encystment is related with food availability ($p=0.01$), light presence ($p=0.01$), and length of incubation time ($p=0.001$), so it is greatest after six weeks, at light presence and with bacteria as food.

Two-way ANOVA, carried out in order to examine if PI and E differ in different conditions of both light presence/absence and kind of available food, shows that, in the first three weeks, at summer temperature, E is supported by contemporary presence of bacteria and light ($p=0.02$), whereas PI is the greatest in presence of particulate food ($p=3.04*10^{-5}$) and light ($p=0.02$). At winter temperature, E is due to particulate food ($p=0.0001$), while PI results from the food-light interaction ($p=2.38*10^{-5}$) so it is relevant with bacteria and light presence.

In the following incubation period (3-6 weeks) E is the greatest with bacteria as food (Tab. 1).

Tab. 1 – *Fabrea salina*. Population increase (PI) and encystment (E) average (n=3) percentages are reported for each culture condition of temperature, photoperiod and food availability in the two periods of incubation. Bold indicates the greatest IP and E percentages.

Fabrea salina*. Percentuali medie (n=3) di incremento della popolazione (PI) e incistamento (E) nelle diverse condizioni di temperatura, fotoperiodo e disponibilità alimentare nei due periodi di incubazione. In grassetto sono indicate le percentuali più elevate di PI ed E.*

		SUMMER TEMPERATURE				WINTER TEMPERATURE			
		14L:10D		0L:24D		10L:14D		0L:24D	
		0-3 weeks	3-6 weeks	0-3 weeks	3-6 weeks	0-3 weeks	3-6 weeks	0-3 weeks	3-6 weeks
No food	PI	+37.8	-33.4	+46.7	-50	-2.2	-83.5	-1.1	-22.2
	E	+ 1.1	0	+1.1	0	+11.1	+12.2	+13.4	+14.5
Part<20µm	P I	**+377.8**	-31.1	+281.14	-24.5	+32.2	+17.8	+45.6	+47.8
	E	0	+1.1	+3.3	+2.2	+25.6	+22.3	+27.8	+26.7
Bacteria	PI	+105.6	-71.4	-97.8	-100	**+166.7**	+36.7	-67.9	-81.1
	E	**+84.5**	+77.8	+1.1	0	0	**+78.4**	0	+1.1

Conclusions

Due to low hatching percentage and syncrony, *H. fennica* does not appear as suitable live food.

Regard to *F. salina*, our results suggest that it does not encyst and reproduce in hard environmental conditions, in fact the greatest E and PI values occur at summer temperature, in light presence and with availability of food. However, the ciliate culture in presence of light and bacteria at winter temperature allows to obtain, from the same active population, both active (in the first 3 weeks) and encysted (in the second incubation period) individuals. The culture method we have carried out, is inexpensive because it does not need of disinfection or change of medium culture. Recent data discuss the adeguacy of *F. salina* as a sole food organism for fish larvae (Hyun & Bum, 2001), nevertheless it can represent an important food complement, which may improve larvae production of commercially important species (Thompson *et al.*, 1999), and its biology (life cycle, food requirements) should be deeply studied to better find a role for this species in the fish cultures.

References

HYUN P.C., BUM H.S. (2001) - Mass culture and dietary value of *Fabrea salina*. *Journal of the Korean Fisheries Society*, **34** (1): 32-37.

KUROSHIMA R., SATO M., YOSHINAKA R., IKEDA S. (1987) - Nutritional quality of the wild zooplankton as a living feed for fish larvae. *The Suisanzoshoku*, **35** (2): 113-117.

LAVENS P., SORGELOOS P. (2000) - The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*, **181**: 397-403.

QUARTA S., PICCINNI M.R., GERACI S., BOERO F. (1992) - Isolation of resting stages of planktonic organisms from fine-grained sediments. *Oebalia*, **18**: 121-128.

THOMPSON F.L., ABREU P.C., CAVALLI R. (1999) - The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. *Aquaculture*, **174**: 139-153.

This research was supported by Ministero per le Politiche Agricole e Forestali MiPAF project 5C62, by MIUR (basical research funds), operational project 1994-1999 “Ricerca, Sviluppo ed Alta Formazione”, subproject I, step I, and by FSE (Fondo Sociale Europeo).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 473-476

P. Penzo, T. Galvan, M. Pellizzato

Agri.Te.Co., Via Carlo Mezzacapo, 15 - 30175 Marghera, Venezia, Italia.

RECLUTAMENTO E ACCRESCIMENTO DEL SEME DI *TAPES PHILIPPINARUM* IN UN'AREA DELLA LAGUNA DI VENEZIA

RECRUITMENT AND GROWTH OF TAPES PHILIPPINARUM *SEED IN AN AREA OF VENICE LAGOON*

Abstract

The paper describes recruitment and first growth of Manila clam seed (Tapes philippinarum *Adams & Reeve, 1850), in a wide area of the central basin in the Venice lagoon (Italy). The study on recruitment allowed to obtain information useful to a responsible management of clam culture and fishery.*

Key-words*:* r*ecruitment, growth, spat,* Tapes philippinarum*, Venice Lagoon.*

Introduzione

La laguna di Venezia è dal 1994 la principale area europea per la produzione di vongole della specie *Tapes philippinarum*, stimata in circa 40.000 t/anno (Paesanti e Pellizzato, 2000). Lo sfruttamento di tale risorsa, avvenuto in questi anni secondo un regime di libero accesso, ha portato all'insorgere di gravi problemi di tipo ambientale, biologico-gestionale, igienico-sanitario, economico, sociale e di ordine pubblico (Provincia di Venezia, 2000). Per regolamentare il settore, la Provincia di Venezia, quale ente competente in materia di pesca, ha stabilito che la produzione dovrà avvenire essenzialmente all'interno di aree in concessione, dove saranno esercitate pratiche di allevamento: venericoltura e pesca gestita (Provincia di Venezia, 2000).

Dalla necessità di reperire il seme con cui avviare gli allevamenti, è nata quindi l'esigenza di conoscere i meccanismi che regolano insediamento e reclutamento della specie in laguna.

L'obiettivo di questo studio, iniziato nel 2000, è stato quello di verificare il reclutamento di *T. philippinarum* in una vasta area lagunare, e seguire l'evoluzione dei popolamenti neoinsediati, valutando il tempo necessario perché le vongole raggiungano la taglia minima legale (25 mm).

Materiali e metodi

L'attività di campionamento di seme di *T. philippinarum* è stata condotta, con frequenza variabile in funzione del ciclo riproduttivo, in una vasta area della laguna centrale, nel periodo settembre 2000-aprile 2002. Le azioni di pesca sperimentale, per la raccolta degli esemplari neoinsediati, sono state effettuate utilizzando una rasca manuale (Pellizzato e Giorgiutti, 1997) manovrata dall'imbarcazione, su cui era stata fissata una rete con maglia da 1 mm. Successivamente, dopo le operazioni di cernita, la lunghezza delle vongole è stata determinata con un calibro Measy (precisione 0,1 mm).

Risultati

L'attività di campionamento è iniziata nel settembre 2000 in una zona in cui abi-

tualmente viene praticata la pesca con draghe meccaniche. I campionamenti effettuati non hanno consentito la raccolta di esemplari neoinsediati di *T. philippinarum*. Ciò non esclude la presenza di giovanili nella zona, ma evidenzia la bassa densità del popolamento della classe 0+ sia nel 2000 che nel 2001. Il mancato insediamento sembra essere una conseguenza delle intense attività di pesca che, modificando le caratteristiche del sedimento e aumentando la torbidità delle acque, potrebbero aver reso l'ambiente poco adatto all'insediamento e alla successiva sopravvivenza dei primi stadi bentonici. A sostegno di questa ipotesi i dati relativi al ciclo delle gonadi escludono problemi relativi alla fertilità della popolazione adulta e all'emissione dei gameti; inoltre lo studio dell'insediamento sui collettori sperimentali posizionati nella stessa area, conferma invece l'abbondanza di larve appena metamorfosate (Caberlotto *et al.*, 2003). Nella stessa area, nel settembre 1997, l'insediamento era avvenuto con successo, con valori di lunghezza media della classe 0+ di circa 9,5 mm (Pellizzato, dati non pubblicati).

Nel luglio 2001 i campionamenti sono stati estesi anche ad un'altra area, posta all'interno di una zona in cui vige il divieto assoluto e permanente di pesca. E' stato così possibile seguire l'accrescimento degli esemplari insediatisi naturalmente sul fondale lagunare, e l'andamento delle diverse classi di lunghezza (Tab. 1, Fig. 1 e Fig. 2).

Tab. 1 – Andamento percentuale delle diverse classi di lunghezza e della lunghezza media (± deviazione standard) del seme di *Tapes philippinarum*.
Distribution percentage according to length size class and mean length (± standard deviation) of Tapes philippinarum *seed.*

Classi di lunghezza (mm)	06-lug-01	02-ago-01	22-ago-01	17-set-01	03-nov-01	13-feb-02	05-apr-02
0-5	66,7	86,9	28,9	22,6	0,7	0	0
5-10	33,3	13,1	67,4	57,4	12,2	13,2	5,7
10-15	0	0	3,7	22,6	46,9	34,0	8,6
15-20	0	0	0	0	38,1	41,5	45,7
20-25	0	0	0	0	2,0	11,3	31,4
25-30	0	0	0	0	0	0	8,6
L media (mm) ± dev.st.	5,04±1,35	4,23±1,16	6,49±2,07	7,99±3,45	14,49±3,11	15,29±4,74	19,53±4,50
N. esemplari	70	137	217	106	143	96	70

L'insediamento dei giovanili di vongola è stato rilevato in modo massiccio nei mesi di luglio e agosto, in accordo con quanto registrato contemporaneamente dallo studio delle gonadi e dall'insediamento su collettori (Caberlotto *et al.*, 2003). La classe 0-5 mm è, infatti, risultata percentualmente più abbondante nei primi due campioni (6 luglio e 2 agosto 2001) a seguito d'intense emissioni; successivamente è progressivamente diminuita fino alla quasi totale scomparsa nel mese di novembre. Da settembre in poi, con la fine del periodo riproduttivo, si assiste all'incremento delle classi 10-15 e 15-20 mm (circa l'85% del campione di novembre) a spese delle classi di lunghezza inferiori non più alimentate da nuove consistenti emissioni. A febbraio '02 compare la classe 20-25 mm, che nell'aprile '02 rappresentava circa il 30% del campione; in questo mese sono stati raccolti anche i primi esemplari di taglia commerciale (>25 mm).

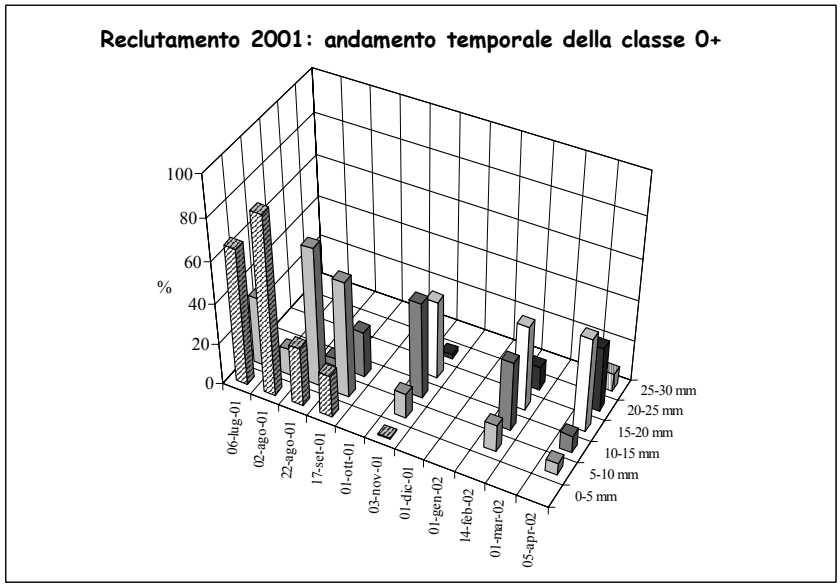


Fig. 1 – Luglio 2001- aprile 2002: distribuzione percentuale della lunghezza (classe 0+).
July 2001-April 2002: distribution percentage according to length size (0+ age).

Lo studio delle due aree e le diverse situazioni riscontrate suggeriscono di limitare le attività di pesca nelle aree nursery, in particolare durante il periodo estivo.

L'andamento della lunghezza media della classe d'età 0+ è riportato in Tab. 1 e Fig. 2; dopo una leggera diminuzione verificatasi nel campione del 2 agosto, a causa della sovrapposizione di diverse emi-coorti nella stessa area, si assiste ad un progressivo accrescimento, fino ai 19,5 mm registrati nel mese di aprile 2002.

Sulla base dei dati sperimentali raccolti, si può valutare in circa dodici mesi il tempo necessario perché alcuni degli esemplari insediatisi nel periodo estivo, raggiungano già la taglia minima legale (25 mm). La curva sperimentale ottenuta nel periodo 2001-2002, può essere utilizzata per "calibrare" e validare un recente modello di accrescimento di *T. philippinarum* riportato in letteratura per le laguna nord adriatiche (Solidoro *et al.*, 2000). La curva teorica (Fig. 2) sembra rappresentare in modo abbastanza preciso l'accrescimento del seme di *T. philippinarum* riscontrato in natura, se si pone come tempo zero il mese di luglio.

Conclusioni

Lo studio condotto ha fornito utili informazioni sull'accrescimento del seme di *T. philippinarum*; in particolare sono stati evidenziati gli effetti negativi sul reclutamento derivanti dalle attività di pesca e sono state ottenute indicazioni, sull'andamento e l'evoluzione degli stadi giovanili di vongola in laguna di Venezia. E' altresì auspicabile il proseguo di questi studi per approfondire la conoscenza di fenomeni che risultano di primaria importanza per la gestione dei banchi di vongola in laguna di Venezia.

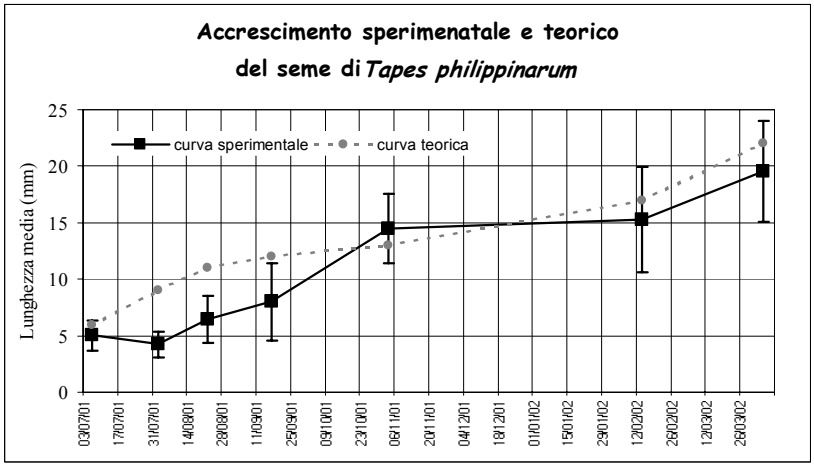


Fig. 2 – Accrescimento sperimentale e teorico del seme di *Tapes philippinarum*.
Experimental and theoretical growth of Tapes philippinarum *seed.*

Bibliografia

CABERLOTTO S., PELLIZZATO M., BRESSAN M. (2003) - A successful method of collecting manila clam (*Tapes philippinarum*) spat in the Venice lagoon. *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 415-417.

PAESANTI F., PELLIZZATO M. (2000) - *Tapes philippinarum. Manuale di divulgazione*. Serie acquacoltura. Veneto Agricoltura, 2° Ed., Padova: 74 pp.

PELLIZZATO M., GIORGIUTTI E. (1997) - *Attrezzi da pesca nella Provincia di Venezia*. Provincia di Venezia. A.S.A.P.: 190 pp.

PROVINCIA DI VENEZIA (2000) - *Piano per la gestione delle risorse alieutiche delle lagune della Provincia di Venezia*. Sannioprint, Benevento: 102 pp.

SOLIDORO C., PASTRES R., MELAKU CANU D., PELLIZZATO M., ROSSI R. (2000) - Modelling the growth of *Tapes philippinarum* in Northern Adriatic lagoons. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **199**: 137-148.

La ricerca è stata finanziata dalla Comunità Europea nell'ambito del progetto DGXIV-IMPACTO: assessing the impact of bivalve fisheries on the benthic ecosystems of the Ria Formosa lagoon (Portugal), Venice lagoon (Italy), Aegean sea (Kavala-Greece) and on the juvenile flatfish in the south coast of Portugal; e da Lega Pesca, nell'ambito del progetto pilota: verifica del reclutamento del seme ed acquisizione dei dati per un sistema a supporto della gestione delle attività di allevamento e raccolta di *Tapes philippinarum* in laguna di Venezia.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 477-481

A. Santulli, F. Bertolino[1], E. Asaro[1], S. Lombardo[1], A. Modica[2], S. Porrello[3], G. Mistretta, R. Arena, C. Messina

Istituto di Biologia Marina, L.mare Dante Alighieri - 91016 Erice, Trapani, Italia.
[1]Biotecno Scarl Trapani, Italia.
[2]CEOM SCpA, Palermo, Italia.
[3]ICRAM, Roma, Italia.

IMPATTO AMBIENTALE DI UN ALLEVAMENTO COMMERCIALE DI TONNO ROSSO MEDITERRANEO (*THUNNUS THYNNUS*) UBICATO NEL GOLFO DI CASTELLAMMARE (TRAPANI): RISULTATI PRELIMINARI

*ENVIRONMENTAL IMPACT OF A COMMERCIAL FARM OF MEDITERRANEAN BLUE FIN TUNA (*THUNNUS THYNNUS*) LOCATED IN THE GULF OF CASTELLAMMARE (TRAPANI, ITALY): PRELIMINARY RESULTS*

Abstract

*Contemporary to the increasing interest for commercial rearing of Mediterranean Blue fin Tuna (*Thunnus thynnus*) there is an increasing concerning for its environmental impact. Monitoring a commercial Tuna fish farm, during the first year of activity, indicates that there is an accumulation of organic matter in sediments beneath the sea cages with an impairment in macrobenthic fauna of sediments. These effects disappear in the stations localized at 250 m from the cages.*

Key-words*:* Thunnus thynnus*, cage culture, environmental impact.*

Introduzione

La necessità di garantire approvvigionamenti stabili e sicuri di un prodotto di qualità, ha stimolato l'interesse per l'allevamento di tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*). Nel Mediterraneo, il primo allevamento commerciale è sorto sulla costa di Cartagena (Spagna) nel 1995; già nel 2001, il tonno allevato ha rappresentato circa l'80% del tonno rosso mediterraneo commercializzato in Giappone (Bernal, 2001). Nell'impianto di allevamento del Golfo di Castellammare, il primo in Italia, nel giugno 2001 sono state stabulate circa 450 t. Dopo 5 mesi di allevamento, in novembre, i tonni (peso medio di circa 140 kg) sono stati pescati e avviati alla commercializzazione sul mercato *Tsuijki* di Tokyo.

Per monitorare l'impatto dell'impianto sull'ambiente, è stato avviato un programma che prevedeva il rilevamento di una serie di parametri descrittori, prima dell'inizio ed alla fine dell'allevamento, "controllo temporale", su una griglia di stazioni intorno all'impianto, "controllo spaziale" (Fernandes *et al*., 2001).

Materiali e metodi

L'impianto è localizzato a 1,8 km di distanza dal porto di Castellammare del Golfo, a circa 650 m di distanza dalla costa, su di un fondale fangoso di 40-50 m. Tonni, pescati con reti da circuizione a Sud di Malta, sono stati immessi nelle 4 gabbie galleggianti di 50 m Ø e alimentati come descritto in Messina *et al.* (2003).

Nel mese di giugno 2001, prima dell'immissione dei tonni (ANTE) sono stati effettuati campionamenti di acqua (a due profondità 1 e 30 m) con una bottiglia di Niskin (5 l) e campionamenti di sedimento con una benna tipo van Veen (15 l) in una stazione posta al centro dell'impianto e in tre stazioni di controllo ubicate a 350, 750 e 1000 m dal margine esterno delle gabbie (Tab. 1). Per ogni stazione sono state effettuate due repliche.

Due correntometri meccanici, installati rispettivamente a 8 e 30 m di profondità, hanno consentito di registrare quotidianamente la direzione e l'intensità della corrente, durante tutta la campagna di allevamento.

Sulla base dei dati correntometrici raccolti, intorno all'impianto sono stati individuati quattro transetti, due lungo la direzione della corrente dominante (SE/NO) e due perpendicolari ad essa (SO/NE). Lungo ogni transetto (Tab. 1), sono state individuate tre stazioni, a 50, 100 e 250 m dal margine esterno dell'impianto. Nel mese di dicembre 2001, alla fine dell'allevamento (POST), sono stati effettuati prelievi di acqua a 1 e 30 m di profondità nelle stazioni più vicine alle gabbie (50 m) e nei punti di controllo e prelievi di sedimento in tutte le stazioni individuate (Tab. 1). Per ogni stazione sono state effettuate due repliche.

Tab. 1 – Stazioni di campionamento di sedimento localizzate intorno alle gabbie e delle stazioni di controllo. Nella tabella vengono riportati: la sigla attribuita al campione, le coordinate geografiche, la profondità (m) e la distanza dalla gabbie (m).

Sampling stations of sediments around blue fin Tuna farm and control stations. Table content indicates: the acronym utilised for used for each station, geographical coordinates, depth (m) and distance from the cages (m).

stazione	sigla	Coordinate	Profondità (m)	Distanza dalle gabbie (m)
Centro Gabbie	CG	38°02'58'' N - 12°52'97'' E	43	0
50 m transetto nord-est	NE50	38°03'14'' N - 12°52'87'' E	47	50
100 m transetto nord-est	NE100	38°03'20'' N - 12°52'92'' E	50	150
250 m transetto nord-est	NE250	38°03'26'' N - 12°52'96'' E	55	250
50 m transetto sud-est	SE50	38°03'05'' N - 12°52'87'' E	42	50
100 m transetto sud-est	SE100	38°03'03'' N - 12°52'92'' E	41	150
250 m transetto sud-est	SE250	38°03'00'' N - 12°52'96'' E	40	250
50 m transetto sud-ovest	SO50	38°03'02'' N - 12°52'78'' E	39	50
100 m transetto sud-ovest	SO100	38°03'01'' N - 12°52'64'' E	36	150
250 m transetto sud-ovest	SO250	38°02'97'' N - 12°52'57'' E	33	250
50 m transetto nord-ovest	NO50	38°03'07'' N - 12°52'74'' E	41	50
100 m transetto nord-ovest	NO100	38°03'14'' N - 12°52'70'' E	44	150
250 m transetto nord-ovest	NO250	38°03'14'' N - 12°52'70'' E	47	250
Controllo 1	CON 1	38°02'89'' N - 12°52'72'' E	31	350
Controllo 2	CON 2	38°02'96'' N - 12°52'55'' E	23	750
Controllo 3	CON 3	38°03'12'' N - 12°53'63'' E	52	1000

I campioni di acqua e di sedimento raccolti, rispettivamente, in bottiglie di polietilene e in provette da 50 ml in due repliche, sono stati mantenuti in ghiaccio e trasportati in laboratorio, dove si è proceduto alla determinazione dei principali parametri chimico fisici delle acque e all'analisi semiquantitativa del carbonio e dell'azoto organico totale

(analizzatore elementare di CHN) e all'analisi granulometrica dei sedimenti.

Ogni analisi è stata effettuata in tre repliche.

Nei sedimenti, inoltre, sono stati caratterizzati i popolamenti macrobentonici, setacciati su di un retino con maglia 1 mm di luce netta (due repliche). Per la stima della biodiversità e della ricchezza specifica sono stati calcolati: il numero totale di individui, il numero di specie, l'indice di diversità di Shannon e Weaver, l'indice di ricchezza specifica di Margalef e l'indice di equitabilità di Pielou.

Sul posidonieto, ubicato ad una distanza minima di circa 600 m dall'impianto, sono state individuate due stazioni, rispettivamente a 1.100 e 850 m dall'impianto, e una stazione di controllo a 1.450 m. Sono stati rilevati il limite superiore ed inferiore, il numero di foglie per fascio, l'età fogliare, la dimensioni fogliare, la percentuale di tessuto bruno, l'indice LAI ed il coefficiente A. Per ogni stazione sono state effettuate due repliche.

Risultati e conclusioni

I risultati ottenuti ci consentono di descrivere l'impatto dell'allevamento sull'ambiente marino circostante.

I valori dei principali parametri chimico fisici delle acque nei due campionamenti da noi effettuati, rientrano nella norma di quelli registrati nell'area in anni precedenti Favaloro *et al.* (1996), mostrando le caratteristiche tipiche di acque oligotrofiche di zone costiere ad elevato idrodinamismo. Come atteso, le variazioni da noi osservate sono da imputare esclusivamente a variazioni stagionali e non ad un effetto dell'allevamento. Tuttavia, in considerazione dell'importanza che lo studio del rilascio dei nutrienti ha sulla caratterizzazione dell'impatto ambientale, (Pitta *et al*., 1999; Fernandes *et al*., 2001) sono in corso ulteriori ricerche tendenti a monitorare le variazioni dei parametri chimico fisici delle acque nell'area interessata dall'impianto nel corso delle stagioni e nell'arco delle 24 ore.

Sui fondali sottostanti l'impianto, come dimostrato e dall'analisi del carbonio organico, alla fine del ciclo dell'allevamento vi è un accumulo di materia organica secondo un gradiente, influenzato dalla corrente dominante. L'accumulo maggiore si osserva nelle stazioni localizzate al centro dell'impianto (stazione CG), dove il contenuto di carbonio organico passa da 0,417±0,07 a 1,01±0,14%. L'accumulo si riduce man mano che le stazioni si allontanano dalle gabbie, per ritornare, nelle stazioni a 250 m dall'impianto, a valori confrontabili a quelli misurati prima dell'avvio dell'allevamento (NE-250 0,520±0,11%; SE-250 0,447±0,02%; NO-250 0,407±0,08%; SO-250 0,412±0,05%).

Il gradiente di distribuzione della materia organica si riflette sulla distribuzione della fauna macrobentonica (Tab. 2), secondo il modello descritto da Pearson e Rosenberg (1978).

Nei campioni di sedimento sono state ritrovate 69 specie (15 Molluschi, 39 Policheti, 7 Crostacei, 6 Echinodermi e 2 Sipunculidi). I valori di abbondanza relativa sono risultati molto variabili (Tab. 2), con un massimo di 132 individui/m^2 nella stazione SO 100 ed un minimo di 28 individui/m^2 nella stazione al centro dell'impianto alla fine dell'allevamento (CG post). Al centro delle gabbie, dove è maggiore l'accumulo di materia organica, la fauna macrobentonica risulta quindi impoverita, ma non assente. Nelle stazioni poste a 100 m, si assiste ad un incremento della fauna macrobentonica, secondo il tipico "effetto fertilizzazione" descritto da Pearson e Rosenberg (1978). Nelle stazioni localizzate a 250 m dall'impianto, nel campionamento POST, la situa-

zione risulta sovrapponibile ai controlli effettuati ANTE; infatti il numero di specie, il numero di individui e gli altri Indici Ecologici (Indice di Shannon e Weaver, Indice di Pielou, Indice di Margalef) ritornano ai valori rilevati ANTE, indicando così che l'influenza dell'allevamento tende ad annullarsi a quella distanza (Tab. 2).

Tab. 2 – Indici ecologici calcolati per i popolamenti macrobentoniche dei sedimenti prelevati sotto le gabbie e nella stazioni di controllo prima e dopo la fase di allevamento (abbondanza relativa = numero di individui/m^2).

Ecological index calculated for the macrobenthic populations of the sediments from the sampling stations around the Blue fin Tuna farm and from the control stations (relative abundance = number of specimen/m^2).

Stazione	n. individui	n. specie	ricchezza specifica	Diversità	Equitabilità	abbondanza relativa
CON 1 ante	16,00	11,00	8,30	3,25	0,94	64,00
CON 1 post	28,00	16,00	10,37	3,80	0,95	112,00
CON 2 ante	12	10	8,34	2,99	0,94	48
CON 2 post	9	9	8,38	2,99	0,94	36
CON 3 ante	36	17	10,28	3,86	0,94	144
CON 3 post	27	16	10,48	3,75	0,94	108
CG ante	14,00	9,00	6,98	2,95	0,93	56,00
CG post	7,00	5,00	4,73	2,13	0,92	28,00
NE50	22,00	17,00	11,92	3,91	0,96	88,00
NE100	13,00	10,00	8,08	3,18	0,96	52,00
NE250	19,00	15,00	10,95	3,79	0,97	76,00
SE50	10,00	9,00	8,00	3,12	0,98	40,00
SE100	24,00	14,00	9,42	3,63	0,95	96,00
SE250	13,00	9,00	7,18	3,09	0,97	52,00
SO50	21,00	13,00	9,08	3,46	0,93	84,00
SO100	33,00	17,00	10,54	3,69	0,90	132,00
SO250	27,00	18,00	11,88	4,00	0,96	108,00
NO50	15,00	11,00	8,50	3,27	0,95	60,00
NO100	27,00	16,00	10,48	3,66	0,91	108,00
NO250	16,00	13,00	9,97	3,60	0,97	64,0

Il posidonieto, localizzato lungo la costa rocciosa ad una distanza minima di 650 m dalle gabbie, non risente di alcuna conseguenza dell'attività di allevamento. I principali parametri descrittori (densità, indici fenologici e limite inferiore) indicano che, rispetto alle stazioni di controllo ubicate fuori dall'influenza dell'impianto, non è presente alcuna variazione significativa.

I risultati ottenuti dall'analisi dei campionamenti effettuati prima dell'avvio e alla conclusione della campagna di allevamento di tonno rosso nell'impianto di Castellammare del Golfo indicano che l'effetto dell'allevamento si evidenzia attraverso un accumulo di materia organica secondo un gradiente, influenzato dalla corrente dominante. Il gradiente di distribuzione della materia organica è confermato dai risultati della caratterizzazione delle biocenosi macrobentoniche (Tab. 2), che sono influenzate dall'accumulo di materia organica.

In un ottica più generale di valutazione della compatibilità ambientale di questo particolare tipo di allevamento, rimane da verificare se nel tempo che intercorre tra il termine di un ciclo di allevamento ed il successivo (circa 6 mesi), sia riscontrabile un ripristino delle condizioni ambientali, anche nelle immediate vicinanze della gabbie. In questo caso infatti la gestione di questo tipo di attività risulterebbe più "sostenibile" dal punto di vista ambientale.

Bibliografia

BERNAL A. (2001) - L'allevamento del tonno rosso in Mediterraneo. *L'allevamento del tonno rosso mediterraneo nel golfo di Castellammare: primi risultati e prospettive*. Castellammare del Golfo 16 dicembre 2001.

FAVALORO E., SARÀ G., MAZZOLA A. (1996) - Influenza dell'attività di maricoltura su un ambiente costiero della Sicilia Nord Occidentale (Golfo di Castellammare, Trapani). *12° Congresso A.I.O.L.* Picazzo M. Ed., **1**: 445-455.

FERNANDES T.F., ELEFTHERIOU A., ACKEFORS H., ELEFTHERIOU M., ERVIK A., SANCHEZ-MATA A., SCANLON T. (2001) - The scientific principles underlying the monitoring of the environmental impacts of aquaculture. *J. Appl. Ichthyol.,* **17**: 181-193.

MESSINA C.M., FODERÀ C., SANTULLI A. (2003) - Qualità del tonno rosso mediterraneo (*Thunnus thynnus*) proveniente da un allevamento commerciale ubicato nel Golfo di Castellammare (Trapani, Italia). *Biol. Mar. Medit.*, **10** (2): 465-467.

PEARSON T.H., ROSENBERG R. (1978) - Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **16**: 229-311.

PITTA P., KARAKASSIS I., TSAPAKIS M., ZIVANOVIC S. (1999) - Natural vs. mariculture induced variability in nutrients and plankton in the eastern Mediterranean. *Hydrobiologia*, **391**: 181-194.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 482-484

G. Sarà, S. Vizzini, M. Caruso, A. Mazzola

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

ORIGINE DEL CARBONIO SEDIMENTARIO IN UN'AREA SOGGETTA AD IMPATTO DA GABBIE DI PISCICOLTURA (GOLFO DI GAETA, TIRRENO CENTRALE)

ORIGIN OF SEDIMENTARY ORGANIC CARBON IN A FISH-FARMING IMPACTED AREA (GAETA GULF, CENTRAL TYRRHENIAN, MED)

Abstract

Stable carbon isotope ($\delta^{13}C$) values, measured in the sedimentary organic carbon (SOC) and in some potential organic matter sources (fish pelletted feed and fish faecal waste), were used in a fish-farming impacted Mediterranean area (the Gulf of Gaeta, Central Tyrrhenian) to investigate the role of fish farming organic matter on sediment origin. The sources of organic matter affecting the study area sediments appeared to be primarily from anthropogenic inputs due mainly to fish-farming activities (feed and faecal wastes).

Key-words: *environmental impact, organic waste, $\delta^{13}C$, MED.*

Introduzione

L'allevamento intensivo di organismi ittici produce considerevoli quantità di materia organica (*i.e.* alloctona di natura antropogenica) sottoforma di detrito (Mazzola e Sarà, 2001) composto principalmente da cibo (*pellet*) non consumato e da deiezioni dei pesci allevati. Esso si disperde nelle aree circostanti le gabbie di allevamento e si accumula nei sedimenti al di sotto delle gabbie e può produrre un impatto sull'ambiente (Ye *et al*., 1991). In questo studio ci si è proposti di indagare con l'analisi degli isotopi stabili del carbonio ($\delta^{13}C$), l'origine del carbonio nella materia organica sedimentaria ed il ruolo della materia organica antropogenica in un'area soggetta ad impatto da piscicoltura posta nel Golfo di Gaeta (LT; Tirreno Centrale) ove la produzione ittica supera le 250 t per anno.

Materiali e metodi

I campioni di sedimento sono stati raccolti con *box-corer* manovrato a mano tra il marzo e l'ottobre 1997 in due aree del Golfo di Gaeta (Impatto e Controllo interno al Golfo distante circa 1000 m dal *focus* di impatto delle gabbie) (Mirto, 1999). Come controllo è stata scelta un'area di riferimento mediterranea (Mazzola *et al*., 2001) posta a nord di Marsala (TP), simile alle prime due quanto a profondità (–8 m) e caratteristiche dei sedimenti, ma in cui era certo non vi fosse impatto da materia organica antropogenica (Mazzola *et al*., 2001). Oltre ai campioni di sedimento, sono state analizzate le fonti potenziali principali di materia organica (*pellet* in eccedenza e deiezioni dei pesci); tutti i campioni sono stati preparati in laboratorio per le misure del $\delta^{13}C$ (Mazzola e Sarà, 2001), ed il loro rapporto isotopico è stato misurato con uno spettrometro di massa (Delta Plus, Finnigan Inc. USA). I risultati sono stati espressi in unità δ (‰) e la riproducibilità delle misure era inferiore allo $\pm 0.2\%$. Il confronto dei valori isotopici medi ottenuti nelle tre aree è stato effettuato con il *t* di Student (Sokal e Rolhf, 1981), mentre l'incidenza del carbonio alloctono e del carbonio autoctono nella materia

sedimentaria in ciascuna area è stata calcolata applicando il *mixing model* (Mazzola e Sarà, 2001).

Risultati

Il valore medio di $\delta^{13}C$ del mangime *pellettato* prodotto da varie aziende europee con il quale sono stati alimentati i pesci allevati durante il periodo di studio era di -22.6 ± 1.0‰, mentre il valore isotopico medio delle eiezioni dei pesci allevati era di -22.0 ± 0.6‰. Il valore medio di $\delta^{13}C$ nei sedimenti dell'area circostante il *focus* di impatto da gabbie di allevamento era di -21.1 ± 0.8‰. Tale valore non differiva significativamente (*t*-test $p > 0.05$) dal valore medio dei sedimenti dell'area controllo posta nel Golfo di Gaeta (-19.7 ± 2.4‰), mentre il valore isotopico medio del carbonio organico sedimentario dell'area di riferimento mediterranea non impattata era di -15.1 ± 2.8‰ e mostrava differenze significative dai valori medi delle precedenti aree (*t*-test $p < 0.05$).

Conclusioni

Il maggior contributo della materia organica alloctona proveniente dalle gabbie è evidente nell'area impattata (Tab. 1) ove lo scarso idrodinamismo sembra favorire l'accumulo nei sedimenti (Mirto, 1999).

Tab. 1 - Risultati del *mixing model* (Mazzola e Sarà, 2001; Phillips, 2001) utilizzando come *target* del modello i dati della materia organica sedimentaria di ciascuna delle tre aree indagate e come sorgenti potenziali i valori medi isotopici della materia organica del cibo pelletato fornito ai pesci e il valore medio isotopico (da letteratura; Mazzola *et al*., 2001) della materia organica micro- e macroalgale.
Mixing model outcome performed using sedimentary organic matter as target and mean isotopic values of pellet feed and primary organic matter as potential sources.

$\delta^{13}C$ Sedimenti (‰)	MO Alloctona (-22.6 ‰)	MO Autoctona (-16.0 ‰)
Area Gabbie (-21.1)	77 % (65-88)	23 % (5-34)
Area Controllo interno (-19.7)	56 % (44-67)	44 % (5-55)
Area Controllo esterno MED (-15.1)	0 % (-)	100 % (-)

Tuttavia, nonostante il valore medio isotopico della materia sedimentaria misurato nei pressi delle gabbie potrebbe essere comunque il risultato della combinazione dei valori medi isotopici di tutte le fonti potenziali insistenti nell'area (*e.g*. *input* terrigeno-continentali, –26/30‰; Riera, 1997, o fonti inquinanti di altra natura), è stato possibile escludere la loro influenza con il *mixing model*. L'uso corretto del *mixing model* (Phillips, 2001; Phillips and Gregg, 2002; Phillips and Kock, 2002; Phillips pers. comm.) infatti impone la verifica dell'influenza di tutte le possibili fonti di materia organica per le quali è possibile supporre una qualunque incidenza nell'area di studio e l'esclusione contestuale sia su basi logico-matematiche che ecologiche di tutte quelle combinazioni che non soddisfano il modello (Sarà *et al*., in stampa). Su tali basi, la materia organica proveniente dalle gabbie (*pellet* in eccedenza e deiezioni dei pesci allevati) sembra essere quella maggiormente capace di influenzare il rapporto isotopico del carbonio sedimentario (Tab. 1) cosicché è possibile supporre che in presenza di bassa inci-

denza di importanti *input* antropogenici di altra natura, almeno nel periodo di indagine (Mirto, 1999), la materia organica sedimentaria nei pressi delle gabbie assumerebbe valori tipici del carbonio microfitobentonico (~–15-16‰; Area controllo Marsala). Il segnale isotopico del carbonio antropogenico è meno evidente nei sedimenti dell'area controllo interna al Golfo di Gaeta (–19.7‰), anche se la materia organica alloctona sembra, sino a 1 km di distanza dall'area delle gabbie, essere capace di determinare un allontanamento significativo dei rapporti isotopici dalla media mediterranea. Queste considerazioni possono essere suffragate anche dai risultati provenienti da altri lavori sull'area (Sarà and Mazzola, in stampa) e da altri riguardanti l'impatto degli impianti di maricoltura (nord Atlantico; Cromey *et al*., 2002) nei quali si evidenzia che l'influenza della materia organica da attività di maricoltura, in presenza di importanti biomasse allevate, può riguardare aree di raggio di oltre i 500 metri dalle gabbie stesse.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare la Dr. Eugenia Favaloro (Univ. Palermo), il Dr. Simone Mirto (Univ. Palermo), la Dr. Tiziana La Rosa (Univ. Palermo), il Dr. Benny Savona (Univ. Palermo) per la preziosa collaborazione nella fase di raccolta dei campioni di sedimento.

Bibliografia

CROMEY C.J., NICKELL T.D., BLACK K.D. PROVOST P.G., GRIFFITHS C.R. (2002) – Validation of a fish farm waste resuspension model by use of a particulate tracer discharged from a point source in a coastal environment. *Estuaries*, **25**: 916-929.

MAZZOLA A., SARÀ G. (2001) - The effect of fish farming organic waste on food availability for bivalve molluscs (Gaeta Gulf, Central Tyrrhenian, MED): stable carbon isotopic analysis. *Aquaculture*, **192**: 361-379.

MAZZOLA A., SARÀ G., MICHENER R.H. (2001) - The use of carbon stable isotope to investigate the origin and distribution of suspended and sedimentary organic matter in a semi-enclosed Mediterranean marine system. In: Faranda F.M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Mediterranean Ecosystems: Structure and Processes*, Springer & Verlag, Berlin Heidelberg: 115-113.

MIRTO S. (1999) - Risposta delle comunità meiobentoniche a biodepositi di impianti di maricoltura nel Golfo di Gaeta. *Tesi dottorale* (XI ciclo), Università di Messina.

PHILLIPS D.L. (2001) - Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia,* **127**: 166–170.

PHILLIPS D.L., GREGG J.W. (2001) - Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia*, **127**: 171–179.

PHILLIPS D.L., KOCH P.L. (2002) - Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models. *Oecologia,* **130**: 114–125.

SARÀ G., MAZZOLA A. (in stampa) - The carrying capacity for Mediterranean bivalve suspension feeders: evidence from analysis of food availability and hydrodynamics and their integration into a local model. *Ecological Modelling.*

SARÀ G., VIZZINI S., MAZZOLA A. (in stampa) - Sources of carbon and dietary habits of new Lessepsian entry *Brachidontes pharaonis* (Bivalvia, Mytilidae) in the western Mediterranean. *Marine Biology*.

SOKAL R.R., ROHLF F.J. (1981) - *Biometry*. Freem and Company: 859 pp.

YE L., RITZ D.A., FENTON G.E., LEWIS M.E. (1991) - Tracing the influence on sediments of organic waste from a salmonid farm using stable isotope analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **145**: 161-174.

Questo studio è stato finanziato con fondi del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR, Italia) e con fondi del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MiPAF, Italia).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 485-489

S. Segato, R.M. Lopparelli, A. Francescon*, A. Barbaro*, R. Trisolini*, I. Andrighetto

Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Padova,
Agripolis - 35020 Legnaro, Padova, Italia.
*Istituto di Biologia del Mare, CNR, Venezia, Italia.

EFFETTO DELLA PLOIDIA SULLE CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELL'OMBRINA (*UMBRINA CIRROSA* L.)

*EFFECT OF PLOIDY ON QUALITY TRAITS OF THE SHI DRUM (*UMBRINA CIRROSA *L.)*

Abstract

A study was carried out to evaluate quality of the shi drum (Sciaenidae, Umbrina cirrosa L.*) in relation to ploidy (triploid* vs *diploid) using fish weight as a covariate. Fish (209±48 vs. 263±67 g) were subjected to linear and weight measurements. pH, colour and tenderness of fillet and chemical composition of whole body were also determined. Results showed a significant effect of weight on fish quality, while ploidy influenced only mesenteric fat. Thus, crud fat content was higher on triploid than on diploid fish, probably resulting in different tenderness.*

Key-words*: shi drum, sterility, quality, morphometry, chemical composition.*

Introduzione

Al fine di diversificare l'offerta di specie ittiche marine sono in corso studi sull'allevamento di nuove specie selvatiche, di ceppi poliploidi e di ibridi intergenerici (Colombo *et al*., 1998). Tra questi si colloca l'ombrina (*Umbrina cirrosa* L.), una specie demersale diffusa in tutto il Mediterraneo, commercialmente apprezzata sui mercati locali (Barbaro *et al*., 1998). Il successo di una nuova specie, tuttavia, è vincolato al conseguimento di adeguate performance riproduttive e zootecniche e di un prodotto finale di qualità. In proposito, presso un impianto ittico di Pellestrina (VE), tra le varie prove di allevamento di ombrina è in atto un confronto tra un ceppo triploide e uno diploide. I pesci triploidi sono di norma sterili, con un più elevato accrescimento postpuberale ed un impatto genetico limitato sulle popolazioni selvatiche (Barbaro *et al*., 1998; Cotter *et al*., 2000). La presente ricerca ha valutato alcune caratteristiche morfometriche, reologiche e chimiche di giovanili triploidi di ombrina rispetto ai diploidi di controllo.

Materiale e metodi

I ceppi di triploidi e diploidi sono stati ottenuti per riproduzione controllata di ombrine di tre anni di età. Dopo la raccolta di oociti e sperma si è praticata una fecondazione artificiale; una parte delle uova fecondate è stata allevata tal quale (ceppo diploide di controllo) mentre una parte è stata sottoposta a shock freddo (5-10 °C per 10-20 min) per bloccare la seconda divisione meiotica al fine di provocare la ritenzione del secondo polocita (ceppo triploide). La triploidia è stata verificata, determinando il contenuto di DNA nucleare degli eritrociti, con analisi citofluorimetrica a flusso. Entrambi i ceppi di larve e successivi giovanili sono stati allevati nelle medesime condizioni ambientali; in particolare, nella seconda estate di ingrasso, i giovanili sono

stati alloggiati in vasche con ricircolo di acqua di laguna, ad una densità finale di 30 kg/m^3, ed alimentati con alimento completo estruso (proteina grezza = 42,0% e lipidi grezzi = 18,9% sul tal quale). A 18 mesi di età, 30 ombrine triploidi (peso = 209 ± 48 g) e 30 diploidi (peso = 263 ± 67 g), rappresentative dei relativi ceppi, sono state analizzate 24 ore *post mortem* per le caratteristiche morfometriche (n = 30), reologiche (n = 18) e chimiche (n = 12). Si è proceduto rilevando lunghezza standard e peso totale dell'animale, nonché quelli di singole regioni corporee e di organi; previa eviscerazione, dal tronco sono state separate e pesate cute e colonna vertebrale, ottenendo il residuo magro. In relazione a tale dissezionamento si sono calcolati: fattore di condizione, resa al macello, indice epatosomatico e incidenza di visceri e di grasso periviscerale sul peso totale (Poli *et al*., 2001). Sulla sezione del tronco sono stati determinati pH e colore strumentale a crudo e quindi la tenerezza strumentale del filetto cotto. Il pH è stato misurato, con strumento dotato di elettrodo ad infissione e sonda termometrica, nella regione epiassiale del muscolo laterale. Previa esposizione all'aria per un'ora in ambiente refrigerato (2 °C), il colore del muscolo laterale epiassiale è stato misurato eseguendo 5 rilievi con colorimetro (Minolta, CR-100), settato sull'illuminante C; i dati sono stati espressi secondo il modello L*a*b* di Hunter (Mc Dougall, 1976). Adattando la procedura proposta da Joseph (1979), il tronco è stato cotto (bagno termostatato a 75 °C per 25 min) entro sacchetti in poliuretano, raffreddato (45 min in acqua corrente) e quindi su campioni cilindrici (Ø = 1,25 cm) di filetto è stata determinata la tenerezza, misurando lo sforzo massimo al taglio (SMT) con apparecchio Warner-Bratzler installato su tenerimetro Instron 1100. Soggetti interi sono stati sottoposti ad analisi chimica (AOAC, 1990), dopo macinazione e liofilizzazione, per la determinazione della composizione centesimale: umidità, proteina grezza (N-Kjeldhal 6,25), estratto etereo (Soxhlet, etere dietilico) e ceneri, mentre gli estrattivi inazotati sono stati calcolati come complemento a 100. Il valore energetico è stato determinato utilizzando i coefficienti energetici proposti da Miglavs e Jobling (1989). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo la procedura *General Linear Model* (GLM) del pacchetto statistico di SAS (1999), adottando un modello lineare che ha considerato l'effetto della ploidia e il peso dei pesci come variabile covariata.

Risultati e conclusioni

Nel confronto tra ombrine triploidi e diploidi la covariata peso ha influito significativamente sui parametri biometrici considerati, evidenziando l'entità della regressione tra la taglia e le variabili allo studio (Tab. 1). Il diverso grado di ploidia non ha influenzato le principali caratteristiche morfometriche dei pesci; tuttavia, la resa al macello è risultata appena minore nei soggetti triploidi rispetto ai diploidi (93,4 *vs* 94,1%; $P < 0,10$). Tale risultato è dovuto soprattutto ad una diversa tendenza dei due gruppi ad accumulare tessuto adiposo di riserva (mesenterico+perirenale) nella cavità celomatica (2,62 *vs* 1,88%; $P < 0,01$). Per quanto riguarda il colore, la luminosità (L*) del muscolo laterale epiassiale è risulta significativamente maggiore nei triploidi (44,3 *vs* 42,6; $P < 0,05$), mentre la componente rossa (a*) e quella gialla (b*) non sono variate tra le tesi a confronto. Si è osservata una maggiore tenerezza strumentale del filetto ottenuto dal ceppo triploide (minor sforzo massimo al taglio, SMT), probabilmente per differenze nella strutturazione della componente muscolare e connettivale e nel grado di infiltrazione lipidica intramuscolare. E' noto che un aumento del tenore lipidico e/o una più accentuata localizzazione dello stesso a livello muscolare influiscono sulle caratteristiche organolettiche del filetto, riducendone la durezza (Torrissen *et al*., 2001).

A riguardo del pH del filetto non si hanno differenze tra le tesi a confronto e il dato registrato è simile a quanto riscontrato da Poli e coll. (2001) in branzino.

Tab. 1 – Caratteristiche morfometriche, colore del filetto crudo e sforzo massimo taglio (SMT) del filetto cotto.
Morphometric traits, colour of raw fillet and shear force of cooked fillet.

	PLOIDIA		P	b	DSR
	TRIPLOIDE	DIPLOIDE			
PESCE INTERO					
Lunghezza standard (cm)	22.1	21.8	ns	0.0305**	0.8
Fattore di condizione ($g \cdot cm^{-3} \cdot 10^2$)	2.14	2.24	ns	0.0003	0.25
Resa al macello (%)	93.4	94.1	†	-0.0164**	0.8
Indice epatosomatico (%)	2.38	2.54	ns	0.0042**	0.33
Visceri[1] (%)	1.50	1.57	ns	-0.0007	0.32
Grasso periviscerale[1] (%)	2.62	1.88	**	0.0130**	0.64
TRONCO					
Residuo magro (g)	95.6	103.0	ns	0.2428**	16.4
Luminosità filetto (L*)	44.3	42.6	*	-0.0129*	0.6
Ind. del rosso filetto (a*)	0.4	0.2	ns	-0.0029	0.6
Ind. del giallo filetto (b*)	-3.4	-3.1	ns	-0.0044	0.6
SMT filetto cotto ($kg \cdot cm^{-2}$)	0.39	0.47	†	0.0010*	0.05

ns = P>0.10; † = P<0.10; * = P<0.05; ** = P<0.01. DSR = Deviazione Standard Residua. b = Coefficiente di regressione della covariata peso dei pesci. [1](peso visceri o grasso/peso pesce) · 100.
RSD = Residual Standard Deviation. b = Regression coefficient of fish weight covariate. [1](viscera or fat weight/fish weight) · 100.

La composizione centesimale e il valore energetico dei pesci interi (Tab. 2) sono risultati in linea con i valori osservati da Lanari e coll. (1999) in branzino di taglia simile e alimentato con dieta a medesimo contenuto proteico-lipidico. Dall'analisi dei dati emerge un significativo effetto della covariata peso: umidità (b=-0,0134; P<0,01) e lipidi (estratto etereo) (b=0,0142; P<0,01) confermano una simile, ma opposta, variazione a seguito dello sviluppo corporeo. I soggetti triploidi presentano un significativo maggiore tenore di lipidi corporei (10,7 *vs* 8,1%; P<0,01), a scapito dell'umidità e, in minor misura, di proteina grezza e ceneri. A prescindere dalle performance di crescita, a questo stadio di sviluppo l'ombrina triploide sembra evidenziare una maggiore attitudine adipogenetica, che non è confermata in termini di ripartizione energetica nei giovanili di altre specie (Benfey, 1999). Allo stadio adulto, invece, femmine triploidi di salmonidi presentano una maggior deposizione di grasso periviscerale rispetto alle coetanee diploidi ottenute dagli stessi genitori, che destinano tale frazione energetica alla oogenesi (Benfey, 1999).

Tab. 2 – pH del filetto, composizione centesimale (g) e valore energetico (kJ) per 100 g tal quali di corpo intero.
pH of fillet, proximate composition (g) and energetic value (kJ) per 100 g wet weight of whole body.

	PLOIDIA		P	b	DSR
	TRIPLOIDE	DIPLOIDE			
pH (24 ore *post mortem*)	6.38	6.39	ns	-0.0012**	0.08
Umidità (g)	67.1	69.2	**	-0.0134**	0.6
Proteina grezza (g)	17.8	18.2	†	-0.0019	0.3
Estratto etereo (g)	10.7	8.1	**	0.0142**	0.5
Ceneri (g)	3.8	4.1	*	-0.0023†	0.2
Estrattivi inazotati (g)	0.6	0.4	ns	0.0034	0.2
Valore energetico (kJ)	848	751	**	0.5653**	20

ns = P>0.10; † = P<0.10; * = P<0.05; ** = P<0.01. DSR = Deviazione Standard Residua. b = Coefficiente di regressione della covariata peso dei pesci.
RSD = Residual Standard Deviation. b = Regression coefficient of fish weight covariate.

In conclusione, il confronto tra ombrine triploidi e diploidi allo stadio giovanile evidenzia modeste differenze morfometriche, reologiche e chimiche, anche se le ombrine triploidi sembrano caratterizzarsi per una maggiore attitudine adipogenetica; più marcato appare l'effetto taglia che nel modello sperimentale è stato valutato introducendo la covariata peso. Ulteriori analisi a stadi di sviluppo più avanzati, per altro in corso, saranno oggetto di una valutazione più completa dell'effetto ploidia sulle prestazioni quanti-qualitative in ombrina.

Ringraziamenti

Si ringraziano i responsabili e il personale dell'Impianto Ittico Sperimentale di Pellestrina (VE) e del Biotopo Bonello (RO) di VenetoAgricoltura per l'allevamento delle ombrine.

Bibliografia

AOAC (1990) – *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists.* In: Helrich K. (ed), 15th ed, published by The Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, Virginia, USA: 1298 pp.

BARBARO A, FRANCESCON A., LIBERTINI A. (1998) – Riproduzione e manipolazione gametica dell'ombrina, *Umbrina cirrosa* (L.), per la diversificazione dell'acquacoltura nazionale. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 1052-1061.

BENFEY T.J. (1999) - The physiology and behaviour of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science*, **7**: 39-67.

COLOMBO L., BARBARO A., FRANCESCON A., LIBERTINI A., BELVEDERE P., DALLA VALLE L., BORTOLUSSI M., ARGENTON F. (1998) – Possibilità di impiego dell'introduzione

della triploidia e dell'ibridazione intergenerica per la produzione di pesci marini sterili. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 929-938.

COTTER D., O'DONOVAN V., O'MAOILEIDIGH N., ROGAN G., ROCHE N., WILKINS N.P. (2000) - An evaluation of the use of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in minimising the impact of escaped farmed salmon on wild populations. *Aquaculture*, **186**: 61-75.

JOSEPH R.L. (1979) - Recommended method for assessment of tenderness. In: Bowman J.C., Susmel P. (eds), *The Future of Beef Production in the European Community. Current topics in Veterinary Medicine and Animal Science* 5, Martinus Nijhoff, The Hague, NL: 596-606.

LANARI D., POLI B.M., BALLESTRAZZI R., LUPI P., D'AGARO E., MECATTI M. (1999) – The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growht rate, body and fillet composition., carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture*, **179**: 351–364.

MC DOUGALL D.B. (1976) – *Recommended procedures for use in the measurements of meat colour*. Proposition for EEC standard methods CEC. Bruxelles.

MIGLAVS I., JOBLING M. (1989) – The effect of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile Artic charr, *Salvelinus alpinus*. *J. Fish Biol*., **35**: 1-11.

POLI B.M., PARISI G., ZAMPACAVALLO G., MECATTI M., LUPI P., GUALTIERI M., FRANCI O. (2001) – Quality outline of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in Italy: shelf life, edible yield, nutritional and dietetic traits. *Aquaculture*, **202**: 303–315.

SAS (1999) – User's guide: statistics. Version 8.00 Ed., Statistical Analysis System Institute. Cary, NC.

TORRISSEN O.J., SIGURGISLADOTTIRS S., SLIND E. (2001) – Texture and technology properties of fish. In: Kestin S.C., Warriss P.D. (eds), *Farmed Fish quality*, Fishing New Book, Oxford: 42-57.

Ricerca finanziata dal MiPAF, Direzione Generale della Pesca e dell'Acquacoltura, nell'ambito del V Piano triennale per la pesca e l'acquacoltura.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 490-491

E. Turolla, G. Castaldelli, L. Barbin, R. Rossi

C.Ri.M., Dip. Biologia, Univ. Ferrara, Via dell'Agricoltura, 17 - 44020 Goro, Ferrara, Italia.

INDUZIONE ALL'EMISSIONE DEI GAMETI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* MEDIANTE L'IMPIEGO DI DUE STIMOLANTI CHIMICI (KCL E H_2O_2)

INDUCTION OF SPAWNING IN MYTILUS GALLOPROVINCIALIS *BY MEANS OF CHEMICAL STIMULANTS (KCL AND H_2O_2)*

Abstract

Both male and female Mytilus galloprovincialis *(Lamarck, 1819) were successfully induced to spawn by exposure to two chemicals (KCl and H_2O_2). The majority of broodstocks reacted to stimulation within one hour. The results indicate that the KCl and H_2O_2 stimulation technique represents a low cost method to induced spawn in mussels.*

Key-words: *marine mollusks, induced breeding, food organisms.*

Introduzione

Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) è il mitilide più diffuso ed economicamente più rilevante dell'intero bacino mediterraneo. La facile reperibilità di seme in natura ed il relativamente basso prezzo di vendita non giustificano la riproduzione controllata per scopi di allevamento. Tuttavia, può risultare interessante ai fini della produzione di larve, il cui impiego nello svezzamento di pesci da allevamento incontra sempre maggiori consensi.

Materiali e metodi

Uno stock di 5968 mitili maturi, di lunghezza compresa tra 5 e 8 cm, sono stati puliti e acclimatati alle condizioni di laboratorio. Tutti i riproduttori sono stati sottoposti ad un pre-trattamento in acqua di mare filtrata (pH compreso tra 7,9 e 8,2) nelle 24 ore precedenti l'aggiunta dello stimolante. Successivamente sono stati applicati tre protocolli di induzione all'emissione dei gameti: con KCl 0,2%, con H_2O_2 a pH inalterato e con H_2O_2 a pH 9,1.

Le stimolazioni con KCl consistevano nel mantenimento dei riproduttori in acqua di mare, addizionata del sale alla concentrazione 0,2%, per un tempo di 4 ore. Le stimolazioni con perossido di idrogeno consistevano nell'immersione dei riproduttori in una soluzione 5 mM di H_2O_2 per 15 minuti; successivamente gli animali venivano lavati e collocati in acqua di mare senza stimolante per 4 ore. Le prove con perossido sono state eseguite in due varianti: mantenendolo il pH uguale al valore del pre-trattamento e innalzando il pH a 9,1.

Ogni partita di riproduttori è stata suddivisa in due lotti numericamente equivalenti che costituivano, rispettivamente, la quota di esemplari sottoposti al trattamento e quelli di controllo.

L'analisi statistica è stata condotta applicando il test ANOVA per l'analisi della varianza.

Risultati

Dopo l'aggiunta dello stimolante, i mitili trattati con KCl non hanno dato reazioni degne di nota, salvo un ritardo nella riapertura delle valve che comunque avviene entro 20-30 minuti dall'avvio del trattamento. Differentemente, i riproduttori sottoposti al trattamento con H_2O_2, dopo l'aggiunta dello stimolante chiudevano lentamente le valve mantenendole chiuse per l'intera durata del trattamento. Le valve venivano riaperte solo dopo il lavaggio. Non sono stati rilevati comportamenti diversi tra i trattamenti con H_2O_2 a pH differente.

I risultati dei tre metodi di stimolazione sono riassunti in Tab. 1.

Tab. 1 – Risultati dei trattamenti con stimolanti chimici.
Treatment results by means of the chemical stimulators.

Stimolante	Esemplari trattati	Totale emittenti (% dei trattati)	Femmine (% degli emittenti)	Maschi (% degli emittenti)
KCl	590	231 (39,2%)	113 (48,9%)	118 (51,1%)
H_2O_2 (7,9<pH<8,2)	583	209 (35,8%)	93 (45,5%)	116 (55,5%)
H_2O_2 (pH 9,1)	1811	1019 (56,3%)	508 (49,9%)	511 (50,1%)
Acqua di mare	2984	--- ---	--- ---	--- ---

In nessuna prova sono state osservate emissioni da parte dei riproduttori usati come controllo.

Per quanto riguarda il numero di uova emesse per effetto dei diversi sistemi di stimolazione, non sono state riscontrate differenze significative: le emissioni con KCl hanno dato mediamente 101.108±86.756 uova/g peso fresco; 102.566±67.313 con H_2O_2 a pH non modificato e 121.885±131.583 con H_2O_2 a pH 9,1.

Conclusioni

In conclusione, le tre tecniche, unitamente ai bassi costi di applicazione hanno dimostrato efficacia nell'indurre il rilascio di gameti da parte di *M. galloprovincialis*, sia per le elevate percentuali degli esemplari emittenti sia per il numero di uova prodotte. Il successivo sviluppo delle trocofore, raggiunto con una sopravvivenza del 50% in circa 20 ore a 20 °C, è tale da soddisfare un impiego delle larve per lo svezzamento di animali acquatici in altre zoocolture.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare il Consorzio Pescatori di Goro, la soc. Ro.Ma.Mar. e i Sigg. Bugnoli Domenico e Marandella Giuseppe che hanno fornito il materiale biologico oggetto di questa ricerca.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 492-494

E. Turolla, G. Castaldelli, L. Barbin, B.S. Dezfuli, R. Rossi

C.Ri.M., Dip. Biologia, Univ. Ferrara, Via dell'Agricoltura, 17 - 44020 Goro, Ferrara, Italia.

PRIMO OTTENIMENTO DI SPAT DI TARTUFO DI MARE (*VENUS VERRUCOSA*) MEDIANTE TECNICHE DI RIPRODUZIONE CONTROLLATA

*SUCESSFULL APLICATION OF A TECHNIQUE FOR THE CONTROLLED REPRODUCTION OF THE WARTY VENUS (*VENUS VERRUCOSA*)*

Abstract

Warty venus, Venus verrucosa *(Bivalvia: Veneridae) was successfully induced to spawn by means serotonin injection in the anterior adductor muscle. Generally, males were more likely to spawn than females. Larval development followed a similar pattern to that observed in other venerid species. Survival of metamorphosed larvae from fertilized eggs was less than 1%.*

Key-words: *marine mollusks, spawning, spat.*

Introduzione

Il tartufo o noce di mare, *Venus verrucosa* L., è tra i bivalvi di maggior valore economico (7-12 €/Kg alla prima vendita) del bacino mediterraneo. Le partite commercializzate in Italia sono pescate su banchi naturali di Grecia, Francia, Spagna e Portogallo, e, in minima parte, lungo le coste pugliesi e del Golfo di Trieste. L'allevamento di questa specie non viene al momento praticato a causa della non reperibilità del seme. A tal proposito, alcuni risultati preliminari di riproduzione controllata sono stati pubblicati da Rossi *et al.*, 1994. La decisione di impiegare come stimolante la 5-HT è stata adottata in seguito ad una serie di tentativi fallimentari di induzione all'emissione dei gameti con altri sistemi.

Materiali e metodi

Presso il Centro Ricerche sui Molluschi (C.Ri.M.), i riproduttori maturi di *V. verrucosa* (lunghezza > 35 mm) sono stati sottoposti ad una serie di trattamenti (selezione, pulizia e acclimatamento) preliminari alle prove di stimolazione.

L'emissione dei gameti è stata indotta mediante l'iniezione di 0,3 ml di serotonina (5-HT) a diverse concentrazioni (0,2, 2 e 4 mM). Dei 3388 esemplari coinvolti, metà sono stati iniettati con 5-HT e metà con acqua di mare, come controllo. Di tutte le femmine emittenti è stato stimato il numero di uova seguendo la metodica descritta da Utting e Spencer, 1991.

Le uova fecondate sono state incubate per 24 ore alla temperatura di 22 ± 1 °C. Le larve sviluppatesi hanno completato la metamorfosi tra il 15° e il 20° giorno.

Risultati

A tutte le concentrazioni di serotonina, dopo 15-20 minuti si sono verificate le prime emissioni da parte dei maschi. La deposizione delle uova è avvenuta, general-

mente, non prima di 50 minuti dal trattamento. Nessuno dei riproduttori iniettati con sola acqua di mare ha emesso. I risultati ottenuti ad ogni concentrazione, con le relative percentuali di distribuzioni tra sessi degli emittenti, sono riassunti in Tab. 1.

Tab. 1 – Risultati dei trattamenti dopo iniezione di serotonina (5-HT).
Treatment results by means of serotonin (5-HT) injection.

	Esemplari trattati	Totale emittenti (% dei trattati)		Femmine (% degli emittenti)		Maschi (% degli emittenti)	
0,2 mM [5-HT]	241	30	(12,4%)	0	(0%)	30	(100%)
2 mM [5-HT]	1022	165	(16,1%)	12	(7,3%)	153	(92,7%)
4 mM [5-HT]	431	53	(12,3%)	1	(1,9%)	52	(98,1%)
Acqua di mare	1694	---	---	---	---	---	---

L'unica femmina emittente con 5-HT 4 mM ha emesso circa 50.000 uova; le 12 femmine emittenti, dopo trattamento con 5-HT 2 mM, hanno rilasciato mediamente 266.805 ± 212.727 uova. L'aspetto delle larve in fase di sviluppo (trocofora, larva-D, larva umbonata e pediveliger) è similare nelle forme e nelle dimensioni a quello di altri veneridi.

La mortalità in fase di vita larvale è stata superiore al 95%.

Conclusioni

Poiché il rapporto tra sessi dei riproduttori complessivamente utilizzati è prossimo all'unità (51,93% maschi e 48,07% femmine), la 5-HT sembra indurre l'emissione dei gameti prevalentemente nei maschi. Questo risultato è in accordo con quanto pubblicato su altri veneridi (Gibbons e Castagna, 1985; Campioni e Sbrenna, 1995; Kent *et al.,* 1998, 1999). Delle concentrazioni impiegate, la serotonina 2 mM è risultata la più efficace, sia in relazione alla percentuale totale di emittenti, sia considerando la sola quota di femmine emittenti. Tuttavia, se si considera che solo il 16,1% dei riproduttori ha emesso gameti e che di essi solo il 7,3% è costituito da femmine, si desume che per avere la probabilità di trovare una femmina emittente si devono trattare circa 100 esemplari.

La bassa risposta delle femmine e il numero relativamente scarso di uova rilasciate rappresentano i limiti operativi per una produzione su larga scala di seme di tartufo; questa ricerca, tuttavia, dimostra l'applicabilità di tecniche di riproduzione controllata finalizzata alla produzione di spat di *V. verrucosa*. I giovani esemplari da noi ottenuti, raggiunta la lunghezza media di 6,2 ± 1,1 mm, sono stati, infatti, seminati (maggio 2002) in una zona protetta del Parco di Miramare e in un allevamento sperimentale situato a Duino nel Golfo di Trieste.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare il Consorzio Pescatori di Goro, la Soc. Ittiomar e la Soc. Finpesca che hanno fornito i molluschi.

Bibliografia

CAMPIONI D., SBRENNA G. (1995) – Induzione dello spawning in *Tapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) e *Scapharca inaequivalvis* (Bivalvia: Arcidae) mediante somministrazione di serotonina (5-idrossitriptamina). *Biol. Mar. Medit*., **2** (2): 307-309.

GIBBONS M.C., CASTAGNA M. (1985) - Response of the hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linné) to introduction of spawning by serotonin. *J. Shellfish Res.,* **5** (2): 65-67.

KENT G.N., MAGUIRE G.B., JOHN M., CROPP M., FRANKISH K. (1998) – Broodstock conditioning, spawning induction, and larval rearing of the stepped venerid, *Katelysia scalarina* (Lamarck, 1818). *J. Shellfish Res.,* **17** (4): 1065-1070.

KENT G.N., MAGUIRE G.B., DUTHIE I., PUGH R. (1999) – Spawning, settlement, and growth of the New Zeland venerid *Ruditapes largillierti* (Philippi, 1849) in culture. *New Zeland J. Mar. Freshwater Res.,* **33**: 55-62.

ROSSI R., CAMPIONI D., CONTE A.G., PAESANTI F., TUROLLA E. (1994) - Riproduzione artificiale del tartufo di mare (*Venus verrucosa*): primi risultati. *Riv. Ital. Acquacolt.*, **29**: 53-62.

UTTING S.D., SPENCER B.E. (1991) - The hatchery culture of bivalve mollusc larvae and juveniles. *Lab. Leafl., MAFF Direct. Fish. Res.*, Lowestoft, **68**: 31 pp.

Questa ricerca è stata finanziata dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (Direzione Generale della Pesca e dell'Acquacoltura), nell'ambito del V Piano Triennale della Pesca e dell'Acquacoltura.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 495-499

D. Barletta, A. Campanelli*, C.M. Totti, M. Marini*

Istituto di Scienze del Mare, Università di Ancona, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.
*C.N.R., Ist. di Ricerche sulla Pesca Marittima, Ancona, Italia.

VARIAZIONI STAGIONALI DI UN POPOLAMENTO A *ZOSTERA MARINA* L. IN RELAZIONE ALLA DISPONIBILITA' DI NUTRIENTI

SEASONAL VARIATIONS IN EELGRASS (ZOSTERA MARINA *L.*) *RESPONSES TO NUTRIENT AVAILABILITY*

Abstract

Relationship between water column and pore water nutrient concentrations on the growth of the Zostera marina *L. (Monocotyledones) in the Numana harbour (Adriatic Sea) was investigated. High concentrations of dissolved inorganic nitrogen in the water column and in the pore water were not related with plant growth. In contrast phosphate concentrations in the water column appeared a limiting factor.*

***Key-words*:** Zostera marina*, nitrogen, phosphorus, harbour, Adriatic Sea.*

Introduzione

Il declino delle comunità a fanerogame in tutti i mari del mondo è stato spesso attribuito al progressivo deterioramento delle condizioni dei loro habitat (Moore *et al.*, 1996). Sebbene la sopravvivenza di queste macrofite sommerse dipenda dall'interazione di molteplici fattori biotici ed abiotici (Moore e Wetzel, 2000), in molti sistemi le potenziali cause di stress sono state identificate ed attribuite agli effetti diretti (Burkholder *et al.*, 1994; van Katwijk *et al.*, 1997) ed indiretti (Short, 1987; Duarte, 1995) della disponibilità di nutrienti inorganici.

In questo studio sono state esaminate le risposte stagionali di *Zostera marina* L. alle concentrazione dei nutrienti nella colonna d'acqua e nell'acqua interstiziale, con lo scopo di determinare gli effetti di questi fattori sulla dinamica strutturale della comunità macrofitica.

Materiali e metodi

Il prelievo dei campioni di pianta, per la determinazione della biomassa fogliare, e la stima della densità ed altezza dei ciuffi nel prato sono stati effettuati in immersione nel porto di Numana (Ancona) da agosto 2000 ad agosto 2001 secondo quanto riportato in Barletta (2002). Ad ogni data di campionamento sono stati raccolti, con una siringa in polietilene munita di filtro in fibra di vetro (porosità nominale 0.7 μm), campioni d'acqua per la determinazione delle concentrazioni dei nutrienti inorganici intorno alla fronda e nell'acqua interstiziale. Le analisi per la determinazione delle concentrazioni dell'azoto inorganico disciolto (DIN) determinate dalla somma di ammonio (NH_4^+), nitriti (NO_2^-), nitrati (NO_3^-) e del fosfato inorganico disciolto (DIP), come ortofosfato (PO_4^{3-}), sono state condotte secondo Strickland e Parsons (1968), utilizzando un autoanalyzer (TRAACS 800 della Technicon).

Risultati

Le concentrazioni dell'azoto inorganico disciolto ($DIN = NH_4^+ + NO_2^- + NO_3^-$) sono variate tra 4.3 e 35.6 μM nella colonna d'acqua e tra 3.3 e 37.2 μM nell'acqua intersti-

ziale (Fig. 1). In particolare, l'NH_4^+, in entrambi i compartimenti prevale, quasi sempre, sui NO_3^- (Fig. 2a e 2b).

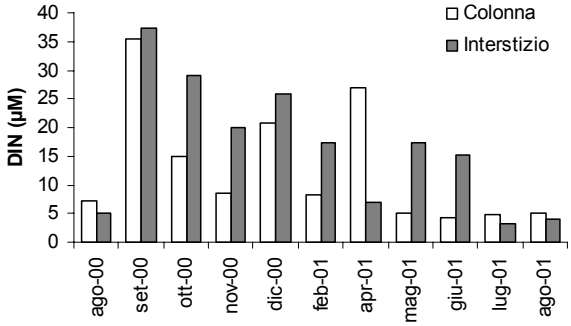


Fig. 1 - Variazioni temporali delle concentrazioni di azoto inorganico disciolto (DIN) nella colonna d'acqua e nell'acqua interstiziale nel Porto di Numana.

Temporal variations of dissolved inorganic nitrogen (DIN) concentrations in the water-column and pore water in the Numana harbour.

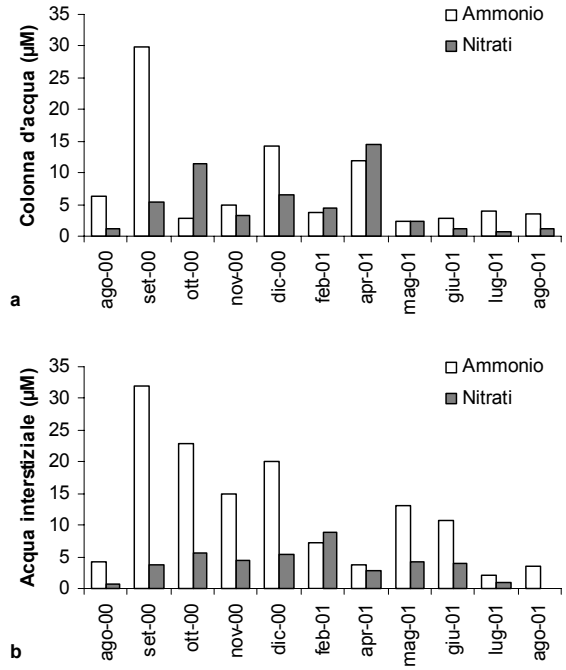


Fig. 2 - Variazioni temporali delle concentrazioni di ammonio e di nitrati nella colonna d'acqua (a) e nell'acqua interstiziale (b) nel Porto di Numana.

Temporal variations of ammonium and nitrate concentrations in the water-column (a) and pore water (b) in the Numana harbour.

Le concentrazioni di PO_4^{3-} sono risultati mediamente 3.5 volte maggiori nell'interstizio rispetto alla colonna d'acqua; soltanto durante i periodi estivi le concentrazioni di PO_4^{3-} nei due compartimenti sono risultati simili (Fig. 3).

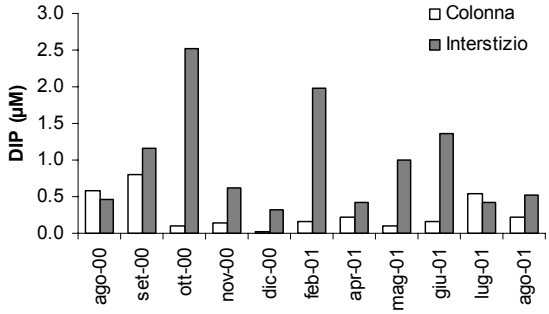


Fig. 3 - Variazioni temporali delle concentrazioni di fosforo inorganico disciolto (DIP) nella colonna d'acqua e nell'acqua interstiziale nel Porto di Numana.
Temporal variations of dissolved inorganic phosphorus (DIP) concentrations in the water-column and pore water in the Numana harbour.

Durante il periodo di studio la densità dei ciuffi e la biomassa fogliare (Fig. 4) hanno mostrato variazioni temporali statisticamente significative (ANOVA; $p<0.05$) con i massimi valori durante l'estate del 2000 e la primavera del 2001. Al contrario, nessuna variabilità temporale statisticamente significativa è stata rilevata nell'altezza dei ciuffi e nel numero di foglie (Fig. 5).

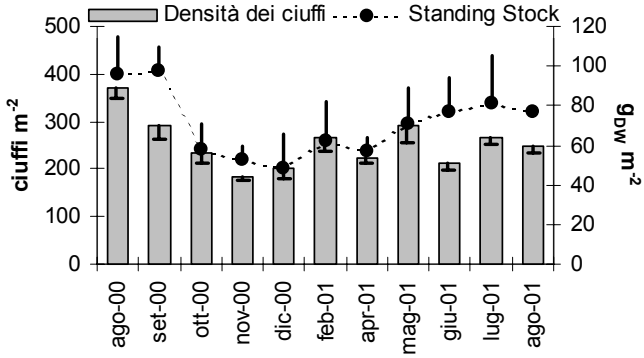


Fig. 4 - Andamento temporale della densità dei ciuffi nel prato e della biomassa fogliare di *Z. marina* nel Porto di Numana.
Temporal changes in shoot density and standing stock of Z. marina *in the Numana harbour.*

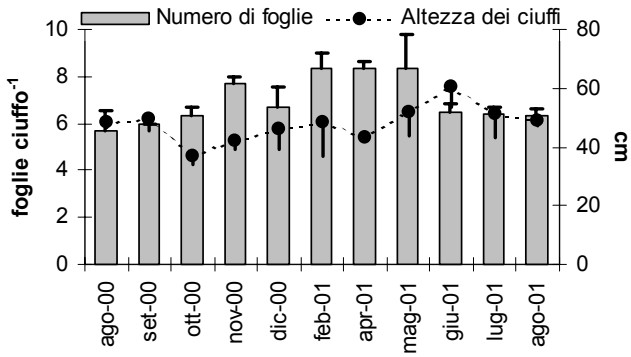


Fig. 5 - Andamento temporale del numero medio di foglie per ciuffo e dell'altezza dei ciuffi di *Z. marina* nel Porto di Numana.
Temporal changes in the number of leaves and shoots height of Z. marina *in the Numana harbour.*

Conclusioni

Le concentrazioni di NH_4^+ ed NO_3^- misurate nella colonna d'acqua del Porto di Numana rientrano nei range determinati da Marini *et al.* (2002) lungo l'intera area costiera antistante il Porto di Numana. In particolare, le concentrazioni di NO_3^- rinvenute nell'acqua intorno alla fronda e in quella interstiziale durante il periodo di campionamento, hanno quasi sempre superato i valori considerati tossici per lo sviluppo e la sopravvivenza delle fanerogame marine (Burkholder *et al.*, 1992, 1994). In questo studio, tuttavia, non sono stati rilevati gli ovvi effetti di tossicità diretta (e.g. indebolimento del tessuto fogliare, necrosi e mortalità dei ciuffi) riportati in letteratura. Una possibile spiegazione potrebbe derivare dal fatto che i valori limite di tossicità testati sono stati determinati da situazioni controllate che non tengono sempre conto dell'interazione dinamica di tutti i fattori che intervengono nell'ambiente naturale. Inoltre, è stato determinato che l'NO_3^- non ha effetti fisiologici inibenti se il sedimento, tanto quanto la colonna d'acqua, sono contemporaneamente fonte di nutrienti (Touchette e Burkholder, 2000).

I coefficienti di correlazione tra i valori delle concentrazioni di DIP nella colonna d'acqua e le stime di densità ($r=0.65$; $p<0.05$) e standing stock ($r=0.86$; $p<0.01$) sono risultati altamente significativi. Sebbene l'acqua interstiziale sia generalmente considerata la sorgente primaria di fosforo per il metabolismo delle fanerogame marine, è stato suggerito che *Z. marina* assimili la maggior parte del DIP richiesto per la crescita attraverso le sue foglie; solo quando le concentrazioni di DIP nella colonna d'acqua diventano trascurabili queste macrofite soddisfano le loro richieste metaboliche di fosforo dai sedimenti (Brix e Lyngby, 1985). Queste osservazioni potrebbero spiegare le maggiori concentrazioni ritrovate nell'interstizio rispetto a quelle registrate nella colonna d'acqua nel Porto di Numana.

Sebbene queste correlazioni non forniscano la certezza di una relazione causa-effetto e necessitino di ulteriori approfondimenti è possibile ipotizzare che la disponibilità di fosforo nella colonna d'acqua possa influenzare la crescita e lo sviluppo di *Z. marina* nel porto di Numana. Le maggiori concentrazioni di DIP ritrovate nell'acqua interstiziale rispetto alla colonna d'acqua potrebbero, infatti, non essere completamente

disponibili per le richieste metaboliche della pianta a causa della loro limitata diffusione nell'interstizio (Lee e Dunton 1999).

Bibliografia

BARLETTA D. (2002) - Caratteristiche strutturali e funzionali della macchia a *Zostera marina* L. nel porto di Numana (Ancona, Mare Adriatico). *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 220-224.

BRIX H., LYNGBY J.E. (1985) – Uptake and traslocation of phosphorus in eelgrass (*Zostera marina*). *Mar. Biol.*, **90**: 111-116.

BURKHOLDER J.M., MASON K.M., GLASGOW JR. H.B. (1992) – Water-column nitrate enrichment promotes decline of eelgrass *Zostera marina*: evidence from seasonal mesocosm experiments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **81**: 163-178.

BURKHOLDER J.M., GLASGOW JR. H.B., COOKE J.E. (1994) – Comparative effects of water-column nitrate enrichment on eelgrass *Zostera marina*, shoalgrass *Halodule wrightii*, and widgeongrass *Ruppia maritima*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **105**: 121-138.

DUARTE, C.M. (1995) – Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia*, **41**: 87-112

LEE K.S, DUNTON K.H. (1999) – Inorganic nitrogen acquisition in the seagrass *Thalassia testudinum*: development of a whole-plant nitrogen budget. *Limnol. Oceanogr.*, **44**: 1204-1215.

MARINI M., FORNASIERO P., ARTEGIANI A. (2002) – Variations of hydrochemical features in the coastal waters of Monte Conero: 1982-1990. *P.S.Z.N. Mar. Ecol.*, **23** (1): 258-271.

MOORE K.A., NECKLES H.A., ORTH R.J. (1996) – *Zostera marina* (eelgrass) growth and survival along a gradient of nutrients and turbidity in the lower Chesapeake Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **142**: 247-259.

MOORE K.A., WETZEL R.L. (2000) – Seasonal variation in eelgrass (*Zostera marina* L.) responses to nutrient enrichment and reduced light availability in experimental ecosystems. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **244**: 1-28.

SHORT F.T. (1987) – Effects of sediment nutrients on seagrasses: literature review and mesocosm experiment. *Aquat. Bot.*, **27**: 41-57

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R. (1968) – A pratical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167**: 310 pp.

TOUCHETTE B.W., BURKHOLDER J.M. (2000) – Review of nitrogen and phosphorus metabolism in seagrasses. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **250**: 133-167.

VAN KATWIJK M.M., VERGEER L.H.T., SCHMITZ G.H.W., ROELOFS J.G.M. (1997) – Ammonium toxicity in eelgrass *Zostera marina*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **157**: 159-173.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 500-502

G. Belmonte, A. Costantini[1], P. Forti[2], M. Metrangolo, R. Onorato[1], M. Poto[1]

Stazione di Biologia Marina, DiSTeBA, Università degli Studi, Ecotekne - 73100 Lecce, Italia.
[1]CSSA, Centro di Speleologia Sottomarina "Apogon", Nardò, Lecce, Italia.
[2]IIS, Istituto Italiano di Speleologia, Università di Bologna.

BIOCOSTRUZIONI STALATTITICHE NELLE GROTTE SOMMERSE DEL CAPO D'OTRANTO

BIOGENIC STALACTITES IN THE SUBMARINE CAVES OF CAPE OTRANTO (SE ITALY)

Abstract

The submarine cave lu Lampiùne (Cape Otranto) hosts many stalactite structures. Some of them show a sub-horizontal growth. Two of these structures were studied in detail. The cross sections did not show any abiotic rocky core. The first structure was a calcareous algae building and showed the inside perforated by boring bivalves. The second structure showed a homogeneous internal texture of serpulid tubes. The second concretion speleothem cannot be interpreted as a special form of coralligenous because due to the absence of calcareous algae and demolition organisms. It represents the first description of stalactite structures totally biotic in origins in Mediterranean submerged caves.

Key-words*: speleothemes, submarine caves, biogenic concretions, Mediterranean, Salento Peninsula.*

Introduzione

La grotta marina sommersa de *lu Lampiùne* è stata descritta solo di recente (Onorato e Palmisano, 1990) e si è proposta, fin dalla descrizione, come uno degli ambienti più interessanti dal punto di vista speleologico della penisola Salentina. Sono state proposte diverse interpretazioni delle "stalattiti deflesse" qui abbondanti, ma comuni anche in altre grotte del Capo di Otranto e del Salento (Belmonte *et al*., 2001; Onorato *et al*., 2002). In effetti, lo sviluppo obliquo degli speleotemi de *lu Lampiùne*, o la morfologia apicalmente slargata o ripiegata a "L" di quelli rinvenuti in altre grotte salentine, suggeriva una genesi non esclusivamente abiotica e legata al periodo di emersione di tali ambienti. Essendo evidenti, su tali strutture, spugne, briozoi, bivalvi e serpulidi, rimaneva da stabilire se tali presenze si fossero affermate o meno su un cuore stalattitico pre-esistente, con la successiva sommersione delle grotte in cui si erano formati. Molte di tali stalattiti, proprio ne *lu Lampiùne*, mostravano uno sviluppo suborizzontale di anche 2 m.

Allo scopo di chiarire la composizione di tali strutture, nel periodo luglio-settembre 2001, si è proceduto al prelievo di due concrezioni per studiarle in dettaglio.

Materiali e metodi

Le immersioni sono state condotte da squadre di 3 subacquei, due speleosub e un biologo, per volta; durante le prime due visite si è controllato il rilievo della grotta (vedi Onorato *et al*., 2002) e sono stati individuati i punti di maggiore addensamento delle formazioni stalattitiche. L'ambiente e le concrezioni sono state filmate e fotografate. In occasione delle due ultime ispezioni, con una piccozza sono state staccate due formazioni stalattitiche di 35 e 45 cm, una dalla volta dell'ingresso Nord della grotta, ed una dalla volta della camera più interna. Entrambe le formazioni sono state

sezionate presso l'IIS dell'Università di Bologna. Le sezioni trasversali e longitudinali sono state fotografate presso il DiSTeBA dell'Università di Lecce e interpretate per il presente lavoro.

Risultati

La stalattite prelevata all'Ingresso N (profondità, –19 m) presentava il suo asse maggiore orizzontale; era stretta alla base e larga all'estremità libera. Risultava evidentemente composta di alghe calcaree (*Pseudolithophyllum*) soprattutto nella faccia superiore, esposta alla luce, e presentava una faccia inferiore densamente popolata di spugne (*Ircinia*). In sezione la struttura appariva perforata da datteri di mare (*Lithophaga*), con elevata percentuale di individui morti (90%), e poriferi (Clionidae). In diversi casi il vuoto lasciato dalla morte dei bivalvi era evidentemente riempito secondariamente da sedimento diagenizzato.

La formazione stalattitica prelevata dal soffitto della camera interna (profondità, –9 m) della grotta era verticale e non presentava tracce di alghe calcaree. All'esterno erano facilmente identificabili solo i tubi calcarei di policheti serpulidi. La sezione mostrava chiaramente la presenza di tubi di serpulidi anche all'interno fino alla base della struttura. I tubi calcarei del cuore della formazione mostravano un calibro anche più grande di quelli superficiali. Spugne e datteri di mare potevano essere individuati solo con una attenta ricerca, a causa delle dimensioni ridotte degli individui. La struttura non presentava tracce di perforazione biotica successiva alla sua formazione.

Tra i due ingressi della grotta e la sala più interna, le pareti spioventi delle sale ospitavano numerose formazioni concrezionarie visibilmente formate da grappoli di bivalvi ostreidi (*Pygnodonte*), prive di alghe calcareee e ricche di spugne, serpulidi, e briozoi.

Conclusioni

Le strutture stalattitiche della grotta *lu Lampiùne* sono da considerarsi completamente biogeniche e la loro forma è stata attribuita alla ricerca, da parte degli organismi che ne hanno realizzato l'impalcatura, di acque distanti dal substrato roccioso di base, perchè più ricche di particelle alimentari in sospensione (o, nel caso delle alghe, acque più luminose). La crescita delle strutture, all'interno della grotta, verso il centro delle camere (con formazioni, alla base delle pareti di grotta, a zanna d'elefante, ricurve verso l'alto) consente una assimilazione alle "pseudostalattiti" di Macintyre *et al*. (1982) ma anche un paragone con le *trays* abiotiche delle grotte subaeree nord americane, in cui la crescita avviene, anche contro la forza di gravità, nella direzione di un gradiente crescente di aria ricambiata (Calaforra e Forti, 1994). Anche l'accrescimento scalinato di un lato della formazione prelevata nella sala interna è stato interpretato sulla base di punti alterni a maggiore e minore ricchezza trofica, intervallati lungo lo spazio proprio a causa della presenza di filtratori, sul modello delle stalagmiti (abiotiche) a tronco di palma (Hill e Forti, 1997).

Nonostante la formazione prelevata all'ingresso presenti tutte le caratteristiche costitutive del coralligeno, ed anche le altre possano essere considerate "concrezioni calcaree biogene di ambiente sciafilo" (Peres e Picard, 1964); è innegabile che, almeno per le formazioni interne, si tratti di concrezioni originali, tipiche dell'ambiente di grotta sommersa. Esse, infatti, non presentano tracce di organismi autotrofi, hanno uno sviluppo assiale con molte inclinazioni, ma mai a crescita perfettamente verticale dal

basso (come alcune forme descritte da Di Geronimo *et al.*, 2001), e sono interessate da una crescita presumibilmente lenta ma, nel contempo, non ostacolata da fenomeni di biodemolizione.

Per tutti questi motivi, queste formazioni, che già rappresentano una novità per la speleologia subacquea mediterranea, possono essere considerate un nuovo esempio nel novero delle formazioni biogene di roccia in ambiente marino.

Bibliografia

BELMONTE G., ONORATO R., DENITTO F., COSTANTINI A., BUSSOTTI S., POTO M. (2000) - Novità esplorative e biologiche nelle grotte sottomarine del canale d'Otranto (LE). *Atti Congresso 'Spelaion', Altamura (BA),* dicembre 2000: 173-180.

CALAFORRA J.M., FORTI P. (1994) - Two new types of gypsum speleothems from New Mexico: Gypsum trays and Gypsum dust. *NSS Bulletin*, **56**: 32-37.

DI GERONIMO I., DI GERONIMO R., IMPROTA S., ROSSO A., SANFILIPPO R. (2001) – Columnar calcareous algae build-ups of south eastern Sicily. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 229-237.

HILL C., FORTI P. (1997) - Cave minerals of the World. *Nat. Spel. Soc.*: 464 pp.

MACINTYRE I.G., RUTZLER K., NORRIS J.N., FAUCHALD K. (1982) – A submarine cave near Columbus Bay, Belize: a bizarre cryptic habitat. *Smithsonian Contributions to Mar. Sci*., **12**: 127-141.

ONORATO R., FORTI P., BELMONTE G., POTO M., COSTANTINI A. (2002) – La grotta sottomarina *lu lampiùne*: novita' esplorative e prime indagini ecologiche. *Thalassia Salentina*, **26** (Suppl.), (in press).

ONORATO R., PALMISANO P. (1990) - Otranto: la grotta sottomarina de "Lu Lampiune", *Itinerari speleologici*, **2** (4): 84-90.

PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) – Noveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **31** (47): 137 pp.

La ricerca è stata svolta nell'ambito del programma Interreg II Italia Albania.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 503-505

G. Calvisi, M. Pais*, A. Floris*

DIP.TE.RIS, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
*Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari, Sassari, Italia.

UN METODO DI VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DELL'ATTIVITÀ SUBACQUEA IN UN'AREA MARINA PROTETTA SARDA

AN EVALUATION METHOD FOR THE SCUBA DIVING IMPACT IN A MARINE PARK OF SARDINIA

Abstract

The use of the bryozoan Myriapora truncata *for evaluating the scuba diving impact on the hard bottom communities is studied. Changes in density of this species inside three different caves along the North-East Sardinia coast, differently frequented by divers, suggest as this species could be a useful indicator for damages provoked by diving activities in the Mediterranean sea.*

Key-words: *hard bottom,* Myriapora truncata*, diving impact.*

Introduzione

Nell'ultimo decennio è stata presa in considerazione, principalmente in seno agli organi gestionali delle aree marine protette, la regolamentazione delle attività subacquee ai fini di tutela delle risorse marine. Il continuo diffondersi di quest'attività turistico-ricreativa ha accresciuto l'interesse, da parte delle autorità locali preposte, per gli studi mirati a verificare il ruolo che l'attività subacquea riveste quale fattore di degrado dell'ambiente marino (Rouphael e Inglis, 1997; Zakai e Chadwick-Furman, 2002). L'intento del presente studio è la ricerca di metodologie atte a valutare l'eventuale impatto sull'ambiente marino dell'attività subacquea. In particolare viene preso in considerazione il briozoo *Myriapora truncata* che, per la struttura ramificata, la fragilità della colonia e la lentezza d'accrescimento, appare un possibile indicatore dei danni derivanti dai contatti fisici dei subacquei con il substrato.

Materiali e metodi

Sono stati scelti tre siti, localizzati lungo la falesia calcarea compresa fra Capo Galera e Punta Giglio (Sardegna nord-occidentale), all'interno della riserva marina di Capo Caccia-Isola Piana, d'imminente istituzione.

E' stata misurata la densità delle colonie di *M. truncata*, utilizzando un quadrato di 1 m di lato costruito con tubi di PVC, suddiviso in 25 sottoquadrati di 20×20 cm. I dati sono stati rilevati in tre periodi, prima, durante e dopo la stagione turistica 2001, sulle pareti verticali all'ingresso di due grotte sommerse, la Grotta del Tunnel e la Grotta del Falco, ad una profondità compresa fra 10 e 15 m. Entrambe le grotte sono frequentate, soprattutto nel periodo estivo, ma la seconda, non essendo accessibile ai subacquei meno esperti, presenta un livello di frequentazione leggermente inferiore, ma comunque alto. Un terzo sito, nelle vicinanze di Punta Giglio, con caratteristiche morfologiche e batimetriche simili ai primi due, è stato utilizzato come sito di controllo,

non essendo interessato dal turismo subacqueo. I dati ottenuti sono stati analizzati utilizzando l'analisi della varianza e l'SNK test.

Risultati

La Fig. 1 mostra l'andamento dei valori di densità nelle tre grotte prese in considerazione. Appare evidente il calo progressivo molto marcato, nella Grotta del Tunnel, sito sottoposto a maggior frequentazione turistica, nell'arco delle stagioni considerate.

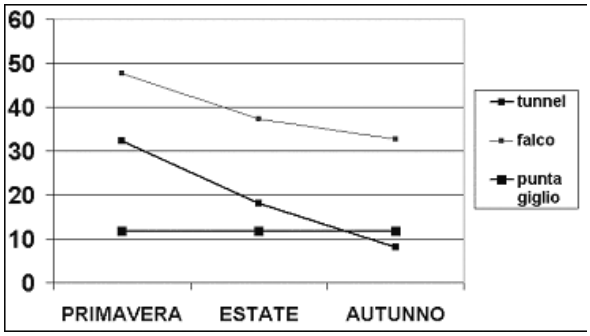


Fig. 1 – Andamenti dei valori di densità delle colonie (col./m^2) di *M. truncata* nell'anno 2001 in tre grotte della riserva marina di Capo-Caccia-Isola Piana.
Trend of density values of M. truncata *(col./m^2) in 2001 in three caves of Capo Caccia-Isola Piana Marine Reserve.*

Lo stesso andamento è riscontrabile anche nella Grotta del Falco, anche se in maniera meno evidente, nonostante il maggior numero di colonie presenti in primavera. L'andamento nel sito di controllo si presenta invece immutato durante tutto l'arco temporale delle osservazioni. L'analisi della varianza, attraverso l'SNK test (Tab. 1), ha evidenziato come la densità delle colonie nelle grotte frequentate vari, in funzione della stagione, a prescindere dal numero iniziale.

Tab. 1 – Risultati dell'SNK test.
SNK test results.

GROTTA	**2**	**3,07**	**7,35**	**0,0458**
TIME	**2**	**0,80**	**15,56**	**0,0001**
G X T	**4**	**0,41**	**8,08**	**0,0006**
RESIDUAL	**18**	**0,05**		

TIME 1	**T=F >P**	
TIME 2	**F>T>P**	**T=Tunnel**
TIME 3	**F>P>T**	**F= Falco**
		P=Punta Giglio
Tunnel	**$T_1>T_2>T_3$**	
Falco	**$T_1=T_2=T_3$**	
Punta Giglio	**$T_1=T_2=T_3$**	

SNK S.E.=0,1313 g.l.=18

Conclusioni

La densità delle colonie di *M. truncata* decresce durante l'estate, nelle zone più esposte al passaggio dei sub, mentre non si hanno variazioni stagionali significative nel sito di controllo. E' assai probabile che tale differenza debba essere imputata a contatti accidentali da parte dei subacquei, che provocano la rottura della colonia. Questo risultato conferma le osservazioni effettuate recentemente sull'impatto delle attività subacquee su altre specie di briozoi, lungo le coste spagnole, nei pressi del Parco delle Isole Medes (Garrabou *et al.*, 1998).

Il briozoo *M. truncata* appare dunque un indicatore interessante, quando presente in popolazioni significative come accade sul versante nord-occidentale della Sardegna, per valutare l'impatto dell'attività subacquea lungo le falesie mediterranee.

Bibliografia

GARRABOU R.C., SALA E., ARCAS A., ZABALA M. (1998) - The impact of Diving on Rocky Sublittoral Communities: A Case Study of a Bryozoan Population. *Conservation Biology,* **12**: 302-312.

ROUPHAEL A.B., INGLIS G.J. (1997) - Impact of recreational scuba diving at sites with different reef topographies. *Biological Conservation*, **82**: 329-336.

ZAKAI D., CHADWICK-FURMAN N.E. (2002) - Impacts of intensive recreational diving on reef corals at Eilat, northern Red Sea. *Biological Conservation,* **105**: 179-187.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 506-508

G. Calvisi, E. Trainito[1], M. Pais[2], G. Franci, S. Schiaparelli

DIP.TE.RIS, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, C.so Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.

[1]ESA-European Scuba Agency.

[2] Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari, Italia.

PRIMA SEGNALAZIONE DI UN EPISODIO DI MORTALITA' DI GORGONACEI LUNGO LA COSTA DELL'ISOLA DI TAVOLARA (SARDEGNA SETTENTRIONALE)

FIRST REPORT OF A MASS MORTALITY EVENT OF GORGONIANS ALONG THE COAST OF TAVOLARA ISLAND (NORTHERN SARDINIA)

Abstract

In September 2001, along the sud-est coast of Tavolara Island (Northern Sardinia), a mass mortality event affected a gorgonian Eunicella cavolinii *population, with a density ranging from 9 to 31 colonies* m^{-2}.

Quantitative data indicated that mortality affected from 13,3% to 100% of colonies with a range in size between 20 and 60 cm. It is the first report of a mortality episode of gorgonians in Sardinia.

Key-words*: benthos, mortality, gorgonians, Sardinia.*

Introduzione

Nel settembre 2001 un nuovo caso di mortalità di gorgonacei, dopo quello del 1999 nel Mar Ligure, è stato registrato lungo la costa nord-orientale della Sardegna, all'interno dell'Area Naturale Marina Protetta (AMP) di Tavolara - Punta Coda Cavallo, nei fondali antistanti la falesia calcarea a sud-est dell'isola. Tale evento fa seguito a quelli registrati sempre più frequentemente negli ultimi decenni nel Mediterraneo Nord-Occidentale (Cerrano *et al.,* 2000). I segni della mortalità sono stati osservati in diversi siti, a profondità comprese tra i 10 e i 45 metri, per un tratto di costa di circa 6 km, su colonie di *Eunicella cavolinii* e *Paramuricea clavata*; entrambe le specie mostravano lo sclerasse denudato o interessato da epibiosi recente.

Materiali e metodi

L'entità della moria è stata stimata per la sola specie *Eunicella cavolinii*; a tale scopo sono stati scelti tre siti omogenei per esposizione e inclinazione del substrato, a profondità comprese tra i 12 e i 22 metri, all'interno della zona B dell'AMP. In tali siti, tra novembre e dicembre 2001, oltre ad una documentazione fotografica degli effetti della moria, sono state conteggiate, con il metodo "line-transect", un totale di 274 colonie di *E. cavolinii*; per ciascuna di esse si è rilevata altezza, larghezza e percentuale di danno subito. Il danno è stato quantificato sulla base percentuale di cenenchima in necrosi o interessato da epibiosi recente.

Risultati

I dati hanno evidenziato una distribuzione delle classi di taglia di *Eunicella cavolinii* compresa tra 5 e 60 cm di altezza (Fig. 1a) e valori di densità di popolazione tra 9 e 31 colonie m^{-2}.

Come mostrato in Fig. 1b, il fenomeno di mortalità ha interessato dal 13 al 100% delle colonie di taglia compresa tra i 20 e i 60 cm di altezza; le colonie di taglia minore non hanno riportato danni significativi. Le colonie di taglia maggiore di 35 cm hanno riportato lesioni al cenenchima non inferiori al 50% della colonia stessa.

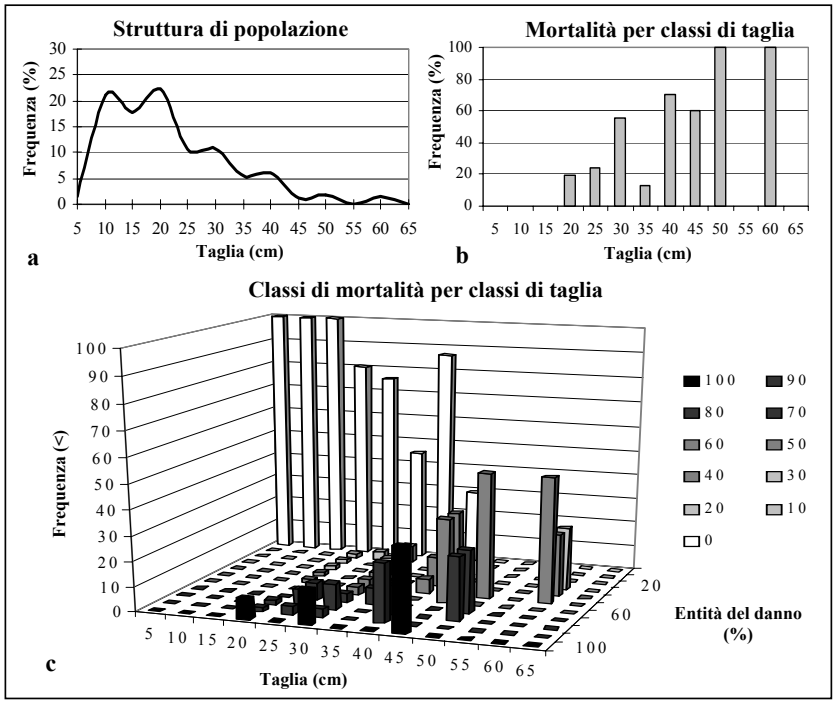


Fig. 1 - *Eunicella cavolinii*: (a) struttura di popolazione; (b) mortalità per classe di taglia; (c) classi di mortalità (0-100%) per classi di taglia.

Eunicella cavolinii*: (a) population structure; (b) mortality vs size classes; (c) mortality (0-100%) vs size classes.*

Conclusioni

Il fenomeno di mortalità di gorgonacei registrato lungo la costa dell'Isola di Tavolara nel settembre 2001 rappresenta il primo caso segnalato per quest'area ed aumenta la conoscenza relativa ad un fenomeno apparentemente sempre più frequente negli ultimi anni. Nel Mediterraneo Occidentale questi episodi hanno coinciso con valori tardo estivi di temperatura eccezionalmente elevati lungo la colonna d'acqua fino a 50 m di profondità (Cerrano *et al.*, 2000; Perez *et al.*, 2000). La mancanza di dati relativi alla temperatura dell'acqua nell'area oggetto di studio non ha permesso di formulare ulteriori ipotesi a riguardo.

Bibliografia

CERRANO C., BAVESTRELLO G., BIANCHI C.N., CATTANEO-VIETTI R., BAVA S., MORGANTI C., MORRI C., SARA G., SCHIAPARELLI S., SICCARDI A., SPONGA F. (2000) - A

catastrophic mass mortality episode of gorgonaceans and other organisms in the Ligurian Sea (NW Mediterranean) in summer 1999. *Ecol. Lett*., **3**: 284-293.

PERES T., GARRABOU J., SARTORETTO S., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., VACELET J. (2000) - Mortalité massive d'invertébrés maris: un événement sans précédent en Méditerranée nord-occidentale. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, **232**: 853-865.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 509-511

D. Carriglio, R. Sandulli, S. Deastis, M. Gallo D'Addabbo, S. Grimaldi de Zio

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.

EFFETTI DELLA COLONIZZAZIONE DI *CAULERPA RACEMOSA* SULLA MEIOFAUNA DEL GOLFO DI TARANTO

CAULERPA RACEMOSA *SPREAD EFFECTS ON THE MEIOFAUNA OF THE GULF OF TARANTO*

Abstract

Meiofaunal dynamics and their relationship with the lessepsian Caulerpa racemosa *spread were investigated in the Gulf of Taranto (Southern Italy). Data on the meiobenthos collected from 9 coastal stations in July 2001, were compared with results of a previous study carried out in the same area (7 stations) in June 1995, when* Caulerpa *still did not occurred. Algal covering appeared to increase meiofaunal average density, but probably limited the abundance of some mesopsammic species and promoted clear changes in meiobenthic crustacean assemblage.*

Key-words*: meiofauna,* Caulerpa racemosa*, introduced species, Ionian sea.*

Introduzione

L'alga tropicale *Caulerpa racemosa* si è insediata dal 1996 nel Golfo di Taranto (Buia *et al*., 1998), con estese coperture su zone sabbiose ed a *matte* morta di *Posidonia oceanica* antistanti l'area industriale ed i fondali delle isole Cheradi. Nell'ambito del programma CoNISMa-SPICAMAR si sono valutati gli eventuali cambiamenti nella struttura e diversità delle comunità meiobentoniche in risposta all'invasione dell'alga alloctona. Gli unici dati esistenti in letteratura su tale argomento, riguardano la struttura di comunità meiobentoniche in sedimenti colonizzati dalla clorofita congenere *Caulerpa taxifolia* (Poizat e Boudouresque, 1996).

Si sono confrontati, pertanto, i risultati di nostri precedenti studi nell'area (giugno 1995), effettuati prima della comparsa di *C. racemosa* nel bacino, con altri dati più recenti (luglio 2001), riferiti alla meiofauna di aree con e senza la copertura dell'alga infestante.

Materiali e metodi

Lo studio riguarda complessivamente 16 stazioni del Golfo di Taranto: 7 campionate nel giugno 1995, 9 nel luglio 2001, di cui 6 con presenza di *Caulerpa racemosa*. I sedimenti sono stati prelevati con benna Van Veen a profondità variabili tra 5 e 20 m e sottocampionati con corer manuale (2 repliche per bennata, 5 cm di profondità). La meiofauna è stata anestetizzata con $MgCl_2$, fissata con formalina-acqua di mare 5% e colorata con rosa bengala, separata dal sedimento e quindi studiata in microscopia ottica.

Risultati e conclusioni

La meiofauna delle stazioni campionate nel 2001, in sedimenti costituiti da sabbia fine e fango per il 5-20%, presenta densità medie maggiori nelle aree con *Caulerpa*

racemosa (2600±1957 ind/10 cm^2) rispetto alle aree senza copertura algale (640±259 ind/10 cm^2, Fig. 1A).

Il popolamento meiobentonico risulta costituito prevalentemente da nematodi nelle stazioni del 2001 senza *Caulerpa racemosa*, mentre in quelle colonizzate dall'alga verde si è registrata una percentuale maggiore di crostacei (soprattutto copepodi arpacticoidi epi ed endobentici), anellidi e ciliati (Fig. 1B). Gli indici di diversità di Shannon (H') e di *evenness* di Pielou (J), misurati a livello di taxon, mostrano valori medi maggiori nelle aree colonizzate (H'=1,63; J=0,5) rispetto alle aree prive di *Caulerpa racemosa* (H'=1,26; J=0,45). Nei campioni del 2001 sono presenti, con un numero esiguo di individui, anche turbellari, gastrotrichi (fam.Thaumastodermatidae), tardigradi (fam. Halechiniscidae), acari (*Rhombognatus* sp.*)*.

Confrontando i nostri dati, la densità media della meiofauna (1196±445 ind/10 cm^2) risulta inferiore nei campioni del 1995 rispetto a quella registrata nel 2001 per le aree coperte da *Caulerpa racemosa* (Fig. 1A); al contrario, i valori medi degli indici di Shannon e Pielou sono più elevati (rispettivamente H'=1,75; J=0,60) che nei campioni recenti. Nei sedimenti del 1995, infatti, sono presenti, anche se con pochi esemplari, chinorinchi, loriciferi (larve di *Rugiloricus carolinensis;* Kristensen, com. pers.), rotiferi, sipunculidi; questi gruppi non compaiono nel popolamento del 2001. Le differenze nelle densità medie dei popolamenti non risultano, comunque, significative (Mann-Whitney U-test, U=9, P=0,086).

La colonizzazione di *Caulerpa racemosa* nel Golfo di Taranto ha, tuttavia, profondamente modificato la struttura dei popolamenti a crostacei meiobentonici. Nei campioni del 1995, infatti, vi è una presenza consistente di ostracodi, cumacei, isopodi, anfipodi e tanaidacei (Fig. 2A); al contrario questi meiobentonti sono particolarmente scarsi (3%) nei campioni del 2001, nei quali i crostacei sono rappresentati quasi esclusivamente da copepodi arpacticoidi epi-endobentici e dai loro naupli (Fig. 2B).

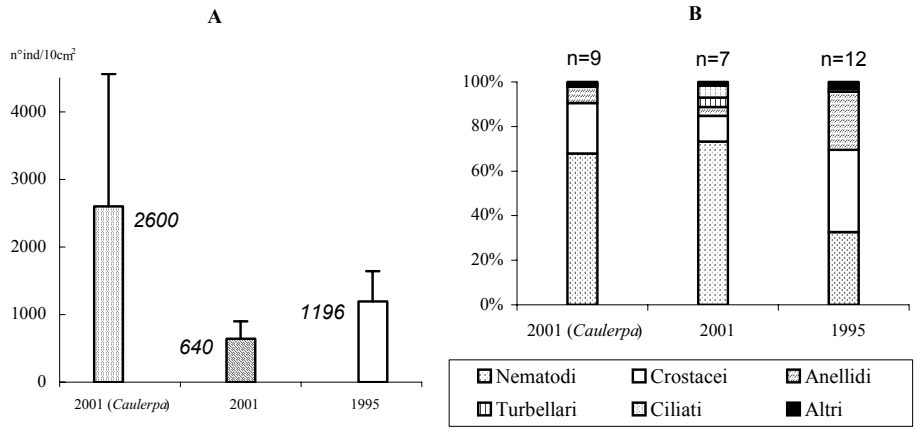


Fig. 1 – Valori medi di (A) densità (± s.d.) e (B) composizione del popolamento meiobentonico (n = numero di taxa) in 16 stazioni di campionamento (2 repliche) nel Golfo di Taranto, in aree con e senza *Caulerpa racemosa* (1995-2001).

(A) Meiobenthos average density (mean between 2 replicates, ± s.d.) and (B) faunal composition in 16 sampling stations of the Gulf of Taranto with and without Caulerpa racemosa *beds (1995-2001).*

Si può ipotizzare che la colonizzazione di aree estese del Golfo di Taranto da parte di *Caulerpa racemosa* possa aver influito sulla complessità strutturale del sedimento, generando una maggiore eterogeneità di habitat, ed incrementato la quantità di sostanza organica nei sedimenti. La densità totale della meiofauna risulta, infatti, maggiore nei tratti di fondale invasi dall'alga alloctona. Ma la maggior quantità di sostanza organica potrebbe avere incentivato anche intense attività di degradazione batterica, con una possibile diminuzione della disponibilità di O_2. In tal caso i sedimenti ove è presente *C. racemosa* si renderebbero meno ospitali per alcuni gruppi di crostacei sensibili a condizioni più severe dell'ambiente interstiziale.

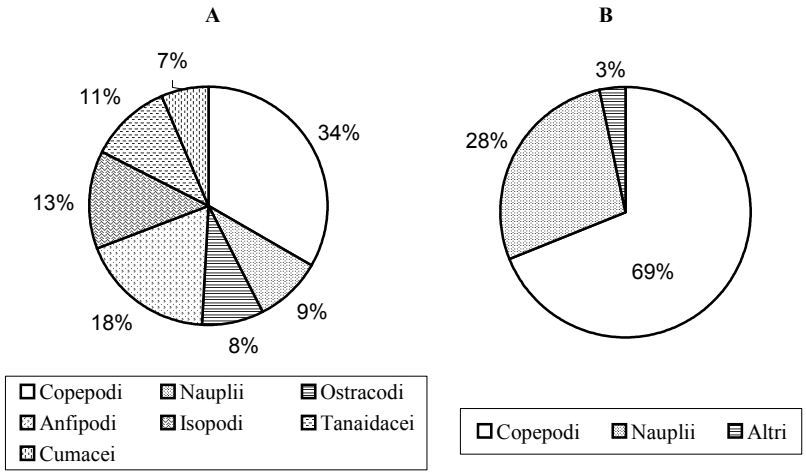


Fig. 2 - Popolamento dei crostacei meiobentonici nei sedimenti del Golfo di Taranto, prima (A, 1995) e dopo (B, 2001) la colonizzazone di *Caulerpa racemosa*.

Meiobenthic crustaceans assemblages in the sediments of the Gulf of Taranto, before (A, 1995) and after (B, 2001) the Caulerpa racemosa *spread.*

Bibliografia

BUIA M.C., PETROCELLI A., SARACINO O.D. (1998) – *Caulerpa racemosa* spread in the Mediterranean Sea: first record in the Gulf of Taranto. *Biol. Mar. Medit*., **5** (1): 527-529.

POIZAT C., BOUDOURESQUE C.F. (1996) - Meiofaune du sediment dans des peuplements a *Caulerpa taxifolia* du Cap Martin. *Sec. Int. Work. on* Caulerpa taxifolia, *Publ. Univ. Barcelona*: 375-386.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 512-516

S. Casellato, M.E. Rizzo, A. Alfano, L. Masiero

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Colombo, 3 - 35121 Padova, Italia.

MODIFICAZIONI STRUTTURALI DELLA COMUNITÀ ZOOBENTONICA IN ALCUNE AREE DELLA LAGUNA DI VENEZIA

STRUCTURAL CHANGES OF THE ZOOBENTHIC COMMUNITY IN SOME AREAS OF THE VENICE LAGOON

Abstract

Comparisons of macrozoobenthos studies in the Venice Lagoon in three different periods during the last decade pointed out some important differences. The most relevant is the decrease of population density for polychaetes and crustaceans. Changes of the feeding guilds composition were observed too, both for crustaceans and polychaetes, in relation to changes in sediment grain size determined by prolonged mollusc fishing activity.

Key-words: *benthos, trophic levels, Lagoon of Venice.*

Introduzione

Avere a disposizione dati relativi a tre diverse campagne di studio delle comunità macrozoobentoniche di substrato mobile nella Laguna di Venezia, confrontabili come metodologie di campionamento e di *sorting,* ha consentito di fare interessanti considerazioni sulle modificazioni avvenute in tempi relativamente brevi (un decennio) nelle aree esplorate, che hanno subito in quest'ultima decade un grosso impatto dalla pesca dei molluschi. Le campagne di raccolta sono state condotte nella località di Chioggia nel '92/'93, '94/'95 e 2000/2001 e nella località di S.Angelo solo nei due ultimi periodi (Fig. 1).

Fig. 1 – Localizzazione delle stazioni di raccolta nel bacino centrale e meridionale della Laguna di Venezia.

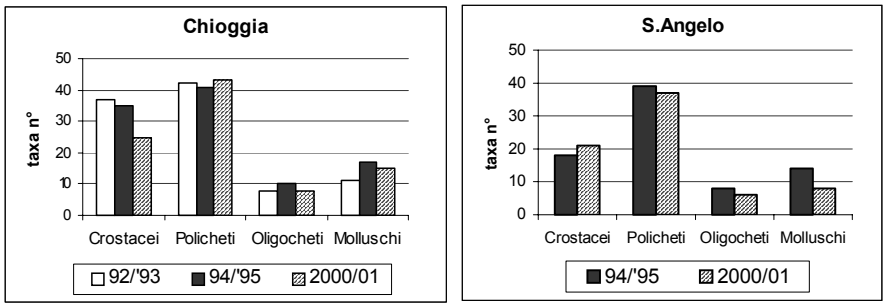
Sampling stations in the central and southern basins of the Venice Lagoon.

Materiali e metodi

Le raccolte stagionali di benthos (5 repliche per stazione) venivano eseguite con una benna Van Veen (347 cm^2 di superficie di campionatura). Altri prelievi di sedimento venivano fatti, in contemporanea alle raccolte di benthos, con un carotatore di 3,18 cm di diametro, per determinarne la granulometria (Buchanan, 1984) e il contenuto di sostanza organica (Gaudette *et al*., 1974). Le categorie trofiche per i crostacei e i policheti sono state desunte dai dati della letteratura (Fauchald e Jumars, 1979; Maurer e Leathem, 1981; Riedl, 1991; Ruffo, 1993)

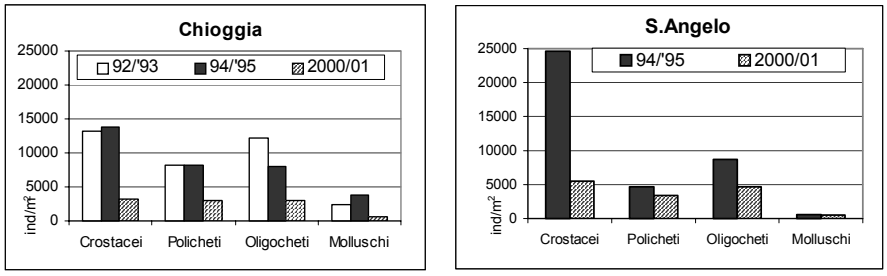
Risultati

Studi all'interno dei principali gruppi zoobentonici hanno evidenziato, oltre ad una consistente diminuizione quantitativa dei popolamenti delle singole specie, di poco variate come numero, (Figg. 2 e 3) anche un cambiamento della rappresentatività delle diverse categorie trofiche, che, nella maggior parte dei casi, ha portato ad una semplificazione della rete trofica nel suo complesso. Il confronto è stato fatto tra le due più recenti campagne di ricerca, solo per i Crostacei e i Policheti, che rappresentano i gruppi più significativi dell'intera comunità bentonica lagunare.



A B

Fig. 2 – Variazione del numero di *taxa* nelle due stazioni campionate nei diversi periodi.
Richness variation in the two sampled lagoonal areas in different periods.



A B

Fig. 3 – Variazione della densità di popolazione nelle due stazioni campionate durante le diverse campagne di ricerca.
Population density variation in the two explored areas in different periods.

A Chioggia, le componenti degli erbivori e degli onnivori, tra i Policheti, hanno subito una diminuzione come numero di specie, diminuiti anche i carnivori, mentre risultano aumentati i filtratori (Fig. 4A). Anche tra i Crostacei si osserva un aumento delle componenti dei filtratori e dei detritivori e una diminuizione del 25% degli erbivori. Un aumento della componente dei filtratori si osserva anche nella zona di S. Angelo, sia tra i Policheti che tra i Crostacei. Diminuite risultano tutte le altre componenti (Fig. 4B). Nel decennio è cambiata anche la composizione granulometrica dei sedimenti: nella località di Chioggia, nel bacino meridionale, si osserva un evidente aumento della componente sabbiosa più grossolana.

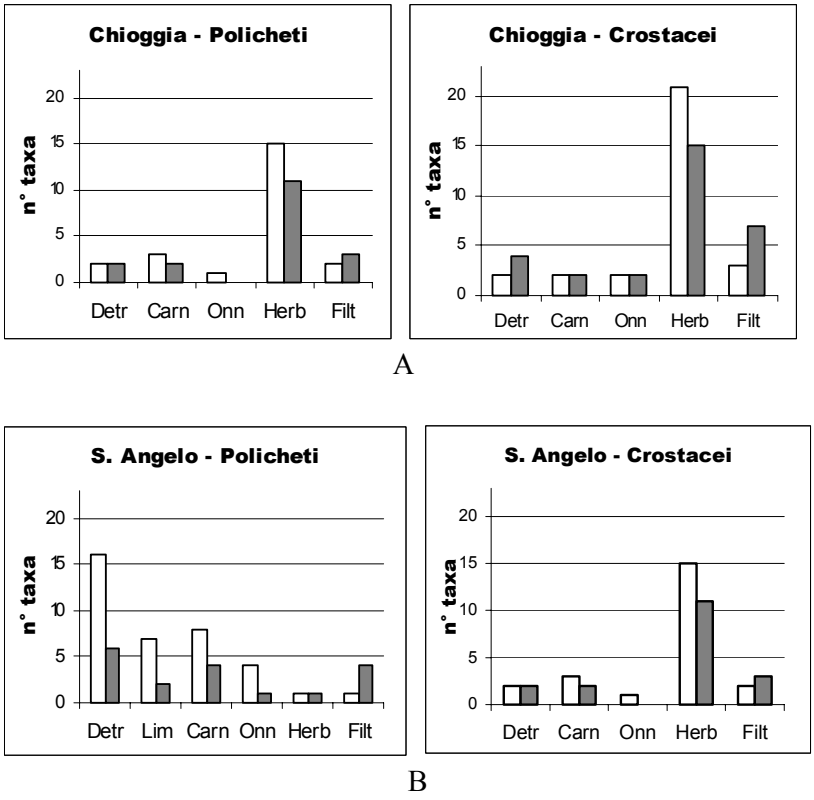
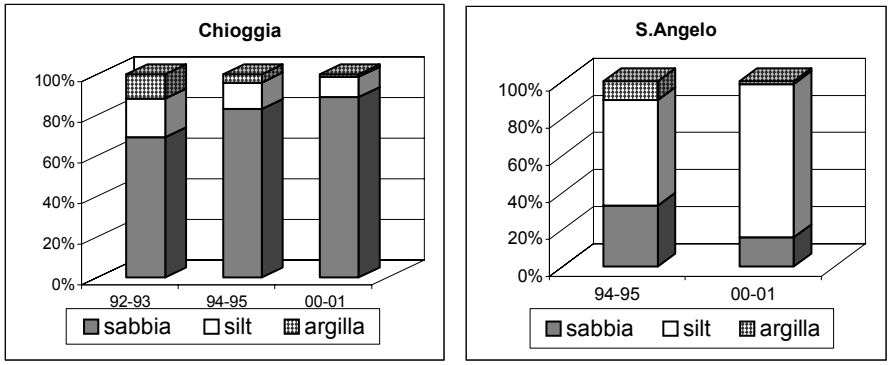


Fig. 4 – Modificazioni della rappresentatività delle diverse categorie trofiche di Policheti e Crostacei nelle due località di campionamento nelle campagne '94/'95 (bianco) e 2000/2001 (grigio).
Modification of polychaetes and crustaceans feeding guilds in the two explored areas in '94/'95 samples (white) and 2000/2001 (grey).

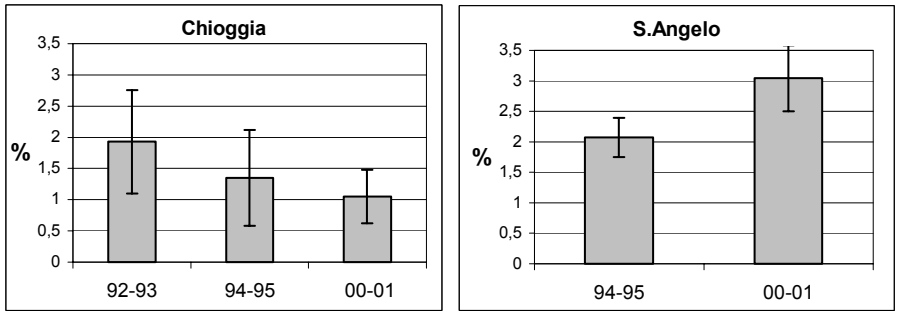
Nella località di S. Angelo, per la quale il confronto può essere fatto solo per due sole campagne di prelievo, si è verificata una situazione opposta, è aumentato il silt ed è diminuita la sabbia (Fig. 5).



A B

Fig. 5 - Modificazione della composizione granulometrica media dei sedimenti nelle due stazioni.
Mean grain size sediment modification in the two sampling stations.

A Chioggia, in relazione alla diminuizione della componente più fine dei sedimenti, diminuisce il loro contenuto medio di sostanza organica, a S. Angelo se ne registra un aumento che è da mettere chiaramente in relazione con l'aumento della componente siltosa (Fig. 6).



A B

Fig. 6 – Modificazione del contenuto medio di sostanza organica nei sedimenti nelle due stazioni campionate.
Organic matter content modification in the two explored areas.

Conclusioni

La Laguna di Venezia, come tutti gli ecotoni, è da considerarsi un ambiente soggetto a variazioni (Ravera, 2000), ma le variazioni riscontrate, soprattutto in termini di densità dei popolamenti di tutti i gruppi presenti (diminuizioni dal 20 al 75%), sono in realtà così accentuate da non potersi spiegare solo con il riferimento alla continua evoluzione di un biota soggetto all'influenza della variabilità dei fattori naturali. L'aver trovato, inoltre, a distanza di pochi anni nell'arco di un decennio, delle consistenti

modificazioni nella struttura trofica dei popolamenti bentonici può probabilmente essere messo in relazione anche con la trasformazione di un substrato che viene continuamente rimaneggiato dalle attività di pesca dei molluschi, che è responsabile anche della scomparsa dai fondali delle coperture a fanerogame, che nel bacino meridionale vanno cedendo progressivamente il posto alle macroalghe, come già avvenuto nel bacino settentrionale e centrale (Caniglia *et al.*, 1992; Curiel *et al.*, 1997).

Bibliografia

BUCHANAN J.B. (1984) – Sediment analysis. In: Holme N. & Mc Intyre A.D. (eds), *Methods for the study of marine benthos*. 2° Ed. Blackwell Sci. Pub., London: 41-65.

CANIGLIA G., BORELLA S., CURIEL D. (1992) - Distribuzione delle fanerogame marine *Zostera marina* L., *Z. noltii*, *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch. in Laguna di Venezia. *Soc. Ven. Sc. Nat. Venezia*, **17**: 137-150.

CURIEL D., RISMONDO A., SCARTON F. MARZOCCHI M. (1997) – Flowering of *Zostera marina* in the Lagoon of Venice (North-Adriatic, Italy). *Botanica marina*, **40**: 101-105.

FAUCHALD K., JUMARS P.A. (1970) – The diet of worms: a study of Polychaete feeding guilds. *Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev*., **17**: 193-284.

GAUDETTE H.E., WILSON R.F., TONER I., FOLGER D.W. (1974) – An inexpensive tritation method for determination of organic carbon in recent sediment. *J. Sed. Petr*., **44**: 249-253.

MAURER D., LEATHEM W. (1981) – Polychaete feeding guilds from Georges Bank USA. *Marine Biology*, **62**: 161-171.

RAVERA O. (2000) - The Lagoon of Venice: the result of both natural factors and human influence. *J. Limnol*., **59**: 19-30.

RIEDL R. (1991) – *Fauna e flora del Mediterraneo*. Franco Muzzio, Padova.

RUFFO S. (1993) – The Amphipoda of the Mediterranean. Part 1, 2, 3. *Memoires de l'Istitute Oceanographique*, *Fondation Albert* 1°, Prince de Monaco n° 13.

La campagna di ricerca del 2000/01 era inserita nel progetto finanziato dalla UE IMPACTO: Assessing the impact of bivalve fisheries on the benthic ecosystems of the Rua Formosa Lagoon (Portugal, Venice Lagoon (Italy), Aegean See (Kavala Greece).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 517-520

L. Castriota, M.C. Gambi*, V. Zupo*, G. Sunseri

ICRAM - STS, Via E. Amari, 124 - 90139 Palermo, Italia.
*Laboratorio di Ecologia del Benthos, Stazione Zoologica "A. Dohrn", Napoli, Italia.

STRUCTURE AND TROPHIC ECOLOGY OF A POPULATION OF *LYSIDICE NINETTA* (POLYCHAETA) ASSOCIATED TO RHODOLITHS OFF THE ISLAND OF USTICA (SOUTHERN TYRRHENIAN SEA)

STRUTTURA ED ECOLOGIA TROFICA DI UNA POPOLAZIONE DI LYSIDICE NINETTA *(POLYCHAETA) ASSOCIATA A FONDI A RODOLITI NELL'ISOLA DI USTICA (TIRRENO MERIDIONALE)*

Abstract

Population structure and trophic ecology of the polychaete Lysidice ninetta *were studied from November 1996 to June 1998 on specimens associated to rhodoliths on a soft bottom of the island of Ustica (Southern Tyrrhenian Sea). Density of the species was relatively high and the population structure was quite complex with at least two cohorts. The few large specimens and mature females collected suggest a size-constraint due to the habitat colonized. The worm's diet, studied in July and January, was dominated by rhodolith tissues and by their filamentous macroalgal epiphytes, regardless to the worm's size and period studied.*

Key-words*: Polychaeta, phytobenthos, population structure, food composition, Tyrrhenian Sea.*

Introduction

Lysidice ninetta Audouin & Milne Edwards (Polychaeta, Eunicidae) is a species largely distributed in warm and temperate waters (George & Hartmann-Schroeder, 1985; Cantone, 1993), and with a wide ecological occurrence and a burrowing habit ranging from hard bottoms (Cantone, 1993) to *Posidonia oceanica* scales (Guidetti *et al*., 1997). Information on population structure and reproductive biology of this species are poor, and in the Mediterranean the emission of gametes was observed in June and August (Fage & Legendre, 1927).

The present paper contributes data on the structure and the trophic ecology of a population of *L. ninetta*, associated to a *facies* of "free melobesiae" on a soft bottom off the Island of Ustica (Southern Tyrrhenian Sea) (Castriota *et al*., 1998, 2001).

Materials and methods

The population of *L. ninetta* was sampled by means of a van Veen grab (0.1 m^2) in three stations (up to 5 replicates for each station) located at 50 m depth, in the area between Punta Cavazzi and Punta dell'Arpa off the island of Ustica, in the following periods: November 1996, July and December 1997, January, February and June 1998. The sediment was sieved at 0.5 mm mesh, and the material was fixed in 5% formaldehyde (Castriota *et al.*, 1998). The bottom was characterized by coarse sand of biodetritic origin, and volcanic clasts, in an area subjected to strong bottom currents, and colonized by a rich flora of calcareous corallinales (rhodoliths or "prâlines") (Bressan *et al.*, 2001) of the genera *Lithophyllum*, *Lithothamnion*, *Neogoniolithon*, *Phymatolithon* and *Spongites* (Mannino *et al.*, 2002). Specimens of *L. ninetta* were collected only inside of the rhodoliths, and extracted after breaking the plant tissue. The worms

were measured using the 2nd chaetiger width as a size parameter. In females the size of eggs was also measured. Gut content analysis was performed on specimens sampled in July 1997 and January 1998, that were classified into 3 size classes: small (<0.5 mm width); intermediate (0.5-0.9 mm); large (>0.9 mm). Five individuals were investigated for each size and each season. The gut fullness index, and the mean percentage of each food item were calculated.

Results and conclusions

A total of 1006 specimens of *L. ninetta* was collected. The average density of individuals ranged from a minimum of 120 ind./m^2 in December 1997, to maxima of 310.7 ind./m^2 and 238.3 ind./m^2 in July 1997 and January 1998, respectively. The number of individuals found for each "prâline" was between 1 and 4. The worms were arranged in complex galleries into the rhodoliths, whose structure suggests that specimens actively excavated their galleries into the plant tissue.

In November 1996 and July 1997 the size/frequency distribution of the population was slightly bimodal (Fig. 1), suggesting that at least two cohorts were present. In December 1997 the smallest individuals were recorded, while in January and February 1998 a slight increase of the size was observed, although individuals larger than 1 mm were generally scarce (Fig. 1). As a whole, only 12 females were observed, 10 in July 1997 and 2 in January 1998, and they were larger than 0.8 mm width. The eggs exhibited a diameter between 90 and 180 μm.

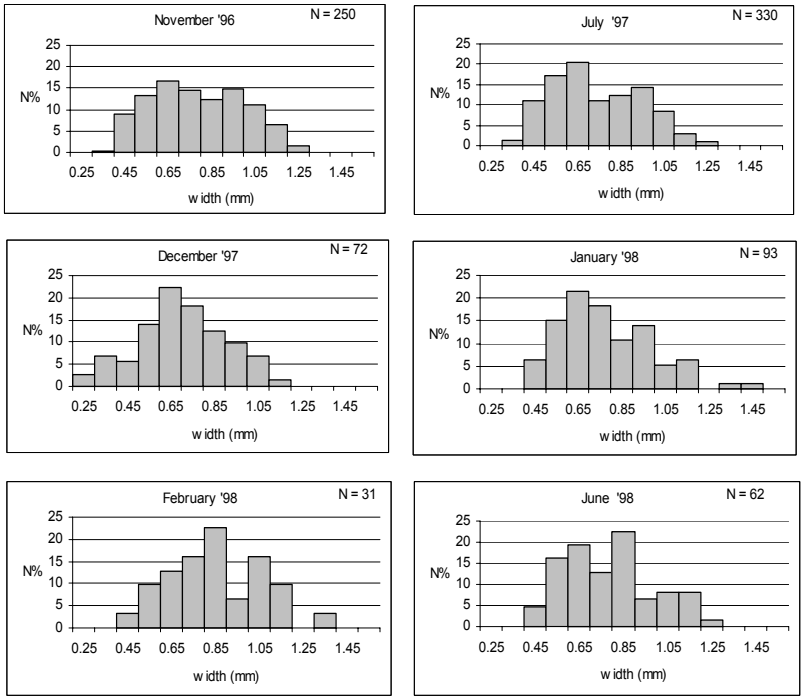


Fig. 1 – Size/frequency histograms of the *L. ninetta* population, sampled in different periods.
Istogrammi taglia/frequenza della popolazione di L. ninetta *campionata in diversi periodi.*

The analysis of gut contents showed high mean gut fullness, between 55% and 70%. The most frequent food items identified in all sizes (pooling the data of the two seasons, Tab. 1) were: corallinales, macroalgae, foraminifers, diatoms and *Posidonia oceanica* detritus. Bryozoans, calcareous spicules and sporangia were less frequent. The differences among the various sizes were modest, except for foraminifers, diatoms and *Posidonia* detritus, which exhibited lower values in the smallest size. Seasonal differences in the diet (pooling all sizes, Tab. 1) were detectable for the macroalgae, which showed higher frequency values in July, and for the *Posidonia* detritus, which was more frequent in January. However, none of the differences mentioned were significant at the t-test.

Tab. 1 – Mean and standard deviation values of the frequency of the different food items recorded in the gut of *L. ninetta* specimens of various size classes (data of the two season pooled), and in two studied seasons (data of all sizes pooled).

Medie e deviazioni standard dei valori di frequenza delle diverse categorie alimentari rinvenute nello stomaco di esemplari di L. ninetta *di diverse classi di taglia (i dati della due stagioni sono stati uniti), e nelle due stagioni studiate (i dati delle diverse taglie sono stati uniti).*

	Corallinales	Macroalgae	Foraminifers	Diatoms	Posidonia oceanica detritus	Bryozoa	Spicules	Sporangia	Gut fulness index
Small (mean)	28.0	21.3	10.7	8.4	13.0	8.7	7.5	2.2	56.7
(s.d.)	6.2	14.2	9.9	7.8	13.2	9.7	11.3	4.7	18.3
Intermediate (mean)	21.8	18.4	12.9	17.7	18.9	4.8	2.3	3.4	63.3
(s.d.)	5.8	15.1	10.2	5.3	14.7	6.4	4.8	5.4	18.5
Large (mean)	21.5	23.1	18.8	16.0	9.0	4.3	1.8	5.5	70.0
(s.d.)	6.4	6.0	9.8	8.4	9.4	7.2	3.9	6.2	24.0
July (mean)	21.1	27.6	17.4	14.0	10.2	6.3	1.7	1.9	57.2
(s.d.)	6.4	8.8	11.1	9.3	9.5	8.4	4.7	5.0	18.9
January (mean)	26.5	14.4	10.9	14.0	17.1	5.5	6.1	5.5	69.4
(s.d.)	5.9	11.7	8.5	7.1	15.1	7.6	9.4	5.4	20.8

The relatively high mean abundance values and the complex population structure, during the study period, demonstrated that the “prâlines” are colonized by *L. ninetta* in a stable way. The low occurrence of individuals of large size (>1 mm) and of females is probably due to the strong size limitation operated by the colonized rhodoliths. This limitation does not allow a good reconstruction of the life cycle and of the population dynamics of the species. However, our observations, integrated with literature data (Fage & Legendre, 1927), suggest that reproduction takes place in summer, followed by a period of recruitment, probably indicated in our samples by occurrence of the smallest individuals in December 1997 (Fig. 1). The diet consists mainly of rhodolith tissues and of macroalgal epiphytes, regardless of size and season. This demonstrates a strong herbivorous tendency of this species, although some animal items are present in the diet.

The data collected are also in accordance with those recorded in populations of *L. ninetta* associated to *P. oceanica* scales, where the species showed a size range comparable to that found in the "prâlines" and a low presence of females (Guidetti *et al*., 1997; Gambi & Cafiero, 2001). The diet of specimens in *P. oceanica* was also dominated by live and dead tissues of the phanerogam (Gambi *et al.*, 2000).

In conclusion, *L. ninetta* confirms to have a herbivorous habit, and be specialized to colonize plant microhabitats scarcely exploited by other cryptic forms and herbivores. The boring action due to the trophic activity, and the production of galleries for cryptic purposes, may have an important role in the fragmentation and the bio-demolition of the rhodoliths. This role could be likely played by *L. ninetta* also in other calcareous concretions (e.g., mäerl, trottoirs of *Lithophyllum* and coralligenous formations), and more attention should paid to this species in the framework of future studies on the dynamic of erosion of these habitats (Bressan *et al.*, 2001, Calcinai *et al.*, 2001).

Acknowledgements

We wish to thank A.M. Mannino and A.M. Beltrano for information on the composition and structure of the rhodoliths in the study area. A. Esposito and A. Ulisse helped in identification of macroalgal items in the gut content. Prof. G. Bressan kindly commented the manuscript.

References

BRESSAN G., BABBINI L., GHIRARDELLI L., BASSO D. (2001) - Bio-costruzione e bio-distruzione di Corallinales nel Mar Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 131-174.

CALCINAI B., BAVESTRELLO G., CATTANEO-VIETTI R., CERRANO C., SARA' M. (2001) - Il ruolo dei poriferi nei processi bioerosivi dei substrati organogeni. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 181-190.

CANTONE G. (1993) - Censimento dei policheti dei mari italiani: Eunicidae Berthold, 1827. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem., Serie B*, **100**: 229-243.

CASTRIOTA L., SUNSERI G., VIVONA P. (1998) - Primi dati sui popolamenti zoobentonici dei fondi mobili dell'area compresa tra Punta Gavazzi e Punta dell'Arpa (Isola di Ustica, Tirreno Meridionale). *Biol. Mar. Medit.*, **5** (1): 530-533.

CASTRIOTA L., BELTRANO A.M., GIAMBALVO O., VIVONA P., SUNSERI G. (2001) - A one-year study of the effects of a hyperhaline discharge from a desalination plant on the zoobenthic communities in the Ustica Island Marine Reserve (Southern Tyrrhenian Sea*). Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **36**: 369 pp.

FAGE L., LEGENDRE R. (1927) - Pêche planctonique à la lumière effectuée à Banyuls-sur-Mer et à Concarneau: I Annélides Polychètes. *Arch. Zool. Exp. Gener*., **67**: 23-222.

GAMBI M.C., ZUPO V., LORENTI M. (2000) - Borer organisms of the *Posidonia oceanica* scales: trophic role and ecological implications for the ecosystem. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 253-261.

GAMBI M.C., CAFIERO G. (2001) - Functional diversity in the *Posidonia oceanica* ecosystem: an example with polychaete borers of the scales. In: Faranda F.M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Mediterranean Ecosystems: structures and processes*. Springer-Verlag, Italy: 399-405.

GEORGE J.D., HARTMANN-SCHROEDER G. (1985) - *Polychaetes: British Amphinomida, Spintherida and Eunicida.* In: Kermack D.M., Barnes R.S.K. (eds), Published for The Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-Water Sciences Association by E.J. Brill and W. Backhuiys, **32**: 221 pp.

GUIDETTI P., BUSSOTTI S., GAMBI M.C., LORENTI M. (1997) - Invertebrate borers in *Posidonia oceanica* scales: relationships between their distribution and lepidochronological parameters. *Aquat. Bot.*, **58**: 151-164.

MANNINO A.M., CASTRIOTA L., BELTRANO A.M., SUNSERI G. (2002) - The epiflora of a rhodolith bed from the Island of Ustica (Southern Tyrrhenian Sea). *Flora Mediterranea*, **12**: 11-28.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 521-524

D. Casu, A. Floris, L. Rapposelli, A. Castelli*

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari,
Corso Margherita di Savoia, 15 - 07100 Sassari, Italia.
*Dip. Sci. Uomo e Ambiente, Univ. Pisa, Italia.

POLICHETOFAUNA DI FONDI MOLLI DELLA GROTTA DELLA GALATEA (SARDEGNA NORD-OCCIDENTALE) - INDAGINE PRELIMINARE

PRELIMINARY DATA ON SOFT-BOTTOM POLYCHAETOFAUNA OF GALATEA SUBMARINE CAVE (NW SARDINIA)

Abstract

Spatial distribution of polychaetofauna along the internal/external gradient in a submarine cave has been studied. Overall 142 polychaetes has been found: Paradoneis ilvana, Protodorvillea kefersteini *and* Pisione remota*, typically interstitial elements, was the most abundant species. The most abundantl species occurred along the whole analysed gradient of the submarine cave.*

Key-words: *polychaetes, cave, Sardinia.*

Introduzione

L'interesse degli ecologi marini per le grotte sottomarine deriva dal fatto che i popolamenti presenti sono influenzati dai pronunciati gradienti ambientali su scale spaziali relativamente ridotte (Riedl, 1966; Ott e Svoboda, 1976; Benedetti-Cecchi *et al*., 1996).

Lungo il tratto costiero a falesia tra Capo Galera e Punta Giglio nell'Area Marina Protetta di prossima istituzione di Capo Caccia, si trovano numerose grotte sommerse ed emerse (AA.VV. 1991, Russino e Chessa, 1989), recentemente censite (Chessa *et al*., 1999), alcune delle quali molto frequentate soprattutto durante il periodo estivo.

Nel presente lavoro viene analizzata la distribuzione spaziale della polichetofauna lungo il gradiente diretto dall'esterno verso l'estremità interna di una delle grotte marine sommerse presenti in tale area, denominata Grotta della Galatea o del Tunnel.

Materiali e metodi

La grotta della Galatea (44°35'32'' N; 8°13'40'' E) si estende per circa 60 m all'interno della falesia. L'ingresso è situato alla profondità di 12m, con un'apertura molto ampia che consente il facile accesso ai subacquei che sono numerosi soprattutto durante il periodo estivo. Il fondale, prevalentemente sabbioso, ha una profondità che varia dai 12 m all'entrata fino ad 1m nel tratto terminale; la granulometria del substrato tende ad essere più grossolana verso il fondo della grotta, a causa dell'idrodinamismo che si fa sentire maggiormente nella parte più interna dove il restringimento ad imbuto amplifica l'effetto della risacca.

I campionamenti sono stati condotti nel mese di maggio del 2001 in quattro stazioni situate a 0, 10, 20, 30 metri dall'imboccatura della grotta, per mezzo di carotatori manuali in PVC ($\varnothing = 8$ cm; vol. $\cong 0{,}5$l) utilizzati da operatori subacquei. Per ciascuna stazione sono state prelevate tre repliche ed il materiale raccolto, è stato fissato in for-

malina al 4%. In laboratorio i campioni, non setacciati, sono stati smistati e sono state identificate le specie presenti. Sono stati calcolati i seguenti parametri strutturali: N° totale di specie (S); N° totale di individui (N); indice di Shannon-Wiener (H'); indice di Margalef (d) e l'indice di Pielou (J). I campioni sono stati ordinati tramite multidimensional scaling basato sulla matrice di similarità utilizzando l'indice di Bray-Curtis (Clarke e Warwick, 1994).

Risultati e conclusioni

Complessivamente sono stati rinvenuti 142 policheti appartenenti a 31 specie (Tab. 1); i paraonidi sono la famiglia più abbondante con 44 individui e le specie più frequenti sono *Paradoneis ilvana* (23), *Protodorvillea kefersteini* (21) e *Pisione remota* (18). Queste specie appaiono distribuite lungo tutto il gradiente preso in esame, la dimensione del corer utilizzato può comunque aver portato a sottovalutare la componente polichetologica di maggiori dimensioni.

Tab. 1 – Lista delle specie rinvenute.
List of the sampled species.

Aonides oxycephala (M. Sars)	*Parapionosyllis minuta* (Pierantoni)
Aricidea catherinae Laubier	*Pholoe synophthalmica* Claparède
Aricidea cerrutii Laubier	*Pisione remota* (Southern)
Capitomastus minimus (Langerhans)	*Plakosyllis brevipes* Hartmann-Schoeder
Caulleriella bioculata (Keferstein)	*Polyophthalmus pictus* (Dujardin)
Dispio uncinata Hartman	*Protodorvillea kefersteini* (Mc Intosh)
Drilonereis filum (Claparède)	*Schistomeringos neglectus* (Fauvel)
Hesiospina cfr *similis* (Hessle)	*Schistomeringos* sp. A
Mysta picta (Quatrefages)	*Scolelepis* sp
Mystides limbata Saint-Joseph	*Sphaerosyllis taylori* Perkins
Ophiodromus agilis (Ehlers)	Spionidae nc
Ophiodromus pallidus (Claparède)	*Syllides edentulus* Claparède, 1868
Ophryotrocha sp	*Syllis variegata* Grube
Paradoneis armata Glémarec	*Thalenessa dendrolepis* (Claparède)
Paradoneis ilvana Castelli	*Xenosyllis scabra* (Ehlers)
Paradoneis lyra (Southern)	

L'analisi dei parametri strutturali (Tab. 2) mostra come nelle tre repliche della stazione situata all'ingresso della grotta, siano presenti il maggior numero di individui e il maggior numero di specie. Il popolamento di tale stazione appare inoltre abbastanza omogeneo dal punto di vista quantitativo e, anche se in misura minore, anche da un punto di vista qualitativo (Fig. 1). Spostandosi verso l'interno della grotta, la densità del popolamento tende a diminuire e le repliche di ciascuna stazione, almeno nella seconda e nella quarta stazione, tendono ad essere qualitativamente più disomogenee (Fig. 1). Nella stazione più interna della cavità si osserva di nuovo una tendenza all'aumento sia di specie sia di individui. La presenza di sedimento più grossolano e di detrito di *Posidonia oceanica* che si accumula nel tratto più interno della grotta, in seguito agli

effetti del moto ondoso che si propaga dando origine alla formazione di ripple marks, può essere alla base di questa tendenza.

Tab. 2 – Valori dei parametri strutturali nei diversi campioni analizzati.
Values of the structural parameters in the samples analysed.

	Repl.	S	N	d	H'	J
	a	9	29	2,38	1,83	0,833
0m	b	6	18	1,73	1,5	0,839
	c	12	30	3,23	2,13	0,858
	a	3	5	1,24	0,95	0,865
10m	b	5	5	2,49	1,61	1
	c	5	9	1,82	1,52	0,946
	a	2	3	0,91	0,637	0,918
20m	b	3	3	1,82	1,1	1
	c	4	4	2,16	1,39	1
	a	7	16	2,16	1,75	0,899
30m	b	3	7	1,03	0,796	0,725
	c	5	5	2,49	1,61	1

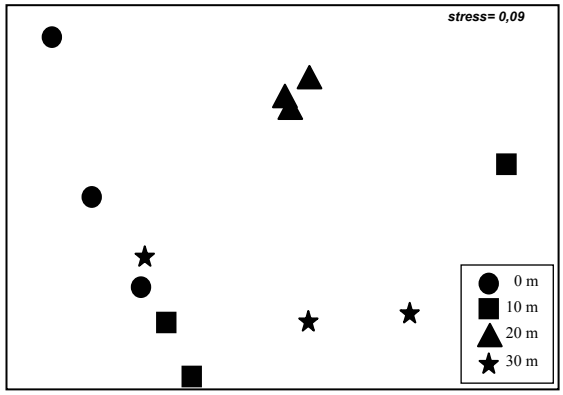


Fig. 1 – Ordinamento dei punti stazione mediante Multidimensional scaling (MDS).
Multidimensional scaling (MDS) ordination of the sampling points.

Bilbliografia

AA.VV. (1991) - L'ambiente sommerso. In: *Falesie, grotte e praterie sommerse*. Amm. Prov. di Sassari, A. Pizzi Ed.: 54-92.

BENEDETTI-CECCHI L., AIROLDI L., ABBIATI M., CINELLI F. (1996) - Exploring the causes of spatial variation in assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **208**: 153-168.

CHESSA L.A., VITALE L., SCARDI M., GUTIERREZ M. (1999) - Censimento preliminare delle grotte sommerse del litorale di Alghero (N.W. Sardinia) *Biol. Mar. Medit*., **6**: 474-479.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Enviroment Research Council*, Plymouth U.K.: 144 pp.

OTT A., SVOBODA A. (1976) - Sea caves as model systems for energy flow studies in primari hard bottom communities. *P.S.Z.N.I.: Mar. Ecol.*, **40**: 477-485.

RIEDL R. (1966) - *Biologie der Meereshohlen*. Paul Parey, Hamburg: 636 pp.

RUSSINO G., CHESSA L.A. (1989) – Breve descrizione della costa e del mare di Alghero. In: *Vita sotto il mare di Alghero.* La Celere Ed., Alghero: 17-26.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 525-528

D. Casu, I. Milella

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università di Sassari,
C.so Margherita di Savoia, 15 - 07100 Sassari, Italia.

POLICHETOFAUNA DI FONDI MOLLI DELLE ISOLE SETTENTRIONALI DELL'ARCIPELAGO DI LA MADDALENA

SOFT-BOTTOM POLYCHAETOFAUNA OF LA MADDALENA ARCHIPELAGO

Abstract

Polychaetes from northern islands of La Maddalena National Park have been studied; 70 species, mostly represented by interstitial forms, of which Ophiodromus flexuosus*,* Parapionosyllis elegans *and* Pettiboneia urciensis *resulted the most abundant species. The polychaete community was rich and diversified, without opportunistic species indicators of organic pollution.*

Key-words: *polychaeta, La Maddalena Archipelago, Tyrrhenian Sea.*

Introduzione

Nell'ambito di una serie di ricerche mirate alla conoscenza dei popolamenti bentonici dell'area compresa nel Parco Nazionale dell'Arcipelago di La Maddalena (Casu e Castelli, 2000), è stato approfondito lo studio delle comunità bentoniche di fondi molli ed in particolare della polichetofauna presente nell'area compresa fra le isole di Santa Maria, Budelli e Razzoli, le tre isole più settentrionali dell'arcipelago. Si tratta di una zona che, soprattutto nel periodo estivo, sopporta, a causa delle sue peculiari caratteristiche paesaggistiche, un consistente impatto antropico per lo stazionamento di numerosi natanti da diporto e per un elevato numero di presenze.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati durante il mese di luglio 2000 nei seguenti siti: 1) Cala di Santa Maria (Sma), 2) di fronte agli isolotti di Paduleddi (Pad) e 3) Isola di Budelli, Spiaggia del Cavaliere, (Cav). In ogni sito i prelievi sono stati effettuati in due stazioni distanti circa 150 m; per ogni stazione sono state effettuate tre repliche. I prelievi sono stati effettuati alla profondità di 5 m, utilizzando carotatori in PVC ($\varnothing$ = 8 cm; vol. $\cong$ 0,5l), manovrati da operatori subacquei. Nell'area in questione sono presenti affioramenti rocciosi intercalati a fondi molli; questi ultimi, nei quali sono stati effettuati i campionamenti, sono costituiti in alcuni casi, solo da sabbie nude a granulometria fine, ed in altri da un mosaico di sabbie e praterie a *Posidonia oceanica* discontinue. Il sito di Santa Maria e quello della Spiaggia del Cavaliere sono localizzati nei pressi di spiagge relativamente ampie, quello di Paduleddi in una zona antistante un tratto di costa prevalentemente rocciosa ricco di isolotti affioranti. Il materiale raccolto in ogni carotaggio è stato fissato in campo con formalina al 4%; successivamente, senza setacciare il materiale, la polichetofauna, è stata separata ed è stata determinata, quando possibile, a livello di specie. Sono stati calcolati i seguenti parametri strutturali: N° totale di specie (S); N° totale di individui (N); indice di Shannon-Wiener (H'); indice di Margalef (d) e l'indice di Pielou (J). I campioni sono stati ordinati tramite

multidimensional scaling basato sulla matrice di similarità utilizzando l'indice di Bray-Curtis (Clarke e Warwick, 1994).

Risultati e conclusioni

Nei tre siti prescelti sono stati rinvenuti in totale 628 policheti appartenenti a 70 specie e a 22 famiglie. Tra le 70 specie, ben 27 appartengono ai sillidi, famiglia ricca di forme interstiziali (San Martin, 1984); le specie più abbondanti sono *Ophiodromus flexuosus* (103), *Parapionosyllis elegans* (34) e *Pettiboneia urciensis* (27). Il popolamento del sito di Paduleddi risulta quello più abbondante sia come numero di specie (20) sia di individui (309), circa la metà del totale, come riportato in Tab. 1. La dimensione del corer utilizzato può comunque aver portato a sottovalutare la componente polichetologica di maggiori dimensioni.

Tab. 1 – Valori dei parametri strutturali nei campioni anailzzati.
Values of the tructural parameters in the analysed samples.

	Repl.	S	N	d	H'	J
Pad	1	17	69	3.78	1.98	0.699
	2	13	36	3.35	1.82	0.711
	3	16	39	4.09	2.31	0.833
	4	17	51	4.07	2.51	0.885
	5	17	54	4.01	2.37	0.836
	6	20	60	4.64	2.67	0.891
Sma	1	13	67	2.85	1,86	0.723
	2	14	36	3.63	2.28	0.862
	3	7	34	1.7	1.46	0.751
	4	9	13	3.12	2.14	0.973
	5	9	19	2.72	1.94	0.883
	6	10	13	3.51	2.2	0.958
Cav	1	13	26	3.68	2.26	0.88
	2	9	11	3.34	2.15	0.977
	3	7	34	1.7	1.12	0.576
	4	11	29	2.97	2.08	0.866
	5	9	12	3.22	2.09	0.953
	6	11	25	3.11	2.11	0.88

Le caratteristiche del substrato, un mosaico di rade chiazze di prateria di *Posidonia oceanica* e di catini di sabbia con diversa granulometria, favoriscono la presenza di un elevato numero di specie in questo sito.

Le repliche relative al sito di Paduleddi appaiono chiaramente raggruppate e l'ordinamento dei dati mette in rilievo una maggiore omogeneità nei campioni raccolti in questo sito, rispetto a quanto rilevato a Santa Maria e alla Spiaggia del Cavaliere (Fig. 1). Negli altri siti le repliche prelevate in ciascuna delle due stazioni appaiono abbastanza raggruppate fra loro, ma separate, anche notevolmente (Spiaggia del Cavaliere) da quelle relative all'altra stazione del medesimo sito.

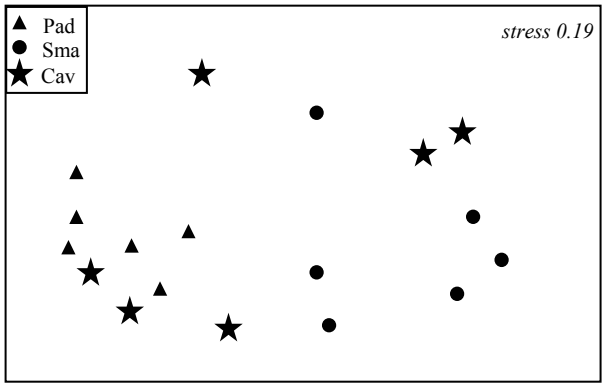


Fig. 1 – Ordinamento MDS dei campioni di polichetofauna analizzati nei fondi molli di La Maddalena.
Multidimensional scaling of the polychaete samples analysed in the soft bottoms at La Maddalena.

Il mosaico di popolamenti riscontrato appare legato alla notevole disomogeneità del substrato precedentemente descritta che si esprime a piccola scala spaziale soprattutto a Paduleddi favorendo la presenza di un elevato numero di specie e di individui, distribuiti in maniera relativamente omogenea; nelle altre aree, adiacenti ad ampie spiagge, le caratteristiche del substrato si mantengono omogenee in spazi maggiori e, probabilmente, le differenze osservate tra le stazioni sono legate alla loro localizzazione su scala spaziale leggermente più ampia.

L'assenza di specie indicatrici di inquinamento organico fa pensare ad una scarsa influenza dell'impatto antropico che si verifica in tale area specialmente nella stagione estiva, con particolare rilevanza in corrispondenza dei siti della Spiaggia del Cavaliere e, soprattutto, di Santa Maria. Un periodico controllo delle caratteristiche delle comunità bentoniche in tutta l'area, eventualmente esteso anche ad altre aree di elevato interesse naturalistico presenti nel Parco Nazionale di La Maddalena, mediante adeguati programmi di monitoraggio si ritiene comunque di notevole importanza (Castelli *et al*., 1999; Floris *et al*., 2001).

Bibliografia

CASTELLI A., CURINI-GALLETTI M.C., FLORIS A., MALTAGLIATI F., CRISTO B., COSSU A., CECCHERELLI G. (1999) - *Indagine sull'area interessata dalla posa di cavi elettrici ENEL nella tratta Porto Rafael- La Maddalena.* Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università degli Studi di Sassari.

CASU D., CASTELLI A. (2000) - *Analisi della comunità zoobentonica di fondi molli delle isole settentrionali del Parco Nazionale di La Maddalena*. Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università degli Studi di Sassari.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Enviroment Research Council*, U.K.: 144 pp.

FLORIS A., CASU D., FRONTEDDU M.G., MALTAGLIATI F., CASTELLI A., (2001) - Indagine sulle comunità bentoniche di un'area destinata alla posa di un elettrodotto nella Sardegna nord-orientale. *Riassunti XI Congresso S.It.E*., Sabaudia: 155 pp.

SAN MARTIN G. (1984) - *Estudio biogeografico, faunistico y sistematico de los poliquetos de la familia silidos (Syllidae: polychaeta) en Baleares*. Tesis doctoral. Editorial de la Universidad Complutense de Madrid: 187 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 529-531

G. Ceccherelli

Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale, Via F. Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.

EFFETTO DELL'HABITAT SULLA VARIABILITA' SPAZIALE E TEMPORALE DELLE MACROALGHE NELLA LAGUNA DI S'ENA ARRUBIA (SARDEGNA CENTRO-OCCIDENTALE)

HABITAT EFFECT ON SPATIO-TEMPORAL VARIABILITY OF MACROALGAE IN S'ENA ARRUBIA LAGOON (CENTRAL-WESTERN SARDINIA)

Abstract

*Spatio-temporal variability of macroalgal biomass as function of the habitat (*Ulva *cfr*. laetevirens *and* Enteromorpha flexuosa*) has been investigated from April to September 2001 in S'Ena Arrubia lagoon. A significant effect of the habitat (costal, internal and polichete reefs) has been found. A small spatial as well temporal scale of sampling is indicated for future quantification of macroalgal biomass in the Lagoon.*

Key-words: Enteromorpha, *lagoon,* Ulva, *variability.*

Introduzione

Strategie di campionamento per la quantificazione dell'abbondanza macroalgale in laguna sono da tempo oggetto di studio, data la variabilità d'abbondanza e di distribuzione (Sfriso *et al.*, 1991). In questo lavoro la variabilità spaziale e temporale su piccola scala è stata stimata per le principali specie macroalgali presenti nella laguna di S'Ena Arrubia (Sardegna centro-occidentale). Le condizioni eutrofiche di questo sito determinano ormai da anni la fioritura stagionale di macroalghe. Le specie dominanti sono le opportuniste *Ulva* cfr. *laetevirens*, Areschoug ed *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh capaci di accrescersi velocemente, di assorbire e immagazzinare risorse disponibili occasionalmente. Esse presentano una gran proporzione di individui galleggianti rispetto ai bentonici fissi al substrato duro (roccia, concrezioni calcaree di policheti o conchiglie) che provengono dal distacco del tallo o da parti di esso dalle forme bentoniche (Hawes e Smith, 1995).

Questo lavoro ha lo scopo di valutare le variazioni della biomassa di queste specie in relazione ai diversi habitat della laguna: costiero, interno e concrezioni calcaree di policheti tubicoli (*Ficopomatus enigmaticus, Hydroides elegans* e *Hydroides dianthus*) nonché di valutare l'abbondanza sia della forma bentonica che galleggiante di queste specie.

Materiali e metodi

La laguna di S'Ena Arrubia, situata lungo la costa occidentale della Sardegna centrale (39°83' N e 8°67' E), ha una profondità di 0,4 m e un'estensione di 2 km^2. I campionamenti sono stati effettuati in quattro date scelte a random da aprile a settembre 2001. Le macroalghe, *Ulva laetevirens* ed *Enteromorpha flexuosa*, sono state prelevate in quadrati 40 × 40 cm. Per ogni habitat sono state scelte tre aree e in ognuna di queste sono state effettuate tre repliche. Per ogni data di campionamento è stato raccolto un totale di 27 campioni. In laboratorio dopo aver identificato le specie è stata misurata la biomassa come peso secco.

Risultati e conclusioni

I risultati hanno evidenziato una variabilità significativa della biomassa di queste specie a seconda dell'habitat e della data di campionamento. L'abbondanza delle specie esaminate segue un andamento temporale che rispecchia quello atteso secondo i dati della letteratura (*e.g.* Israel *et al.*, 1995; Hernández *et al.*, 1997; Menéndez e Comín, 2000). Le forme galleggianti sono state abbondanti a giugno e a luglio. In queste date è stata identificata un'alta eterogeneità tra aree appartenenti allo stesso habitat (Fig. 1). Le condizioni meteorologiche, come il vento e le correnti, determinano infatti una dispersione non omogenea nella laguna dei talli galleggianti. Essi, in poche ore, possono venire accumulati e rimossi dalle stesse zone costiere a seconda della direzione dei venti. L'habitat costiero può essere pertanto considerato molto effimero. Nell'interno della laguna il disegno di campionamento utilizzato ha permesso di ritrovare forme solamente nelle date in cui la proliferazione algale era massima. Nelle altre date di campionamento la presenza occasionale delle forme galleggianti disperse in questo habitat non è stata rilevata. Sulle concrezioni calcaree di policheti sono state raccolte tutte forme fisse al substrato.

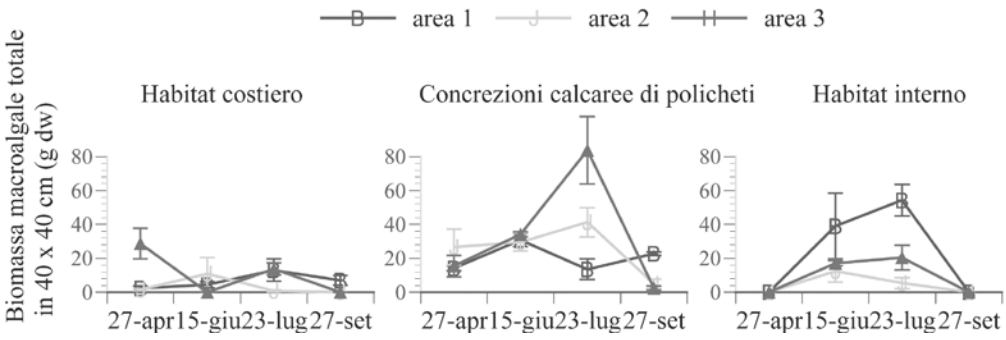


Fig. 1 – Variazione della media (±ES) della biomassa totale macroalgale nella laguna di S'Ena Arrubia da aprile a settembre 2001 nei tre habitat considerati (costiero, concrezioni calcaree e interno alla laguna).

Mean (±SE) of total macroalgal biomass from April to September 2001 in S'Ena Arrubia lagoon in the three habitats considered (costal, internal and polichete reefs).

I risultati ottenuti indicano la necessità, per una corretta quantificazione della presenza in laguna di specie come *Ulva* spp. ed *Enteromorpha* spp., di prendere in esame la biomassa delle forme galleggianti come di quelle fisse al substrato. Inoltre, dovrebbero essere adottati disegni di campionamento gerarchico a scala fine in grado di rilevare differenze tra aree della stessa laguna e tra periodi molto vicini in cui un evento meteorologico determina la dispersione delle forme galleggianti.

Bibliografia

HAWES I., SMITH R. (1995) – Effect of current velocity on the detachment of thalli of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) in a New Zealand estuary. *J. Phycol.,* **31**: 875-880.

HERNÁNDEZ I., PERALTA G., PÉREZ-LLORÉNS J.L., VERGARA J.J. (1997) – Biomass and Dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones river estuary. *J. Phycol.,* **33**: 764-772.

ISRAEL A.A., FRIEDLANDER M., NEORI A. (1995) – Biomass Yeld, Photosynthesis and morphological expression of *Ulva lactuca. Bot. Mar.,* **38**: 297-302.

MENÉNDEZ M., COMIN F.A. (2000) – Spring and Summer proliferation of floating macroalgae in a Mediterranean coastal Lagoon (Tancada Lagoon, Ebro Delta, NE Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **51**: 215-226.

SFRISO S.A., ROCCANELLI S., PAVONI B., MARCOMINI A. (1991) – Sampling strategies for measuring macroalgal biomass in the shallow waters of the Venice Lagoon. *Environmental Technology,* **12**: 263-269.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 532-534

S. Como, C. Lardicci

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via A. Volta, 6 – 56126 Pisa, Italia.

INFLUENCE OF EPIBENTHIC PREDATORS ON ACTIVITY OF A BURROWING SHRIMP, *UPOGEBIA PUSILLA* (PETAGNA), IN A MEDITERRANEAN INTERTIDAL MUDFLAT

EFFETTO DEI PREDATORI EPIBENTONICI SULLA ATTIVITA' DI UPOGEBIA PUSILLA *(PETAGNA), IN UN BACINO SALMASTRO MEDITERRANEO*

Abstract

The effect of epibenthic predators on activity of a burrowing shrimp, Upogebia pusilla *(Petagna) (Crustacea, Decapoda, Thalassinidea), was investigated in a brackish mudflat during the warm season using an exclusion experiment by caging. The results showed that the predation by epibenthic organisms affects the burrowing activity of* U. pusilla*. In addition, the importance of adults and/or larger species rather than juveniles and/or smaller sizes of epipredators in influencing the activity of* U. pusilla, *was highlighted.*

Key-words: *cage, predation, soft bottoms,* Upogebia pusilla*, burroning shrimp.*

Introduction

Thalassinid shrimps (Crustacea, Decapoda, Thalassinidea) are burrowing decapod crustaceans and form an important component of many temperate and tropical marine benthic assemblages in intertidal and subtidal soft bottoms (Posey *et al*., 1991). Thalassinideans depend on burrows for shelter, feeding, reproduction and protection from predators (Coelho *et al*., 2000). Although laboratory and field observations suggest that Thalanassinideans may display behaviors that make them susceptible to predation by fishes and crabs (Posey 1986, Hall-spencer & Atkinson, 1999), the processes that influence the burrowing activity and distribution of these organisms have been poorly investigated. This study examines whether predation by epibenthic predators influences the burrowing activity of a Thalassinidean burrowing shrimp, *Upogebia pusilla* (Petagna) in a tide flat, on the north coast of the Island of Elba (western Mediterranean), during the warm season. In particular, the hypothesis that burrowing activity increases when predation is reduced, has been examined using a caging experiment. Furthermore, the burrowing activity has been compared under cages constructed using two different mesh sizes in order to evaluate the consistency of results among different exclosures.

Materials and methods

A caging experiment was performed from August 3th 2000 to September 28th 2000. Three treatments were used: exclusion cage (E) (plots from which epibenthic organisms were excluded), partial cage (PC) (control for unwanted effects of the cages) and natural control (N). The cages (35 cm × 35 cm × 13 cm) were constructed using two different mesh sizes, to evaluate the effect of different sizes of epipredators: the smallest mesh (S = 0.2 cm) allows a complete exclusion; the larger one (L = 1.2 cm) allows the exclusion of the epipredators larger than 1.2 cm. Three unvegetated sites (20 × 20 m)

were selected randomly and spaced 20 m apart. In each site, exclusion cages (E), constructed using the two different meshes (ES, EL), partial cages (PCS, PCL), and a natural control (N) were replicated randomly three times at low tide. Burrow counts were adopted as an estimate for the activity of the mud shrimp *Upogebia pusilla*, according to the literature (Dworschak, 1983, Posey, 1986, Berkenbush *et al*., 2000). Prior to start the experiment and at the end of the experiment, during low tide, the number of burrow openings was recorded for each plot. Densities of *U. pusilla* burrow openings, prior to start the experiment and at the end, were analysed separately with a 2-factor mixed-model analysis of variance (ANOVA) with: "Site" (3 levels; random and orthogonal), and "Exclusion treatments" (3 levels per each; fixed and orthogonal).

Results

Analyses of Variance, prior to start the experiment, showed differences only among *sites* ($F=9.71$, $p<0.00$, 2:30 d.f), while at the end of the experiment, significant differences among *treatments* ($F=10.18$, $p<0.01$, 2:8 d.f.) were found, with a significant increase of burrow openings inside the exclusion cages (ES, EL), compared to (PCS, PCL, N) (Fig. 1). Moreover, no differences were recorded inside the partial cages (PCS, PCL) and natural controls (N) indicating that the activity of *U. pusilla* was not influenced by the structure of the cage used. In addition, although the burrow openings mean value increased inside the exclusion cages constructed with small mesh (37.2) more than the exclusion cages constructed with large mesh (32.7), no significant differences were found between the two types of complete cages used (ES, EL), highlighting the potential importance of larger and/or adult sizes rather than smaller and/or juveniles epipredators influencing the activity of *U. pusilla* (Fig. 1).

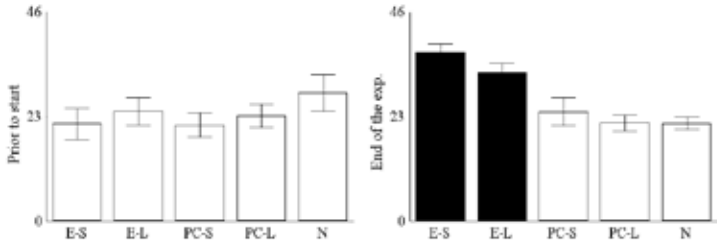


Fig. 1 – Mean (±SE, n=9) of the number of burrow openings from each treatment of the experiment. Black columns indicate significant different values (2-way ANOVA, $p<0.01$).
Media (±SE, n=9) del numero di aperture per ciascun trattamento. Le colonne nere indicano i valori significativamente diversi (ANOVA a 2 vie, p<0.01).

Conclusions

Epibenthic predators affect the burrowing activity of *U. pusilla*, in this Mediterranean brackish mudflat, over local spatial scales and during warm period, in accordance to Posey (1986) that found an increase of burrow openings of *Callianassa californiensis* (Dana), in an intertidal flat, following an exclosure, during summer, in an estuarine area

located along the southern Oregon coast. Future investigations should verify the effect of epipredators on these organisms over larger spatial scales and in other seasons.

References

BERKENBUSH K., ROWDEN A.A. (2000) - Factors influencing sediment turnover by the burrowing ghost shrimp *Callianassa filholi* (Decapoda: Thalassinidea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **238**: 283-292.

COELHO V.R., COOPER R.A., RODRIGUES S.A. (2000) - Burrow morphology and behavior of the mud shrimp *Upogebia omissa* (Decapoda: Thalassinidea: Upogebiidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **200**: 229-240.

DWORSCHAK P.C. (1983) - The biology of Upogebia pusilla (Petagna) (Decapoda, Thalassinidea) I. The Burrows. P.S.Z.N.I. *Marine Ecology*, **4** (1): 19-43.

HALL-SPENCER J.M., ATKINSON R.J.A. (1999) - *Upogebia deltatura* (Crustacea: Thalassinidea) in Clyde Sea mearl beds, Scotland. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* **79**: 871-880.

POSEY M.H. (1986) - Predation on a burrowing shrimp: distribution and community consequences. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **103**: 143-161.

POSEY M.H., DUMBAULD B.R., ARMSTRONG D.A. (1991) - Effects of a burrowing mud shrimp, *Upogebia pugettensis* (Dana), on abundances of macro-infauna. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **148**: 283-294.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 535-538

M. Cornello, O. Giovanardi

Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologia Applicata al Mare, ICRAM,
Loc. Brondolo - 30015 Chioggia, Venezia, Italia.

DINAMICA TEMPORALE DEI POPOLAMENTI MACROZOOBENTONICI AL LARGO DI CHIOGGIA (VENEZIA) ED EFFETTI DELL'ATTIVITÀ DI MITILICOLTURA

TEMPORAL DYNAMIC OF COASTAL MACROZOOBENTHIC COMMUNITIES OFF CHIOGGIA (NORTHERN ADRIATIC SEA, ITALY) AND MUSSEL CULTURE EFFECTS

Abstract

Between July '99 and August '01 the macrozoobenthic communities of three stations in the Chioggia maritime compartment were studied. No seasonal cycles were identified. Numbers of species and abundance showed an increase in time, especially in the mussel farm area. It is probably due to the biodeposition, mussel's egestion provide organic matter of high availability to all benthic assemblages.

Key-words**:** *Adriatic Sea, community structure, macrozoobenthos, mussel culture, temporal variation.*

Introduzione

Gli invertebrati bentonici, in base alla loro caratteristica limitata capacità di movimento, si offrono come strumento ideale per l'indicazione delle condizioni ambientali e del rilevamento di stress sia naturali che antropogenici (Dauer, 1993; Pearson e Rosemberg, 1978; Weisberg *et al*., 1997).

Con questo lavoro si intende contribuire alla conoscenza delle dinamiche temporali pluriannuali della struttura dei popolamenti macrozoobentonici di substrato incoerente, anche in relazione al carico organico derivato dall'attività di mitilicoltura in mare aperto.

Materiali e metodi

Tra luglio '99 e agosto '01, sono state effettuate 18 campagne di prelievo in tre stazioni collocate a sud di Chioggia (VE). La stazione SD si trova in corrispondenza della foce del fiume Adige a circa 2,5 mn dalla costa ad una batimetrica di –18 m con sedimento pelitico-sabbioso. Le altre sono situate a circa 5 mn da Porto Caleri (RO): una al centro di un campo di mitilicoltura, stazione MC, e l'altra nel suo perimetro, stazione BA, ad una batimetrica di –25 m con sedimento sabbioso-pelitico.

Ciascun campione è costituito da cinque repliche raccolte con una benna Van Veen con superficie di presa di 0,05 m^2. Il sedimento è stato vagliato attraverso un setaccio con maglia di 1 mm di lato e gli organismi separati sono stati determinati al più basso livello tassonomico possibile. I dati di abbondanza numerica sono stati sottoposti a tecniche di analisi univariata (indici di Shannon-Wiener e di Pielou) e multivariata (cluster analysis e non-metric multidimensional scaling) utilizzando il pacchetto software Primer (Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK), secondo la metodologia proposta da Field *et al*. (1982).

Risultati

La stazione MC risulta essere la più diversificata, in genere sostiene il più alto numero di specie ed i valori degli indici di diversità di Shannon e di omogeneità di Pielou sono i più elevati tra quelli calcolati. La stazione SD, invece, avendo un numero di specie inferiore e densità relativamente elevate risulta la stazione con la diversità più bassa (Fig. 1).

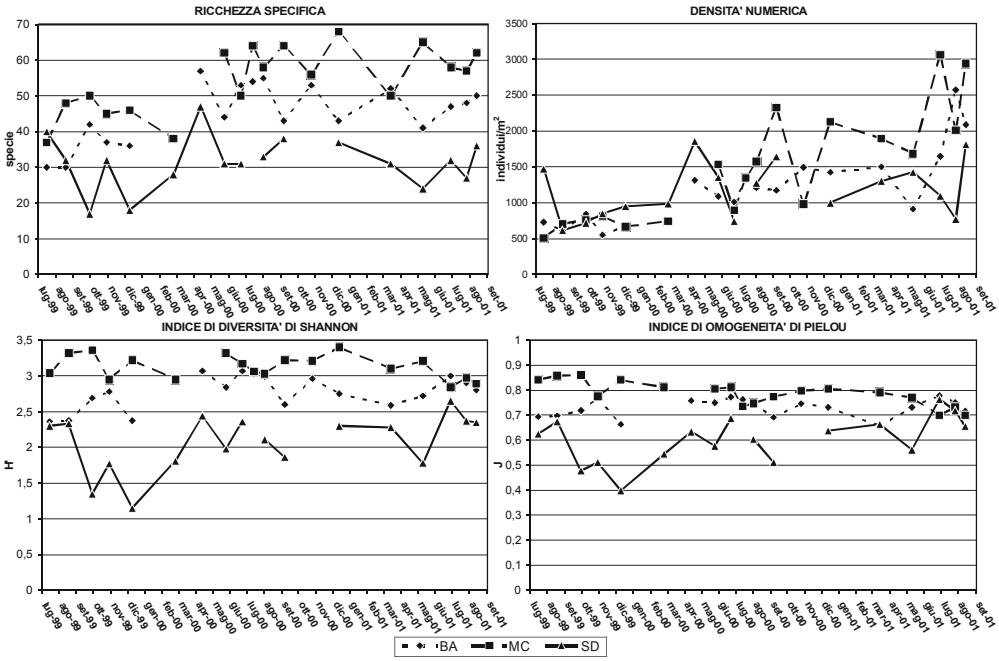


Fig. 1 - A, ricchezza specifica; B, abbondanza numerica; C, indice di diversità di Shannon; D, indice di omogeneità di Pielou.

A, richness; B, abundance; C, Shannon's index; D, Pielou's index.

La stazione SD è caratterizzata da una elevata abbondanza percentuale dei bivalvi; tale componente va riducendosi a favore dei policheti passando alla stazione BA e quindi alla MC (Tab. 1). Nelle stazioni del campo mitili sono relativamente importanti gli echinodermi e i crostacei: la stazione BA si distingue per gli anfipodi, mentre la MC per i decapodi.

All'ordinamento MDS dei campioni (Fig. 2) sono stati sovraimposti i cluster ottenuti con il metodo del legame medio per un livello di similarità dell'indice di Bray-Curtis pari al 56%. Si vede che i campioni tendono a rimanere distinti sia per sito che per anno di campionamento. I tre gruppi più consistenti (A, B e C) sono definiti da una similarità interna media che va dal 60,2 al 66,9%; nel ristretto pool di specie che contribuiscono con almeno il 5% in tutti i gruppi troviamo il bivalve *Corbula gibba*, il polichete *Lumbrineris gracilis* e l'anfipode *Ampelisca diadema*. La dissimilarità media tra i gruppi è compresa tra il 45,8 e 55,2%.

Tab. 1 – Composizione percentuale dei taxa principali.
Percent composition of principal taxa.

	St. BA	St. MC	St. SD
MOLLUSCHI GASTEROPODI	1.39	1.48	2.45
MOLLUSCHI BIVALVI	31.12	22.57	47.95
POLICHETI ERRANTI	15.96	25.17	18.27
POLICHETI SEDENTARI	20.69	25.32	12.74
CROSTACEI ANFIPODI	20.23	13.43	14.65
ALTRI CROSTACEI	1.77	3.87	1.01
ECHINODERMI	7.64	7.35	1.99
ALTRI TAXA	1.21	0.83	0.95

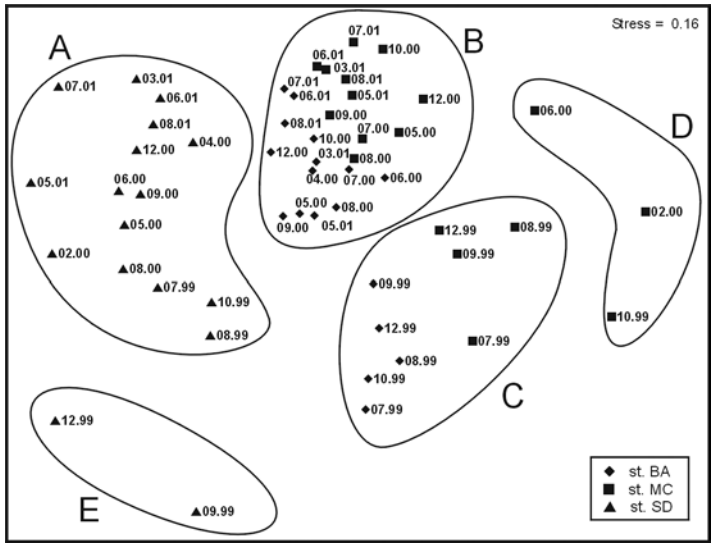


Fig. 2 – Ordinamento MDS con sovraimposizione dei gruppi ottenuti con la cluster analysis.
MDS with superimposed cluster analysis groups.

Conclusioni

Nelle tre stazioni indagate, i valori della ricchezza specifica non sembrano avere un andamento ciclico ed a partire dalla primavera 2000 si osserva un evidente incremento nelle stazioni del campo mitili. I valori di densità si distribuiscono in modo analogo; solo tra agosto ’99 e febbraio ’00 le variazioni sono relativamente contenute e confrontabili. Anche gli indici di diversità e di omogeneità non identificano un andamento comune nelle tre stazioni: SD mostra ampie oscillazioni, mentre MC detiene in genere i valori meno variabili.

Nell'ordinamento di Fig. 2 è possibile identificare un gradiente orizzontale, che permette di distinguere i campioni in base alla localizzazione delle stazioni, molto probabilmente determinato dalla diminuzione dei bivalvi e dall'aumento dei policheti, e un gradiente verticale che individua le modificazioni temporali dei popolamenti, che sembra influenzato dall'andamento della diversità.

I gruppi individuati sono determinati da una similarità media interna non molto elevata e una ancor più bassa dissimilarità media tra i gruppi; ciò sta ad indicare che sono molte le specie a presenza sporadica e con pochi individui, mentre le specie dominanti e codominanti sono comuni nelle tre stazioni. Si tratta di organismi pelofili appartenenti alle biocenosi dei "fanghi terrigeni costieri" (Peres e Picard, 1964) in grado di tollerare condizioni di instabilità sedimentaria e di arricchimento organico. Tali raggruppamenti ci permettono di mettere in evidenza come nel biennio 2000-01 le differenze tra le due stazioni del campo mitili si sono andate riducendo rispetto ai campioni del '99. La stazione BA appare sottoposta alla colonizzazione dei popolamenti della stazione MC che beneficiano del carico organico generato dai mitili, malgrado la BA si trovi sopracorrente (in direzione NW) a circa 1,5 km di distanza.

Feci e pseudofeci sono materiale organico biodisponibile per il comparto micro e meiobentonico e quindi ad elevato tasso di degradazione e turnover (La Rosa *et al*., 2002; Mirto *et al*., 2000). Le deiezioni dei mitili vanno ad incrementare le risorse disponibili, favorendo la biodiversità con un conseguente aumento della complessità della rete trofica che si può tradurre nella maggiore stabilità della comunità macrozoobentonica; ciò è soprattutto evidente nella stazione MC che si trova al centro dell'impianto di mitilicoltura.

Bibliografia

DAUER, D.M. (1993) - Biological criteria, enviromental health and estuarine community structure. *Mar. Pollut. Bull*., **26**: 249-257.

FIELD J.G., CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1982) - A practical strategy for analysing multispecies distribution patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **8**: 37-52.

LA ROSA T., MIRTO S., FAVALORO E., SAVONA B., SARÀ G., DANOVARO R., MAZZOLA A. (2002) - Impact on the water column biogeochemistry of a Mediterranean mussel and fish farm. *Water Res.*, **36**: 713-721.

MIRTO S., LA ROSA T., DANOVARO R., MAZZOLA A. (2000) - Microbial and meiofaunal response to intensive mussel-farm biodeposition in coastal sediments of the western mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.*, **40** (3): 244-252.

PEARSON T.H., ROSENBERG R. (1978) - Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollutions of the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev*., **16**: 229-311.

PERES J.M., PICARD J. (1964) - Noveau manuel de bionomie benthique de la Mer Mediterranee. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **47** (31): 137 pp.

WEISBERG S.B., RANASINGHE J.A. DAUER D.M., SCHAFFNER L.C., DIAZ R.J., FRITHSEN J.B. (1997) - An estuarine benthic index of biotic integrity (B-IBI) for Chesapeake Bay. *Estuaries*, **20**: 149-158.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 539-541

S. Corti, B. Ceccanti*, G. Masciandaro*, C. Lardicci

Dip. Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
*Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Sez. Chimica del Suolo, CNR, Via Moruzzi, 1 - 56100 Pisa, Italia.

EFFECTS OF *HEDISTE DIVERSICOLOR* (POLYCHAETA: NEREIDIDAE) ON ORGANIC MATTER MINERALIZATION: A PRELIMINARY EXPERIMENT

IMPORTANZA DEL RUOLO DI HEDISTE DIVERSICOLOR *(POLYCHAETA: NEREIDIDAE) NEL PROCESSO DI MINERALIZZAZIONE DELLA SOSTANZA ORGANICA: UN ESPERIMENTO PILOTA*

Abstract

Polychaetes deposit-feeders are considered very important in the process of bioturbation in aquatic sediments and especially in the mineralization of organic matter, that generally is controlled by some abiotic factors as temperature, light and level of oxygen. The ubiquitous species Hediste diversicolor *(Polychaeta: Nereididae), living in areas with high organic content, is known as an important bioturbator of shallow coastal sediments. The aim of this work is to study the effect of this species on organic matter mineralization by a laboratory experiment with microcosms.*

Key-words*:* Hediste diversicolor*, bioturbation, organic matter, mineralization.*

Introduction

The benthic fauna plays an important role in the bioturbation of sediment and in particular in the process of mineralization of organic matter. Suspension-feeders link the pelagic and the benthic environments, while deposit-feeders redistribute the organic matter deposited on the sediment surface by sediment reworking, and oxidize the sediment by ventilation (Aller, 1982). In this study we examined the efficiency of the polychaete *Hediste diversicolor* (O.F. Müller), known as an important bioturbator of shallow coastal sediments (Kristensen and Blackburn, 1987; Heilskov and Holmer, 2001), in the decomposition of organic matter loaded on the sediment in controlled laboratory experiment with microcosms. Decomposition of organic matter was measured as differences of levels of total organic carbon (TOC), total organic nitrogen (TON) and nitrates.

Materials and methods

For the experiment we used 12 little glass boxes (9,5 cm in diameter, 10 cm in height). In each box 200 ml of filtered marine water and 200 g of sterilized natural marine sand were added. The sand was sterilized in a muffle furnace at 700 °C for 2 hours to kill any organisms present and to reduce the natural level of organic matter. Polychaetes were collected in July and August 2001 in San Rossore Park (Pisa, Italy).

The seawater in each box was gently aerated and the temperature was maintained at 21 °C. In this study two sets of culture boxes were prepared, each set consisting of six boxes. We released 3 individuals into each of 6 boxes and another set of six boxes without polychaetes were used as control. The experiment was conducted for 15 days.

At the beginning of the experiment the sand was loaded with organic matter by blending 0.4 g of dry pellets of fish fodder "SERA" (SERA GmbH, Heinsberg, Germany). The initial level of organic carbon was 3000 μg/g and total organic nitrogen was 92 μg/g. At the end of the experiments the sediments were collected to measure total organic carbon (TOC), total organic nitrogen (TON) and nitrates by chemical analysis. TOC was measured by a titration after digestion with $K_2Cr_2O_7$, TON by a specific electrode for ammonia after a mineralization with H_2SO_4 and nitrates by ion-cromatography with a DIONEX system. Data were analysed by analysis of variance and a posteriori SNK test was used when significant differences were detected.

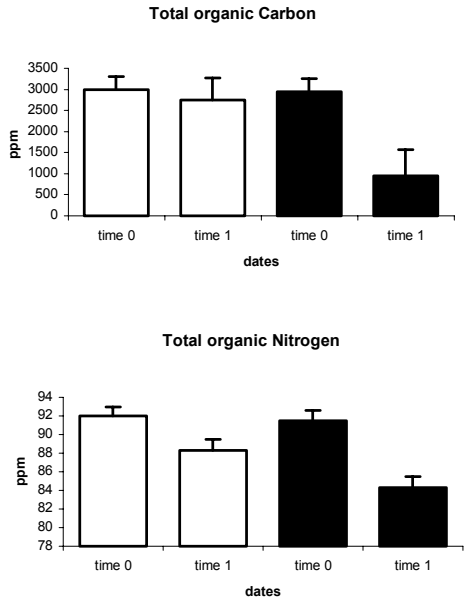


Fig. 1 – Total organic carbon and nitrogen (mean ± SE; n = 6) at the beginning (time 0) and at the end (time 1) of the experiment. White bars: control; black bars: polychaetes.
Carbonio e azoto organico (media ± ES; n = 6) all'inizio (time 0) e alla fine (time 1) dell'esperimento. Colonne bianche: controllo; colonne nere: policheti.

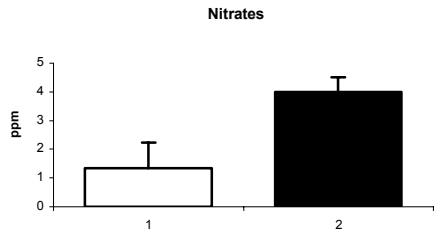


Fig. 2 – Level of nitrates after 15 days (mean ± SE; n = 6). White bar: control; black bar: polychaetes.
Livello dei nitrati dopo 15 giorni (media ± ES; n = 6). Colonna bianca: controllo; colonna nera: policheti.

Results and conclusions

After 15 days the level of TOC was 2700 μg/g in average in the control and 900 μg/g in the boxes with polychaetes (Fig. 1). The final level of TON was 84 in boxes without polychaetes and 79 in the others (Fig. 1). Differences are statistically significative for organic carbon and nitrates ($p<0.05$). These results evidenced that in only 15 days the level of organic carbon and nitrogen decreased strongly (70% and 10% respectively). Nitrates, that are one of the major products of mineralization of proteins, were two times higher in the boxes with polychaetes than in the others (Fig. 2). The different degradation between organic carbon and nitrogen was possibly due to high initial level of carbon to respect of organic nitrogen ($C/N=33$) in the fish fodder added to sterilized sand. These results confirmed the importance of *Hediste diversicolor* on the process of mineralization of organic matter loaded on the sediment.

Acknowledgements

We would like to thank the colleagues that helped us in this work: Macci C. and Carmignani A. (ISE, CNR, Pisa); Como S. (University of Pisa).

References

ALLER A. (1982) - The effects of macrofauna on chemical properties of marine sediment and overlying water. In: P.L. Call and M.J.S. Tevez (eds), *Animal-Sediment Relations*. Plenum Publishing Company: 53-102.

HEILSKOV A., HOLMER M. (2001) - Effects of benthic fauna on organic matter mineralization in fish-farm sediments: importance of size and abundance. *ICES Journal of Marine Science*, **58**: 427-434.

KRISTENSEN E., BLACKBURN T.H. (1987) - The fate of organic carbon and nitrogen in experimental marine sediment systems: influence of bioturbation and anoxia. *Journal of Marine Research*, **45**: 231- 242.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 542-543

A. Cossu, D. Pala, A. Ruiu, A. Zanello*

Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale, Università di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.
*Parco Naz. Asinara, Sassari, Italia.

DISTRIBUZIONE DI *CAULERPA RACEMOSA* NEL GOLFO DELL'ASINARA (SARDEGNA SETTENTRIONALE)

DISTRIBUTION OF CAULERPA RACEMOSA *IN THE GULF OF ASINARA (NW SARDINIA)*

Abstract

Caulerpa racemosa *(Chlorophyta), a non indigenous green alga from the Indo-Pacific, has been detected and mapped in the gulf of Asinara (NW Sardinia, Italy), to a depth of 30 m. The total covered area, mostly on "dead matte", is 776 ha and the interested coastline amounts to 13 km (44% of the total coastline investigated).*

***Key-words*:** Caulerpa racemosa*, Chlorophyta, Sardinia.*

Introduzione

Caulerpa racemosa (Forsskål) J Agardh è un'alga verde invasiva d'origine indopacifica comparsa in Italia nel 1993 (Alongi *et al.*,1993), nel 1994 è stata ritrovata nel golfo di Cagliari (Cossu e Gazale, 1996) e, nell'inverno del 2002 è stata da noi mappata nel golfo dell'Asinara, nel settore compreso fra Porto Torres e Punta Tramontana, entro la linea batimetrica dei 30 metri (Fig. 1).

Materiali e metodi

C. racemosa è stata individuata da subacquei provvisti di microfono e auricolare che venivano trainati da un'imbarcazione in prossimità del fondo, comunicando a bordo i dati sulla presenza, profondità, stato, copertura dell'alga. Le verità a mare ottenute sono state impiegate per l'analisi spettrale di foto aeree in scala 1:10.000, discriminando fondali rocciosi, sabbiosi e a "matte" morta. I dati sono stati implementati su GIS ArcView 3.0a per il calcolo delle superfici interessate e delle rispettive proiezioni sulla costa (De Vaugelas *et al.*, 1998).

Risultati e conclusioni

La superficie interessata è complessivamente pari a 776 ha, per l'84% su fondi a "matte" morta. La proiezione lungo la costa, pari a 13,7 km, corrisponde al 44% dello sviluppo costiero dell'area di studio. L'attuale distribuzione dell'alga nel golfo dell'Asinara corrisponde a un livello di colonizzazione caratteristico di aree ampie e fortemente invase. Desta una certa preoccupazione la vicinanza (32 km linearmente) dell'area interessata con l'AMP del Parco Nazionale dell'Asinara, dove non è ancora stata segnalata la presenza di *C. racemosa*.

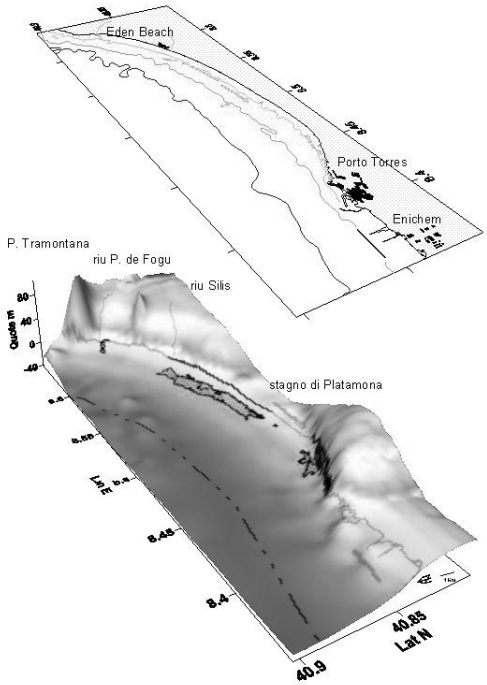


Fig. 1 - Visione prospettica tridimensionale dell'area di studio, sovrastata dalla corrispondente mappa. I punti sulla mappa superiore indicano le stazioni di *C. racemosa*, in grassetto nella mappa inferiore le superfici interessate e le relative proiezioni lungo costa.

3D perspective map of the study area, with the corresponding base map on the top. Dots on the top map indicate C. racemosa *stations, boldface lines in the lower map the interested surfaces and coastlines.*

Bibliografia

ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G. (1993) - Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat. Catania*, **26** (342): 49-53.

COSSU A., GAZALE V. (1996) - Sulla presenza di *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh in Sardegna. In: Cossu A., Meloni M.M. (eds), *S.O.S. Caulerpa - Introduzione di nuove specie nel Mediterraneo e compatibilità con quelle presenti*. Cagliari: 87-97.

DE VAUGELAS J, MEINESZ A., BALLESTEROS E., BELSHER T., CASSAR N., CECCHERELLI G., CINELLI F., COTTALORDA J.M., FRADA' ORESTANO C., GRAU A.M., JAKLIN A., MORUCCI C., RELINI M., SANDULLI R., SPAN A., TRIPALDI G., VAN KLAVEREN P., ZAVODNIK N., ZULJEVIC A, (1999) - Standardization proposal for the mapping of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea. *Oceanol. Acta*, **22** (1): 85-94.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 544-546

B. Cristo

Istituto di Scienze Naturali e Biologia Marina, Via Stromboli, 44 - 07026 Olbia, Italia.

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA DISTRIBUZIONE DI *GERARDIA SAVAGLIA* (ANTHOZOA: ZOANTHARIA) LUNGO LE COSTE DELLA SARDEGNA

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF DISTRIBUTION OF GERARDIA SAVAGLIA *(ANTHOZOA: ZOANTHARIA) ALONG THE SARDINIAN COASTS*

Abstract

In the present work distribution of Gerardia savaglia *(Anthozoa: Zoantharia) along the Sardinian coasts was studied. During a ten year research (1989-1999) new sites were identified, some of which are easily accessible by SCUBA divers.*

Key-words: Gerardia savaglia*, Zoantharia, Sardinia.*

Introduzione

Gerardia savaglia (Bertoloni, 1819) è un antozoo coloniale il cui aspetto ricorda quello delle comuni gorgonie, ma i cui polipi differiscono notevolmente da quelli di queste ultime sia per struttura che per dimensioni. L'asse corneo che sostiene la colonia, una volta privato del cenenchima, si presenta di colore nero ebano e mostra centralmente lo scheletro di un'altra gorgonia. I suoi polipi, infatti, venendo a contatto con celenterati di questo tipo, provocano nella zona di contatto ed in quella immediatamente adiacente un'area necrotica di 5-6 millimetri. Successivamente, rivestono completamente l'organismo aggredito assumendone la forma (Zibrowius, 1985).

La ripartizione geografica di questa specie non è limitata al Mediterraneo, ma si estende anche in Atlantico nell'arcipelago di Madera e nelle isole Canarie (Brito, 1983). In Sardegna, sebbene la sua presenza sia già nota da tempo, le informazioni disponibili risultano tuttora scarse e frammentarie (Pais *et al.*, 1992; Cristo e Pais, 1997). Scopo della presente ricerca è stato quello di verificare la sua distribuzione lungo le coste dell'isola, al fine di ampliare le conoscenze delle sue caratteristiche ecologiche.

Materiali e metodi

Nel decennio 1989-1999, nell'ambito di indagini in zone destinate a diventare aree protette, sono state effettuate numerose immersioni con autorespiratore SCUBA (fino ad una profondità di circa 40 metri) individuando alcune colonie di *Gerardia savaglia* a quote relativamente accessibili.

Sono stati perciò studiati alcuni insediamenti di questo zoantideo in 3 siti principali: il primo ubicato nei pressi di Santa Teresa di Gallura, il secondo in prossimità dell'isola di Mortorio (nelle acque del Parco Nazionale dell'Arcipelago della Maddalena), il terzo, infine, nel Golfo di Cagliari (Fig. 1). Sugli esemplari rinvenuti sono state rilevate le misure di altezza, larghezza e diametro basale delle colonie.

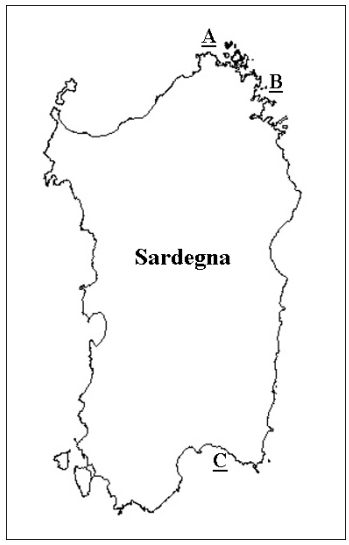


Fig. 1 – Siti di indagine: A = S. Teresa di Gallura; B = Isola di Mortorio; C = Golfo di Cagliari.
Studies areas: A = S. Teresa di Gallura; B = Isola di Mortorio; C = Golfo di Cagliari.

Risultati

Nel sito di S. Teresa di Gallura, le colonie osservate risultano suddivise in 2 gruppi, rispettivamente alle batimetriche di 34 e 36 m, insediate su ramificazioni originali di *Paramuricea clavata*. Nel primo, le colonie raggiungono un'altezza massima di 150 cm, una larghezza massima di 180 cm ed un diametro basale di 9 cm. Nel secondo, invece, le dimensioni risultano inferiori (altezza = 93 cm; larghezza = 135 cm; diametro basale = 6 cm).

Delle 3 colonie rinvenute presso l'isola di Mortorio alla profondità di 36 m, anch'esse sviluppatesi su *Paramuricea clavata*, la maggiore presenta un'altezza di 50 cm, una larghezza di 25 cm ed un diametro basale di 3 cm. Una quarta piccola colonia, inoltre, è stata ritrovata a soli 20 metri di profondità.

Nel terzo sito (Golfo di Cagliari) l'unica colonia rinvenuta, situata ad una profondità di 27 m, ha un'altezza di 40 cm, una larghezza di 20 cm ed un diametro basale di circa 3 cm. L'insediamento di tale organismo è avvenuto su una ramificazione di *Eunicella singularis*.

Conclusioni

Le difficoltà di studiare *in situ* la specie in oggetto sono da ricondursi soprattutto alle profondità alle quali veniva solitamente osservata. Con questo lavoro, l'intervallo batimetrico in cui questo zoantideo è distribuito è stato ampliato: *Gerardia savaglia* è stata infatti rinvenuta alla quota più bassa finora mai segnalata (–20 m), in un sito le cui caratteristiche fisico-chimiche dell'acqua (trasparenza, temperatura, salinità) non

appaiono anomale per la profondità considerata. La mancanza di informazioni sulle sue modalità riproduttive, tuttavia, suggerisce ulteriori indagini in merito.

Bibliografia

BRITO A. (1983) - Habitat y distribucion de *Gerardia savaglia* (Bertoloni, 1819) (Anthozoa: Zoantharia) en las islas Canarias (Oceano Atlantico). *Tethis*, **11** (1): 89-91.

CRISTO B., PAIS A. (1997) - Nuove segnalazioni di *Gerardia savaglia* (Bertoloni, 1819) in Sardegna *Bollettino I.Ci.Mar.,* **1**: 34-36.

PAIS A., TRAINITO E., ROMOR M., CONTIS M.G. (1992) - Sulla presenza di *Gerardia savaglia* (Bertoloni, 1819) nelle acque dell'Isola di Tavolara (Sardegna Nord-orientale). *Oebalia*, **17** (Suppl.): 377-378.

ZIBROWIUS H. (1985) - Comportament agressif du Zoanthaire *Gerardia savaglia* contre le Gorgonaire *Paramuricea clavata* (Cnidaria: Anthozoa). *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, **29** (5): 351-353.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 547-549

R. Culotta, D. Pessani, T. Tirelli

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Via Accademia Albertina, 17 – 10123 Torino, Italia.

CASI DI XENOCHIA OSSERVATI IN FOLLICULINIDI (CILIATI ETEROTRICHI)

CASES OF XENOCHIA OBSERVED IN FOLLICULINIDS (CILIATES HETEROTRICHES)

Abstract

Fourty-nine cases of xenochia between Folliculinid/Folliculinid or Folliculinid/Briozoan were observed. Respect to the outside container (Folliculinid or Briozoan) the construction of the inside lorica is subject to particular constrains (dimensional and, probably, chemical); as a consequence, this association is rarely seen.

Key-words*: test, larval settlement, Briozoans,* Halimeda tuna.

Introduzione

Nei Folliculinidi il corpo cellulare è contenuto nella lorica, involucro protettivo di chitina, mucopolisaccaridi, stentorino e metalli pesanti (Mulisch e Hausmann, 1983).

Durante studi sul popolamento infralitorale, su frammenti di *Halimeda tuna* sono stati osservati casi di una particolare associazione, la xenochia: in un involucro rigido, lasciato vuoto dall'occupante, si insedia un altro organismo, anch'esso dotato di involucro ma non necessariamente appartenente allo stesso *taxon*. La xenochia nei Folliculinidi si conosce grazie al lavoro di Andrews (1920).

Materiali e metodi

I campioni di *H. tuna* sono stati raccolti a luglio ed agosto 2000 a Punta Sestri e Punta Manara (Riviera Ligure di Levante).

Sono state misurate la lunghezza del collo e, dove possibile, la lunghezza e la larghezza dell'ampolla delle loriche di Folliculinidi che formavano le associazioni; queste sono state fotografate al SEM ed al microscopio a contrasto di fase.

Risultati

La lorica era contenuta all'interno, in 18 casi, di un'altra lorica e, in 31, nello zoecio di un Briozoo.

Per la xenochia Folliculinide-Folliculinide (Fig. 1) il collo della lorica esterna è risultato più corto, di circa di 1/3, di quello della interna (330 μm contro 490 μm). In un solo caso si è potuto misurare anche lunghezza (386 μm) e larghezza (165 μm) dell'ampolla esterna.

Nel caso di associazione Folliculinide-Briozoo (Fig. 2) la lunghezza del collo della lorica (composto da 8-14 anelli) varia da 280 a 380 μm; in un solo caso è stato possibile misurare anche lunghezza (330 μm) e larghezza (146 μm) dell'ampolla. In due casi, 2 e 3 Folliculinidi occupavano lo stesso zoecio.

Fig. 1 – Esempio di xenochia tra Folliculinidi fotografata al SEM.
Image of xenochia between Folliculinids taken at SEM.

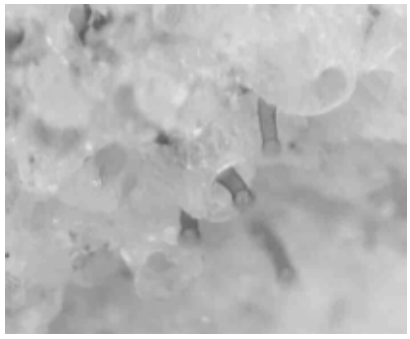


Fig. 2 – Casi di xenochia tra Folliculinidi e Briozoi.
Cases of xenochia between Folliculinds and Briozoans.

Conclusioni

Andrews (1920) osserva un Folliculinide, con l'apertura della lorica ostruita, passare all'interno di questa da forma natante a sedentaria e viceversa, senza però costruirne mai una nuova: questo sembrerebbe dovuto all'emissione di segnali inibitori da parte della lorica stessa. Ancora Andrews (1920) nota anche che il ciliato natante si può fissare all'interno di una lorica preesistente, ma costruita da un ciliato di specie diversa, e qui produrne una sua.

Da ciò si deduce che la presenza di una lorica non necessariamente inibisce il natante dal formarne un'altra al suo interno; tuttavia poco o nulla si sa sull'importanza dei segnali chimici per il Folliculinide nella fase di adesione al substrato, a differenza di quanto già noto per le larve di altre specie bentoniche (Burke, 1986; Tsukamoto, 1999).

La xenochia tra Folliculinidi potrebbe quindi essere il risultato della combinazione di segnali chimici attrattivi (rilasciati da eterospecifici) ed inibitori (rilasciati da conspe-

cifici). E' necessario infatti che la larva entri in una lorica dotata sia di collo più corto, in modo da poter – diventata adulto - espandere il proprio apparato peristomiale al di fuori dell'involucro e cibarsi, sia di ampolla di dimensioni maggiori, per ovvie ragioni spaziali. Poiché è difficile che le condizioni sopra riportate si verifichino, i casi osservati sono pochi. Per questo motivo non si sono potute determinare le specie componenti la xenochia, vista la scarsità (per la lorica esterna) o l'assenza (per la lorica interna) di dati morfometrici relativi all'ampolla.

Per l'associazione tra Folliculinide e Briozoo, si può ipotizzare, in base al numero di anelli del collo ed ai dati morfometrici, che il ciliato appartenga a *Folliculinopsis producta* ed il Briozoo a *Cellepora* sp. La xenochia potrebbe essere dovute alla naturale predilezione degli individui natanti per zone di impianto che presentino rugosità o che siano particolarmente protette, come noto già per i Folliculinidi (Andrews e Reinhard, 1943) ma anche per altri ciliati, idrozoi, bivalvi, policheti, balani e briozoi (Koehler *et al*., 1999). Il richiamo chimico esercitato da un Folliculinide spiegherebbe la contemporanea presenza di 2 o 3 conspecifici nell'angusto spazio di uno zoecio.

Bibliografia

ANDREWS E.A. (1920) - Alternate phases in *Folliculina*. *Biol*. *Bull*., **39**: 67-87.

ANDREWS E.A., REINHARD E.G. (1943) – A folliculinid associated with a hermit crab. *J*. *Wash*. *Acad*. *Sci*., **33**: 216-223.

BURKE R.D. (1986) – Pheromones and gregarious settlement of marine invertebrate larvae. *Bull*. *Mar*. *Sci*., **39** (2): 697-706.

KOEHLER J., HANSEN P.D., WAHL M. (1999) – Colonization patterns at the substratum-water interface: how does surface microtopography influence recruitment patterns of sessile organisms. *Biofouling*, **14** (3): 237-248.

MULISCH M., HAUSMANN K. (1983) – Lorica construction in *Eufolliculina* sp. (Ciliophora, Heterotrichida). *J. Protozool*., **30** (1): 97-104.

TSUKAMOTO S. (1999) – Marine natural products influencing larval settlement and metamorphosis of marine sessile organisms. *Yakugaku Zasshi – Journal of Pharmaceutical Society of Japan*, **119** (7): 457-471.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 550-554

F. De Domenico, A. Cosentino, N. Spanò

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina,
Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.
spano@unime.it

FAUNA CARCINOLOGICA DI DUE AMBIENTI INSULARI: ARCIPELAGO TOSCANO E ISOLE PONTINE

CARCINOFAUNA OF INSULAR ENVIRONMENT: TUSCAN ARCHIPLEAGO AND PONTINE ISLANDS

Abstract

Benthic macrofauna samples, carried out in Tuscan and Pontine Islands, have showed a rich carcinofauna. The data reported were analized with multivariate analysis (cluster analysis, MDS, test Anosim 1-way). The results show a high biodiversity and heterogeneity of carcinofauna for both archipelagoes.

Key-words: *crustacean decapods, Tuscan and Pontine Archipelagoes.*

Introduzione

Le attuali conoscenze sulla distribuzione dei crostacei decapodi in Mediterraneo, sono ancora oggi inadeguate, in quanto poche indagini mirate su questo taxon sono state intraprese (Garcia Raso, 1984; Spanò, 1992, 1998; Giacobbe *et al*., 1996). I dati qui riportati, si riferiscono ad indagini effettuate negli anni 1988-1993 nell'ambito del programma nazionale "Processi tafonomici e sedimentari della Piattaforma continentale in Mediterraneo" (Corselli *et al*., 1990).

In particolare sono stati effettuati campionamenti di macrofauna bentonica negli arcipelaghi Toscano e Pontino che hanno fornito una ricca fauna carcinologica (Spanò, 1994).

Dall'analisi multivariata effettuata sul popolamento emerge un buon grado di ricchezza specifica oltre che una sensibile eterogeneità per entrambi gli arcipelaghi.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati condotti nell'Arcipelago Toscano e alle Isole Pontine negli anni 1988-1993, in due stagioni: primavera ed autunno. Sono state campionate, in totale, 117 stazioni (67 per l'Arcipelago Toscano e 50 per le isole Pontine) ubicate a profondità comprese fra 50 e 200 m di profondità. Per i prelievi in mare è stata utilizzata una benna Van Veen modificata e appesantita con capacità di prelievo pari a ¼ m^2 di superficie e 70 dm^3 di capacità. Inoltre sono stati effettuati 12 campionamenti con una draga da epibenthos di grandi dimensioni (200 dm^3 di capacità).

Il popolamento è stato analizzato seguendo un approccio multivariato (cluster analysis, MDS, test ANOSIM 1-way) (Clarke e Warwick, 1994).

Risultati e conclusioni

I risultati conseguiti hanno evidenziato numerose differenze nella composizione specifica fra i due arcipelaghi (Tab. 1). In particolare nell'Arcipelago Toscano si ha il

maggior numero di specie (44) di cui la maggior parte riscontrate nella biocenosi del Detritico Costiero (DC di Pérès e Picard, 1964), probabilmente in relazione all'ampia diffusione dei biotopi detritici (Basso *et al*., 1990). Alle Isole Pontine le specie riscontrate sono 34. Fra le 56 specie campionate in totale, solo 22 sono risultate in comune alle due aree, 22 sono state rinvenute solo nell'Arcipelago Toscano e 12 solo nel Pontino.

Tab. 1 – Lista delle specie riscontrate.
List of species found.

Arcipelago Toscano	Arcipelago Pontino
Achaeus gordonae	*Atelecyclus rotundatus*
Anapagurus laevis	*Axius stirynchus*
Anapagurus sp.	*Bathynectes longipes*
Atelecyclus rotundatus	*Callianassa subterranea*
Axius stirhynchus	*Ebalia cranchi*
Calocaris macandreae	*Ebalia deshayesi*
Ebalia deshayesi	*Ebalia edwardsii*
Ebalia edwardsii	*Ebalia granulosa*
Ebalia granulosa	*Ebalia* sp.
Ebalia sp.	*Ebalia tuberosa*
Ebalia tuberosa	*Ethusa mascarone*
Ethusa mascarone	*Eurynome aspera*
Eurynome aspera	*Galathea intermedia*
Galathea intermedia	*Galathea* sp.
Galathea nexa	*Galathea strigosa*
Galathea sp.	*Ilia nucleus*
Galathea squamifera	*Inachus dorsettensis*
Galathea strigosa	*Inachus* sp.
Goneplax rhomboides	*Inachus thoracicus*
Homola barbata	*Liocarcinus corrugatus*
Ilia nucleus	*Liocarcinus pusillus*
Jaxea nocturna	*Liocarcinus tuberculatus*
Liocarcinus corrugatus	*Liocarcinus zariquiey*
Liocarcinus pusillus	Paguridae A
Liocarcinus zariquieyi	Paguridae B
Lissa chiragra	*Paguristes oculatus*
Macropodia rostrata	*Pagurus bernhardus*
Medaeus couchi	*Pagurus cuanensis*
Munida intermedia	*Parthenope massena*
Nephrops norvegicus	*Pisa armata*
Paguristes oculatus	*Thia scutellata*
Pagurus sp. a	*Xantho incisus*
Pagurus anachoretus	*Xantho pilipes*
Pagurus sp. b	*Xantho poressa*
Pagurus prideaux	
Pagurus sculptimanus	
Pagurus variabilis	
Parthenope massena	
Pilumnus spinifer	
Pisa muscosa	
Pisa nodipes	
Scyllarus pygmaeus	
Xantho incisus	
Xantho pilipes	

In entrambi gli arcipelaghi la fauna carcinologica sembra caratterizzata da una certa eterogeneità. Questo potrebbe essere attribuito a due ordini di fattori: la natura tipicamente vagile dei crostacei decapodi con una conseguente distribuzione nello spazio non sempre omogenea; l'ampiezza stessa dell'area di campionamento. Si è creduto opportuno quindi procedere ad una analisi multivariata di base separatamente per le due aree, cercando di valutare i fattori ambientali potenzialmente influenti a livello locale.

Per quanto riguarda l'Arcipelago Toscano l'analisi multivariata, con indice di similarità di Bray-Curtis (dati trasformati con radice quadrata) e clusterizzato per group average, al 30%, individua cinque raggruppamenti principali (Fig. 1). Questi si accordano bene con l'esposizione locale dei siti. La composizione faunistica mostra una netta prevalenza delle biocenosi detritiche con vario grado di infangamento; non mancano stazioni prevalentemente fangose ed altre dove si riscontrano comunità non climatiche sottoposte ad idrodinamismo di fondo o ad instabilità sedimentaria, peraltro in buon accordo con le conoscenze generali sulla idrologia dell'intero arcipelago e del Mar Tirreno settentrionale (Nair *et al*., 1994). Il global test confermerebbe l'ipotesi di una distribuzione a priori di tipo non casuale (R=0,14; 1.s.<3%).

Arcipelago Toscano

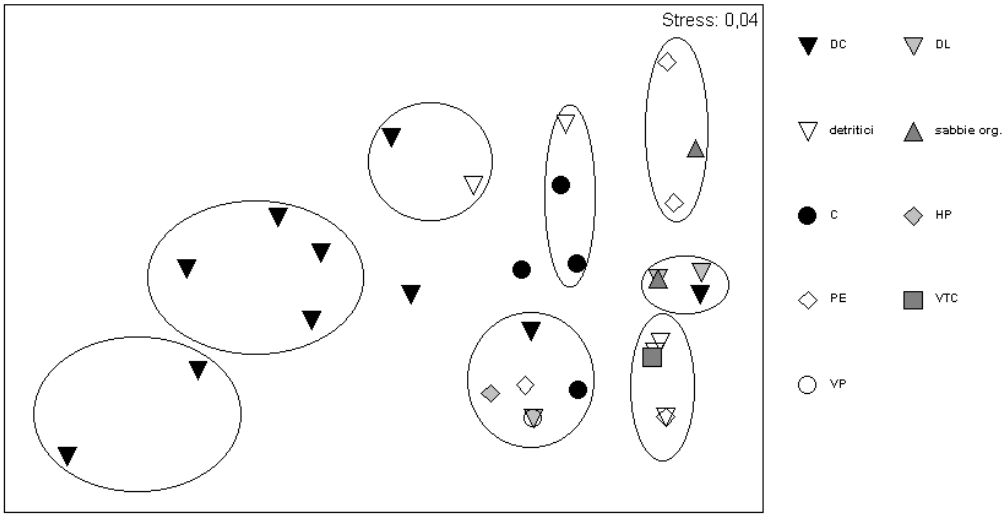


Fig. 1 – Arcipelago Toscano: grafico MDS relativo all'indice di similarità di Bray-Curtis (i gruppi contornati sono discriminati al 30%).
Tuscan Archipelago: Mds graph applied on Bray-Curtis similarity index (according to a 30% of similarity).

Il fattore batimetrico non sembra avere un peso sostanziale in tale distribuzione (R=0,057; l.s. 10%). Di contro il periodo di prelievo dei campioni pare abbia un peso maggiore nell'influenzare la composizione numerico-specifica (R=0,25; l.s 0,1%).

Per quanto riguarda le Isole Pontine, inquadrabili in un contesto idrologico specificamente pelagico, il popolamento a decapodi appare quanto mai variegato. Dall'analisi del cluster al 30% si individuano 7 raggruppamenti principali (Fig. 2).

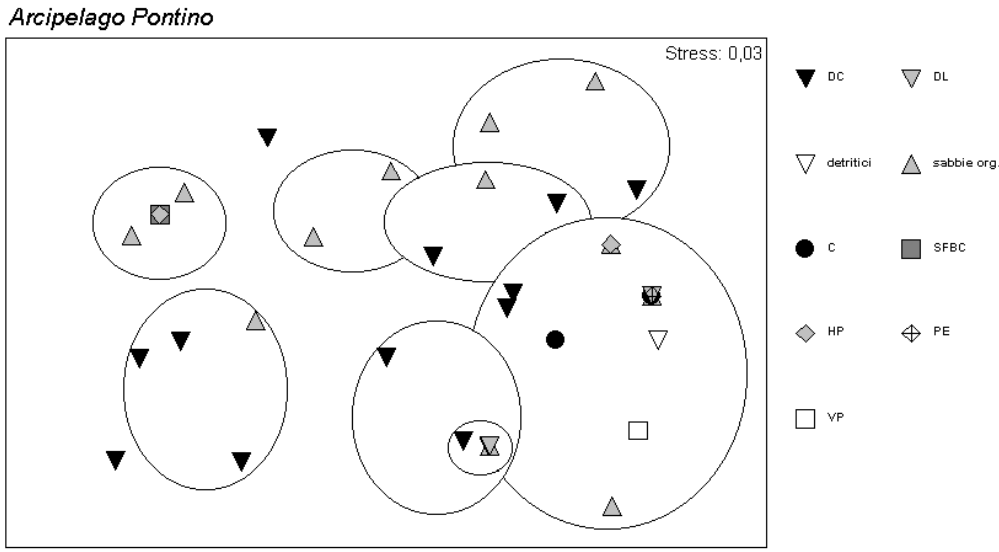


Fig. 2 – Isole Pontine: grafico MDS relativo all'indice di similarità di Bray-Curtis (i gruppi contornati sono discriminati al 30%).

Pontine Islands: Mds graph applied on Bray-Curtis similarity index (according to a 30% of similarity).

Il fattore bionomico, a differenza di quanto riscontrato per le Isole Toscane, sembra non essere discriminante. Le cenosi, al contrario, sembrerebbero distribuirsi secondo un complesso mosaico, rispondente a fattori locali, piuttosto che per fasce o aree profondità-dipendenti. Infatti, oltre ad una ben rappresentata componente detritica, riscontriamo la presenza non accidentale di specie caratteristiche di cenosi climax, come quella coralligena o della prateria di *Posidonia*, e di specie reofile.

Bibliografia

BASSO D., CORSELLI C., GIACOBBE S. (1990) – Processi tafonomici e sedimentari della piattaforma continentale in Mediterraneo. Arcipelago Toscano. *Rapporto sui risultati delle crociere oceanografiche della N/O Minerva. Dip. Biol. Animal. Ecol. Mar., Rapporti*: 1-4.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) – Change in Marine Communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Plymouth Marine Laboratory*: 1-144.

CORSELLI C., GIACOBBE S. (1990) – Il progetto TSM nel Tirreno Settentrionale: dati preliminari. A*tti 8° Congresso Ass. Ital. Oceanol. Limnol*.: 1-14.

GARCIA RASO J.E. (1984) – Brachyura of the coast of Southern Spain. *Spixiana*, **7** (2): 105-113.

GIACOBBE S., RINELLI P., SPANO' N. (1996) – Echinodermi e crostacei decapodi in fondi mobili litorali del versante calabro dello Stretto di Messina. *Biol. Mar. Medit*., **3** (1): 400-406.

NAIR R., CATTINI E., GASPARINI G.P., ROSSI G. (1994) – Circolazione ciclonica e distribuzione dei nutrienti nel Tirreno settentrionale. *Atti 10° Congresso Ass. Ital. Oceanol. Limnol*.: 65-76.

PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) – Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **31**: 1-137.

SPANO' N. (1992) – Contributo alla conoscenza della bionomia bentonica dei crostacei decapodi della piattaforma continentale in Mediterraneo. *Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali, IV ciclo, Messina*: 1-600.
SPANO' N. (1994) – Dati preliminari sulla fauna carcinologica di ambienti detritici insulari: Arcipelago Toscano e Isole Pontine. *Biol. Mar. Medit.*, **1** (1): 357-358.
SPANO' N. (1998) – Distribution of Crustacea Decapoda (Anomura and Brachyura) in the Straits of Messina. *Journ. Nat. Hist*., **32**: 1697-1705.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 555-557

T. Dieli, B.M. Ferreri, D. Pellino, S. Riggio

Dipartimento di Biologia Animale, Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.

EFFETTI DELL'ILLUMINAZIONE SUL POPOLAMENTO ALGALE DI REEF A VERMETI IN SEGUITO A RIMOZIONE DI UNA PASSERELLA

LIGHTING EFFECTS ON AN ALGAL COMMUNITY ASSOCIATED TO VERMETID REEF AFTER REMOVAL OF A BOARDWALK

Abstract

Temporal variations of an algal community of vermetid reef, related to change from a shading condition to a sudden strong lighting, were examined. The algal community occurring in an area previously covered by a boardwalk, was studied three months after the removal of the boardwalk. The community showed significant differences from those occurring in contro areas.

Key-words: *footbridge, lighting, macroalgae.*

Introduzione

L'illuminazione è un fattore primario nel determinare la struttura dei popolamenti (Williams, 1994; Hair *et al*., 1994), ma il suo ruolo quantitativo in natura si apprezza difficilmente: un caso è offerto da strutture artificiali, come sono pontili e banchine. L'impianto stagionale di una passerella mobile al livello di marea sul litorale dell'Addàura, a Palermo, ha permesso una stima dei cambiamenti del ricoprimento algale del *trottoir* a vermeti sottostante. Sono state monitorate composizione e struttura del popolamento macroalgale dopo la rimozione della passerella, che ha causato la transizione improvvisa a condizioni di forte illuminazione. L'abbondanza e la ricchezza specifica della copertura algale sono state confrontate con i popolamenti algali circostanti, con cadenza trimestrale. In questa sede si riportano i dati relativi al primo trimestre della ricerca.

Materiali e metodi

L'area di studio ricade nel litorale dell'Addàura presso Palermo. Oggetto della ricerca è il substrato roccioso coperto per 5 mesi (maggio-settembre) da una passerella di legno ortogonale alla costa, larga circa 2,5 m, posta a 30 cm di altezza dalla superficie del *trottoir*. Immediatamente dopo la rimozione della passerella il sito appariva ricoperto esclusivamente da cianoficee. A distanza di 3 mesi dalla rimozione della passerella, sono stati campionati il sito già in ombra (O) e 6 siti controllo adiacenti (1, 2, 3, 4, 5, 6). All'interno di ogni sito sono stati esaminati 3 differenti ambienti: bordo interno (I), bordo esterno (E) e cuvette (C). All'interno di ogni ambiente sono state fatte 4 repliche fotografiche (30×30 cm) allocate random. Per le specie di difficile identificazione, sono stati prelevati dei campioni e trasportati in laboratorio per un'accurata determinazione specifica. La composizione e le coperture algali di ogni campione sono state esaminate usando le tecniche di ordinamento AFC ed MDS (Clarke e Warwick, 1994). Per la MDS, i dati di copertura (mediati per ciascun habitat in ogni sito) sono stati trasformati mediante la formula log (x+1) e ad essi è stato applicato

l'indice di similarità di Bray-Curtis (Group Average Weighted). La procedura SIMPER è stata applicata per determinare quali taxa contribuiscono principalmente alla dissimilarità media tra i 2 trattamenti nei 3 ambienti.

Risultati

Dall'esame delle foto sono state identificate 9 specie di macroalghe. L'ordinamento della composizione del popolamento algale attraverso MDS (Stress = 0,07) mostra una significativa separazione tra i campioni dei siti controllo e quelli dell'area impattata (Fig. 1).

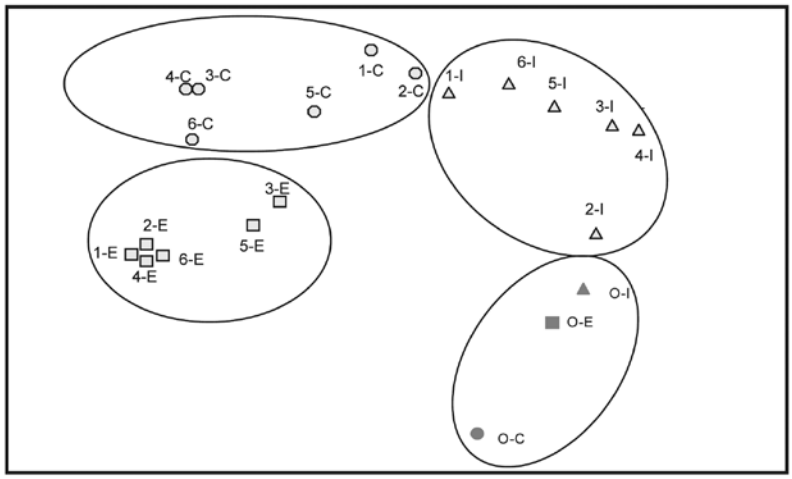


Fig. 1 – Ordinamento MDS (Multi-dimensional scaling) che mostra la relazione tra habitat e siti. △ = Bordo Interno, □ = Bordo Esterno, ○ = Cuvette o pozza. I simboli di colore rosso si riferiscono al sito impatto, quelli di colore più chiaro ai siti controllo.

Multi-dimensional scaling ordination showing the relationship between habitats and sites. △ = Inner margin, □ = Outer margin, ○ = Pool. The symbols in red colour refer to impact site, those in lighter ink to control sites.

All'interno dei campioni dell'area non impattata si osserva un'ulteriore separazione tra i campioni in relazione al tipo di habitat (E, I, C). Per i due tipi di sito (impatto-controllo) e per i tre tipi di habitat, questa separazione è confermata dal risultato dell'AFC (Fig. 2). Secondo l'analisi del SIMPER, i popolamenti algali delle cuvette risultano diversi (90,85%) per la presenza nei campioni impatto di organismi come *Enteromorpha* sp. e *Padina pavonica*, e nei campioni controllo di *Chondrophycus* cfr. *papillosus* e *Jania rubens*. Tra i campioni di bordo esterno, invece, le specie responsabili delle dissimilarità (87,54%) sono *Enteromorpha* sp. e *Ceramium* sp. nel sito impattato; *Cystoseira amentacea* e *Cystoseira compressa* nei siti controllo. Sui bordi interni il valore di dissimilarità si riduce a 52,18% per la comune presenza di *Ceramium* sp.; il maggiore contributo alla dissimilarità è dato da *Enteromorpha* sp. presente in grande quantità nel sito impattato.

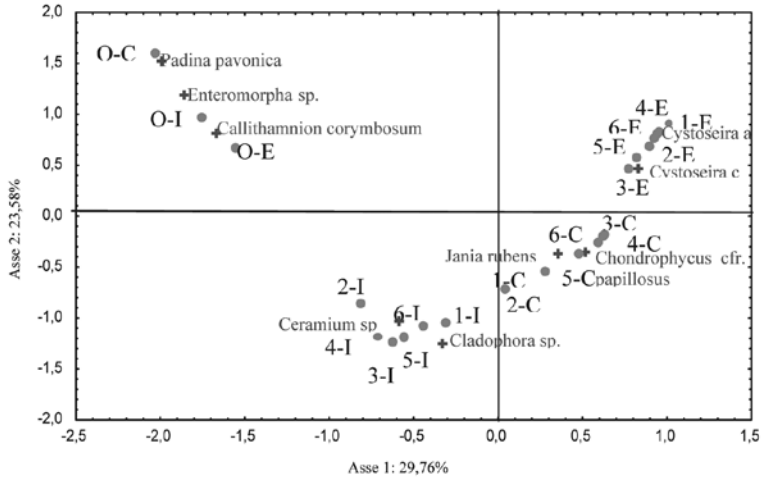


Fig. 2 – Analisi Fattoriale delle Corrispondenze sui dati di abbondanza delle specie.
Factorial Correspondence Analysis (FCA) on species abundance data.

Conclusioni

Dai risultati emerge anzitutto l'elevata eterogeneità nella distribuzione degli organismi fra i 3 ambienti: I, E, C. Tale separazione, evidente in tutti i siti analizzati, dipende da due gradienti fisici (emerso-immerso e costa-largo), come già evidenziato da altri AA (Chemello *et al.*, 2000). Il popolamento algale precedentemente ombreggiato è fortemente alterato, sia in termini di composizione che di abbondanza delle specie. All'aumento dell'illuminazione, il *sito impattato* viene colonizzato da alghe strutturalmente semplici (nastriformi, filamentose o a ventaglio); i siti *controllo*, invece, sono ricoperti da alghe dal tallo articolato e complesso. L'affinità riscontrabile tra i campioni *controllo* e quelli *impatto* del bordo interno, dipenderebbe dalla ridotta esposizione alla luce dei bordi interni nell'area di studio (a causa della pendenza della costa). L'impatto autunnale della luminosità innesca la colonizzazione del substrato da parte di un popolamento monostratificato ed instabile, tendente ad associazioni più complesse. Il modello semplificato suggerito dallo studio, indica una chiave di lettura dei cambiamenti nelle comunità bentoniche che si verificano a seguito della costruzione di opere murarie in mare, che, in definitiva producono una regressione nei paesaggi marini.

Bibliografia

CHEMELLO R,. DIELI T., ANTONIOLI F. (2000) – Il ruolo dei "reef " a molluschi vermetidi nella valutazione della biodiversità. *Mare e cambiamenti globali, Aspetti scientifici e gestione del territorio, ICRAM Roma*: 105-118.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) – *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Natural Environmental Research Council, UK: 144 pp.

HAIR C.A., BELL J.D., KINGSFORD M.J. (1994) – Effects of position in the water column, vertical movement and shade on settlement of fish to artificial habitats. *Bull. Mar. Sci*., **55**: 434-444.

WILLIAMS G.A. (1994) – The relationship between shade and molluscan grazing in structuring communities on a moderately-exposed tropical rocky shore. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **178**: 79-95.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 558-560

G. Franci, S. Schiaparelli, R. Cattaneo-Vietti, G. Albertelli

DIP.TE.RIS., Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.

1999 MASS MORTALITY EVENT IN THE LIGURIAN SEA: RECOVERY STRATEGIES IN *EUNICELLA CAVOLINII* (CNIDARIA: OCTOCORALLIA)

LA MORTALITA' DI MASSA DEL 1999 IN MAR LIGURE: STRATEGIE DI RECUPERO IN EUNICELLA CAVOLINII *(CNIDARIA: OCTOCORALLIA)*

Abstract

The consequences of an extensive mass mortality (Northern Tyrrhenian Sea, September 1999) on population density and structure of Eunicella cavolinii *(Koch 1887) (Cnidaria: Octocorallia) have been studied for two years* in situ *and with laboratory tests. Re-growth rate of the coenenchima has been recorded and bud production has been hypothesized as a recovery strategy.*

Key-words: *Octocorallia,* Eunicella cavolinii*, mass mortality, coenenchima growth, buds.*

Introduction

In the late 1999 summer, an extensive mortality event has occurred in the Ligurian Sea, in the Tuscany Archipelago and in the Gulf of Marseilles, involving at least 30 benthic invertebrates. This event appears to be the largest mass mortality ever recorded in the Mediterranean Sea with respect to the extension of the geographic area interested, the high diversity of *taxa* affected and the high mortality rates observed; its magnitude can be compared only with similar events occurring in tropical reefs. Even if the mortality event was in concomitance with an anomalous increase of sea water temperature, this rising seems not to be the sole responsible of the mortality itself (Perez *et al*., 2000; Cerrano *et al*., 2000; Romano *et al*., 2000).

Amongst the most affected taxa were gorgonaceans, particularly *Eunicella cavolinii* (Koch, 1887), *Paramuricea clavata* (Risso, 1826), and *Corallium rubrum* (L., 1758) (Cerrano *et al*., 2000; Garrabou *et al*., 2001; Perez *et al*., 2000).

Aim of this work is to evaluate the effects of this mortality event on the density and structure of a population of *E. cavolinii* living at Paraggi Bay (Portofino Promontory, Ligurian Sea) and its recovery processes.

Materials and methods

To assess a *E. cavolinii* population density and structure, we counted and divided in class size of 5 cm each, all colonies (n = 142) living inside a fixed frame of 4 m^2 at Paraggi Bay (15-17 m depth) after measuring with a vernier caliper; data were collected by SCUBA divers just after the mortality (September 1999) and in the two following years (October 2000 and 2001).

To evaluate the growth rate of the coenenchima, 15 damaged colonies were marked with permanent labels and monthly photographed for the first year and every four months thereafter. The coenenchima re-growth was evaluated on single branches of

the marked colonies.

15 colonies were collected and used for laboratory experiments to evaluate the plasticity of the coenenchima.

Results

Population density has increased from 34.5 colonies per m^2 in 1999, to 41.8 colonies per m^2 in 2000; between 2000 and 2001 it has decreased to 36.8 colonies per m^2.

Population structure has shifted from a "steady state" condition in 1999 (modal size 20 cm), towards a "younger" one (modal size 10 cm in 2000 and 5 cm in 2001).

In the first five months after the mortality the coenenchima re-growth has been quite high, reaching an average rate of 2.5 ± 1.1 cm per month (n = 71), then it has slowed down until it stopped after about 15 months, due to a massive presence of epibionts grown on the bare axes.

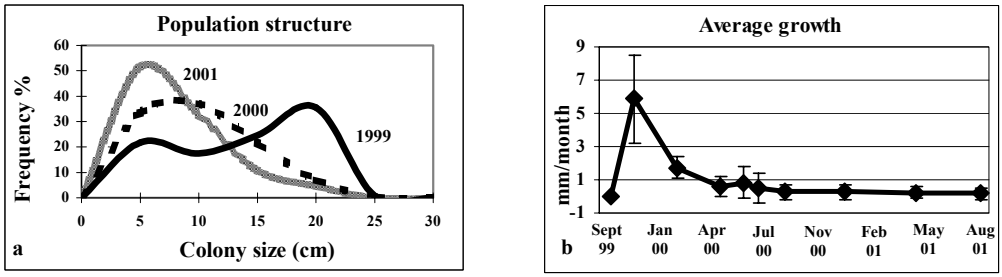


Fig. 1 – (a) Population structure from 1999 to 2001; (b) Average growth of coenenchima after the mortality event.

(a) Struttura della popolazione dal 1999 al 2001; (b) Accrescimento medio del cenenchima dopo la mortalità.

Laboratory observations showed an extreme plasticity of the coenenchima, which has been able either to undermine the bacterial film which covered the bare axis in the first phases, and to survive if overgrown by epibionts in a second stage. In some of the marked colonies photographed at sea, we also observed the autotomy of small parts of branches not hit by the mortality. Moreover small fragments of coenenchima, artificially obtained in laboratory, were seen to re-arrange into spherical buds with a single polyp each.

Conclusions

The increase of population density recorded the first year after the mortality and the shifting of population structure towards smaller sizes have been due to: 1) the death and detachment of medium-big sized colonies after the mortality; 2) the loss of conspicuous portions of dead branches and the autotomy of small living ones; 3) the arrival of new recruits.

The re-organisation of small fragments of coenenchima into single complete polyp buds seems to be due to stress factors (*e.g.* change in temperature and salinity values)

as it is known in the Mediterranean Sea only for *Corallium rubrum* (Russo *et al.*, 1997). If the production of polyp buds, from small fragments, is a phenomenon occurring at sea as well as in laboratory, it could represent a strategy to overcome stress factors like those which caused the mortality, as already been observed in tropical gorgonaceans (Russo & Vari, 1997).

At present it is not possible to evaluate the time needed for a complete recovery after an event like the 1999 one and more studies are needed to verify if the consequences of such episodes are totally negatives or may somehow contribute to a quicker population turn-over in slow growing organisms like gorgonaceans.

References

CERRANO C., BAVESTRELLO G., BIANCHI C.N., CATTANEO-VIETTI R., BAVA S., MORGANTI C., MORRI C., SARA G., SCHIAPARELLI S., SICCARDI A., SPONGA F. (2000) - A catastrophic mass mortality episode of gorgonaceans and other organisms in the Ligurian Sea (NW Mediterranean) in summer 1999. *Ecol. Lett*., **3**: 284-293.

GARRABOU J., PEREZ T., SARTORETTO S., HARMELIN J.G. (2001) - Mass mortality event in red coral *Corallium rubrum* population in the Provence region (France, NW Mediterranean). *Mar. Ecol. Progr. Ser*., **217**: 263-272.

PEREZ T., GARRABOU J., SARTORETTO S., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., VACELET J. (2000) - Mortalité massive d'invertébrés marins: un événement sans précédent en Méditerranée nord-occidentale. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, **232**: 853-865.

RUSSO G.F, VARI L. (1997) - Le strategie riproduttive degli antozoi clonali ed il significato della frammentazione. In: Cicogna F., Bavestrello G., Cattaneo-Vietti R. (eds), *Biologia e tutela del corallo rosso e di altri ottocoralli del Mediterraneo*. Ministero per le Politiche Agricole, Roma: 131-197.

RUSSO G.F., ULIANICH L., CICOGNA F. (1997) - Autotomia e frammentazione, una nuova strategia riproduttiva per il corallo rosso. In: Cicogna F., Bavestrello G., Cattaneo-Vietti R. (eds), *Biologia e tutela del corallo rosso e di altri ottocoralli del Mediterraneo*. Ministero per le Politiche Agricole, Roma: 44-55.

ROMANO J.C., BENSOUSSAN N., YOUNES W.A.N., ARLHAC D. (2000)- Anomalie thermique dans les eaux du golfe de Marseille durant l'été 1999. Une explication partielle de la mortalité d'invertébres fixés? *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, **323**: 415-427.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 561-564

S. Gaeta, D. Scuderi, G. Cantone

Dipartimento di Biologia Animale "M. La Greca", Università di Catania, Via Androne, 81
95124 Catania, Italia.

PRIME OSSERVAZIONI SULLA SELEZIONE DELL'HABITAT IN DUE SPECIE DI *HALIOTIS* (MOLLUSCA: GASTROPODA) DEL MEDITERRANEO: *H. TUBERCULATA* LINNAEUS, 1758 E *H. STOMATIAEFORMIS* REEVE, 1846

FIRST OBSERVATIONS ON THE HABITAT SELECTION FOR TWO SPECIES OF HALIOTIS *(MOLLUSCA: GASTROPODA) OF THE MEDITERRANEAN:* H. TUBERCULATA *LINNAEUS, 1758 AND* H. STOMATIAEFORMIS *REEVE, 1846*

Abstract

Geiger (2000) reported for the Mediterranean Sea Haliotis tuberculata*, as the most frequent species of abalone, and reproposed as valid species* H. stomatiaeformis *Reeve, 1846, which distribution seem to be restricted to Sicily and Malta, where it contributes to increase the Molluscs biodiversity of the first infralittoral fringe. Live specimens and shells of this species were collected in the northern coast of Catania. On the basis of this materials and of the in-situ observations, habitat selection is hypothesized as ecological factor, which allows the coexistence of the two species.*

Key-words: Haliotis tuberculata*,* Haliotis stomatiaeformis*, Mediterranean, habitat selection.*

Introduzione

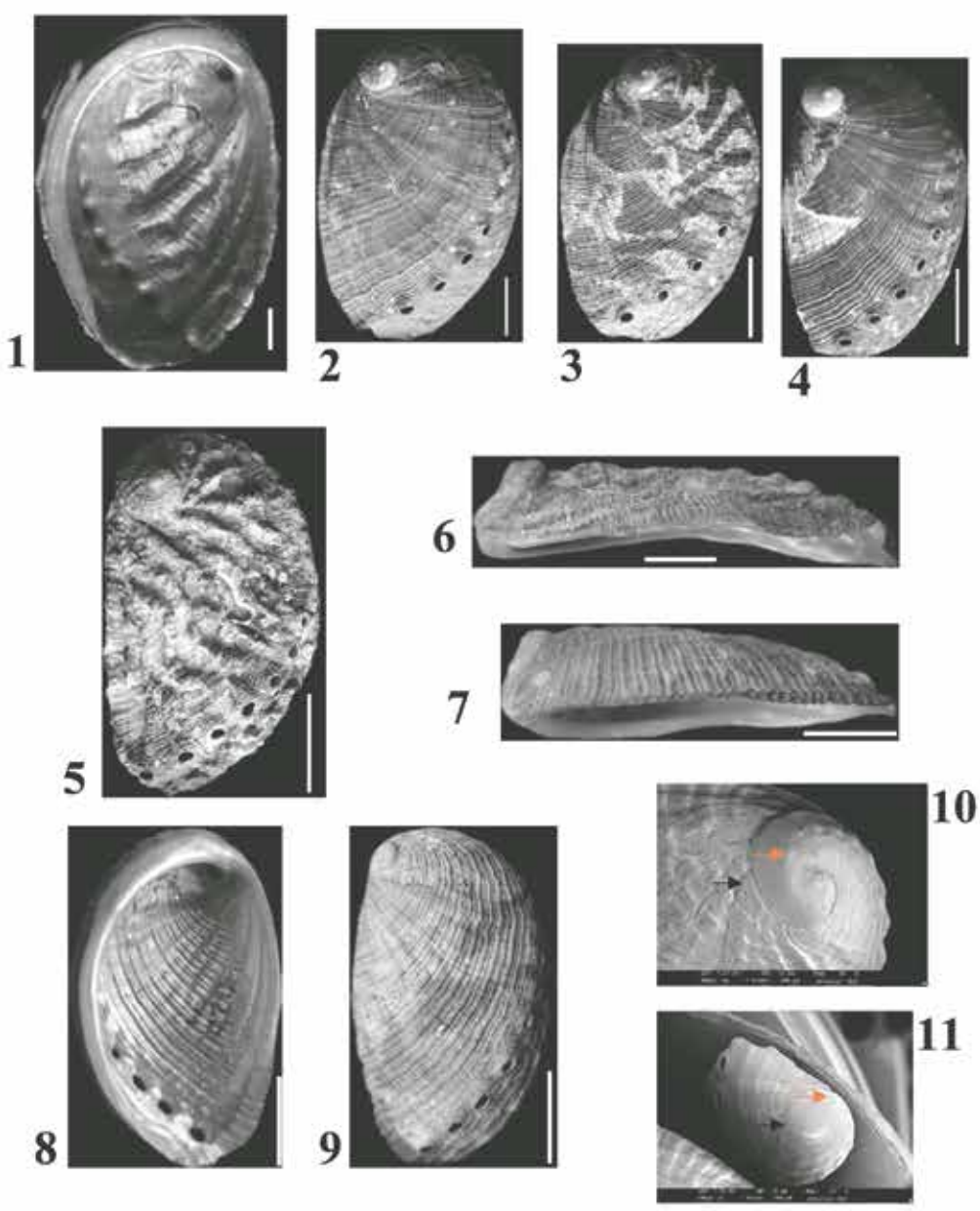
Fino a poco tempo fa, i Molluschi Gasteropodi del genere *Haliotis* erano rappresentati in Mediterraneo dalle due specie *H. tuberculata* Linnaeus, 1758 e *H. lamellosa* Lamarck, 1822, separate sulla base di alcune caratteristiche fenetiche della conchiglia: più liscia, piana ed ampia la prima (Figg. 1-4), più corrugata, "lamellosa" e stretta la seconda (Figg. 5-6). In seguito la composizione in specie di tale genere per le nostre acque viene ridiscussa, prima da Garavelli (1968a, 1968b) ed in seguito da Geiger, che con i suoi lavori sulla revisione (Geiger, 1998) e biogeografia (Geiger, 2000) del genere, pone in sinonimia *tuberculata* e *lamellosa*, non reputando opportuno mantenerle separate, neanche a livello sottospecifico. Egli, in definitiva, riconosce per le acque del Mediterraneo i seguenti taxa: *H. tuberculata tuberculata* Lamarck, 1822, *H. tuberculata coccinea* Reeve, 1846*, H. pustulata* Reeve, 1846*, H. stomatiaeformis* Reeve, 1846. La distribuzione di quest'ultima sembra essere limitata soltanto alle coste della Sicilia orientale e a Malta, le uniche località da cui proviene il materiale finora osservato.

In questo lavoro vengono riportate le prime osservazioni relative all'habitat di *H. stomatiaeformis*, che evidenzia caratteristiche peculiari rispetto alla simpatrica *tuberculata*: sulla base del materiale collezionato, fra cui alcuni esemplari vivi, e di osservazioni in situ viene prospettato uno scenario di "habitat selection", che separa spazialmente le popolazioni delle due specie.

Materiali e metodi

H. stomatiaeformis. Catania: Capo Molini, 2-4 metri, 58 esemplari, di cui 3 vivi; Pozzillo, 2-4 metri, 15 esemplari, di cui 5 vivi; S. G. Li Cuti, 2-4 metri, 8 esemplari.

H. tuberculata. Catania: Capo Molini, 2-4 metri, 69 esemplari, di cui 40 vivi; Acitrezza, 2-6 metri, 141 esemplari, di cui 113 vivi. S. G. Li Cuti, 2-6 metri, 118 esemplari, di cui 68 vivi; Pozzillo, 2-4 metri, 10 esemplari vivi. Messina: 2-4 metri, 5 esemplari vivi. Siracusa: Terrauzza, 2-4 metri, 3 esemplari.



Figg. 1-6, 11 – *Haliotis tuberculata*.
Figg. 7-10 – *Haliotis stomatiaeformis*, Catania; linea di scala 1:10 mm.

Risultati e conclusioni

Morfologicamente la conchiglia di *H. stomatiaeformis* (Figg. 7-9) si differenzia da quella di *H. tuberculata* per i seguenti caratteri della teleoconca: dimensioni mediamente più piccole (15-20 millimetri), l'esemplare adulto di maggiori dimensioni è di 39 mm, mentre *H. tuberculata* perviene mediamente a 30-50 mm di lunghezza (con individui che raggiungono i 70 mm) in Mediterraneo e a 30-120 mm in Atlantico. Morfologia della conchiglia più stretta ed allungata, maggiormente auriforme. Convessità dei giri molto marcata. Scultura essenzialmente costituita da sottili e numerose costole spirali, tutte delle medesime dimensioni. Sono state inoltre osservate differenze a livello di protoconca (Figg. 10-11): le dimensioni sono minori che in *H. tuberculata*; in *H. stomatiaeformis* il primo foro viene prodotto molto prima ed il cingolo subsuturale è molto poco marcato; la scultura della superficie sembra più scabra in *H. stomatiaformis*. Ulteriori studi sono in corso, soprattutto dal punto di vista biologico-molecolare (Oliverio e Scuderi, dati non pubblicati).

La presenza di *H. stomatiaeformis* sembra legata a locali apporti acquadulcicoli ed è ristretta ad una esigua fascia batimetrica, tra 1,5 metri e 3 metri, in zone riparate, sotto piccole rocce poggiate su substrato incoerente (costituito prevalentemente da sabbia vulcanica): la forma più convessa della conchiglia potrebbe essere un adattamento a questo tipo di situazione ambientale; tali dati sono confermati da quelli relativi alla popolazione maltese (Geiger e Owen, 2001) dove, in aggiunta, si riportano rinvenimenti anche in ambienti contigui al posidonieto. In tali condizioni, *H. Tuberculata*, comune anche lungo tutto il resto del litorale roccioso, sembra sovrapporsi alla congenere a 2,5-3 m di profondità; la sua frequenza cresce con la profondità (fino a circa 30 metri), raggiungendo la frequenza massima intorno ai 4-6 m.

I dati derivanti dall'osservazione in situ sembrano evidenziare l'attività di selezione di habitat operata da fattori edafici, come gli apporti di acqua dolce, che sottopongono l'ambiente a stress periodici, favorendo l'insediamento di *H. stomatiaeformis*, che risulterebbe così più opportunista della congenere. Dati relativi alla risposta di una comunità di Anellidi Policheti ad apporti stagionali di acqua dolce, per uno dei siti qui considerati, sono offerti da Mollica (1998), che evidenzia la sensibilità di certi gruppi alla variazione di salinità e la loro immediata migrazione con il verificarsi di questi eventi. Sempre fra i Policheti, alcune specie sorelle del genere *Capitella* si differenziano per la diversa resistenza alle variazioni di salinità, che agiscono come elemento di selezione ambientale (Grassle e Grassle, 1997).

A causa della sua rarità, il modesto rinvenimento di esemplari vivi di *H. stomatiaeformis* non ha consentito di ottenere dati più precisi dal punto di vista ecologico e della sua biologia riproduttiva: sulla base delle osservazioni condotte sul materiale (morfometria della teleoconca, dimensioni della protoconca) e sull'ambiente di rinvenimento, questa specie sembra basarsi su una strategia dispersiva a potenziale più limitato rispetto alla congenere e probabilmente a riproduzione continua durante tutto l'anno. Una tale strategia permetterebbe a *H. stomatiaeformis* di essere più pronta e veloce di *H. tuberculata* nel ricolonizzare l'ambiente stressato dagli apporti stagionali di acqua dolce e di ricavarsi, quindi, un proprio spazio ecologico.

Le popolazioni delle due specie vivono simpatricamente, nelle aree descritte della costa nord di Catania, occupando differenti livelli della zonazione verticale di substrato duro. Esse contribuiscono, pertanto, ad accrescere la biodiversità in tale ambiente, che evidenzia una maggiore complessità, grazie a peculiarità ambientali che ne ampliano le possibili sfaccettature.

Ringraziamenti

Un sincero ringraziamento va al prof. G.F. Russo dell'Istituto di Meteorologia ed Oceanografia, Università di Napoli "Parthenope", per l'aiuto nella stesura e la rilettura critica del lavoro ed al dott. D. Geiger del Museo di Storia Naturale di Santa Barbara, California, per i consigli e l'aiuto bibliografico offerto.

Bibliografia

GARAVELLI C.L. (1968 a) - Le *Haliotis* della Provincia Lusitanica. *Conchiglie*, **4** (5-6): 93-115.

GARAVELLI C.L. (1968 b) - Postille su *Haliotis tuberculata* ed *Haliotis lamellosa*. *Conchiglie*, **4** (7-8): 119-120.

GEIGER D. (1998) - Recent genera and species of the family Haliotidae Rafinesque, 1815 (Gastropoda: Vetigastropoda). *The Nautilus,* **111**: 85-116.

GEIGER D. (2000) - Distribution and Biogeography of the Recent Haliotidae (Gastropoda:Vetigastropoda) World-wide. *Bollettino Malacologico*, Roma, **35** (5-12): 57-120.

GEIGER D., OWEN B. (2001) - The identity of *Haliotis stomatiaeformis* Reeve, 1846, from the Mediterranean Sea (Gastropoda: Vetigastropoda: Haliotidae). *The Nautilus,* **115**: 77-83.

GRASSLE J.F., GRASSLE J.P. (1997) - Temporal adaptation in sibling species of *Capitella*. In: Coull B.C. (ed), *Ecology of Marine Benthos*, University of South Carolina Press, Columbia: 177-188.

MOLLICA E. (1998) - Effects of fresh water afflux on polychaetous annelids (Annelida Polychaeta) of the hard bottoms in San Giovanni Li Cuti (Catania, Sicily). *Marine Life*, **8** (1-2): 11-17.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 565-567

F. Garaventa, M. Faimali, K. Sepčić*, S. Geraci

CNR, Istituto di Scienze Marine (ISMAR), Via De Marini, 6 - 16149 Genova, Italia.
*Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Večna pot 111 - 1000 Ljubljana, Slovenia.

LABORATORY ANALYSIS OF ANTIMICROFOULING ACTIVITY OF POLY-APS EXTRACTED FROM *RENIERA SARAI* (PORIFERA: DEMOSPONGIAE)

ANALISI DI LABORATORIO DELL' ATTIVITA' ANTIMICROFOULING DI POLY-APS ESTRATTI DI RENIERA SARAI *(PORIFERA: DEMOSPONGIAE)*

Abstract

The aim of this work was to assess the antimicrofouling activity of natural compounds (poly-APS) isolated from a marine sponge, Reniera sarai *(Porifera: Demospongiae).*

Key-words: *microfouling, settlement, sponge, natural products.*

Introduction

Marine organisms represent a rich source of chemically novel compounds showing a broad spectrum of bioactivity. Natural products with antifouling activity (NPAs) (Clare, 1998) have been isolated from a wide range of sessile organisms including gorgonians, sponges, bryozoans, ascidians, algae, and sea-grasses (for reviews see Davis *et al.*, 1989, Holmström and Kjellemberg, 1994< Clare, 1996). The development of coatings based on natural products from marine organisms (De Nys *et al.*, 1995) is one of the most promising alternatives to the present antifouling technologies.

We have studied the antimacrofouling activity of water-soluble 3-alkylpyridinium salts (poly-APS), isolated and purified from the crude extract of the Mediterranean sponge *Reniera sarai* Pulitzer-Finali, 1969 (Faimali *et al.*, 2002). Poly-APS inhibits settlement of laboratory reared *Balanus amphitrite* Darwin, 1854 cypris larvae with an EC_{50} of 0.27 $\mu g \times ml^{-1}$ (Faimali *et al.*, 2002). In this work, we have tried to assess the antimicrofouling efficacy of this purified molecule. The formation of biofilm under laboratory conditions, in presence of poly-APS, was detected by means of scanning electron microscopy (SEM).

Materials and methods

In order to analyse the microfouling settlement, three glass substrata replicates (1×1 cm^2) were artificially biofilmed for 10 and 20 days at 20 °C. They were immersed in an unfiltered natural sea water solution of poly-APS at different concentrations (0, 0.01, 0.1 and 1 $\mu g \times ml^{-1}$). After the immersion periods the glass substrata were treated for SEM analysis. Counts of microorganisms (bacteria, protozoa, diatoms and fungi) were made from photos of the entire field of view of SEM screen at magnifications of 5000× (field of view = 335 μm^2). Ten random replicates counts were made from each specimen in order to assure independence of data. The number of microorganisms belonging to different taxa (bacteria, diatoms, protozoa and fungi) was estimated by counting from each photo. Factors involved in this test were analysed by means of a

three-way ANOVA test. Homogeneity of variance has been verified by Cochran's Test, followed by Student-Newman-Keuls Test (SNK Test) ($\alpha = 0.01$). The analysed factors were: number of days of treatment (Factor 1, two levels: 10 and 20), poly-APS concentration (Factor 2, four levels: 0, 0.01, 0.1 and 1 $\mu g \times ml^{-1}$) and number of microorganisms belonging to each taxa (Factor 3, four levels: bacteria, diatoms, protozoa and fungi).

Results

The three-way ANOVA statistical analysis clearly showed that all the three above-mentioned factors (and their interactions) result highly significant ($p < 0.0001$). The SNK Test revealed that the proportional decrease of settlement is dose-dependent at both times, with an exception of protozoa that showed an increase of settlement with increasing poly-APS concentration (Fig. 1).

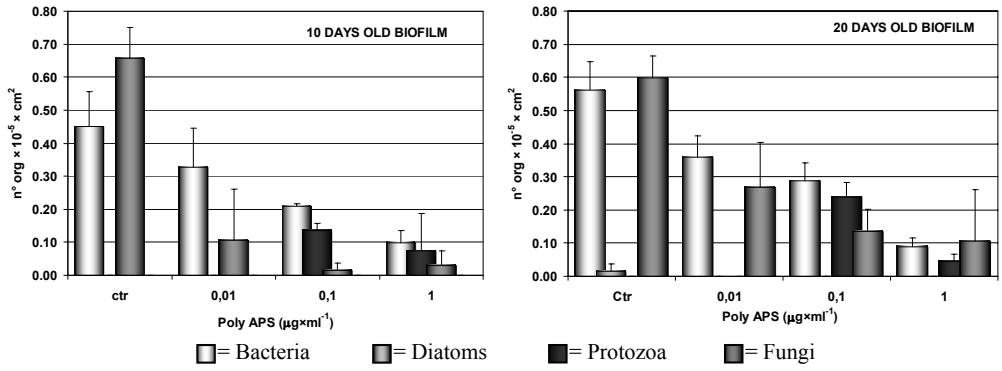


Fig. 1 – Mean number of organisms belonging to different taxa, setlled on glass substrata at 10 and 20 days at different concentrations of poly-APS. Bars indicate S.E. (N=3×10).

Media degli organismi, per ogni taxa, insediati sui substrati di vetro a 10 e 20 giorni alle differenti concentrazioni di poly-APS. Le barre indicano l' E.S. (N=3×10).

Conclusions

Water-soluble 3-alkylpyridinium salts (poly-APS), isolated from *Reniera sarai*, significantly inhibit settlement of bacteria and fungi in the laboratory-developed microfouling test. The inhibition is present at all poly-APS concentrations, showing an evident dose-dependence, and is especially prominent at 0.1 and 1 $\mu g \times ml^{-1}$. On the contrary, the number of protozoa significantly increases at higher concentrations of poly-APS, where the rest of microbenthic community is severely affected. We were not able to verify this trend with higher concentrations of poly-APS because of solubility problems. The obtained results were similar for both 10 and 20 days old biofilms.

The results of all the antifouling tests performed with poly-APS suggest that these molecules could be proposed as potential NPAs towards both micro- and macrofouling.

Chemical synthesis of poly-APS analogues, suitable for insertion into antifouling paint matrixes and for subsequent field tests, is in due course.

References

CLARE A.S. (1996) – Marine natural product antifoulants: status and potential. *Biofouling,* **9**: 211-229.

CLARE A.S. (1998) – Towards nontoxic antifouling. *J. Mar. Biotechnol.*, **6**: 3-6.

DAVIS A.R., TARGETT N.M., MCCONNEL O.J., YOUNG C.M. (1989) – Epibiosis of marine algae and benthic invertebrates: natural products chemistry and the mechanisms inhibiting settlement and overgrowth. In: Scheuer P.J. (ed), *Marine Bioorganic Chem 3*. Verlag Press: 85-114.

DE NYS R., STEINBERG P.D., WILLEMSEN P., DWORJANYN C.L., GABELISH C.L., KING R.G. (1995) – Broad spectrum effects of secondary metabolites from the red alga *Delisea pulchra* in antifouling assays. *Biofouling*, **8**: 259-271.

FAIMALI M., SEPČIĆ K., TURK T., GERACI S. (2003) – Non-toxic antifouling mechanism of polymeric 3-alkylpyridinium salts from the Mediterranean sponge *Reniera sarai* Pulitzer-Finali. *Biofouling*, **19** (1): 47-56.

HOLMSTRÖM C., KJELLEBERG S. (1994) – The effect of external biological factors on settlement of marine invertebrate and new antifouling technology. *Biofouling*, **8**: 147-160.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 568-570

R. Guglielmo, S. Giacobbe, N. Spanò, A. Manganaro

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina, Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.

COMUNITA' MACROZOOBENTONICHE ASSOCIATE A *CAULERPA TAXIFOLIA* (VAHL) C. AGARDH NELLO STRETTO DI MESSINA: PRIMI RISULTATI

ZOOBENTHIC COMMUNITIES ASSOCIATED TO CAULERPA TAXIFOLIA *(VAHL) C. AGARDH IN THE STRAITS OF MESSINA: PRELIMINARY DATA*

Abstract

Zoobenthic communities associated to C. taxifolia *meadows in the Straits of Messina were investigated since 1999. Molluscs (92 species found), Polychaetes (78 species), crustacean decapods (25 species), and echinoderms (18 species), were employed to describe communities. These were characterized by a low similarity and, in general, by a low organization level. At the moment, season and year can be considered as the main discriminant factors, although several edaphic factors (sediment texture, hydrodynamism, sedimentation rate, etc.), act on communities distribution.*

Key-words**:** *Mediterranean Sea,* C. taxifolia***,*** *molluscs***,*** *polychaetes, crustacean decapods, echinoderms.*

Introduzione

A seguito della crescente espansione nello Stretto di Messina dell'alga introdotta *Caulerpa taxifolia*, sono state intraprese indagini sulla composizione e struttura delle comunità macrozoobentoniche associate.

Scopo della ricerca è fornire un contributo al problema delle modificazioni indotte dalla diffusione dell'alga, nella composizione e struttura delle comunità bentoniche, con particolare riferimento al problema della biodiversità (Bellan-Santini *et al.,* 1996).

Materiali e metodi

Le indagini hanno riguardato il versante siciliano dello Stretto di Messina, lungo circa 7 Km di costa fra Capo Peloro e la foce del Torrente Annunziata, entro l'isobata dei –50 m (attuale limite inferiore delle praterie di *Caulerpa taxifolia*). I dati qui riportati si riferiscono a 18 campionamenti effettuati mediante benna e operatore subacqueo, fra il 1999 e il 2001, in sei siti, nelle stagioni autunnale e invernale. Per ogni campione sono stati prelevati 50 dm^3 di sedimento, su una superficie di 0.25 m^2. Sono state inoltre effettuate riprese ROV, al fine di documentare le principali tipologie del paesaggio. Le indagini sono state effettuate limitatamente ai gruppi più abbondanti e con maggiore valenza descrittiva, cioè Molluschi, Policheti, Echinodermi e Crostacei Decapodi.

Risultati

Le osservazioni dirette e i campionamenti, effettuati in autunno e inverno, hanno evidenziato l'esclusiva presenza del fenotipo mexicanoide di *C. taxifolia*. Il dato è in

accordo con quanto riportato in letteratura per lo Stretto di Messina, in merito alla alternanza su base stagionale delle due ecadi *mexicana* e *taxifolia* (Chisholm *et al.,* 1995).

I risultati relativi alle comunità zoomacrobentoniche indicano un incremento del numero di specie nei tre anni. In particolare i molluschi passano da 33 a 58 specie (su 92 complessivamente rinvenute), e i policheti da 37 a 43 specie (su 78 complessive). I più elevati valori di densità si sono registrati fra i policheti, con un picco isolato di oltre 2.000 ind./m^2 per la specie *Aponuphis bilineata*.

La composizione specifica, variabile ed eterogenea, indica popolamenti privi di una riconoscibile connotazione cenotica, così come di una ben definita struttura trofica. La mancanza, allo stato attuale, di una ben definita identità dei popolamenti, è suggerita dai risultati dell'analisi multivariata. In particolare, l'indice di similarità di Bray e Curtis, 1957 (dati trasformati con radice quadrata), e clasterizzato per group average, ha messo in evidenza 4 gruppi principali già ad un livello del 15%. La relativa rappresentazione MDS (Fig. 1) indica che tali gruppi sono principalmente discriminati dal fattore tempo, sia su base annuale che stagionale. Una indicazione in tal senso sembra venire anche dal test ANOSIM one-way che ha dato i seguenti risultati: global R: 0.43 e 0.36 rispettivamente, e per entrambi, $p = 0.1\%$, con un numero di permutazioni statistiche maggiori o uguali a global R pari a 0. Al contrario, non sembra che il substrato abbia un ruolo primario nel determinare la composizione faunistica dei popolamenti, così come la profondità, che sembra addirittura ininfluente. Tale mancanza di relazione fra composizione dei popolamenti e ubicazione batimetrica si spiega in parte con il peculiare regime idrodinamico dello Stretto di Messina, dominato da correnti di marea, la cui intensità non viene sensibilmente influenzata dalla profondità (Mosetti, 1995).

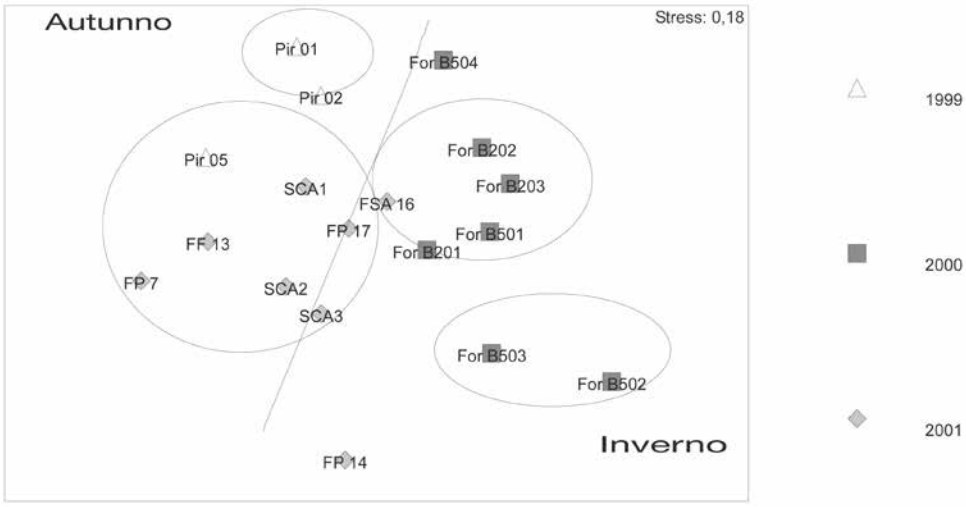


Fig. 1 – Grafico MDS relativo all'indice di similarità di Bray-Curtis (i gruppi contornati sono discriminati al 15%).
MDS graph applied on Bray-Curtis similarity index (according to a 15% of similarity).

Conclusioni

I dati riportati in questa sede evidenziano come le attuali comunità macrozoobentoniche associate a *Caulerpa taxifolia* ecade *mexicana* nell'area dello Stretto di Messina, siano ancora in una fase di rapida trasformazione. Questo è certamente in rapporto con la dinamica dell'alga (Giaccone, 1997), ancora in attiva espansione (Orestano *et al.,* 1999) e non ancora in equilibrio con l'ecosistema (Giacobbe *et al.,* 2001). Analogamente, le variazioni su base stagionale potrebbero essere in relazione con il ciclo annuale di *C. taxifolia*.

Bibliografia

BELLAN-SANTINI D., ARNAUD P.M., BELLAN G., VERLAQUE M. (1996) – The influence of the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia,* on the biodiversity of the Mediterranean marine biota. *J. mar. Biol. Ass. U.K.,* **76**: 235-237.

BRAY J.R., CURTIS J.T. (1957) – An ordination of the upland forest communities of Sourthern Wisconsin. *Ecol. Monogr.,* **27**: 325-349.

CHISHOLM J.R.M., JAUBERT J.M., GIACCONE G. (1995) – *Caulerpa taxifolia* in the northwest Mediterranean: introduced species or migrant from the Red Sea?. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie,* **318**: 1219-1226.

GIACCONE G. (1997) – Phytosociologie et écologie du genre *Caulerpa* en Méditerranée. In: Dynamique d'éspèces marines invasives: application à l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *Séminaire international organisé avec le concours du ministère de l'Environnement et du programme «Environnement, Vie, Sociétés» du CNRS les 13-14-15 mars 1997*. Ed. Tecnique & Documentation II.

GIACOBBE S., SPANO' N., MANGANARO A. (2001) – Preliminary data on benthic environment modifications following the *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, spread along the Straits of Messina Sicilian coasts (Mediterranean Sea). *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.,* **36**: 387 pp.

MOSETTI F. (1995) – Tidal and other currents in the Straits of Messina. In: Guglielmo L., Manganaro A., De Domenico E. (eds), *The Straits of Messina ecosystem*, Proceedings of Symposium in Messina, April 4-6 1991: 13-29.

ORESTANO C., PIRROTTA M., AMMIRATO E. (1999) – Spread of *Caulerpa taxifolia* in Sicily and Calabria. In: Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G., Verlaque M. (eds), *Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia, GIS Posidonie publ.:* 78-84.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 571-573

C. Lardicci, S. Corti, S. Como

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.

EFFECTS OF TAXONOMIC RESOLUTION IN ANALYSIS OF MACROBENTHIC COMMUNITIES OF A MEDITERRANEAN COASTAL LAGOON (ORBETELLO, ITALY)

EFFETTI DELLA RISOLUZIONE TASSONOMICA NELL'ANALISI DELLE COMUNITÀ MACROBENTONICHE DELLA LAGUNA DI ORBETELLO

Abstract

The aim of the present research was to investigate the effects of decreasing taxonomic resolution and of different data transformations on the macrobenthic community patterns in the Orbetello lagoon through multivariate analyses. The results showed that there is little information loss with lower taxonomic resolution but the choice of both taxonomic level and transformation were important in affecting the results of subsequent analysis.

Key-words: *macrobenthos, multivariate analysis, coastal lagoon, Tyrrhenian Sea.*

Introduction

The aim of the present research was to investigate the effects of decreasing taxonomic resolution and of different data transformations on the information obtained through multivariate analysis of the macrobenthic community patterns in the Orbetello lagoon, one of the widest Western Mediterranean lagoon. The data set used comes from 3 well-study periods (1976, 1994, 1999) representatives of the Orbetello lagoon different (eu)trophic status in these last 23 years (Lardicci *et al.*, 2001). A simple cost/benefit index, introduced by Karakassis & Hatziyanni (2000) was also used to select the taxonomic level with the minimal loss of information and the least taxonomic effort.

Materials and methods

For each of the three study periods, species-abundance data of all macrobenthic samples were aggregated to the levels of genus, family, order, class and phylum and similarities were calculated by means of the Bray-Curtis similarity index. This analysis was repeated using different types of transformation (none, square root, fourth root and presence/absence) and the 24 similarity matrices obtained for each study period (6 taxonomic levels × 4 transformations) were compared using the non-parametric Spearman rank correlation coefficient. For each study period the intermatrix rank correlation values obtained were used as the elements of a second similarity matrix which was used as an input matrix for a second-stage multi-dimensional scaling ordination. A cost/benefit ratio was calculated according the formula $CB_L = (1- r_L)/ (S-t_L/S)$. CB_L is the cost/benefit ratio at taxonomic level L, r_L the Spearman correlation coefficient between taxonomic level L and species level, t_L the number of taxa present at taxonomic level L and S the number of species.

Results and conclusions

The 'second-stage' MDS ordination plots (Fig. 1) showed patterns with vertical separation of taxonomic levels and a horizontal separation of transformations. This

probably means that the choice of transformation has more than an effect than the taxonomic level, and as the latter increases the effect of subsequent transformations become stronger.

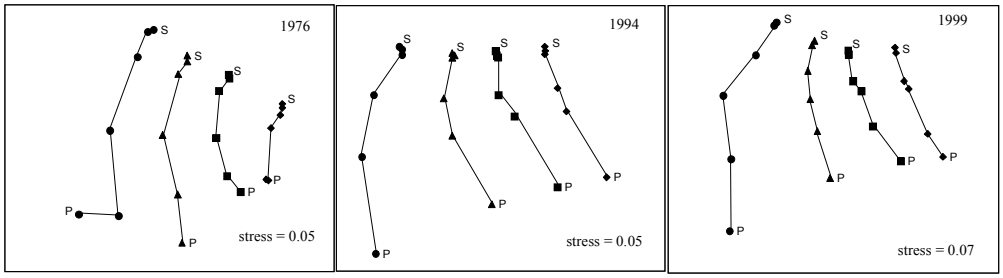


Fig. 1 – 'Second-stage' MDS ordination plots for the three study periods. For every type of transformations (♦: none; ■: square root; ▲: fourth root; ●: presence/absence) consecutive levels of taxonomic resolution are linked with a line, and the extreme levels are indicated (S = species; P = phylum).

Modelli di ordinamento MDS "secondo stadio" per i tre periodi considerati. Per ciascun tipo di trasformazione (♦: nessuna; ■: radice quadrata; ▲: doppia radice quadrata; ●: presenza/assenza) sono stati uniti con una linea in modo consecutivo i vari livelli tassonomici e sono stati indicati gli estremi (S = specie; P = phylum).

Moreover, in all ordination models it can be seen that the points corresponding to the matrices derived from species, genus and family using the same transformation tended to cluster together, indicating that the similarity matrices were closely related each other. The cost/benefit ratio analysis for the three study periods showed minimal values at the level of genus and family (Fig. 2).

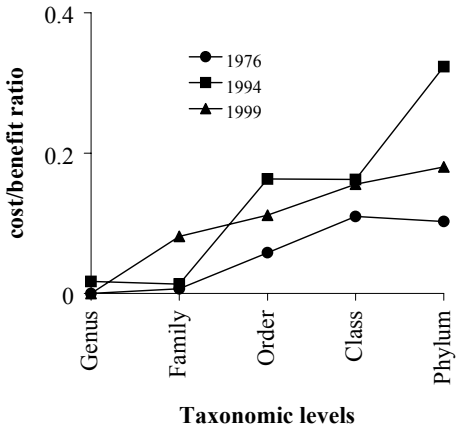


Fig. 2 - Cost/benefit analysis for different taxonomic levels for the three study periods.

Analisi costi/benefici per i diversi livelli tassonomici nei tre periodi considerati.

Although all these results gave evidence that family level could be a suitable level for faunal idenfication in monitoring investigations of benthic communities in coastal lagoons, future research will have to explore the generality of these findings with other datasets since, as emphasized by other authors (Olsgard *et al.*, 1998; Karakassis & Hatziyanni, 2000), no general rules should be established for the selection of a taxonomic level without previous documentation of the effects of the decreasing taxonomic resolution on the quality of the results in different types of communities and on different types of gradients.

References

KARAKASSIS I., HATZIYANNI E. (2000) - Benthic disturbance due to fish farming analyzed under different levels of taxonomic resolution. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **203**: 247-253.

LARDICCI C., COMO S., CORTI S., ROSSI F. (2001) - Changes and recovery of macrozoobenthic communities after restoration measures of the Orbetello lagoon (Tyrrhenian coast, Italy). *Aquatic Conserv.: Mar. and Freshw. Ecosyst*., **11**: 281-287.

OLSGARD F., SOMERFIELD P.J., CARR M.R. (1998) - Relationships between taxonomic resolution, macrobenthic community patterns and disturbance. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **172**: 25-36.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 574-576

L. Mangialajo, R. Cattaneo-Vietti, M. Chiantore, A. Meinesz*, J. de Vaugelas*, G. Barberis

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
*L.E.M.L., Université de Nice-Sophia Antipolis.

SUPERFICIAL ALGAE AS ENVIRONMENTAL QUALITY INDICATORS: APPLICATION OF A G.I.S. TO THE PORTOFINO PROMONTORY PARK

LE ALGHE SUPERFICIALI COME INDICATORI DI QUALITÀ AMBIENTALE: APPLICAZIONE DI UN G.I.S. ALL'AREA MARINA PROTETTA DEL PROMONTORIO DI PORTOFINO

Abstract

The cartography, supported by a G.I.S., of the distribution of some superficial algae in a portion of coastline along the Portofino Promontory M.P.A. is presented. Cystoseira *spp., and other species from Ulvales order, indicators of water quality, have been utilized to characterise the environmental health of this area; their distribution underlines good conditions on the southern front of the Promontory, along with a very localised disturb associated to urban settlings.*

Key-words: Cystoseira*, Ulvales, G.I.S., marine parks.*

Introduction

The composition of superficial algal communities is a good indicator of the quality of coastal waters (Cormaci & Furnari, 1991; Giaccone, 1991; Soltan *et al*., 2001). The cartography of the distribution of the following conspicuous algae, considered good monitors of particular environmental conditions, has been settled along with the institution of the Portofino Promontory Marine Protected Area (M.P.A.) in 1998:

- *Cystoseira amentacea* (C. Agardh) Bory var. *stricta* Montagne, characteristic species of the *Cystoseiretum strictae* Molinier 1958 association.
- *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff *et* Nizamuddin, characterized by a wider ecological range; where conditions are not favourable for the *Cystoseiretum strictae*, it tends to substitute the characteristic species (GIACCONE, 1991);
- *Enteromorpha* spp. and *Ulva* spp., which tend to form mono or paucispecifical communities in nutrient-rich waters (Rizzi Longo & Giaccone, 1974).

Materials and methods

Two rocky areas on the Portofino Promontory M.P.A., Punta Chiappa and Baia di S. Fruttuoso, have been investigated. The coastline was divided into 242 sectors of homogeneous substratum, 20 m in length each, measured *in situ* using a decametre (Meinesz *et al*., 2001). Sectors were identified according to various factors, such as slope and nature of substratum, geographical orientation and hydrodynamism (estimated by the vertical height of the area colonised by *Chthamalus* spp.). The quantification of the conspicuous species was expressed by meters of linear covering; both the presence of anthropic wastes and hydrocarbon residues have been carefully monitored. The exact

location of the borders of each sector was recorded on the digitalized magnifications of the coastline, elaborated from UTM regional ortophotomaps S. Margherita Ligure and S. Rocco (scale of 1:10,000). Data obtained were inserted into a G.I.S. (MapInfo) and were used to create a Data Base, containing the descriptive files of every sector of the georeferenced coastline.

Results

The Data processing permitted to elaborate highly detailed and easy to consult thematic maps (Fig. 1), which proved to be an excellent decision-making aid in the management of the territory, especially in those areas where severe accidental pollution may occur.

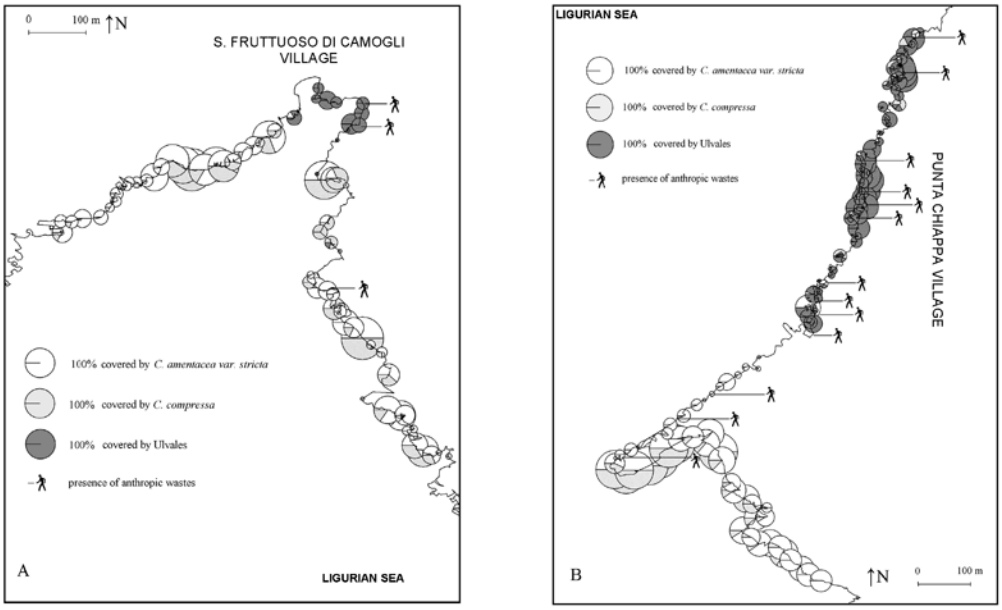


Fig. 1 – Distribution of conspicuous algal species and of anthropic wastes in Baia di S. Fruttuoso di Camogli (A) and in Punta Chiappa areas (B).

Distribuzione delle specie algali cospicue e dei rifiuti di origine antropica nella Baia di S. Fruttuoso di Camogli (A) e nella zona di Punta Chiappa (B).

For each conspicuous species the percentage of presence and of linear covering in the sectors considered favourable to their growth were calculated (Tab. 1); sectors considered not favourable (slope of substratum >60° for all algae and bad light conditions only for *Cystoseira amentacea* var. *stricta*) were omitted selecting them from the Data Base in Structured Query Language (S.Q.L.)

Tab. 1 – Percentage of sectors where each species is present (A), percentage of covered coastline (B) and percentage of presence of anthropic wastes (C) in the sectors considered favourable to the growth of each species (slope of substratum ≤ 60°).

Percentuale di settori in cui ogni specie è presente (A), percentuale di costa ricoperta (B) e presenza percentuale di rifiuti di origine antropica (C) nei settori considerati favorevoli allo sviluppo di ogni specie (pendenza del substrato ≤ 60°).

Edaphic and climatic factors	N° of sectors	Species	A	B	C
High and medium hydrodynamism, geographical orientation SE, S, SW	47	*Cystoseira amentacea* var. *stricta*	97,9	72,8	0
		Cystoseira compressa	78.7	35.0	
Low hydrodynamism	68	*Cystoseira compressa*	14,7	0,8	13.2
		Ulva spp., *Enteromorpha* spp.	75,0	30,0	

Conclusions

The high percentage of *Cystoseira amentacea* var. *stricta* recorded in areas characterized by medium or high hydrodynamism, non-vertical slope of the substratum and good light conditions pointed out a good environmental situation. On the other hand, the concomitant massive presence of *Cystoseira compressa* might be an indication of a regressive evolution of the *Cystoseiretum strictae.*

In sectors with low hydrodynamism, the *Cystoseira* spp. communities are lacking (*C. compressa* covers just 0,8% of the potential coastline) and are substituted by dense populations of the ubiquitous species *Corallina elongata* Ellis *et* Solander. Moreover, populations dominated by *Ulva laetevirens* Areschoug and *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees are frequently present in these areas, where calm-mode members of *Cystoseiretea* should be found. All this suggests a very localized disturb due to the intake of fresh waters, either of natural or anthropic source, in areas with low hydrodynamism. The presence of anthropic wastes in these sectors supports these observations.

Hydrocarbon residues are absent in all the studied area (just a very small quantity was found in a rockpool in the southern front of the Promontory).

Acknowledgements

The authors wish to thank Anna di Lauro, Arnaud Bonnin, Gilles Passeron, Ilaria Gallizia, Raffaella Bullo, Sandy Ierardi and Silvia Serluca for their precious help on the field and Prof. Giovanni Furnari for his helpful comments.

Bibliography

CORMACI M., FURNARI G. (1991) – Phytobenthic communities as monitor of the environmental conditions of the Brindisi coast-line. *Oebalia*, **17** (1): 177-198.

GIACCONE G. (1991) – The algae in the management and treatment of wastewaters disposal. *Oebalia*, **18** (1): 121-130.

MEINESZ A., COTTALORDA J.-M., CHIAVERINI D., VAUGELAS J. DE (2001) - Représentation cartographique de l'abondance de quelques algues et invertébrés du littoral de l'îlot Bagaud (Parc National de Port-Cros). *Sci. Rep. Port-Cros natl. Park, Fr.,* **18**: 123-141.

RIZZI LONGO L., GIACCONE G. (1974) – Le Ulvales e la vegetazione nitrofila del Mediterraneo. *Quad. Lab. Tecnol. Pesca*, **5**, **2** (1): 1-62.

SOLTAN D., VERLAQUE M., BOUDOURESQUE C.F., FRANCOUR P. (2001) - Changes in macroalgal communities in the vicinity of a mediterranean sewage outfall after the setting up of a treatment plant. *Mar. Poll. Bull*., **42** (1): 59-70.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 577-579

M. Martino, C.A. Marano, A. Caputi Jambrenghi, M.C. Marzano*

Dipartimento di Produzione Animale, Università di Bari, Via Amendola, 165/A - 70126 Bari, Italia.
*Laboratorio di Biologia Marina di Bari, Molo Pizzoli (Porto) - 70123 Bari, Italia.

INDAGINI ISTOLOGICHE PRELIMINARI SUL CICLO STAGIONALE DELLE CELLULE GERMINALI DEI MASCHI DI *NEPHROPS NORVEGICUS* (L.) (CRUSTACEA, DECAPODA) NELL'ADRIATICO MERIDIONALE

PRELIMINARY HISTOLOGICAL INVESTIGATION ABOUT SEASONAL CICLE OF GERMINAL CELLS OF MALES OF NEPHROPS NORVEGICUS *(L.) (CRUSTACEA, DECAPODA) IN THE SOUTHERN ADRIATIC SEA*

Abstract

Some histological sections of testis and measurements of germinal cells were analysed to confirm the reproduction period of Nephrops norvegicus *(L.) in the Southern Adriatic Sea.*

Key-words: Nephrops norvegicus *(L.), spermatogenesis, Southern Adriatic Sea.*

Introduzione

Il presente lavoro costituisce un contributo alla conoscenza degli aspetti riproduttivi di *Nephrops norvegicus* (L.) nell'Adriatico Meridionale. Questa specie rappresenta una importante risorsa economica, tanto da risultare il 9,9% dello sbarcato totale del porto di Molfetta (AA.VV., 2001). Nello specifico sono stati studiati gli individui di sesso maschile in cui lo sviluppo maturativo non è evidenziato da modificazioni macroscopiche dell'apparato riproduttore esterno. A questo proposito, poiché nei maschi le ridotte dimensioni dei testicoli sono tali da rendere difficoltosa l'individuazione dei vari stadi di maturità; l'analisi dello sviluppo sessuale è stata supportata da un'indagine microscopica.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta su esemplari raccolti in un periodo di tempo di un anno (marzo 2000-febbraio 2001), con campionamenti periodici dello sbarcato del porto peschereccio di Molfetta (BA), dove afferisce il pescato proveniente da varie zone dell'Adriatico meridionale. Sono stati campionati 286 individui (148 maschi e 138 femmine), sui quali sono state effettuate analisi morfometriche, (lunghezza carapace LC = mm). Da ciascun maschio sono state prelevate, previa dissezione del cefalotorace, le gonadi che sono state conservate in formalina tamponata al 10%. Successivamente sulle gonadi campionate sono state eseguite delle sezioni istologiche di 6-8 μm di spessore, colorate con ematossilina-eosina. I preparati istologici relativi ai 148 individui di sesso maschile sono stati osservati al microscopio Leica, avvalendosi anche del sistema di videoanalisi, che ha permesso di effettuare misurazioni del diametro (μm) delle cellule germinali.

Risultati e conclusioni

Le sezioni osservate erano relative ad individui con una lunghezza carapace (LC) compresa fra 24 mm e 59 mm, avendo cura di distribuire gli esemplari in maniera omogenea rispetto a quest'ultimo intervallo. È stato possibile misurare i diametri di un pool di cellule germinali di circa 50 individui i cui valori medi per stagione con le relative deviazioni standard vengono riportati nella Tab. 1.

Tab. 1 – Diametro medio (μm), dev. std. e numero delle cellule germinali nell'arco dell'anno.
Mean diameters (μm), std. dev. and number of germinal cells in the whole years.

stagione	Inverno	Primavera	Estate	Autunno
Media	9,72	5,90	4,71	9,07
Dev Std	3,26	1,27	0,74	2,53
N° cellule	49	147	53	35

Considerando che le cellule germinali diventano più piccole all'approssimarsi del periodo di piena maturità (Pochon-Masson, 1994) possiamo osservare dalla tabella una diminuzione del diametro medio cellulare nel periodo tardo primaverile-estivo, a cui si riferisce la Fig. 1, in corrispondenza della fase di maturità delle femmine dello scampo (Farmer, 1975; Falciai e Minervini, 1992; Biagi *et al*., 1990).

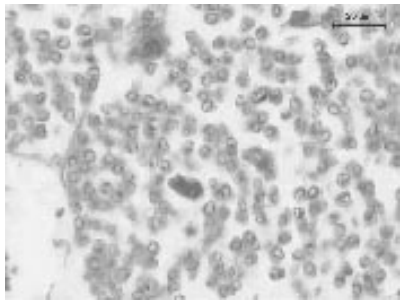


Fig. 1 – Sezione di testicolo di *N. norvegicus* (Lc 38 mm) catturato in estate, 40×.
Section of testis of N. norvegicus *(Lc 38 mm) collected in summer, 40×.*

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza che ha evidenziato una differenza significativa delle medie (P=0,05) tra tutte le stagioni, escludendo solo i dati relativi all'autunno-inverno che sono risultati simili, in accordo con il ciclo riproduttivo della specie (Orsi Relini *et al*., 1998). Questo confermerebbe il periodo riproduttivo della specie anche sotto il profilo microscopico. I dati in esame servono per un preliminare lavoro sulla gametogenesi dei maschi di *N. norvegicus* nell'areale dell'Adriatico meridionale. Tenendo presente le difficoltà incontrate, nell'ottenere delle valide sezioni dei testicoli ai fini della misurazione dagli individui campionati per taglie diverse ed

essendo comunque pochi i dati relativi alla maturità dei maschi di scampo per questo bacino, si ritiene opportuno effettuare una ulteriore indagine per seguire le diverse tappe della spermatogenesi, anche per un periodo di tempo più lungo.

Ringraziamenti

Si ringrazia il dott. Salvatore Desantis per la consulenza istologica gentilmente fornita.

Bibliografia

AA.VV. (2001) - Mediterranean Landing pilot project: final report. E.C. Study 97/66.

BIAGI F., DE RANIERI S., MORI M. (1990) - Size of sexual maturità for males of *Nephrops norvegicus* (L.) in the Northern Tyrrhenian Sea. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit*., **32**: 32 pp.

FALCIAI L., MINERVINI R. (1992) - *Guida dei Crostacei decapodi d'Europa.* Ed. Franco Muzio: 282 pp.

FARMER A.S.D. (1975) - Synopsis of biological data on the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus,1758). *F.A.O. Fish. Synop*., **112**: 1-97.

ORSI RELINI L., ZAMBONI A., FIORENTINO F., MASSI D. (1998) - Reproductive pattern in Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L) Crustacea Decapoda Nephropidae of different Mediterranean areas. *Sci. Mar*., **62** (Suppl. 1): 25-41.

POCHON-MASSON (1994) - Les gamétogenèses. In: P. Grassé (ed), *Traité de zoologie*. Masson, **7** (1): 727-764.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 580-582

D. Mosci, E. Salvi*, M. Balsamo, P. Colantoni*

Istituto di Scienze Morfologiche, Università di Urbino, Via M. Oddi, 21 - 61029 Urbino, Pesaro Urbino, Italia.
*Istituto di Geodinamica e Sedimentologia, Campus Scientifico loc. Crocicchia, Università di Urbino, Pesaro Urbino, Italia.

MEIOFAUNA CONNESSA A SORGENTI SULFUREE

MEIOFAUNA CONNECTED TO SULPHUR SPRINGS

Abstra+ct

The influence of sulphur springs on the meiofauna has been analysed through a quantitative study. Dynamics of community structure has been examined. The correlation between these data and the variation of the spring flow suggests that Nematoda and Copepoda show a response to physico-chemical stress.

Key-words*: meiofauna, hydrogen sulphide, hydrothermal springs, Tyrrhenian Sea.*

Introduzione

La falesia di Punta Scutolo–Punta Gradelle (Golfo di Napoli) è caratterizzata da attività sulfurea idrotermale. Nell'inverno 2000/2001 si è attivata una nuova sorgente sulla quale sono state condotte analisi chimiche che hanno rivelato tre diversi end-members: acqua di mare, acque bicarbonato calciche (provenienti dall'acquifero carbonatico) e acque, arricchite in H_2S e CO_2, presumibilmente di origine profonda (Salvi, 2002). La sorgente, esaminata con cadenza stagionale, si trova ad una profondità di 10,2 metri, ed è a contatto sia con la roccia calcarea della falesia, sia con il fondale sabbioso sul quale sono state svolte analisi quantitative della comunità meiobentonica. La portata del flusso sorgivo, analizzata mediante osservazioni dirette, è andata via via riducendosi da gennaio fino a luglio 2001, per poi rimanere costante fino a gennaio 2002.

Materiali e metodi

I siti di campionamento sono stati localizzati a 45 cm di distanza dalla sorgente, due laterali (sito 1 e 3), ed uno frontale (sito 2). Il sedimento è stato prelevato mediante l'inserimento manuale di corer in plexiglas (diametro interno 2,77 cm, lunghezza 8,5 cm). La meiofauna, narcotizzata con una soluzione di $MgCl_2$ al 7% per 10 minuti, è stata quindi fissata in formalina neutra al 10% in acqua di mare prefiltrata; l'estrazione è stata effettuata mediante centrifugazione in gradiente di Ludox; il surnatante è stato quindi filtrato attraverso setacci con maglie di 37 µm, e gli organismi, preventivamente colorati con soluzione di Rosa Bengala, sono stati smistati nei taxa maggiori e contati. I dati ottenuti dallo smistamento, su tre repliche, elaborati mediante ANOVA, sono stati corretti per individui/10 cm^2.

Risultati

Nauplii e Trochophorae, per la densità molto bassa, sono stati accorpati rispettivamente a Copepoda e ad Annelida. I taxa presenti solo sporadicamente sono stati inseriti nel gruppo Altri. Sono stati rinvenuti complessivamente organismi appartenenti

a 11 taxa di cui quattro presenti in tutti i campioni: Turbellaria, Nematoda, Annelida e Copepoda. Il maggior numero di gruppi, 9, è stato rilevato nel campione I3, ed il minimo, 4, in I1 (Tab. 1). Il taxon con densità media più elevata è risultato quello dei Nematoda seguito dai Copepoda.

Tab. 1 – Densità medie individui/10 cm ^{2} e valori percentuali per sito di campionamento. La lettera che precede il numero del sito di campionamento identifica la stagione (I=inverno; P=primavera; E=estate; A=autunno).

Mean density/10 cm^2 and individuals percent values in each sampling site. The letter before the number of the sampling site identifies the season. (I=winter; P=spring; E=summer; A=autumn).

Stazioni	***Turbellaria***	***Nematoda***	***Annelida***	***Copepoda***	***Altri***	***Totale individui***	***Individui Stagione***
I 1	21,57±1,66	236,74±115,35	22,12±2,54	133,86±66,46	0,00±0,00	414,29±101,95	
I 2	6,09±1,92	25,99±5,07	21,02±3,45	6,64±1,66	0,00±0,00	59,74±9,14	1196,97 ± 332,15
I 3	27,10±12,89	388,30±180,96	45,36±1,92	256,65±14,31	5,53±0,96	722,94±208,74	
P 1	10,51±4,17	61,40±32,39	37,06±5,33	19,36±6,71	0,55±0,96	128,88±28,99	
P 2	27,10±6,91	63,61±2,53	40,38±13,41	7,19±2,53	0,00±0,00	138,29±9,72	697,50 ± 171,39
P 3	33,19±8,29	299,25±171,67	69,69±32,64	22,12±3,45	6,08±6,70	430,33±192,09	
E 1	16,04±1,92	30,42±4,79	19,91±1,66	40,37±5,07	2,21±0,96	108,96±6,28	
E 2	25,99±8,35	231,76±120,32	13,28±2,87	46,46±4,39	2,21±0,96	319,71±133,45	763,86 ± 129,39
E 3	24,34±5,07	238,40±15,77	23,23±7,61	48,68±11,78	0,55±0,96	335,20±4,39	
A 1	22,12±4,79	174,79±13,41	31,53±4,98	81,86±14,11	1,11±1,92	311,41±32,95	
A 2	43,14±16,84	144,37±20,39	36,51±12,83	95,69±9,43	0,55±0,96	320,26±30,73	734,00 ± 123,35
A 3	11,06±2,53	59,74±13,58	2,21±0,96	29,32±5,07	0,00±0,00	102,33±19,09	

I valori di densità mostrano sia in autunno che in inverno significative variazioni tra i siti laterali e quello posto frontalmente alla sorgente. Queste differenze, negative in inverno e positive in autunno, appaiono legate soprattutto a variazioni delle popolazioni di Nematoda e Copepoda, gruppi che quindi appaiono i responsabili della struttura della comunità. La densità media del campione I2 è risultata significativamente diversa rispetto a quella sia del campione I1 sia del I3 (ANOVA: $F=95.92$; $P<0.01$). Inoltre nel campione invernale le densità medie dei Copepoda nei tre siti non risultano significativamente diverse (ANOVA: $P=0.88$), a differenza di quelle dei Nematoda che sono significativamente diverse tra siti laterali e sito centrale, e non tra i due siti laterali (ANOVA: $F=36.59$; $P<0.01$).

Conclusioni

I dati preliminari indicano che in particolare nel sito posto frontalmente alla sorgente, caratterizzato nel periodo invernale da un maggiore flusso sorgivo, si è verificata una sensibile diminuzione della densità totale della meiofauna, sia in termini di biodiversità che di abbondanza,. Tra i vari taxa meiobentonici**,** Nematoda e Copepoda sono apparsi maggiormente reattivi alle variazioni chimico-fisiche dell'habitat, ed in particolare i Nematoda hanno mostrato una maggiore sensibilità rispetto ai Copepoda. Questa sensibilità non è stata riscontrata negli Annelida, per alcune specie dei quali è infatti nota la presenza di sistemi chemio-specifici di detossificazione per determinati composti dello zolfo (Powell *et al.,* 1979).

Ringraziamenti

Si ringrazia lo staff del Blue Point Diving di Castellammare di Stabia per il supporto tecnico logistico.

Bibliografia

POWELL E.N., CRENSHAW M.A., RIEGER R.M. (1979) - Adaptations to Sulfide in the Meiofauna of the Sulfide System. I.[35] S-Sulfide Accumulation and the Presence of a Sulfide Detoxification System. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **37**: 57-76.

SALVI E. (2002) – *Studio ambientale di un tratto di costa di penisola Sorrentina interessato da sorgenti sulfuree.* Tesi di laurea in Scienze Naturali, Università degli Studi di Urbino: 154 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 583-585

R. Mussat Sartor, D. Pessani, M. Vetere

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Via Accademia Albertina, 17 - 10123 Torino, Italia.

PRIME INDAGINI SULLA COMPONENTE BENTONICA DI PUNTA DI LI FRANCESI (SARDEGNA SETTENTRIONALE)

FIRST INVESTIGATIONS ABOUT BENTHOS AT PUNTA DI LI FRANCESI (NORTHERN SARDINIA, ITALY)

Abstract

The distribution of the main macrospecies and biocoenoses, observed on infralittoral and circalittoral bottom off Punta di li Francesi, were cartographied along a transect. Their richness suggests to protect the marine environment of the whole examined area.

Key-words: *cartography, benthos, biocoenoses, hard bottom.*

Introduzione

Per i fondali ed il territorio costiero del comune di Aglientu (SS), è stato sviluppato un progetto di protezione e valorizzazione (Vetere *et al.*, 1999) vista l'importanza ecologica del loro patrimonio naturalistico. In questo ambito sono stati studiati i fondali infra e circalitorali superiori antistanti Punta di li Francesi.

Materiali e metodi

I rilevamenti in immersione, sino a –35 m, hanno permesso di cartografare il fondale prima scandagliato, di censire le specie cospicue e di realizzare un transetto normale alla costa (Fig. 1).

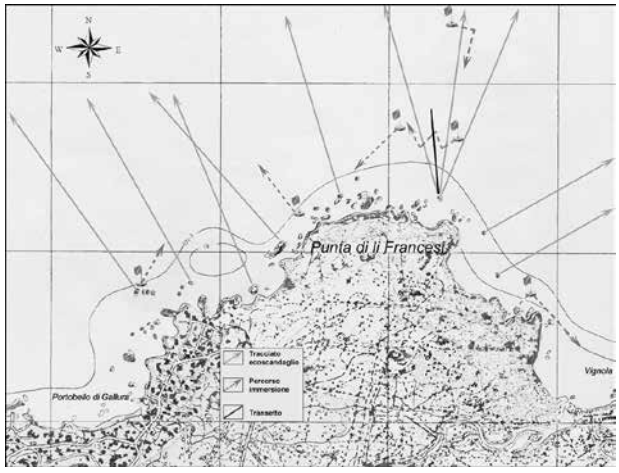


Fig. 1 - Punta di li Francesi.
Punta di li Francesi.

Risultati

La distribuzione delle specie cospicue e delle principali biocenosi osservate nell'area è stata cartpgrafata lungo il transetto (Fig. 2), che collega uno dei numerosi scogli emersi alla cima di una secca rocciosa che si sviluppa –12 m e –30 m. Questa secca, sul versante rivolto a Nord, ospita popolamenti sia fotofili sia sciafili, tipici del coralligeno dell'orizzonte inferiore della roccia infralitorale, con biocenosi a poriferi (abbonda *Spongia officinalis*), con facies a spugne erette, e biocenosi a gorgonacei (*Eunicella cavolinii*). Numerosi esemplari di *Pinna nobilis* sono presenti nella prateria di *Posidonia oceanica* su sabbia che si sviluppa tra la secca e la costa.

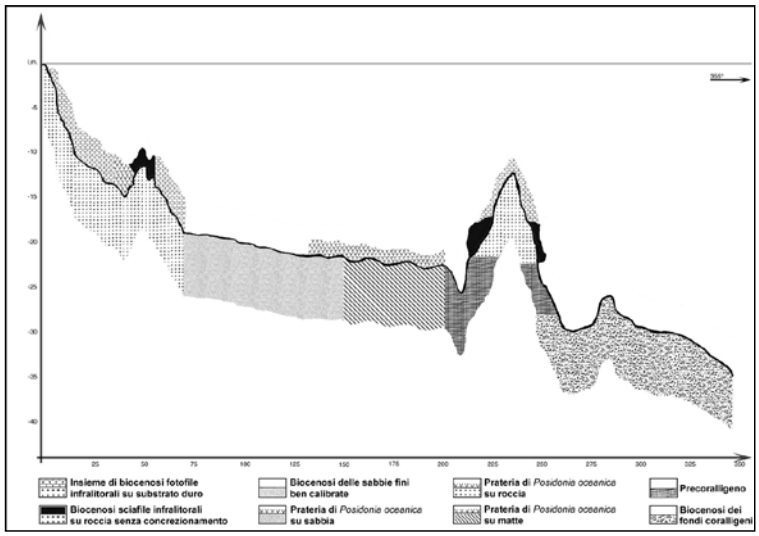


Fig. 2 – Biocenosi (Meinesz *et al*., 1983) lungo il transetto.
Biocoenoses (Meinesz et al*., 1983) along the transect.*

Tra le specie cospicue presenti in tutta l'area in esame (Fig. 1), vanno segnalate *Spondylus gaederopus*, *Palinurus elephas* e *Maja squinado*.

Conclusioni

La buona varietà di biocenosi e la presenza di specie protette e/o in pericolo sono condizioni indispensabili per promuovere la protezione di un'area: pertanto, le esigenze di tutela e salvaguardia, già espresse per il vicino promontorio di Monte Russu (Vetere *et al*., 1999) e per i piani sopra e mesolitorale di quest'area (Rendinella *et al.*, 2000), andrebbero estese anche ai fondali profondi.

Bibliografia

MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., FALCONETTI C., ASTIER J.M., BAY D., BLANC J.J., BOURCIER M., CINELLI F., CIRIK S., CRISTIANI G., DI GERONIMO I., GIACCONE G., HARMELIN J.G., LAUBIER L., LOVRIC A.Z., MOLINIER R., SOYER J., VAMVAKAS C.

(1983) - Normalisation des symboles pour la représentation et la cartographie des biocénoses benthiques littorales de Mediterranée. *Ann. Inst. Ocean. Paris*, **59** (3): 155–172.

RENDINELLA S., PESSANI D., VETERE M. (2000) – Mappatura di specie protette: Punta li Francesi (Sardegna). *Biol. Mar. Medit.*, **7**: 597-598.

VETERE M., PESSANI D., FONTANA E., GIALLARA P.A., MUSSAT SARTOR R., PIASCO A., RENDINELLA S. (1999) - Sviluppo di un progetto per la protezione e valorizzazione del litorale di Aglientu (SS). *Biol. Mar. Medit.*, **6**: 119-125.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 586-588

L. Nicoletti, C. Chimenz Gusso*, G.D. Ardizzone*

ICRAM - Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*Dip. Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza", Roma, Italia.

POLYCHAETES OF FREGENE ARTIFICIAL REEF AFTER 20 YEARS FROM ITS CONSTRUCTION (LATIUM, THYRRENIAN SEA): PRELIMINARY STUDY

IL POPOLAMENTO A POLICHETI DELLA BARRIERA ARTIFICIALE DI FREGENE 20 ANNI DOPO LA SUA REALIZZAZIONE (LAZIO, MAR TIRRENO): STUDIO PRELIMINARE

Abstract

A Mediterranean polychaetes community of an artificial reef, 20 years after its construction, was studied. The polychaetes community seemed to be changed compared to that of 1991, when it seemed to have reached equilibrium. In fact this community showed a series of changes in its structure and composition. An important factor influencing these changes appeared to be the structural complexity of the habitat.

Key-words: *Polychaeta, artificial reef, Mediterranean Sea.*

Introduction

In the Mediterranean Sea, until now, the knowledge of the temporal and structural evolution of the communities on artificial reefs and the understanding of their dynamics have not been deepened. In fact, most studies on artificial reefs deal with aspects of fishery ecology, while the ecology of benthos is largely ignored (Svane & Petersen, 2001).

A study of long-term development of a benthic community starting from a new substratum could be helpful in understanding the most important changes in the structure of the community during and after the colonisation process. From 1981 to 1985 the patterns of benthic species colonisation on the artificial reef of Fregene were studied, by the Department of Animal and Human Biology of the University "La Sapienza" of Rome (Ardizzone *et al.*, 1989). In a further study carried out in 1991 this community seemed to have reached an equilibrium (Somaschini *et al.*, 1997; Ardizzone *et al.*, 1994). The aim of the present paper is to study polychaete community on the same artificial substratum 20 years after its construction, and to compare the present community to that of 1991. In fact, polychaetes represent an important component of benthic fauna in coastal environments and, in particular, on artificial substrata (Ardizzone *et al.*, 1989; Gravina *et al.*, 1989).

Materials and methods

The study was carried out in the Middle Tyrrhenian Sea, 5 miles north of the two mouths of the Tiber River (Latium, Italy). In 1981 an artificial reef for fisheries enhancement was laid down in this area 1.5 miles offshore. It was made of 280 concrete cube shaped blocks (with 2 m long sides) arranged in groups of five, four at the base and one on the top. The covered area was 6 ha with bottom depth varying between 12 and 14 m.

The study was carried out using the same methods as in the previous surveys (1981-1985, 1991). Benthic samplings were collected by scuba divers in February and June

2001. A standard surface of 400 cm^2 was scraped from the vertical walls of the same block and the collected material was fixed in 10% buffered formalin. All benthic organisms were sorted and polychaetes were identified and counted.

The polychaetes feeding groups were identified according to Fauchald & Jumars (1979) and Gambi & Giangrande (1985); to simplify, only 5 categories were considered: carnivorous, herbivorous, suspension-feeders, deposit-feeders and omnivorous. Structure and composition of the present polychaetes community were compared with that of 1991.

Results and conclusions

In total, 1266 individuals were collected in 2001 (Tab. 1). Number of species and individuals were similar in the two samples. *Polydora* spp. and *Sabellaria spinulosa*

Tab. 1 – Abundance (number of individuals/400 cm^2) of polychaetes of Fregene artificial reef. c = carnivorous, d = deposit feeders, s = suspension feeders, o = omnivorous.
Abbondanza (numero di individui/400 cm^2) dei Polychaeta della barriera artificiale di Fregene. c = carnivori, d = deposivori, s = sospensivori, o = onnivori.

	Taxa	02.1991	06.1991	02.2001	06.2001
d	*Laonice cirrata* (M. Sars, 1851)				3
d	*Polydora* spp	112	47	160	184
d	*Prionospio (Minuspio) cirrifera* Wiren,1883			5	
d	Spionidae			1	
d	*Cirriformia filigera* (Delle Chiaje, 1808)	14	7	7	
d	*Dodecaceria concharum* (Oersted, 1843)	2	1	2	
d	Cirratulidae	6	6	21	47
d	Capitellidae			1	1
d	*Polyophtalmus pictus* (Dujardin, 1839)		1		
d	Scalibregmatidae			3	
c	*Pterocirrus limbatus* (Claparède, 1868)	2	2		
c	*Goniada* ind			1	
c	Hesionidae			2	18
d	*Pilargis verrucosa* (Saint-Joseph, 1899)				4
c	Syllidae	24	14	40	71
o	Nereidae	4	3	1	1
c	*Harmothoe* spp	13	15	11	32
c	*Pholoe synophthalmica* Claparède, 1868	2			
c	*Chrysopetalum debile* (Grube, 1855)			1	
c	*Lysidice* spp	59	34	23	29
c	*Marphisa sanguinea* (Montagu, 1815)			1	3
c	*Nematonereis unicornis* Schmarda, 1861	4	1	2	11
c	Eunicidae			2	
c	*Eunice schizobranchia* Claparède, 1870				1
c	*Eunice vittata* (Dalle Chiaje, 1828)			2	
o	*Lumbrineris coccinea* (Renier, 1804)	3		2	2
o	*Lumbrineris funchalensis* (Kinberg,1865)	11	17	30	22
o	*Lumbrineris gracilis* (Ehlers, 1868)				1
o	*Lumbrineris latreilli* Audouin & Milne-Edwards, 1834		2	1	3
o	*Lumbrineris tetraura* (Schmarda, 1861)				1
o	*Lumbrineris* ind.				1
c	*Dorvillea rubrovittata* (Grube, 1855)	3	2		2
d	Terebellidae	8	13	11	35
s	*Sabellaria spinulosa* Leuckart, 1849	5	2	123	83
s	Sabellidae	9	6	44	84
s	*Hydroides dianthus* (Verrill, 1873)	1			
s	*Hydroides pseudouncinatus*Zibrowius, 1968	50	22	37	23
s	*Pomatoceros lamarckii* (Quatrefages, 1865)			1	2
s	*Pomatoceros triqueter* (Linnaeus, 1767)	13	3	1	6
s	*Serpula concharum* Langerhans, 1880	52	26	25	15
s	*Serpula vermicularis* Linnaeus, 1767			1	
s	*Spirobranchus polytrema* (Philippi, 1844)				1
s	*Vermiliopsis infundibulum* (Philippi, 1844)			1	
s	*Vermiliopsis striaticeps* (Grube, 1862)		1	1	3
s	Serpulidae ind			8	8
	n° of individuals	397	225	572	694

were the most abundant taxa; the Serpulidae, Sabellidae and Syllidae families were also abundant. Four feeding groups were identified and are listed in Tab. 1. Suspension-feeders and deposit-feeders were dominant in terms of number of individuals; no herbivorous were found.

The present polychaetes community of the investigated artificial reef changed compared to that of 1991, when it seemed to have reached an equilibrium (Ministero Marina Mercantile, 1993; Somaschini *et al*., 1997) (Tab. 1). Individuals and taxa numbers increased; also the percentage of suspension-feeders organisms was higher. In particular, *Sabellaria spinulosa*, scarcely present in the past, was the dominant suspension-feeder species.

The structural complexity of the habitat appeared an important factor in influencing the polychaetes community. Structural changes due to the progressive increase of bryozoa bioconstructions (*Turbicellepora magnicostata* and *Schizoporella errata*) could have promoted the increase of abundance and number of species of polychaetes. In fact, it was well known that the number of species within a habitat often increases with an increase in the size of habitat (Cocito *et al.*, 2001).

The abundance of suspension-feeder polychaetes could moreover suggest a decrease of fine inorganic material in suspension coming from the Tiber River. This hypothesis is also supported by the abundant presence of other suspension-feeders organisms, like mussel and barnacles, scarcely present in 1991 and requires the study of more samples and of suspended material variation of Tiber River since 1991.

References

ARDIZZONE G.D., GRAVINA M.F., BELLUSCIO A. (1989) - Temporal development of epibenthic communities on artificial reef in the Central Mediterranean Sea. *Bull. Mar. Sci.,* **44** (2): 592-608.

ARDIZZONE G.D., GRAVINA M.F., GUSSO CHIMENZ C. (1994) - A ten years research on marine artificial habitat for fishery purposes. In: Argano R., Cirotto C., Grassi Milano E., Mastrolia L. (eds), *Contribution to Animal Biology*. Halocynthia Association, Palermo: 47-53.

COCITO S., FERDEGHINI F., SGORBINI S. (2001) - Bioconstructions promote biodiversity: lessons from bryozoans and other invertebrates. *Biol Mar. Medit.,* **8** (1): 175-180.

FAUCHALD K., JUMARS P.A. (1979) - The diet of worms: a study of Polychaete feeding guilds. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev*., **17**: 193-284.

GAMBI M.C., GIANGRANDE A. (1985) - Caratterizzazione e distribuzione delle categorie trofiche dei policheti nei fondi mobili del golfo di Salerno. *Oebalia*, **11** N.S.: 223-240.

GRAVINA M.F., ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A. (1989) - Polychaetes of an artificial reef in the Central Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf S.*, **28**: 161-172.

MINISTERO MARINA MERCANTILE, DIREZIONE GENERALE PESCA MARITTIMA (1993) - *Ruolo degli organismi bentonici della barriera artificiale di Fregene nell'alimentazione della fauna ittica stanziale*. Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo: 123 pp.

SOMASCHINI A., ARDIZZONE G.D., GRAVINA M.F. (1997) - Long term changes in the structure of a polychaete community on artificial habitats. *Bull. Mar. Sci*., **60** (2): 460-466.

SVANE I., PETERSEN J.K. (2001) - On the problems of epibioses, fouling and artificial reefs, a review. *P.S.Z.N.I.: Mar. Ecol.*, **22** (3): 169-188.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 589-592

L. Nicoletti, E. Fanelli, L. Lattanzi, P. La Valle, M. Gabellini, C. Chimenz Gusso*

I.C.R.A.M., Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza",
V.le dell'Università, 32 - 00185 Roma, Italia.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF COASTAL DETRITIC BOTTOMS OFF ANZIO (CENTRAL TYRRHENIAN SEA)

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DEI FONDI DETRITICI COSTIERI AL LARGO DI ANZIO (TIRRENO CENTRALE)

Abstract

The aim of this study is to give a contribution to the knowledge of the macrozoobenthos of a "maërl" facies found off Anzio (Tyrrhenian sea). The maërl, constituited by the association of two Corallinales species, Lithothamnion coralloides *and* Phymatholithon calcareum*, belongs to the Coastal Detritic biocoenosis that occurs in circalittoral soft substrata.*

Key-words: *benthos, coastal detritic booms, "Maërl", Tyrrhenian sea.*

Introduction

Coastal detritic bottoms occur on soft substrata characterized by bottom currents (Picard, 1965). In these environments a benthic assemblage belonging to the Coastal Detritic biocoenosis (DC) (Pérès and Picard, 1964) lives, that is characterized by different "facies" (Relini, 2000); among these, the "maërl" facies. "Maërl" is defined as a marine vegetal formation constituted by the accumulation of ramified and free Corallinales, mainly belonging to two species, *Lithothamnion corallioides* and *Phymatholithon calcareum*, that form the most important part of the substratum with their dead thalli. Externally "maërl" appears like a deposit of both whole and fragmented thalli of calcareous algae, often accumulated in "ripples" concavities (Bressan *et al.*, 2001). This vegetal sciaphilic assemblage is present on soft bottoms mainly formed by coarse sand, detritus and shell remains (Pérès and Picard, 1964).

The "maërl" facies was found off Anzio (province of Rome) at the depth of about 45 m. This study, carried out within the ICRAM-Regione Lazio project "Studio pilota per l'impatto ambientale connesso allo sfruttamento di depositi sabbiosi sommersi ai fini di ripascimento: il caso Anzio", represents an useful contribution to the knowledge of the macrozoobenthos of "maërl" coastal detritic bottoms, considering the scanty informations found in literature for Italian seas.

Materials and methods

Benthic assemblages of two stations, A1 and A2, located at the depth of about 47 m next to a rocky outcrop (Secca di Costacurti), were analyzed (Fig. 1). Four sampling surveys were carried out between March 1999 and April 2001, using a Charcot dredge of 50 liters volume. The collected materials were washed out and sieved through a 1 mm mesh, preserved with 4% buffered formalin, and identified. For bionomic attribution the Pérès and Picard (1964) manual was followed.

Granulometric analysis was carried out on the first layer (3 cm) of sediment samples, collected with a Van Veen grab.

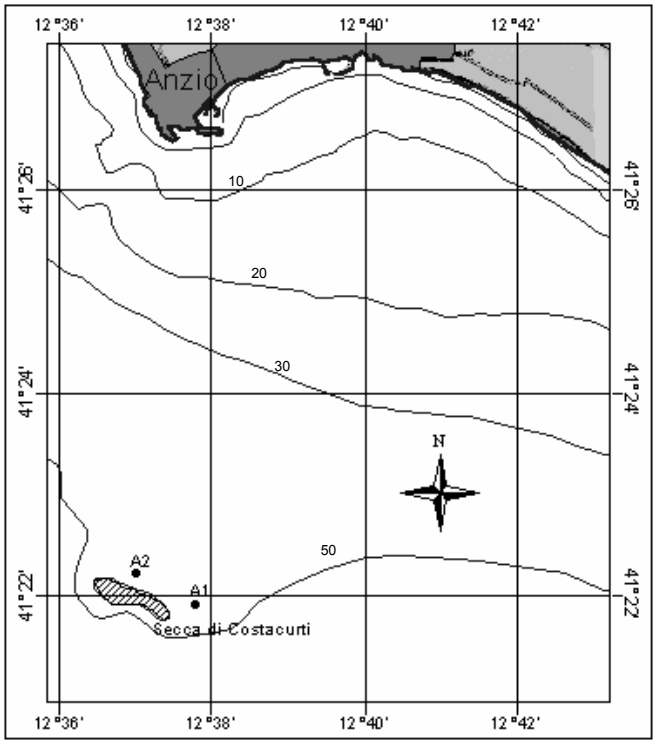


Fig. 1 – Study area.
Area di studio.

Results

The benthic assemblages of the two stations (A1 and A2) did not show considerable differences and so will be discussed together. The characterizing element of the benthic assemblage is constituted by red calcareous algae, mainly *Lithothamnion corallioides* and *Phymatholithon calcareum f. crassa*. Taxonomic analysis of macrozoobenthic samples permitted to identify 197 taxa at species level. The main groups collected were polychaetes (71 species), crustaceans (65), mollusks (35), bryozoans (14), echinoderms (9) and pycnogonids (3).

Within the motile species identified, some are exclusive of the Coastal Detritic biocoenosis (DC), like the mollusks *Tellina donacina* and *Modiolula phaseolina*, the decapods *Anapagurus laevis* and *Ebalia tuberosa*; others are preferential like the polychaete *Hyalinoecia tubicola*, the mollusks *Abra prismatica, Glans aculeata, Gonilia calliglypta*, the amphipod *Photis longicaudata*, the decapod *Eurynome aspera* (Spanò, 1994) and the echinoderms *Ophiura albida* and *Astropecten irregularis.*

Within the sessile fauna associated with biogenic detritus, the bryozoans were numerous; the most abundant species were *Beania robusta, Beania hirtissima, Aetea sica*, *Onychocella marioni* and *Cellaria fistulosa*; all these species are characteristic of the Coastal Detritic biocoenosis.

The analyzed sediment of the two stations was different. In A1 sediment was principally constituted by grains from 2 to 4 phi inclusive, in A2 by grains less than 2 phi. In both stations grains more than 4 phi were less than 19,4% (Tab. 1).

Tab. 1 – Granulometric analysis of sediments.
Granulometria del sedimento.

STATIONS	grains <2phi	2 phi<grains<4phi	grains>4 phi
A1/0	33,9	55,6	10,5
A1/12	43,1	45,4	11,5
A1/18	31,9	51	17,1
A1/21	36,2	50,7	13,1
A2/0	88,5	8,7	2,8
A2/12	79,1	8,1	12,8
A2/18	73,9	6,7	19,4
A2/21	78,7	5,6	15,7

Conclusions

The important occurrence of the Corallinales *Lithothamnion corallioides* and *Phymatolithon calcareum* allows to attribute the examined samples to the "maërl" facies of the Coastal Detritic biocoenosis (Bressan *et al*., 2001). The identification of this facies off Anzio is very interesting, considering the absence of information about this area. It must be pointed out that the Corallinales *Lithothamnion corallioides* and *Phymatolithon calcareum* were inserted in the Council Directive 92/43/EEC on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora, as species of EEC importance with the recommendation of a sustainable collection.

The "maërl" bottoms do not appear linked to transport by currents, but determined by accumulation in the origin site, although the presence of hydrodynamic energy on the bottom is essential for the development of this facies (Bressan *et al.*, 2001). The presence of "Secca di Costacurti", situated on a bottom from 48 m to 36 m deep, close to the bottoms examined, could favour the optimal hydrodynamic conditions for "maërl" development. The occurrence of numerous bryozoans is associated to the abundance of coarse elements, like calcareous algae and mollusks shells that represent an important substratum for small species, like most of those found (Rosso, 1996; Rosso and Sanfilippo, 1992). In the benthic assemblage, typical species of Coastal Detritic (DC), as well as Coralligenous (C), Shelf-edge Detritic (DL) and muddy spe-

cies are present. These latter are related to the presence of fine sediment observed in the granulometric analysis. Moreover the presence of species typical of Coralligenous biocoenosis is determined by the proximity of the "Secca di Costacurti", characterized by a well developed Coralligenous. The authors suggest that a future monitoring of this area could be very important to give a further contribution to the knowledge of Coastal Detritic bottoms and to supply an useful mean to assess the evolution of these environments.

Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. G. Bressan of the Trieste University, Department of Biology, for algae identification, Dr. O. Nonnis and M. Celia Magno for granulometric analysis.

References

BRESSAN G., BABBINI L., GHIRARDELLI L., BASSO D. (2001) – Biocostruzione e biodistruzione di Corallinales nel Mar Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 131-174.

PÉRÈS J.M., PICARD J.C. (1964) - Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **31** (47): 5-137.

PICARD J. (1965) –Recherches qualitatives sur le biocenoses marines des substrats meubles dragables de la région Marseillaise. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **52** (36): 1-160.

RELINI G. (2000) – Nuovi contributi per la conservazione della biodiversità marina in Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit*., **7** (3): 173-211.

ROSSO A. (1996) – Valutazione della biodiversità in Mediterraneo: l'esempio dei popolamenti a briozoi della biocenosi del detritico costiero. *Biol. Mar. Medit*., **3** (1): 58-65.

ROSSO A., SANFILIPPO R. (1992) – Bryozoans of a coastal detritic bottom off Pachino (South-Eastern Sicily). *Rapp. Comm. int. Mer Médit*., **33**: 50 p.

SPANÒ N.C. (1994) – Dati preliminari sulla fauna carcinologica di ambienti detritici insulari: arcipelago Toscano e isole Pontine. *Biol. Mar. Medit*., **1** (1): 357-358.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 593-596

L. Pane, L. De Nuccio, E. Franceschi*

Dipartimento di Biologia Sperimentale, Ambientale ed Applicata, Università di Genova,
Viale Benedetto XV, 5 - 16132 Genova, Italia.
*DI.C.C.I., Università di Genova, Genova, Italia.

CONTENUTO ENERGETICO DEL COPEPODE *TIGRIOPUS FULVUS* (FISCHER 1860): APPLICAZIONE DELLA DSC (DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY)

ENERGY VALUE OF THE COPEPOD TIGRIOPUS FULVUS *(FISCHER 1860): APPLICATION OF DSC TECHNIQUE (DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY)*

Abstract

Preliminary results concerning the application of differential scanning calorimetry (DSC) on the harpacticoid copepod Tigriopus fulvus *are reported. DSC analysis performed using cultured and natural females showed complex reproducible curves with high exothermic peaks between 180 °C and 600 °C. Numerous overlapping peaks were observed at temperatures ranging from 400 °C to 600 °C.*

Key-words: *copepods, calorimetry,* Tigriopus fulvus.

Introduzione

La determinazione del contenuto calorico degli organismi rappresenta un aspetto connesso con il flusso dell'energia e il trasferimento della materia tra i diversi livelli trofici delle catene alimentari acquatiche. A tale scopo, accanto alle metodiche tradizionali di analisi della sostanza organica, quali la combustione in microbomba calorimetria e l'incenerimento in muffola (Dobrzycka e Szaniawska, 1995; Phillipson, 1964; Platt *et al.*, 1969), negli ultimi anni è stata utilizzata l'analisi termogravimetrica differenziale, che fornisce informazioni circa i processi di combustione su diverse matrici naturali come ad esempio alghe fitoplanctoniche (Pane *et al.*, 2000, 2001; Peng *et al.*, 2001) e batteri in coltura (Ramos-Sánchez *et al*., 1991), sostanze umiche di origine marina (Esteves e Duarte, 1999). Di recente applicazione anche in campo ambientale risulta la calorimetria differenziale a scansione (DSC) che permette di ottenere informazioni più dettagliate sul contenuto energetico e sulla struttura di differenti tipi di materiali organici (Dollimore, 1994). Nella presente nota vengono riportati i risutati relativi ad uno studio calorimetrico effettuato in DSC su *Tigriopus fulvus*, copepode arpacticoide presente nelle pozze di scogliera del Golfo di Genova, come ulteriore contributo allo studio della sua biologia (Carli *et al.*, 1989, 1993).

Materiali e metodi

I copepodi sono stati prelevati dalle pozze di scogliera della riviera ligure di ponente (Genova Nervi), mantenuti in laboratorio in condizioni controllate di crescita (temperatura 18 °C, salinità 19 psu, ciclo luce-buio 12:12h), alimentati con alghe planctoniche opportunamente coltivate (*Tetraselmis suecica* e *Chaetoceros gracilis)* e con lievito commerciale (*Saccharomyces cerevisiae)*. La DSC è stata eseguita sia su femmine adulte allevate sia prelevate dall'ambiente naturale (n=150-300); gli organismi sono stati privati del sacchetto ovigero, trattati con ammonio formiato (5% p/v), condizionati e pesati per la determinazione del peso secco (70 °C/12h) e del peso delle ceneri

(550 °C/2h). La DSC (DSC822-Mettler/Toledo) è stata condotta su campioni essiccati (numero repliche = 5), che trasferiti in crogioli di alluminio condizionati e pesati, sono stati sottoposti ad un gradiente di temperatura compreso tra 25 °C e 600 °C (velocità di riscaldamento, 10 °C/min) in flusso di ossigeno (100 ml/min). I dati termoanalitici sono stati raccolti ed elaborati tramite un software dedicato (STAR^e System, Mettler-Toledo). Inoltre è stata eseguita su copepodi allevati l'analisi termogravimetrica (TG) secondo la metodica precedentemente adottata (Pane *et al*., 2000, 2001).

Risultati

Il peso secco medio ed il peso medio delle ceneri degli organismi allevati sono risultati pari a 4,68 ± 0,15 µg/ind. e a 0,41 ± 0,05 µg/ind. rispettivamente. La perdita di peso più consistente ottenuta tramite TG su copepodi allevati si è avuta nell'intervallo di temperatura compreso tra 180 °C-300 °C; successivamente una seconda perdita di peso meno evidente si è manifestata tra 400 °C-600 °C. La combustione è proseguita fino a 800 °C ma con perdite di peso trascurabili (Fig. 1).

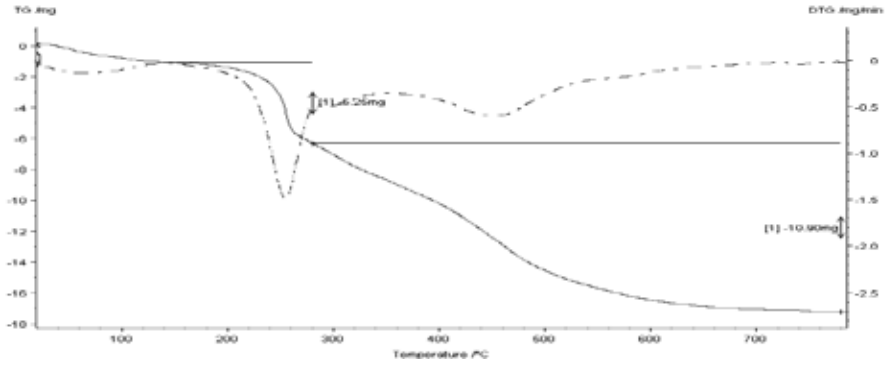


Fig. 1 - TG e DTG (derivata della curva TG) dei copepodi allevati.
TG and DTG (TG derivative) curves of cultured copepods.

Le analisi in DSC dei copepodi naturali e allevati hanno messo in evidenza curve termoanalitiche complesse, ma sempre ben riproducibili (Fig. 2).

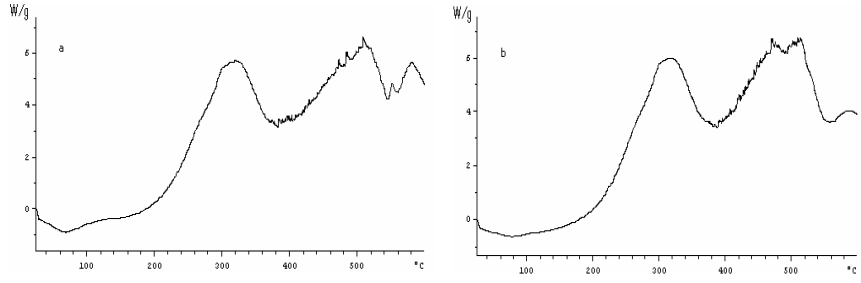


Fig. 2 – Termogramma dei copepodi allevati (a) e selvatici (b).
DSC thermograms of cultured (a) and natural (b) copepods.

Queste mostrano numerosi picchi esotermici sovrapposti e si possono distinguere in entrambi i casi almeno tre stadi. Per gli animali non allevati, nel primo stadio, compreso nell'intervallo tra 190 °C e 385 °C, si osserva un grosso picco il cui punto di massimo si registra alla temperatura di 312,2 °C. Un secondo picco molto più complesso del primo cade nel range di temperatura tra 385 °C e 559 °C ed è costituito dalla sovrapposizione di numerosi picchi esotermici; il punto di massimo si ha intorno a 512 °C. Il terzo stadio, infine, inizia a partire da 559 °C e apparentemente non si completa alla temperatura finale di programma. Complessivamente nell'intero processo di ossidazione (190 °C-559 °C) si sviluppa una quantità di energia pari a 5,48 KJ/g. Nell'analisi in DSC di *Tigriopus fulvus* allevato il primo stadio cade nell'intervallo di temperatura tra 173 °C e 380 °C con un massimo a 303,5 °C. Il secondo, formato dalla sovrapposizione di numerosi picchi esotermici, è compreso nel range tra 380 °C e 546,43 °C con il punto di massimo alla temperatura di 510 °C. In ultimo, il terzo stadio inizia a partire da 546 °C e presenta il massimo a 580,6 °C; in questo stadio si osservano due picchi esotermici sovrapposti e non completi a causa della temperatura di programma. Nell'intervallo di temperatura compreso tra 173 °C e 598 °C si sviluppa una quantità di calore pari a 4,02 KJ/g.

Conclusioni

Il contenuto energetico degli animali cresciuti nell'ambiente naturale è superiore al contenuto calorico degli individui allevati ($\Delta = 1{,}46 \pm 0{,}34$ KJ/g). Ciò può essere dovuto a differenze nella composizione biochimica degli organismi appartenenti ai due gruppi la quale a sua volta può dipendere dal tipo di alimento ingerito nelle condizioni ambientali in cui i copepodi vivono (Carli *et al*., 1983, 1995). La presenza di altri numerosi picchi esotermici ed il processo di combustione in più stadi dei termogrammi si possono attribuire alla complessità biologica degli organismi in esame. Una tale complessità si può osservare per materiali biologici di varia natura quali l'ambra e sostanze vegetali (Jablonski *et al*., 1999). L'analisi in DSC infatti ha messo in evidenza la presenza di picchi esotermici sovrapposti che non si manifestano per organismi quali le microalghe planctoniche che presentano pattern di combustione meno complessi (Pane *et al*., 2000, 2001). Sicuramente l'analisi termica è fortemente influenzata dall'ossidazione della chitina e degli acidi grassi di cui i copepodi sono ricchi; questi ultimi forniscono un contributo energetico rilevante e pari a circa 0,71-3,64 KJ/g (Carli *et al*., 1983). La DSC rappresenta, quindi, una tecnica complementare per approfondire gli aspetti energetici nell'ambiente marino.

Bibliografia

CARLI A., MARIOTTINI G.L., PANE L. (1995) – Influence of nutrition on fecundity and survival in *Tigriopus fulvus* Fisher (Copepoda: Harpacticoida). *Aquaculture*, **134**: 113-119.

CARLI A., PANE L., CASARETO L., BERTONE S., PRUZZO C. (1993) - Occurence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian Sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fischer, 1860). *Appl. Environ. Microbiol*., **59**: 1960-1962.

CARLI A., MARIOTTINI G.L., PANE L. (1989) - Reproduction of the rockpools harpacticoid copepod *Tigriopus fulvus* (Fischer 1860), suitable for aquaculture. *Bulletin de l'Institut Océanographique*, Monaco, **5**: 295-300.

CARLI A., COLACELLO F., VALENTE T. (1983) – Variazioni stagionali degli acidi grassi in popolamenti di Tigriopus fulvus delle pozze di scogliera della costa ligure (copepodi Harpacticoida). *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.* Museo Civico Storia Naturale Milano, **124** (1-2): 11-20.

DOBRZYCKA A., SZANIAWSKA A. (1995) - Energy strategy of *Corophium volutator* (Pallas, 1766) (Amphipoda) population from the Gulf of Gdansk. T*hermochim. Acta*, **251** (1): 11-20.
DOLLIMORE D. (1994) - Thermal analysis. *Anal. Chem*., **66**: 17-25.
ESTEVES V.I., DUARTE A.C. (1999) - Thermogravimetric properties of aquatic humic substances. *Mar. Chem*., **63**: 225-233.
JABLONSKI P., GOLLOCH A., BORCHARD W. (1999) – DSC-Measurements of amber and resin samples. *Thermochim. Acta*, **333**: 87-93.
PANE L., FRANCESCHI E., DE NUCCIO L., CARLI A. (2001) - Applications of thermal analysis on the marine phytoplankton, *Tetraselmis suecica*. *J. Therm. Anal. Cal*., **66**: 145-154.
PANE L., FRANCESCHI E., DE NUCCIO L., CARLI A. (2000) – Cultures and thermal analysis of the marine microalga *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch). *Boll. Soc. It. Biol. Sper*., **76**: 51-58.
PENG W., WU Q., TU P., ZHAO N. (2001) - Pyrolytic characteristics of microalgae as renewable energy source determined by thermogravimetric analysis. *Biores. Technol*., **80** (1): 1-7.
PHILLIPSON J. (1964) - A miniature bomb calorimeter for small biological samples. *Oikos*, **15**: 130-139.
PLATT T., BRAWN V.M., IRWIN B. (1969) - Caloric and carbon equivalents of zooplankton biomass. *J. Fish. Res. Board Can.*, **26**: 2345-2349.
RAMOS-SÁNCHEZ M.C., RODRÍGUEZ-TORRES A., LEAL J.A., MARTÍN-GIL F.J., MARTÍN-GIL J. (1991) - Thermolytical techniques to characterize fungal polysaccharides and bacterial lipopolysaccharides. *Biotech. Progr.*, **7** (6): 526-533.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 597-601

P. Panetta, F. Mastrototaro, A. Matarrese, A. Tursi

Dipartimento di Zoologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.

TANATOCENOSI A MOLLUSCHI PRESENTI NELLE ACQUE ADRIATICHE ALBANESI

MOLLUSC THANATOCOENOSES OF ALBANIAN COAST

Abstract

Mollusc thanatocoenoses of Albanian coast and of the channel between Italy and Albania were studied. 122 species of Molluscs, only 21 of which alive, were identified. The bottoms of the Albanian coast are characterised by terrigenous muds with a well represented Turritella communis *facies (–12/–50 m). Between 50 and 200 m depth a typical thanatocoenosis of shelf-edge detritic (DL) is present, while between 200 and 1.200 m bathyphilic species, such as* Abra longicallus *were found.*

Key-words: *thanatocoenoses, mollusc, Mediterranean, Adriatic Sea.*

Introduzione

Il presente lavoro è stato effettuato nell'ambito del progetto "INTERREG II Italia/Albania – Progetto di una rete di monitoraggio delle acque marine del Basso Adriatico", grazie al quale è stato possibile effettuare per la prima volta, dopo circa settanta anni, campagne di ricerca multidisciplinari nelle acque albanesi. Nell'ambito dello studio delle comunità bentoniche dei fondi incoerenti delle acque albanesi, è emersa, in maniera significativa, la presenza di ampie tanatocenosi a molluschi.

Le tanatocenosi presenti in ambiente marino possono fornire una serie di informazioni importanti per comprendere l'evoluzione nel tempo delle comunità bentoniche presenti in un particolare ambiente (Giacobbe e Spanò, 2001). La componente a molluschi, in particolare, ben si presta a tali studi grazie alla natura carbonatica del loro guscio che ne permette la conservazione nel tempo. Lo studio delle tanatocenosi permette di ottenere un repertorio faunistico ben più ampio di quello fornito dallo studio delle sole specie ritrovate vive. Ciò diventa particolarmente importante quando si analizzano campioni raccolti con un mezzo campionatore come la benna (Di Geronimo e Robba, 1976).

Materiali e metodi

Sono state effettuate due campagne oceanografiche (ottobre 2000 e maggio 2001) a bordo della nave oceanografica "Italica" nonché una terza campagna (ottobre 2001) a bordo della Motonave "Copernaut Franca". Durante la prima campagna sono state campionate 55 stazioni mentre nella seconda 83 a partire dai –12 e sino ai –1.166 m lungo le coste albanesi e nel bacino tra l'Italia e l'Albania. Nella terza campagna sono stati indagati i fondali del Bacino del Drin, ai confini con il Montenegro.

Il campionamento è stato effettuato in due repliche per ogni stazione mediante benna Van Veen con una superficie di presa di circa 0,1 m^2 ed un volume di 0,02 m^3. Il materiale raccolto è stato setacciato a bordo (maglia di 1 mm) e conservato in formalina al 4% in acqua di mare.

Ai fini del presente studio, è stato analizzato il materiale raccolto durante le prime

due campagne oceanografiche effettuate a bordo della nave "Italica" (Fig. 1). Nell'ambito dello stesso progetto altri gruppi di ricerca hanno studiato la natura dei sedimenti, per quanto concerne la loro granulometria, la mineralogia, le caratteristiche chimiche e microbiologiche con particolare riferimento alla presenza di sostanze organiche nonché di eventuali inquinanti (CoNISMa, 2002).

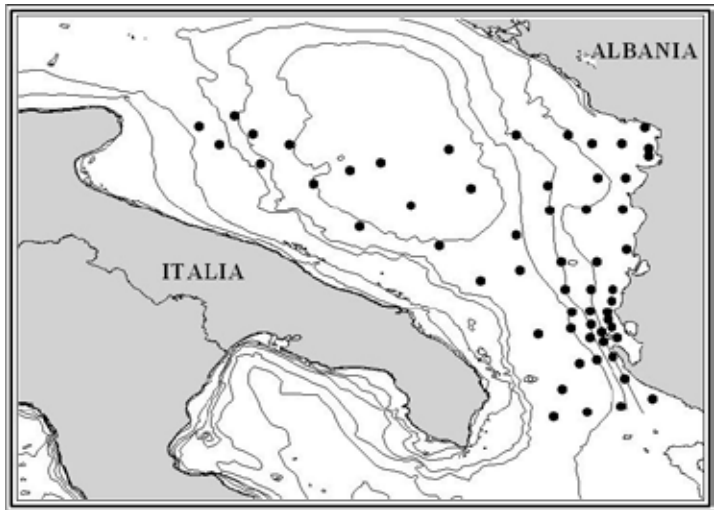


Fig. 1 – Stazioni di campionamento (ottobre 2000, maggio 2001).
Sampling Map (October 2000, May 2001).

Risultati

Da un punto di vista biocenotico i fondali marini antistanti la costa albanese risentono in maniera significativa della forzante legata al trasporto solido di origine fluviale, per cui l'estensione di alcune biocenosi, quale quella dei Fanghi Terrigeni Costieri (VTC), risulta elevata e rinvenibile sino a basse profondità (–12 m). Sono state ritrovate complessivamente 122 specie di Molluschi, di cui soltanto 21 viventi (Tab. 1). L'esiguo numero di specie viventi è da attribuire sia alla rarefazione delle specie su substrati fangosi ed omogenei sia all'attrezzo usato (benna) (Di Geronimo e Robba, 1976).

In dettaglio, nella zona costiera prospiciente l'Albania, tra i –12 e i –50 m di profondità è stata rinvenuta una *facies* a *Turritella* tipica delle biocenosi dei Fanghi Terrigeni Costieri (VTC) (Giacobbe et *al*., 1997; Giacobbe e Mondello, 1994; Giacobbe e Spanò, 2001). Associata a *Turritella communis* del popolamento a molluschi, sono stati ritrovati pochi esemplari vivi di *Abra alba* e *Pandora pinna* insieme ai resti di *Timoclea ovata*, *Corbula gibba*, *Aporrhais pespelecani* e *Hiatella arctica*. Tra i –50 e i –200 m, ancora su substrato pelitico, oltre a numerosi resti di *Neopycnodonte cochlear* sono state rinvenute specie circalitorali ad ampia distribuzione come *Aequipecten opercularis,* specie pelofile come *Nucula sulcata, Nassarius lima* e *Parvicardium minimum,* specie mistofile come *Glans aculeata* e *Nuculana commutata*, specie reofile appartenenti ad una fase sedimentaria più grossolana come *Turritella turbona, Venus casina, Pseudamussium clavatum* e *Antalis panormum* (Pérès e Picard, 1964; Picard, 1965).

Tab. 1 - Elenco delle specie di molluschi vivi (v) o dei loro resti (x) ritrovati lungo le coste albanesi e nel canale tra l'Italia e l'Albania (ottobre 2000, maggio 2001) differenziati per range batimetrici.

List of the species of alive (v) and dead (x) molluscs collected along the Albanian Coast and in the channel between Italy and Albania (October 2000, May 2001).

Specie/profondità (m)	15-50	50-200	200-700	700-1200
GASTROPODA				
Iothia fulva (Mueller)			x	
Emarginula fissura (L.)		x	x	
Calliostoma conulus (L.)		x		
Calliostoma granulatum (von Born)		x		
Putzeysia wiseri (Calcara)				x
Clelandella miliaris (Brocchi)		x		
Cantrainea peloritana (Cantr.)			x	
Bittium latreillii (Payr.)	x			
Turritella communis Risso	v	v		
Turritella turbona Mtrs.	x	v	x	
Alvania cimicoides (Forbes)		x	x	x
Aporrhais pespelecani (L.)	x	x		
Aporrhais serresianus (Mich.)		x		
Calyptraea chinensis (L.)	x	x		
Capulus ungaricus L.		x		
Trivia arctica (Pulteney)		x	x	
Erato voluta (Mtg.)		x		
Natica hebraea (Martyn)	x			
Natica filosa Philippi	v			
Euspira macilenta (Philippi)		x		
Epitonium celesti (Aradas)		x		
Acirsa subdecussata (Cantr.)		x		
Opalia hellenica (Fbs.)		x		
Bolinus brandaris (L.)	x			
Hadriania oretea (De Gregorio)		x		
Murexsul aradasi (Poirier)	x			
Ocinebrina aciculata (Lam.)	x			
Trophon echinatus (Kiener)		x	x	
Trophon muricatus (Mtg.)		x	x	x
Fusinus rostratus (Olivi)	x	x	x	
Nassarius pygmaeus (Lam.)	x			
Nassarius lima (Dillwin)		x	v	
Amphissa acutocostata (Phil.)				x
Mitrella minor (Scacchi)		x		
Benthomangelia macra (Watson)			x	x
Mangelia nuperrima (Tiberi)			x	
Mangilliella multilineolata (Des.)		x		
Drilliola emendata (Mtrs.)		x		
Microdrillia loprestiana (Calcara)		x		
Crassopleura incrassata (Dujardin)		x	x	
Mitrolumna olivoidea (Cantr.)		x		
Raphitoma echinata (Brocchi)	x			
Raphitoma linearis (Mtg.)	x			
Comarmondia gracilis (Mtg.)		x	x	
Discotectonica discus (Phil.)		x		
Mathilda retusa Brugnone				x
Liostoma clavula (Lov.)	x			
Acteon monterosatoi Dautz.			x	
Crenilabium exile (Jeff.)				x
Ringicula leptocheila Brugnone	x		x	
Cylichna cylindracea (Penn.)			x	
Roxania utriculus (Brocchi)			x	
Scaphander lignarius (L.)		x		
Cavolinia gibbosa (D'Orb.)			x	
Cavolinia inflexa (Lesueur)				x
Cavolinia longirostris (Lesueur)		x	x	x
Cavolinia tridentata (Niebuhr)				x
Diacria trispinosa (Lesueur)				x
Diacria quadridentata (Lesueur)				x
Clio pyramidata L.		x	x	x
BIVALVIA				
Nucula nucleus (L.)	x	x		
Nucula sulcata Bronn	v	v	x	x

Specie/profondità (m)	15-50	50-200	200-700	700-1200
Eunucula aegeensis (Fbs.)		x	x	
Nuculana commutata (Phil.)	x	v	x	
Arca tetragona Poli	x	v		
Barbatia clathrata (De France)		x		
Anadara corbuloides (Mtrs.)		x		
Bathyarca pectunculoides (Scacchi)		x		x
Bathyarca philippiana (Nyst)		v	x	x
Scapharca inaequivalvis (Brug.)	x			
Striarca lactea (L.)		x		
Pecten jacobeus (L.)		x		
Aequipecten opercularis (L.)	x	x	x	
Propeamussium fenestratum (Fbs.)		x		
Propeamussium lucidum (Wyv.-Thomp.)		x		
Camptonectes striatus (Mueller)			x	
Pseudamussium septemradiatum (Muell.)			x	
Pseudamussium clavatum (Poli)	x	x	x	
Delectopecten vitreus (Gmelin)			x	
Hyalopecten similis (Lask.)		x		
Chlamys varia (L.)	x	x		
Chlamys bruei (Payr.)			x	
Chlamys islandica (Muller)			x	
Limatula subauriculata (Mtg.)		x		
Notolimea crassa (Fbs.)				x
Neopycnodonte cochlear (Poli)		x	x	x
Myrtea spinifera (Mtg.)	x	x	x	
Thyasira biplicata (Phil.)	v	x		
Diplodonta brocchi (Des.)		x		
Glans aculeata (Poli)		v	x	x
Astarte fusca (Poli)		x		
Acanthocardia mucronata (Poli)	x	x		
Acanthocardia paucicostata (Sow.)	x			
Parvicardium minimum (Phil.)		x	x	x
Parvicardium scabrum (Phil.)		x		
Plagiocardium papillosum (Poli)	x			
Mactra glauca Born	x			
Tellina balaustina L.	x			
Tellina donacina L.	v			
Tellina nitida Poli	x			
Tellina serrata Brocchi		x		
Tellina distorta (Poli)	x			
Abra prismatica (Mtg.)	x	x		
Abra alba (Wood)	v			
Abra longicallus (Scacchi)		x	v	x
Azorinus chamasolen (Da Costa)	x	x	x	
Venus casina L.		x	v	
Clausinella fasciata (Da Costa)	x	x		
Timoclea ovata (Penn.)	x	v	x	x
Gouldia minima (Mtg)		x		
Pitar rudis (Poli)	x	x	x	x
Mysia undata (Penn.)	x	x		
Corbula gibba (Olivi)	x	x		
Hiatella arctica (L.)	x	x		
Pandora pinna (Mtg.)	v	x		
Poromya granulata (Nyst-Westen.)	v	x	x	
Cuspidaria cuspidata (Olivi)		x	x	
Cuspidaria rostrata (Spengler)		x	x	
SCAPHOPODA				
Antalis agile (Sars)		x	x	v
Antalis inaequicostatum (Dautz.)	x	x		
Antalis panormum (Chenu)		v	v	
Entalina tetragona (Brocchi)		x	v	v

Dai –200 sino ai –1.200 m la tanatocenosi a molluschi risulta caratterizzata da specie batifile tra cui domina *Abra longicallus*. In queste tanatocenosi, inoltre, è possibile distinguere due *facies* (Di Geronimo, 1974) di cui la prima, più superficiale tra i –200 e i –700 m, in cui *A. longicallus* è accompagnata ancora da specie circalitorali. Nella seconda *facies,* compresa tra i –700 e i –1.200 m, invece, *A. longicallus* è accompagnata da *Antalis agile* e da altre specie batifile quali *Benthomangelia macra*, *Putzeysia wiseri*, *Amphissa acuticostata*, *Crenilabium exile*. I fanghi ritrovati in tale area, inoltre, sono caratterizzati dall'abbondante presenza di resti di pteropodi costituiti essenzialmente da *Clio pyramidata*, *Cavolinia longirostris*, *C. inflexa*, *C. tridentata* e *Diacria quadridentata.*

In stazioni localizzate lungo il versante pugliese, è stato rinvenuto un giacimento wurmiano al largo del golfo di Manfredonia, ad una profondità di circa 400 m. Tale tanatocenosi contiene i resti di differenti comunità in cui si evidenziano ospiti nord-atlantici come *Pseudamussium septemradiatum*, *Chlamys islandica*, *Iothia fulva* e specie attuali come *Nassarius lima*, *Bathyarca philippiana*, *Cantrainea peloritana* e *Chlamys bruei*. Simili tanatocenosi sono state segnalate anche al largo di Bari a profondità analoghe (Taviani, 1978).

Conclusioni

La componente a molluschi delle coste albanesi e del bacino adriatico meridionale profondo appare poco diversificata rispetto a quanto si conosce per la costa pugliese (Bedulli *et al.*, 1986). La povertà in specie è essenzialmente attribuibile al notevole e continuo apporto terrigeno dovuto ai numerosi corsi d'acqua presenti lungo la costa albanese. Tale situazione determina nel tempo un infangamento dei fondali impedendo il normale sviluppo delle biocenosi costiere e favorendo unicamente le specie pelofile.

Vale la pena citare che le differenti biocenosi tipiche del litorale pugliese, quali coralligeno e praterie di *Posidonia oceanica* sono risultate assenti dalla zona albanese indagata.

Bibliografia

BEDULLI D., BIANCHI C.N., ZURLINI G., MORRI C. (1986) – Caratterizzazione biocenotica e strutturale del macrobenthos delle coste pugliesi. Indagine ambientale del sistema marino costiero della regione Puglia. Elementi per la definizione del piano delle coste. Serie Studi Ambientali, Direzione Centrale Relazioni: 227-255.

CoNISMa (2002) – Interreg II Italia-Albania. Asse 3 – Ambiente. Misura 3.1 – Progetto di una rete di monitoraggio delle acque marine del Basso Adriatico. Relazione finale sintetica: 136 pp.

DI GERONIMO I. (1974) – Molluschi bentonici in sedimenti recenti batiali e abissali dello Jonio. *Conchiglie,* **10**: 133-172.

DI GERONIMO I., ROBBA E. (1976) – Metodiche qualitative e quantitative per lo studio delle biocenosi e paleocomunità marine bentoniche. Rapporto di lavoro n. 1. Il paleobenthos in una prospettiva paleoecologica. CNR Gruppo Informale di Ricerca Coordinata: 36 pp.

GIACOBBE S., LEONARDI M., JERACE S. (1997) – Tanatocenosi a *Turritella communis* e variazioni dei fattori edafici in tre aree costiere dell'Italia Meridionale. *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 393-395.

GIACOBBE S., MONDELLO G.P. (1994) – *Turritella* thanatofacies in the terrigenous mud biocoenosis (VTC) in Southern Tyrrhenian Sea. *Boll. Soc. Paleont. Ital*., Spec. 2: 141-151.

GIACOBBE S., SPANÒ N. (2001) – Tanatocenosi di comunità bentoniche del Medio Adriatico. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 826-828.

PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau Manuel de Bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **31** (47): 1-137.

PICARD J. (1965) - Recherches qualitatives sur les biocoenoses marines des substrats meubles dragables de la région marseillaise. *Rec. Trav. St. mar. Endoume*, **36** (52): 1-159.

TAVIANI M. (1978) – Associazioni a Molluschi pleistoceniche-attuali dragate nell'Adriatico meridionale. *Boll. Zool*., **45**: 297-306.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 602-604

M. Pansini, F. Malfettani

Dip.Te.Ris. - Dip. per lo studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova,
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
mpansini@dipteris.unige.it

IL GENERE *APLYSINA* NARDO (PORIFERA, DEMOSPONGIAE) NELL'AREA CARAIBICA: NOTE SISTEMATICHE ED ECOLOGICHE

THE GENUS APLYSINA *NARDO (PORIFERA, DEMOSPONGIAE) IN THE CARIBBEAN AREA: TAXONOMIC AND ECOLOGICAL NOTES*

Abstract

Six different species of Aplysina *from the Caribbean area have been studied also in the field. Some morphological characters–only detectable in whole specimens–allow their identification. Other characters are too variable to be reliable.*

Key-words: Aplysina*, Demospongiae, systematics, ecology, western Atlantic.*

Introduzione

Il genere *Aplysina* (Fam. Aplysinidae Carter, 1875) comprende delle spugne cornee caratterizzate dalla presenza di un solo tipo di fibre di spongina, prive di detrito e di altri inclusi, ma con corteccia esterna e midollo. Lo scheletro forma un reticolo a maglie esagonali più o meno irregolari, senza una specializzazione superficiale. Quando vengono esposte all'aria o dopo conservazione, queste spugne presentano un marcato cambiamento di colore dal giallo, lavanda o viola al blu o marrone scuro. Il genere è considerato a larga ripartizione, ma le segnalazioni al di fuori dell'Atlantico centrale, del Mediterraneo e dell'Australia sono dubbie. L'area nella quale il genere *Aplysina* è rappresentato dal maggior numero di specie è comunque quella caraibica in senso lato (Soest, 1978), estesa cioè anche al Golfo del Messico, alle Isole Bahamas e alle coste della Florida. In quest'area sono presenti, e spesso molto comuni, almeno sette specie diverse: *A. archeri* (Higgin, 1875), *A. bathyphyla* Maldonado e Young, 1998, *A. cauliformis* Carter, 1882, *A. fistularis* (Pallas, 1766) con due diverse varietà, *A. fulva* (Pallas, 1766), *A. lacunosa* (Lamarck, 1814) e *A. ocracea* Alcolado, 1984. La distinzione di queste specie, tuttavia, non è sempre agevole, perché esse presentano una elevata variabilità, sia nella forma che nel colore. Inoltre la loro densa matrice di collagene le rende molto compatte se conservate a secco e quindi difficili da sezionare. I tessuti degli esemplari conservati sono praticamente non degradabili, per via dell'attività antibatterica dei composti bromurati contenuti nella spugna, e, pertanto, le consuete preparazioni del reticolo di spongina che costituisce lo scheletro si ottengono con difficoltà.

Materiali e metodi

Il materiale è stato raccolto negli anni '90 in diverse campagne oceanografiche mirate alla raccolta di invertebrati marini per studi di carattere chimico e farmacologico. Le osservazioni ecologiche e fotografiche sono state fatte nel 2000 e 2001 rispettivamente alle isole Bahamas e su alcuni reef al largo del Belize.

Risultati e conclusioni

Nel corso di questa indagine non è stato rinvenuto alcun esemplare attribuibile a *A. fistularis fistularis* (Pallas, 1766), forma caratterizzata da digitazioni cilindriche prive di processi ramificati, e ciò potrebbe confermare l'ipotesi che questa sotto specie sia endemica della sola regione delle Isole Leeward (Guadalupe, Antigua). Il confronto tra le sei specie esaminate per l'area caraibica ha consentito una valutazione critica dei caratteri usati per la determinazione. Alcuni sono abbastanza costanti e quindi affidabili: forma esterna, caratteristiche della superficie, colore interno, dimensioni delle fibre di spongina. Altri sono soggetti a notevoli variazioni intraspecifiche e quindi sono da utilizzare con cautela: colore esterno, spessore del midollo nelle fibre, dimensioni delle maglie del reticolo scheletrico.

Esistono delle differenze ecologiche tra le varie specie, ma, nella maggior parte dei casi (*A. archeri, A. cauliformis, A. fistularis insularis, A. lacunosa*) le preferenze di habitat sono limitate a zone diverse dello stesso reef (pareti verticali, anfratti, piattaforme esposte alla luce e con zone sabbiose). *A. fulva*, invece, si può considerare specie fotofila e reofila e si trova generalmente in acque basse, dove le correnti di marea ed il moto ondoso provocano un intenso movimento dell'acqua. Essa è spesso associata ai mangrovieti – nei canali sabbiosi che si insinuano tra le mangrovie rosse (*Rhizopora mangle*) - o alle praterie di *Thalassia*. *A. bathyphyla*, infine, è specie decisamente sciafila, descritta su esemplari raccolti tra 60 e 150 m, e campionata nel corso di questo studio a soli 30 m (South Bimini), in una zona ombrosa della parete del reef. Un'altra specie di profondità – che non è stata più ritrovata dopo la descrizione di Alcolado (1984) è *A. ocracea.*

Tab. 1 – Caratteristiche morfologiche delle specie di *Aplysina* studiate nell'area caraibica.
Morphological charateristics of species of Aplysina *studied in Caraibic area.*

Specie	Forma esterna	Colore esterno	Colore interno	Diametro fibre in µm	Spessore midollo % fibra	Maglie in µm (diametro maggiore)	Superficie
A. archeri	Cilindrica	Rosa violetto o rosso marrone	Giallo	50 – 100	30 - 50	2000 - 2500	Conuli singoli
A. bathyphyla	Globosa peduncolata	Ocra, giallo o biancastro	Giallo	100 – 150	25 - 30	1500	Conuli singoli
A. cauliformis	Ramosa	Azzurro violetto o marrone	Giallo o crema	70 – 200	40 - 90	600 – 1400	Conuli uniti da creste
A. fistularis insularis	Cilindrica	Giallo verde o marrone	Giallo	80 – 100	30	250 – 3000	Conuli uniti da rilievi tondeggianti
A. fulva	Ramosa	Giallo verde o marrone scuro	Giallo marrone	50 – 100	50-70	600 – 1000	Conuli singoli
A. lacunosa	Cilindrica	Giallo o giallo verdastro	Giallo	100 – 150	5 - 50	250 – 1000	Conuli uniti da creste

Aplysina archeri pone dei problemi di identificazione perché si può trovare in diverse forme. L'aspetto più consueto della spugna è tubolare, con svasature più accentuate negli esemplari di maggiori dimensioni. Alcuni esemplari, tuttavia, sono provvisti

di ramificazioni, sollevate o decorrenti sul substrato, che danno origine a forme nuove, prima globose poi tubolari (Zea, 1987). In questa fase ramificata, però, la specie si può confondere facilmente con *A. cauliformis*. La caratteristica più costante di *A. archeri*, è comunque il colore: dal lilla al viola all'esterno e sempre giallo all'interno.

Bibliografia

ALCOLADO P.M. (1984) - Nuevas especies de esponjas encontradas en Cuba. *Poeyana*, **171**: 1-20.

SOEST R.W.M. VAN (1978) - Marine sponges from Curaçao and other Caribbean localities. Part I. Keratosa. In: Hummelinck P.W. & van der Stehen L.J. (eds), *Studies on the Fauna of Curaçao and other Caribbean Islands*, **179**: 1-94.

ZEA S. (1987) - *Esponjas del Caribe Colombiano*. Catalogo Cientifico, Colombia: 286 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 605-607

L. Rapposelli, I. Milella, A. Floris, M. Santoni, D. Casu

Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, C.so Margherita di Savoia, 15 - 07100 Sassari, Italia.

POLICHETOFAUNA DI FONDI MOLLI DEL LITORALE ANTISTANTE PORTO TORRES (SARDEGNA SETTENTRIONALE)

SOFT-BOTTOM POLYCHAETES DISTRIBUTION ALONG PORTO TORRES SHORE (NORTHERN SARDINIA, ITALY)

Abstract

The distribution of soft bottom polychaetes has along the coasts of Gulf of Asinara (Sea of Sardinia) was studied. Quali-quantitative differences between 5m and 15m assemblages were detected, according to the bathymetric gradient. The polychaete community is rich and diversified at both depth's.

Key-words: *Polychaetes, Gulf of Asinara, Sardinia.*

Introduzione

Il presente lavoro si colloca nell'ambito di uno studio sul Golfo dell'Asinara, durante il quale è stata effettuata una serie d'indagini sull'ambiente marino, ed in particolare sulle comunità zoobentoniche di fondo molle (Casu *et al*., 2000). La fascia costiera in questione è interessata, oltre che dalla presenza dell'abitato di Porto Torres, anche da numerosi impianti industriali, quali *il petrolchimico* e la centrale termoelettrica di Fiume Santo, e dallo sbocco di corsi d'acqua veicolanti acque potenzialmente ricche di inquinanti. Si tratta pertanto di un'area che necessita di un attento controllo da effettuare con diverse metodologie, una delle quali può essere lo studio delle comunità bentoniche di fondi molli, in grado di fornire informazioni adeguate sulle condizioni ambientali.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati nel febbraio 2000, nell'area antistante la Centrale Termoelettrica di Fiume Santo. Alle profondità di 5 e 15 m sono state fissate due stazioni (indicate con S e con D); per ogni stazione sono state effettuate 3 repliche utilizzando carotatori in PVC (8 cm di diametro) manovrati da operatori subacquei. In laboratorio i campioni, fissati in formalina al 4%, sono stati smistati e sono state determinate, ove possibile, le specie presenti. Nel presente lavoro è stata presa in esame la componente a policheti, calcolando i principali parametri strutturali del popolamento (Tab. 1); i dati relativi all'abbondanza delle specie presenti sono stati analizzati tramite metodi di analisi multivariata (Clarke *et al*., 1994).

Risultati e conclusioni

Sono stati raccolti 185 policheti, appartenenti a 53 specie e 18 famiglie. I Syllidae sono la famiglia più abbondante rappresentata da 43 individui e 23 specie; le specie più frequenti risultano però il dorvilleide *Protodorvillea kefersteini* (26), il capitellide *Pseudoleio-capitella fauveli* (13) e il cirratulide *Monticellina dorsobranchialis* (11).

Lo studio della distribuzione degli organismi mette in evidenza una distinzione qualitativa e quantitativa tra i popolamenti più superficiali, caratterizzati tendenzialmente da un minor numero di individui e di specie, e quelli più profondi, in cui tali valori ma soprattutto la diversità tendono ad essere più elevati (Tab. 1). L'ordinamento mediante MDS, ha messo ulteriormente in evidenza una netta separazione tra le stazioni più superficiali e quelle più profonde (Fig. 1), dovuta anche alla dominanza di *Protodorvillea kefersteini* a 5 m e di *Monticellina dorsobranchialis* a 15 m.

La scarsa presenza di forme opportuniste legate ad ambienti sottoposti ad arricchimento organico, è dovuta probabilmente alla esistenza in queste zone di correnti, parallele alla linea di costa dirette da est verso ovest, che non permettono l'accumulo di inquinanti organici immessi in loco, ma ne favoriscono la dispersione.

Le informazioni ottenute assumono un particolare rilievo in quanto durante il periodo di campionamento, si è verificato uno sversamento accidentale, nel bacino di contenimento della Centrale di Fiume Santo, di circa 700 m^3 di Orimulsion® 400, una piccola parte del quale si suppone si sia disperso in mare (Alcaro *et al*., 2001). I dati raccolti in questo sito, così come in altre aree del Golfo dell'Asinara interessate alla ricerca effettuata (Casu *et al*., 2000), possono quindi rappresentare un punto di riferimento per valutare un eventuale effetto di tale fenomeno sulle comunità bentoniche e, di conseguenza, nell'ambiente marino dell'area presa in esame nel suo complesso.

Tab. 1 – Parametri strutturali rilevati nei campioni raccolti.
Structural parameters of Fiume Santo soft bottoms polychaetes.

Stazione	S	N	D	H'	J
5 S	6.3±2.5	12.0± 4.0	2.1±0.7	1.6±0.4	0.876±0.047
5D	8.3±5.0	16.0±9.5	3.3±1.4	1.7±0.7	0.863±0.048
15S	9.3±4.5	12.7±7.4	3.3±1.1	2.1±0.5	0.964±0.021
15D	11.3±4.2	18.0±8.5	3.6±0.8	2.3±0.5	0.952±0.024

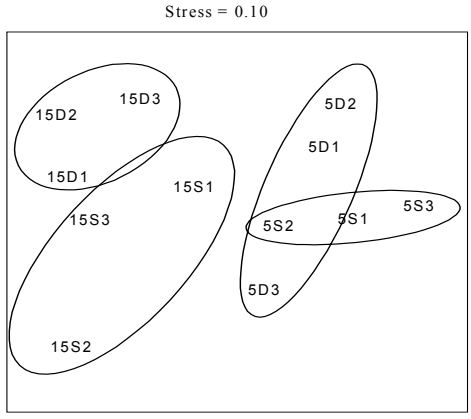


Fig. 1 – MDS polichetofauna di Fiume Santo.
MDS Fiume Santo soft bottom polychaetes.

Bibliografia

AMATO E., ALCARO L., AUSILIA A., CHIERUZZI T., FARCHI C., LAURIANO G., PENNA M., TUFANO M. (2002) - Sversamento di combustibile Orimulsion® 400, verifica della presenza di residui bitunosi nel Golfo dell'Asinora. *Biol. Mar. Medit.,* **9** (1): 655-660.

CASU D., MILELLA I., CASTELLI A. (2000) - *Cura e risanamento dei litorali dei comuni di Sassari e Stintino*, Dipartimento di Zoologia e Antropologia Biologica, Università degli Studi di Sassari.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Change in marine communities: on approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Enviroment Research Council*, U.K.: 144 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 608-610

G.F. Russo, R. Balzano*, G.C. Carrada*

Istituto di Meteorologia e Oceanografia, Università di Napoli Parthenope,
Via De Gasperi, 5 – 80133 Napoli, Italia.
giovanni.russo@uninav.it
*Dip. Zoologia, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italia.

PRIMA SEGNALAZIONE DI *CAULERPA TAXIFOLIA* ED ULTERIORI NOTIZIE SULLA DISTRIBUZIONE DI *CAULERPA RACEMOSA* PER LE COSTE DELLA CAMPANIA (TIRRENO CENTRALE)

FIRST RECORD OF CAULERPA TAXIFOLIA *AND FURTHER INFORMATION ON THE DISTRIBUTION OF* CAULERPA RACEMOSA *FOR THE COASTS OF CAMPANIA (CENTRAL TYRRHENIAN SEA)*

Abstract

The presence of C. taxifolia *is for the first time reported for the waters of Campania, from Punta Licosa (gulf of Salerno). Further information is provided on the distribution of* C. racemosa*, which rapidly spread along the southern side of the Sorrento Peninsula and the eastern coast of the island of Capri. The coincidence between the sites occupied by* C. racemosa *and those intensively interested by summer nautical activities is emphasized.*

Key-words: Caulerpa taxifolia, Caulerpa racemosa*, introduced species, distribution, Tyrrhenian Sea.*

Introduzione

Nel corso di rilevamenti dei popolamenti bentonici lungo le coste cilentane nell'estate del 2001, è stata rinvenuta la presenza dell'alga *Caulerpa taxifolia.* Quest'alga, caratterizzata da grande capacità di espansione, era stata già segnalata lungo le coste italiane prima in Liguria e successivamente in Sicilia, Calabria e Toscana (Meinesz, 2001). Per la Campania, la presente costituisce la prima segnalazione.

Nell'ambito di campagne di rilevamento visivo con ARA condotte nella Riserva marina di Punta Campanella e lungo le coste di Capri, durante le estati del 2000 e del 2001, sono stati individuati diversi prati di *Caulerpa racemosa*. In Campania, la presenza di quest'alga era già stata segnalata da alcuni anni in una zona limitata, in prossimità dell'area portuale di Salerno (Gambi e Terlizzi, 1998) e, successivamente, nell'area flegrea (Buia *et al.*, 2001; Dappiano *et al.*, 2002).

Risultati e conclusioni

C. taxifolia è stata rinvenuta poco a Sud del canale fra l'isola di Licosa e la prospiciente punta omonima (40°14'50"N; 14°54'00"E) ad una profondità di –16 m. Il nucleo di colonizzazione era impiantato su sabbia grossolana, in un canale intermatte di un vasto posidonieto, ed aveva un'estensione di circa un metro quadrato.

Per quanto riguarda *C. racemosa*, nella Riserva marina di Punta Campanella sono stati censiti complessivamente dodici prati, tutti ubicati sul versante salernitano della Penisola Sorrentina (Fig. 1). Informazioni più dettagliate sui siti di rinvenimento, la profondità d'impianto dei prati e osservazioni aggiuntive sono riportate nella Tab. 1.

Prati particolarmente estesi sono stati rinvenuti in prossimità di Punta Campanella, in prossimità di Punta Montalto e nella baia di Recommone. L'alga è impiantata sia

su substrato roccioso sia su fondo molle, in un intervallo di profondità variabile da un minimo osservato di –4 m (Punta Crapolla) ad un massimo di –35 m (Punta di Recommone).

Fig. 1 – Riserva Marina di Punta Campanella con l'ubicazione dei siti di rinvenimento dell'alga *C. racemosa.*
Location of the C. racemosa *meadows in the Marine Reserve of Punta Campanella.*

Tab. 1 – Prati di *C. racemosa* censiti nella Riserva Marina di Punta Campanella.
C. racemosa *meadows in the Marine Riserve of Punta Campanella*.

PRATI	LOCALITA'	PROFONDITA'	NOTE
1	P.ta Campanella	-18 m/-25m	Esteso prato su due pianori, rispettivamente a -18 e -25 m
2	Torre Montalto	-20 m	Esteso prato con stoloni ricoperti da abbondante sedimento
3	Le Mortelle	-12 m/-25 m	Esteso prato che ricopre pianori fra gli scogli
4	Baia e P.ta Recommone	-6 m/-19 m	Esteso prato che ricopre pianori fra gli scogli
5	Scoglio Isca	-10 m/-20 m	Esteso prato su due pianori, rispettivamente a -10 m e -20 m
6	Di fronte scoglio Isca	-7/-10 m	Esteso prato con stoloni ricoperti da abbondante sedimento
7	P.ta Crapolla	-4 m, -7 m, -10 m	Esteso prato sia su parete (-4 m) che su pianori (-7 m e -10 m)
8	Scoglio Vetara	-5 m/-25 m	Esteso prato sia su parete che su pianori
9	Prospiciente scoglio Castellluccia	-20 m	Estesa chiazza
10	Isolotto Gallo Lungo	-20 m	Piccola chiazza su roccia
11	Isolotto Gallo Lungo	-20 m/-30 m	Prato impiantato su ciottoli e ghiaia
12	Isolotto Gallo Lungo	-20 m/-30 m	Prato impiantato su ciottoli e ghiaia

Lungo la costa dell'isola di Capri, *C. racemosa* è presente con un prato molto esteso nella cala del porto di Tragara. L'alga è impiantata su substrato roccioso e si estende, senza soluzione di continuità, lungo la base della falesia prospiciente lo scoglio del Monacone, nella fascia batimetrica compresa tra i –9 m ed i –12 m.

Le osservazioni confermano la grande adattabilità di *C. racemosa* alle diverse tipologie del substrato e ad ampi intervalli batimetrici. Inoltre, colpisce la corrispondenza fra i siti di colonizzazione e quelli più frequentati, come zone di ancoraggio, dal turismo nautico e balneare. Tale attività viene indicata da diversi Autori (cfr. per tutti Occhipinti, 2001) come uno dei principali agenti di disseminazione dell'alga.

Bibliografia

BUIA M.C., GAMBI M.C., TERLIZZI A., MAZZELLA L. (2001) - Colonization of *Caulerpa racemosa* along the Southern Italian coasts: I. Distribution, phenological variability and ecological role. In: Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G., Verlaque M. (eds), *Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia,* GIS Posidonie publ., Fr.: 352-360.

DAPPIANO M., IACONO B., GAMBI M.C. (2002) - Caratterizzazione biocenotica e nuove segnalazioni di organismi bentonici nelle isole flegree (Ischia, Procida e Vivara, Golfo di Napoli) attraverso census visuale. *Biol. Mar. Medit.,* **9** (1): 519-525.

GAMBI M.C., TERLIZZI A. (1998) - Record of a large population of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh (Chlorophyceae) in the gulf of Salerno (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). *Biol. Mar. Medit*., **5** (1): 553-556.

MEINESZ A. (2001) - *L'alga " assassina"*. Caulerpa taxifolia: *un attentato alla biodiversità del Mediterraneo*. Bollati Boringhieri editore, Torino: 245 pp.

OCCHIPINTI A., SAVINI D. (2001) - Resoconto partecipazione Convegno sulle specie marine non indigene (II International Conference on Marine Bioinvasions. New Orleans, 9-11 Aprile 2001). *Notiziario S.I.B.M*., **40**: 42-44.

Studio in parte svolto nell'ambito del programma "Monitoraggio dei fondali nell'area marina protetta di Punta Campanella", finanziato dalla Riserva Marina di Punta Campanella.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 611-613

R. Sandulli, M. Gallo D'Addabbo, D. Carriglio, A. Pentassuglia, S. Grimaldi de Zio

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.

COMPOSIZIONE E DIVERSITÀ DELLA MEIOFAUNA LUNGO LE COSTE ALBANESI

COMPOSITION AND DIVERSITY OF MEIOFAUNA ALONG THE ALBANIAN COASTS

Abstract

The structure and diversity of Meiobenthic communities along the Albanian coasts were investigated during two oceanographic cruises (October 2000 and April 2001. Co.N.I.S.Ma Project: Interreg Italy/Albania). Meiofauna was collected from 95 sediment samples ranging between 17 and 887 m depth.

Most of the Albanian sediments were composed by terrigenous silty mud (mean diameter: 4-8 φ), due to the considerable riverine input especially in the Northern area. These muds are, however, poor in organic content and, consequently, microbial activity is quite scarce. This may also explain the presence of poor meiofaunal assemblages with low numbers of taxa, low numbers of individuals per taxon, and low diversity indices (Shannon-Wiener and Pielou), mainly represented by nematodes and few individuals of other taxa (harpacticoids, annelids, kinorhynchs).

Key-words*: meiofauna, Albania, biodiversity.*

Introduzione

La scarsità di dati sul benthos delle coste albanesi ed in particolare la quasi totale mancanza di informazioni sulla meiofauna (Sandulli e de Zio Grimaldi, 1999), ci ha spinto ad intraprendere uno studio atto a valutare la composizione e lo stato delle comunità meiobentoniche dei sedimenti subtidali di tali aree marine.

Materiali e metodi

Durante due campagne oceanografiche a bordo della N.O. "Italica" (progetto CoNISMa-INTERREG Italia/Albania) si sono prelevati 95 campioni di sedimento in tre repliche (ottobre 2000: 41 campioni; aprile 2001: 54 campioni), mediante multicorer e benna Van Veen modificata (range di profondità: 17-887 m).

Dopo la misurazione dei profili redox, il sedimento proveniente dalla benna è stato sottocampionato con carotieri manuali (diametro int.: 28 mm) e la meiofauna è stata immediatamente anestetizzata e quindi fissata con una soluzione di formalina-acqua di mare al 5%. La separazione della meiofauna dal sedimento è stata effettuata in laboratorio mediante la tecnica del Ludox (Higgins e Thiel, 1988). Il successivo esame dei campioni (conteggio e identificazione degli organismi) è stato realizzato in microscopia ottica e in contrasto di fase. Si sono, infine, calcolati gli indici di diversità di Shannon-Wiener (*H'*) e gli indici di equitabilità di Pielou (*J*) per la meiofauna totale.

Risultati e conclusioni

Il tipo di substrato dei fondali albanesi studiati è costituito quasi essenzialmente da fanghi siltosi (diam. medio 4-8 φ) la cui presenza è dovuta al notevole input terrigeno

proveniente, soprattutto nella parte settentrionale, dai cospicui apporti fluviali (fiumi Drinit, Matit, Ishmit, Erzenit).

Nella maggior parte dei casi, i profili redox misurati si attestano su valori positivi, facendo ritenere che tali fanghi siano poveri di sostanza organica e che, di conseguenza, la degradazione batterica sia di modesta entità.

La meiofauna di tali fanghi comprende forme quasi essenzialmente epi- ed endobentiche visto che il sedimento non consente l'esistenza di forme mesopsammiche. Dal punto di vista qualitativo in entrambe le campagne di campionamento, si sono rinvenuti generalmente pochi taxa (Fig. 1A-B), con diversità e evenness molto contenute tra i quali dominano i nematodi, mentre copepodi, anellidi, chinorinchi completano il popolamento con basse abbondanze (Fig. 2A-B).

Tale scarsità nel numero di taxa e nella diversità è probabilmente imputabile al basso apporto energetico delle acque continentali albanesi, il cui scarso contenuto organico, come già ricordato, non arricchisce sensibilmente i sedimenti costieri.

Le caratteristiche sedimentologiche e di apporto terrigeno dei fondali albanesi sembrano rappresentare quindi il fattore strutturante primario, che condiziona pesantemente le possibilità di colonizzazione della meiofauna.

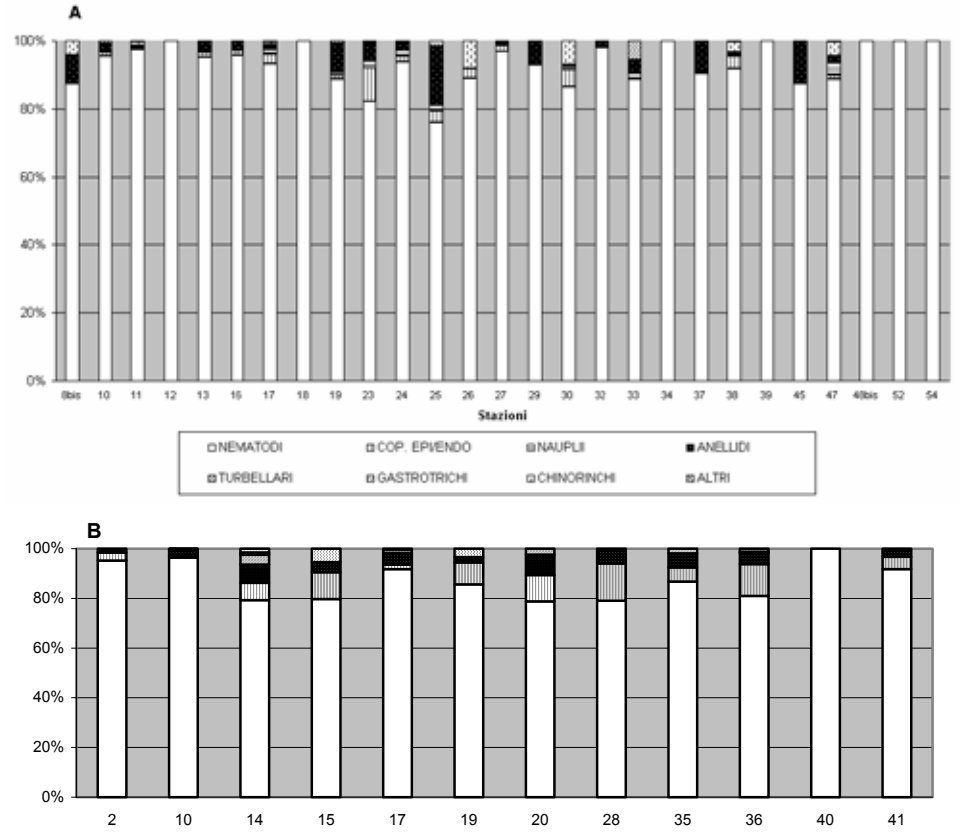


Fig. 1 – Composizione percentuale della Meiofauna nelle stazioni campionate. (A) Ottobre 2000; (B) Aprile 2001.

Percent composition of Meiofauna at all sites. (A) October 2000; (B) April 2001.

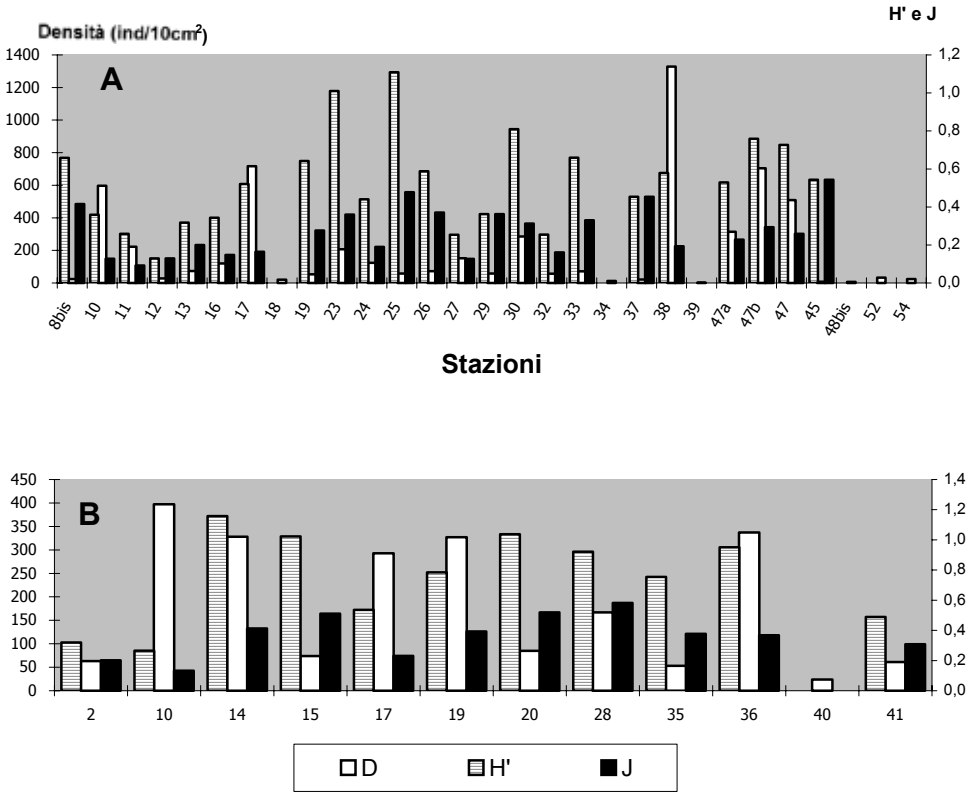


Fig. 2 – Densità (D), Diversità (H') e Evenness (J) della Meiofauna nelle varie stazioni. (A) ottobre 2000; (B) aprile 2001.

Meiofauna Density (D), Diversity (H') and Evenness (J) at all sites. (A) October 2000; (B) April 2001.

Bibliografia

HIGGINS R.P., THIEL H. (1988) - *Introduction to the study of Meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.: 488 pp.

SANDULLI R., DE ZIO GRIMALDI S. (1999) - Status of intertidal meiofauna along an Albanian coastline exposed to the possible influence of Durres sewer. *Biol. Mar. Medit.,* **7**: 731-733.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 614-617

M. Scapolatempo, C. Solustri*, B. Sabelli

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università degli Studi di Bologna,
Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.
*Istituto di Ricerche sulla Pesca Marittima, IRPEM–CNR, Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.

AMATHINA TRICARINATA (LINNAEUS, 1767) (ORTHOGASTROPODA, HETEROBRANCHIA, AMATHINIDAE): UNA NUOVA SPECIE ESOTICA IN MEDITERRANEO

AMATHINA TRICARINATA *(LINNAEUS, 1767) (ORTHOGASTROPODA, HETEROBRANCHIA, AMATHINIDAE): A NEW EXOTIC SPECIES IN THE MEDITERRANEA SEA*

Abstract

A single specimen of the Indo-Westpacific Amathina tricarinata *(Heterobranchia, Amathinidae) was collected in the Beirout harbour 3-8 m depth. The histological study of the gonad revealed the presence of sperm and ripe eggs thus suggesting a good adaptation to the new environment.*

Key-words: *Lessepsian migrants, morphology, reproduction, ovotestis.*

Introduzione

Negli ultimi decenni, un numero sempre maggiore di specie esotiche di molluschi, 125 (CIESM 2000), pari a circa il 5% delle presenti, è stato segnalato nel mar Mediterraneo. Infatti, in seguito all'apertura del Canale di Suez, all'abbassamento di salinità dei laghi Amari e ad un incremento dei trasporti marittimi, le introduzioni di specie esotiche attuate deliberatamente o accidentalmente sono andate progressivamente aumentando (Dekker e Orlin, 2000). Tali specie meritano una particolare attenzione, perché la loro introduzione in Mediterraneo può apportare modifiche all'ecosistema; esse infatti, rispetto a quelle autoctone possono rivelarsi competitive su base alimentare, riproduttiva, di predazione, o semplicemente pericolose per l'introduzione di nuovi parassiti o altri agenti patogeni, nei confronti dei quali le specie indigene possono non avere alcuna immunità. Inoltre l'evidenza delle conseguenze ecologiche più o meno marcate, molto spesso può risultare solo da un bilancio a medio o a lungo termine.

Recentemente Helmut Zibrowius della Stazione Marina di Endoume (Marsiglia), ci ha affidato in esame del materiale raccolto lungo le coste libanesi. Nell'ambito di esso, abbiamo reperito un piccolo gasteropode capuliforme, che non assomigliava ad alcuna specie nota per il Mediterraneo. Abbiamo perciò voluto identificarne la specie e metterne in evidenza l'eventuale stato di "immigrato lessepsiano", valutandone la capacità riproduttiva con un approccio istologico.

Materiali e metodi

L'esemplare, raccolto il 2-6-2000 in una stazione ricca di ostriche nel porto di Beirut, ad una profondità di 3-8 metri, dopo essere stato fissato in aldeide formica al 2%, è stato poi conservato in etanolo assoluto. Ad un esame allo stereo microsco-

pio dell'esemplare *in toto,* che ne ha permesso di cogliere in dettaglio la morfologia esterna, è seguita l'estrazione delle parti molli dalla conchiglia e la loro inclusione in paraplast plus. Tagliate in sezioni seriate trasversali di 7 μm, esse sono state colorate con eosina gialla ed emallume di Mayer.

Risultati

L'esemplare presenta una conchiglia capuliforme (Fig. 1), minuscola (5 mm d'altezza), senza opercolo, con periostraco giallo-bruno e tre costole spirali, di cui due più pronunciate, poiché probabilmente si tratta di un esemplare giovane, come suggerisce anche la piccola taglia. L'interno della conchiglia è bianco ed evidenzia la caratteristica impronta a ferro di cavallo del muscolo columellare.

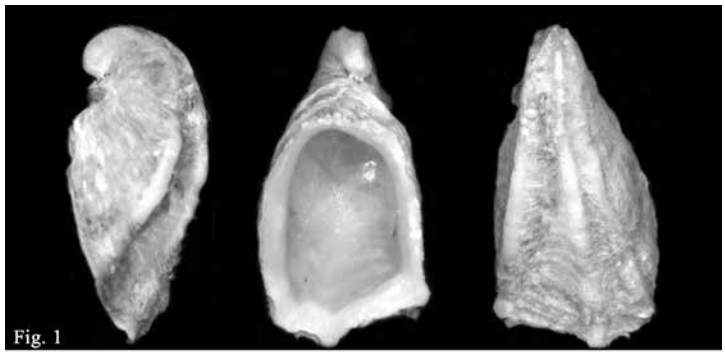


Fig. 1 – Conchiglia di *Amathina tricarinata* vista di lato, ventralmente e dorsalmente. 12×.
Shell of Amathina tricarinata *side, ventral and dorsal view. 12×.*

Osservato ventralmente, il gasteropode mostra una marcata suddivisione tra mesopodio (parte anteriore del piede) e metapodio (parte posteriore), bilobato per la presenza di un solco. L'estremità cefalica è caratterizzata da due tentacoli "a orecchio di coniglio", recanti gli occhi alla loro base. La morfologia della conchiglia e dell'animale corrispondono a quelle di *Amathina tricarinata*, come illustrata e descritta da Ponder (1987).

L'esame istologico ha evidenziato che la gonade è un *ovotestis* (Fig. 2). Esso appare immerso nella ghiandola digestiva ed assieme ad essa costituisce l'apice del sacco viscerale. In sezione trasversale l'*ovotestis* appare ben conformato, con una lunghezza di 700 μm e risulta costituito da una serie di tubuli confluenti tra loro al centro in una cavità a ventaglio. Sulle pareti dei tubuli, cellule germinali maschili e femminili sono prodotte assieme e sono separate tra loro solo da un sottile epitelio; la spermatogenesi si mostra più avanzata rispetto all'ovogenesi. Gli spermi sono presenti anche nella vescicola seminale e nel dotto genitale, che dall'*ovotestis* si porta verso l'esterno della massa viscerale, per aprirsi nella cavità palleale in corrispondenza del lato destro, dove si separano il mesopodio ed il propodio. La gametogenesi appare in pieno svolgimento: gli ovociti hanno già superato il 2° periodo d'accrescimento e stanno cominciando ad accumulare il tuorlo. In particolare per ogni nido, solo un ovocito appare interessato

dall'accumulo di tuorlo, mentre gli altri ovociti che lo circondano, sono ad uno stadio di maturazione più arretrato. Se tali ovociti abbiano o meno una funzione di "cellule nutrici" dalle indagini fatte non è dato stabilirlo. La spermatogenesi procede con più stadi di maturazione osservabili contemporaneamente nella stessa sezione e addirittura nel medesimo tubulo: spermatogoni in mitosi, spermatociti I, con ancora il citoplasma evidente, spermatociti II, nei quali il citoplasma è ormai ridotto ad un velo attorno al nucleo, spermatidii, che incominciano a modificare la loro morfologia complessiva, spermi, di forma allungata e caratterizzati da un nucleo molto affusolato, a "cavatappi".

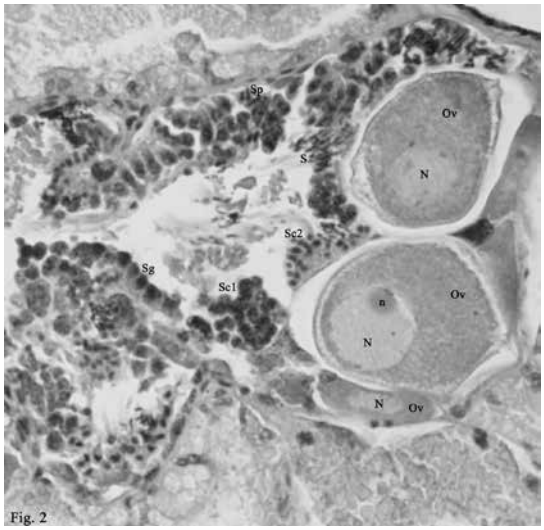


Fig. 2 – Particolare di una sezione di ovotestis. Ov, ovocito in vitellogenesi; N, nucleo; n, nucleolo; S, spermi; Sp, spermatidi; Sg, spermatogoni; Sc1, spermatociti I; Sc2, spermatociti II. 700×.
Detail of a section of the ovotestis. Ov, vitellogenetic oocyte; N, nucleus; n, nucleolus; S, sperm cells; Sp, spermatids; Sg, spermatogonia; Sc1, 1st spermatocytes, Sc2, 2nd spermatocytes. 700×.

Conclusioni

A. tricarinata è specie tipica della provincia Indo-Pacifica; è stata trovata in Thailandia su *Pinna bicolor* a una profondità di 8 metri (Tantanasiriwong, 1978), ad Hong Kong (Ponder, 1987) su *Pinna bicolor*, *Pteria penguin* e *Atrina vexillum*. Per il mar Rosso compare nella lista di Dekker e Orlin (2000). Il suo ritrovamento sui fondali libanesi costituisce la testimonianza della sua introduzione anche in Mediterraneo.

Un'importante incognita che accompagna ogni ritrovamento di specie esotica in Mediterraneo, è se essa sia riuscita ad adattarsi al nuovo habitat e se, eventualmente, abbia variato le sue abitudini in rapporto al diverso ambiente. Sotto questo punto di vista, lo studio della capacità riproduttiva è rilevante, giacché essa rappresenta un indizio del successo della specie nell'insediamento.

Dalle sezioni istologiche dell'esemplare esaminato, l'*ovotestis* appare in piena maturità sessuale e mostra presumibilmente il suo massimo volume. La specie sembra

essere un ermafrodita contemporaneo e lo stato più avanzato della spermatogenesi rispetto all'ovogenesi può essere attribuito o all'ermafroditismo insufficiente o alla giovane età dell'esemplare (come si deduce osservando la conchiglia dalla terza costola poco pronunciata), giacchè è noto che nei pyramidelloidei durante lo sviluppo gonadico le cellule germinali cominciano a differenziarsi prima in senso maschile e poi in senso femminile. La stagione riproduttiva dei pyramidelloidei nelle regioni tropicali inizia solitamente in primavera, mentre nelle regioni temperate comincia in estate. L'esemplare esaminato è stato pescato a giugno, il che conferma che almeno nel periodo caldo, la specie è in grado di riprodursi anche in Mediterraneo.

Bibliografia

CIESM (2000) – Atlas of Exotic Molluscs in the Mediterranean (check-list of exotic species). http: //www.ciesm.org.

DEKKER H., ORLIN Z. (2000) – Check-list of Red Sea Mollusca. *Spirula*, **47** (Suppl.): 1-46.

PONDER W.F. (1987) – The anatomy and relationships of the pyramidellacean limpet *Amathina tricarinata* (Mollusca: Gastropoda). *Asian marine Biology*, **4**: 1-33.

TANTANASIRIWONG R. (1978) – An illustrated checklist of marine shelled gastropods from Phuket island, western peninsular Thailand. *Phuket Marine Biological Centre. Research Bulletin*, **21**: 1-22.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 618-621

D. Scuderi, G.F. Russo*

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Catania, Via Androne, 81 - 95124 Catania, Italia.
*Istituto di Meteorologia ed Oceanografia, Università di Napoli "Parthenope", Napoli, Italia

DUE NUOVI GASTEROPODI PER LE ACQUE ITALIANE: *MELIBE FIMBRIATA* ALDER E HANCOCK, 1864 E *TRICOLIA TINGITANA* GOFAS, 1982 (MOLLUSCA: GASTROPODA)

TWO NEW GASTROPODS FOR THE ITALIAN WATERS: MELIBE FIMBRIATA *ALDER & HANCOCK, 1864 AND* TRICOLIA TINGITANA *GOFAS, 1982 (MOLLUSCA: GASTROPODA)*

Abstract

The nudibranch Melibe fimbriata *Alder & Hancock, 1864 is fastly expandin its distribution in the Mediterranean Sea and must be added to the increasing number of non indigenous species of molluscs found in the italian waters in the last years. The mediterranean endemic gastropod* Tricolia tingitana *Gofas, 1982, was exclusively reported for the coasts of southern Spain; however, on the basis of fossil records, revised old malacological collections and recent samples, this species seems to be present along the coasts of southern Italy since the Pleistocene.*

Key-words: Tricolia tingitana, Melibe fimbriata, *introduced species, marine molluscs, biogeography.*

Introduzione

Il ritrovamento di nuove specie di molluschi nelle acque italiane può essere dovuto a cause diverse. Gran parte delle specie, che con frequenza sempre maggiore in questi ultimi anni si sono aggiunte alla fauna dei nostri mari, sono non indigene del Mediterraneo, introdotte per l'allevamento a fini commerciali (ad es. *Tapes philippinarum*, *Crassostrea gigas*, *Saccostrea cucullata*), con il relativo ed involontario corredo di parassiti e predatori (ad es. *Rapana venosa*), o diffusesi in seguito all'immissione di larve, trasportate nelle acque di sentina da navi provenienti da paesi extra-mediterranei (ad es. *Anadara inaequivalvis*, *Brachidontes pharaonis*, *Cerithium scabridum*); altre ancora sono penetrate in Mediterraneo attraverso il canale di Suez ed hanno gradualmente ampliato il loro areale di distribuzione fino a raggiungere le coste italiane (specie lessepsiane come *Bursatella leachii*). Nel recentissimo *Atlante CIESM delle specie esotiche di Molluschi del Mediterraneo* (Zenetos *et al.,* 2003), sono state riportate ben 125 specie di molluschi (81 Gasteropodi, 43 Bivalvi ed 1 Poliplacoforo) e di queste solo 22 (11 Gasteropodi e 11 Bivalvi) sono state per ora segnalate nelle acque italiane (Relini, 2000). Come detto, la presenza di nuove specie nelle nostre acque può essere dovuta all'ampliamento degli areali biogeografici di specie indigene e non, ma anche al miglioramento delle conoscenze sugli areali di quelle criptiche. Difatti, delle due nuove specie segnalate nella presente nota, una (*M. fimbriata*) non è indigena ed ha ampliato rapidamente la sua distribuzione nel Mediterraneo, invece l'altra (*T. tingitana*) è addirittura endemica di questo mare e segnalata solo per un'area molto ristretta.

Materiali e metodi

Il materiale biologico è stato raccolto durante alcune campagne di studio dei popolamenti bentonici nella Riserva Marina "Isola Lachea e Faraglioni dei Ciclopi" (Cata-

nia) ed in località limitrofe. Alcuni esemplari di *M. fimbriata* e di *T. tingitana* sono stati mantenuti per alcuni mesi in acquario.

Risultati e conclusioni

Melibe fimbriata, Alder e Hancock, 1864.

Località: Pozzillo (CT), 2 esemplari, nell'agosto 2001; Acitrezza (CT), 2 esemplari, nel settembre 2001; Capo Molini (CT), 4 esemplari, 2 dei quali mentre deponevano ovature, nell'ottobre 2001.

A parte la segnalazione di Cattaneo Vietti *et al.* (1990) per la Tunisia, tutti i rinvenimenti precedenti di *M. fimbriata* riguardano le acque della Grecia (Thompson e Crampton, 1984; Moosleitner, 1986; Koutsoubas e Cinelli, 1996). Nella scheda dedicata a questo nudibranco nel citato Atlante della CIESM (Zenetos *et al.*, 2003) viene riportata la notizia ("Villani, pers. comm.") secondo la quale sarebbe frequente lungo le coste calabre. Per una esaustiva disamina sulle differenze morfologiche tra questa specie e quelle ad essa più simili (ad es. *Tethys fimbria*) si rimanda a Koutsoubas e Cinelli (1996). Nelle precedenti segnalazioni per il Mediterraneo la specie è stata sempre rinvenuta in siti riparati, a modesta profondità e su fondo molle, in praterie di zosteracee; tutti gli individui oggetto della presente nota sono stati ugualmente rinvenuti in siti riparati ed a modesta profondità (2-3m), ma su fondo duro. Thompson e Crampton (1984) forniscono utili informazioni sulla sua biologia in Mediterraneo; tuttavia, sembra poco probabile che questa specie si nutra principalmente di materiale in sospensione, come affermato da questi ultimi Autori, mentre è più probabile che preferisca predare piccoli crostacei bentonici, come riportato nell' Atlante della CIESM (Zenetos *et al.*, 2003) e come confermato dalle osservazioni in acquario sugli esemplari oggetto della presente nota. L'osservazione, in natura ed in acquario, di individui che deponevano le masse ovigere, con le modalità e le caratteristiche morfologiche descritte da Thompson e Crampton (1984), fa ritenere che la specie sia ben acclimatata e presente con popolazioni stabili lungo le nostre coste.

Tricolia tingitana, Gofas, 1982.

Località: S. Giovanni Li Cuti (CT), 15 esemplari, in lavaggio d'alghe da –1,5 m di prof., nel 1981; S. Giovanni Li Cuti (CT), 40 esemplari, in lavaggio d'alghe da –1,5 m di prof., nel 1994; "Cajto" (CT), 5 esemplari *ex pisce* (*Gobius* cfr. *paganellus*) da –2 m di prof., nel 1984; Acitrezza (CT), 221 esemplari, da campioni quantitativi (30×30 cm) su substrato roccioso ricoperto da alghe, a –2 e –8 m di prof., nel 2001; Capo Molini (CT), 23 esemplari su alghe, a –0,50 m di prof., nel 2001; Ganzirri (ME), 2 esemplari su alghe *ex retis*, nel 1990; Ravagnese (RC), 1 esemplare fossile in argille pleistoceniche, nel 2000.

T. tingitana è un prosobranco descritto solo venti anni fa per la località di Benzù (Stretto di Gibilterra) e per la Corsica (Gofas, 1982). Successivamente, lo stesso Autore (Gofas, 1993), sulla base di alcuni caratteri della conchiglia e delle parti molli, ha assegnato la popolazione corsa ad un'ulteriore nuova specie, *T. punctura*, segnalandola peraltro anche per la Sicilia. Tuttavia, dal materiale raccolto in alcuni recenti studi sulla malacofauna della riserva marina "Isola Lachea e Faraglioni dei Ciclopi" Russo *et al.,* (in stampa) e da un riesame critico del materiale raccolto negli ultimi venti anni circa da uno degli autori (D.S.) lungo il litorale catanese, risulta chiaramente che *T. tingitana*: a) era già presente lungo il litorale catanese prima della sua descrizione nel 1982; b) è stata rinvenuta nella stessa area anche negli anni successivi; c) è molto

abbondante nelle acque della riserva marina "Isola Lachea e Faraglioni dei Ciclopi" (Acitrezza, CT); d) è presente fino al litorale messinese. Quindi, *T. tingitana* sembrerebbe essere specie normalmente presente nelle acque italiane, sebbene è probabile sia stata fino ad oggi confusa con giovanili di specie più comuni, come ad es. *T. pullus* e *T. speciosa* (Figg. 8-9); ciò, peraltro, sembrerebbe confermato dal rinvenimento di un esemplare fossile (Fig. 7) in depositi pleistocenici della stessa area geografica (Reggio Calabria), significativo per la cronologia di questa specie dalla non facile determinazione. Quindi, come sottolineato dallo stesso Autore che la descrisse, è probabile che l'areale di distribuzione di *T. tingitana* in Mediterraneo sia molto più ampio di quello sino ad oggi conosciuto. Senza dubbio l'osservazione in acquario delle parti molli ha reso più agevole e sicura la determinazione, anche se è stato riscontrato un cromatismo verdastro e non violaceo, come riportato da Gofas (1993) (Fig. 6).

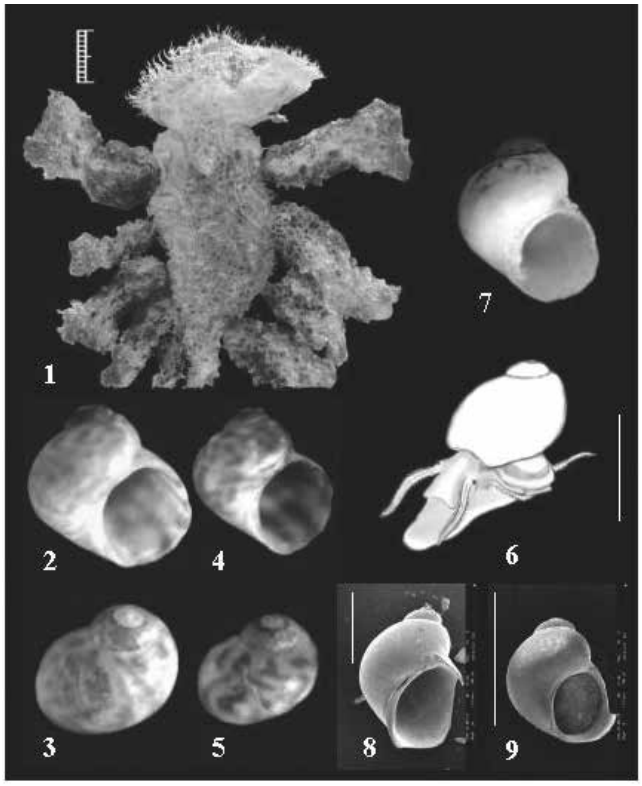


Fig. 1 – *Melibe fimbriata*, Capo Molini (CT); linea di scala 10 mm.
Melibe fimbriata, *Capo Molini (CT); scale bar 10 mm.*

Figg. 2-7 – *Tricolia tingitana* (linee di scala = 1 mm). 2-5 - Esemplari da S. Giovanni Li Cuti (CT). 6 - Disegno delle parti molli. 7 - Esemplare fossile da Ravagnese (RC).
Tricolia tingitana *(scale bars = 1 mm). 2-5 - Specimens from S. Giovanni Li Cuti (CT). 6 Drawing of soft parts. 7 - Fossil specimen from Ravagnese (RC).*

Fig. 8 – Giovanile di *T. speciosa*, da Vendicari (SR); linea di scala = 1 mm.
Juvenile of T. speciosa*, from Vendicari (SR); scale bar = 1 mm.*

Fig. 9 – Giovanile di *T. pullus*, da Vendicari (SR); linea di scala = 1 mm.
Juvenile of T. pullus*, from Vendicari (SR); scale bar = 1 mm.*

Ringraziamenti

Un sincero ringraziamento va al dott. M. Mariani (Acquario Civico di Milano) per aver reperito parte della bibliografia, al dott. E. Mollica e alla dott.ssa N. Di Pietro (Riserva Marina "Isola Lachea e Faraglioni dei Ciclopi") per le foto.

Bibliografia

CATTANEO-VIETTI R., CHEMELLO R., GIANNUZZI-SAVELLI R. (1990) – *Atlas of Mediterranean Nudibranchs*. Ed. La Conchiglia, Roma: 264 pp.

GOFAS S. (1982) – The genus *Tricolia* in the eastern Atlantic and the Mediterranean. *J. moll. stud.*, **48**: 182-213.

GOFAS S. (1993) – Notes on some Ibero-Maroccan and Mediterranean *Tricolia* (Gastropoda, Tricoliidae), with descriptions of new species. *J. moll. stud.*, **59**: 351-361.

KOUTSOUBAS D., CINELLI F. (1996) – Indo-pacific origin gastropod species in the Aegean sea. *Melibe fimbriata* Alder & Hancock, 1864 a new invader. *Boll. Malacologico*, **32** (1-4): 35-40.

MOOSLEITNER H. (1986) – Note on the occurrence of *Melibe* sp. (?) in the Mediterranean (Opisthobranchia: Fimbriidae). *La Conchiglia*, **18** (202-203): 20.

RELINI G. (2000) – Nuovi contributi per la conservazione della biodiversità marina in Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (3): 173-211.

RIZZO G.F., SCUDERI D., DI STEFANO F. (in stampa) - Il popolamento a molluschi di substrato duro dell'isola Lachea (area marina protetta "Isole Ciclopi", Catania). *Biol. Mar. Medit*., **11**.

THOMPSON T.E., CRAMPTON D.M. (1984) – Biology of *Melibe fimbriata*, a conspicuous opisthobranch mollusc of the Indian Ocean, which has now invaded the Mediterranean Sea. *J. moll. stud.*, **50**: 113-121.

ZENETOS A., GOFAS S., RUSSO G.F., TEMPLADO J. (2003) - *CIESM Atlas of Exotic Species of Molluscs in the Mediterranean Sea*. HTTP://WWW.CIESM.ORG/ATLAS.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 622-625

C. Solustri, E. Morello, C. Froglia

Istituto di Ricerche sulla Pesca Marittima – C.N.R., Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.

OSSERVAZIONI SU *ANADARA DEMIRI* (PIANI, 1981) (BIVALVIA: ARCIDAE) EPIBIONTE DI ALCUNE SPECIE DI MOLLUSCHI

OBSERVATIONS ON ANADARA DEMIRI *(PIANI, 1981) (BIVALVIA: ARCIDAE) EPIBIONT OF SOME MOLLUSCAN SPECIES*

Abstract

The ability of the bivalve Anadara demiri *(Piani, 1981) to attach itself onto molluscs of other species and on various hard substrata, by means of a byssus, was investigated. Samples of the commercial species* Chamelea gallina *and* Aporrhais pespelecani *revealed the presence of one or more individuals of* A. demiri *attached to 9% and 18% of specimens, respectively.*

Key-words: Anadara demiri*, Bivalvia, epibiosis, introduced species, Adriatic Sea.*

Introduzione

Il bivalve *Anadara demiri* (Piani, 1981) è un Arcidae originario dell'Indo-Pacifico che è stato rinvenuto nelle acque italiane nell'anno 2000 (Morello e Solustri, 2001) dopo aver fatto la sua comparsa in Mediterraneo orientale nel 1977 (Demir, 1977) e successivamente in Egeo (Zenetos, 1994). Questa specie sembra prediligere fondali fangosi e fango-sabbiosi, in cui può vivere infossata come la maggior parte dei bivalvi di fondo mobile ma, analogamente a molti altri arcidi, ha la capacità di produrre filamenti di bisso con il quale si fissa a vari tipi di substrato. Già nel secolo scorso Tiberi riportava la capacità dei giovani di *Anadara diluvii* (Lamarck, 1805) di vivere attaccati a substrati duri per mezzo del bisso (Gentiluomo, 1869). Più di recente, nelle specie congeneri *Anadara corbuloides* (Monterosato, 1876) e, in particolare, *Anadara inaequivalvis* (Bruguière, 1789), anch'essa di origine indo-pacifica e presente in Adriatico sin dal 1971 (Ghisotti, 1972), è stata documentata la capacità di produrre filamenti di bisso negli esemplari giovanili di taglia pari a 3 mm che, sovente, sono stati rinvenuti fissati alle valve degli esemplari adulti o a piccoli corpi presenti tra il fango o la sabbia (Rinaldi, 1973, 1977). Tuttavia, tale capacità sembrerebbe perdersi negli adulti che vengono, normalmente, rinvenuti liberi ed infossati nel sedimento. La capacità di fissarsi ad altri organismi può rappresentare per *A. demiri* un ulteriore sistema di dispersione e, considerando le dimensioni di *A. demiri* rispetto a quelle della specie ospite, essa può costituire per quest'ultima un impedimento meccanico ai normali movimenti, soprattutto per quanto riguarda le specie fossorie come, ad esempio, la vongola (*Chamelea gallina*). Pertanto, nel presente lavoro sono discussi i ritrovamenti di numerosi esemplari di *A. demiri* epibionti su altri molluschi.

Materiali e metodi

Nel corso di una serie di campionamenti effettuati in medio Adriatico con draga idraulica e rapido sono stati raccolti numerosi individui di *Anadara demiri* fissati a conchiglie di molluschi viventi e ad altri corpi solidi. Sono state identificate tutte le

specie oggetto di tale associazione e, per alcune di esse, sono state effettuate delle osservazioni in acquario sulla modalità con cui *A. demiri* vi si fissa. Inoltre, per le specie di interesse commerciale *Chamelea gallina* ed *Aporrhais pespelecani* è stata stimata la percentuale di individui della popolazione su cui era fissata *A. demiri* o su cui erano presenti evidenti tracce del suo bisso, costituito da un ganglio arrotondato e da tre filamenti di colore bruno chiaro appiattiti e iridescenti (Fig. 2, al centro). Le stazioni di campionamento di *C. gallina*, effettuate nel settembre 2001 con draga idraulica, sono elencate in Tab. 1, mentre la raccolta *di A. pespelecani* è stata effettuata per mezzo di rapido nel febbraio 2002 su fondali di –16 m in due stazioni ubicate al largo di Fano e Giulianova. La dimensione degli esemplari di queste tre specie è stata misurata (altezza della conchiglia per *A. pespelecani*, larghezza antero-posteriore per *A. demiri* e *C. gallina*) con un calibro (errore di misura ± 0.1 mm).

Tab. 1 – Elenco delle stazioni campionate nel settembre 2001 per valutare l'epibiosi di *A. demiri* su *C. gallina* con relativi range di taglia rilevati per l'ospite e l'epibionte. (N = numero di individui di *C. gallina* esaminati).
List of stations sampled in September 2001 to evaluate epibiosis of A. demiri *on* C. gallina, *including size ranges of host and epibiont (N = number of* C. gallina *specimens examined).*

PROF.	SIZE RANGE *C. gallina*	SIZE RANGE *A. demiri*	N	LOCALITA'	% di associazione
7m	14-32mm	13-19mm	102	Sud Foce Potenza	6.9
8m	9-30mm	13-22mm	619	Sud Foce Potenza	7.4
9m	12-26mm	12-20mm	200	Sud Foce Potenza	21.5
9m	15-27mm	13-20mm	78	Civitanova Marche	6.4
10m	17-30mm	14-29mm	60	Nord Foce Musone	26.6
10m	17-33mm	13-21mm	171	Montemarciano	4.7
10m	14-39mm	13-30mm	147	Falconara	4.8
10m	15-35mm	12-28mm	386	Senigallia	3.6
11m	14-20mm	16-27mm	70	Nord Foce Musone	7.1
11m	18-32mm	12-33mm	108	Marzocca	20.4

Risultati e conclusioni

Anadara demiri è stata rinvenuta come epibionte su un totale di 14 specie: 8 bivalvi, 5 gasteropodi e 1 polichete tubicolo (Tab. 2), oltre che su materiali di origine antropica presenti accidentalmente sui fondali (vecchie nasse, plastica, cordame, tessuti, ecc.).

Tab. 2 – Elenco delle specie su cui è stata rinvenuta epibionte *A. demiri*.
List of species upon which A. demiri *was found attached.*

BIVALVIA	**GASTROPODA**
Anadara inaequivalvis (Bruguière, 1789)	*Aporrhais pespelecani* (Linnaeus, 1758)
Mytilus galloprovincialis Lamarck, 1819	*Natica stercusmuscarum* (Gmelin, 1791)
Atrina fragilis (Pennant, 1777)	*Tonna galea* (Linnaeus, 1758)
Ostrea edulis Linnaeus, 1758	*Bolinus brandaris* (Linnaeus, 1758)
Acanthocardia aculeata (Linnaeus, 1758)	*Rapana venosa* (Valenciennes, 1846)
Acanthocardia paucicostata (Sowerby, 1834)	
Acanthocardia tuberculata (Linnaeus, 1758)	**POLYCHAETA**
Chamelea gallina (Linnaeus, 1758)	*Owenia fusiformis* Delle Chiaje, 1841

Dalle osservazioni svolte in acquario è emerso che *A. demiri* è capace di spostarsi sul fondo, spingendosi con il piede, e infossarsi nel sedimento (Fig. 1) o ancorarsi con il bisso se incontra un idoneo substrato duro (pareti dell'acquario o conchiglie; Fig. 2). Se il supporto è un organismo che si sposta a sua volta, *A. demiri* può separarsi dal vecchio bisso prodotto e fissarsi in posizione più funzionale, secernendo nuovo bisso; ciò determina sulla superficie esterna della conchiglia dell'ospite un evidente intreccio di bisso.

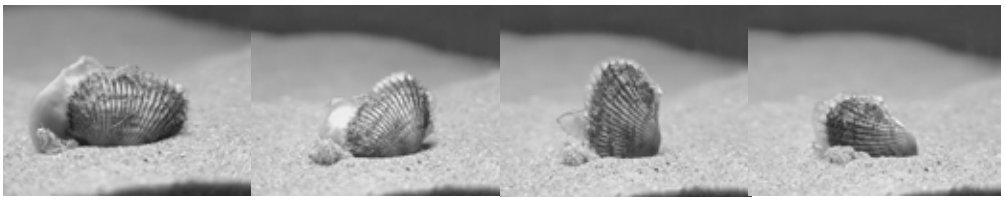


Fig. 1 – Sequenza di infossamento di *A. demiri* in acquario.
Re-burial of A. demiri *in aquarium.*

Fig. 2 – *A. demiri* come epibionte (da sinistra verso destra: su plastica, su *C. gallina*, su *A. tuberculata*).
A. demiri *as an epibiont (from the left: on plastic, on* C. gallina, *on* A. tuberculata).

Per le due specie commerciali, *Chamelea gallina* ed *Aporrhais pespelecani*, sono state ottenute le distribuzioni di taglia mantenendo separati gli individui su cui era fissata *A. demiri* o con evidenti tracce del suo bisso, da quelli non interessati da questa, né da altre, associazioni (Fig. 3; Tab. 1). Indipendentemente dalla profondità o dalla

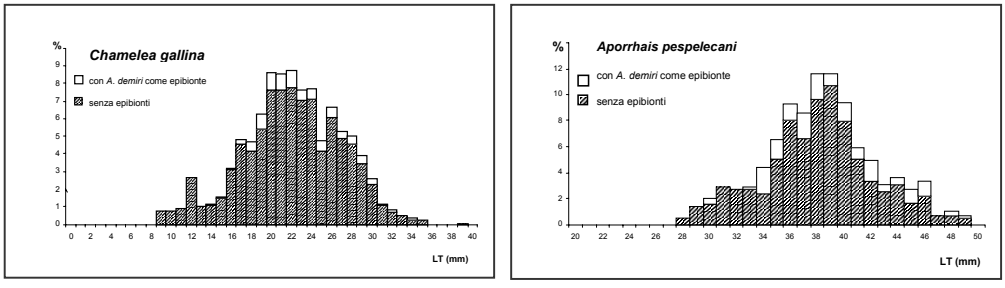


Fig. 3 – Distribuzione di taglia e percentuale di individui con e senza *A. demiri* come epibionte per *C. gallina* (a sinistra) ed *A. pespelecani* (a destra).
Length-frequency distributions of C. gallina *(left) and* A. pespelecani *(right) and percentage of organisms with and without* A. demiri *attached.*

zona di raccolta, la percentuale di individui di *C. gallina* oggetto di epibiosi da parte di *A. demiri* varia dal 3,6% al 26,6% e, sulle 1.941 vongole esaminate in totale, il 9% è risultato oggetto di epibiosi da parte di *A. demiri*; la più piccola *C. gallina* su cui è stata osservata *A. demiri* fissata misurava 9 mm.

Nel caso di *A. pespelecani* l'epibiosi è stata osservata nel 18% degli individui esaminati (1.112, di cui 396 per la stazione al largo di Fano e 716 al largo di Giulianova; Fig. 3).

Ringraziamenti

Gli Autori desiderano ringraziare il Dr. Raffaele Gattelli per l'aiuto prestato durante i campionamenti e per la documentazione fotografica e il Sig. Bruno Antolini per aver messo a disposizione la sua esperienza durante i campionamenti in mare.

Bibliografia

DEMIR M. (1977) - On the presence of *Arca (Scapharca) amygdalum* Philippi, 1847 (Mollusca: Bivalvia) in the harbour of Izmir, Turkey. *Instanbul Univ. Fen Fak. Mec.,* (B) **42**: 197-202.

GENTILUOMO C. (1869) - Articles de conchyliologie mediterranéenne par le D. N. Tiberi. *Bullettino Malacologico Italiano,* **2** (5): 206-208.

GHISOTTI F. (1972) - Rinvenimenti malacologici nel Mediterraneo. *Conchiglie,* **8**: 20-21.

MORELLO E., SOLUSTRI C. (2001) - First record of *Anadara demiri* (Piani, 1981) (Bivalvia: Arcidae) in Italian waters. *Bollettino Malacologico,* **37** (9-12): 231-234.

RINALDI E. (1973) - Presenza di bisso in *Scapharca* cfr. *cornea* (Reeve). *Conchiglie,* **9**: 211-212.

RINALDI E. (1977) - Primi stadi di sviluppo di *Scapharca inaequivalvis* (Bruguière). *Conchiglie,* **13**: 199-202.

ZENETOS A. (1994) - *Scapharca demiri* (Piani, 1981): primo ritrovamento nel Nord Egeo. *La Conchiglia,* **247**: 37-38.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 626-630

S. Agnesi, M. Manca Zeichen, L. Mariani, M. Mori*, L. Tunesi

ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*Dip.Te.Ris., Università di Genova, Genova, Italia.

SETTLEMENT VARIABILITY OF *DIPLODUS* SPP. POST-LARVAE RELATED TO SEA SURFACE TEMPERATURE WITHIN THE PORTOFINO MARINE PROTECTED AREA (LIGURIAN SEA): USE OF TEMPORAL SERIES

VARIABILITA' DELL'INSEDIAMENTO DELLE POST-LARVE DI DIPLODUS *SPP. IN RELAZIONE ALLE TEMPERATURE SUPERFICIALI NELL'AREA MARINA PROTETTA DI PORTOFINO (MAR LIGURE): UTILIZZO DI SERIE STORICHE*

Abstract

*The present study shows the results of an eight year research programme on the juvenile settlement of three species of sea breams (*Diplodus puntazzo, Diplodus sargus, Diplodus vulgaris*) in the Portofino Marine Protected Area. The obtained results confirm the studied species' fidelity to their settlement period throughout the year, and highlight the role of Sea Surface Temperature in timing the settlement of* D. vulgaris.

Key-words*:* Diplodus *spp., larval settlement, surface temperature, marine reserves, Ligurian Sea.*

Introduction

The effect of sea surface temperature (SST) on fish biological processes is largely known to affect several aspects such as productivity rate (Daskalov & Prodanov, 1998), population dynamics (Noto & Yasuda, 1999; Daskalov, 1999), reproductive period (Stegman & Yoder, 1996), growth rate (Pepin, 1991) and survival rate (Azumaya *et al.*, 1998; Cole, 2000). However, the relationship between SST and juvenile settlement is addressed by a limited number of papers (Cole, 1999; Shafer, 1999), very few of which concern Sparidae settlement (Tunesi *et al.*, 1996). Following the definition of Gibson (1994) and Levin (1994), 'settlement' corresponds to the 'arrival of new individuals' from the pelagic into the benthic habitats. Information about juvenile settlement is useful to identify conservation and management measures for coastal fish species in order to formulate indications useful in regulating coastal fishing practices and thus favouring fishery production.

During the years 1993-2000, the Central Institute for Applied Marine Research (ICRAM) investigated the bentho-nectonic settlement of three species of sea breams (*Diplodus puntazzo* L., 1758, *Diplodus sargus* L., 1758, *Diplodus vulgaris* G. St. Hilaire, 1817). The present study focuses on the eventual relationship between the inter-annual variability of *Diplodus* spp. juvenile settlement and sea surface temperature (SST) within the Portofino Marine Protected Area (MPA).

Materials and methods

The study of the fish fauna was conducted in the coastal waters of Paraggi (44°18' N, 9°12' E) on the eastern side of the Italian national MPA of Portofino Promontory, a

noticeable nursery area for coastal fish (Macpherson *et al.*, 1997; Tunesi *et al.*, 1996; Tunesi *et al.*, 1997; Vigliola *et al.*, 1998).

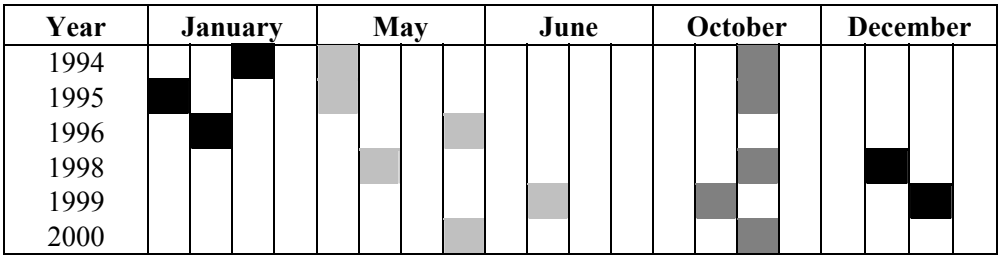
The study of *Diplodus* spp. juvenile settlement was carried out using underwater visual census techniques (Harmelin-Vivien *et al.*, 1985). Two different cycles of sampling activities were conducted from 26/11/1993 to 28/06/1996 and from 15/05/1998 to 28/10/2000. Field activities were conducted weekly in very shallow coastal waters (0-3 m depth). The meteorological conditions and sea surface temperature (depth = 50 cm, 1 °C accuracy) were recorded for each sample activity (Tunesi *et al.*, 1996).

The minimum and maximum values of SST for each year considered were examined, extrapolated and the mean and standard deviation (SD) were calculated considering the whole data set. The SST values collected during the sampling activities were plotted for each year and related to the date of settlement for each considered species considered. In order to evaluate the probable optimum settlement SST range for *D. vulgaris*, a linear regression analysis was performed on the descending part of SST curve, from October, after the calm period (Morri *et al.*, 1986), until the settlement date. Data concerning the year 1993 were not taken into account in the mentioned analysis due to the fact that the sampling campaigns started at the end of the year. The estimated slope values (b) were analysed in pairs using the Student's Test (T) for both tails (Sokal & Rohlf, 2000). *D. sargus* settlement was investigated analysing the ascending part of the SST curve, from the lowest SST value registered until the settlement date. In these cases a test for equality of slopes of several regression lines was applied (Sokal & Rohlf, 2000).

Results

The three species studied during the temporal period in question, settled in three different periods of the year, and a slight infra-annual variability was observed for each species within the years considered (Tab. 1). Post-larvae arrivals of the species are spread throughout the year. In particular, *D. sargus* settlement occurred in May/June, whereas *D. puntazzo* and *D. vulgaris* settlement took place respectively during October and December/January.

Tab. 1 – Settlement week for the three species considered. Black: *D. vulgaris*; Light grey: *D. sargus*; Dark grey: *D. puntazzo*.
Periodo di insediamento riportato in settimane per le tre specie considerate. Nero: D. vulgaris*; Grigio chiaro:* D. sargus*; Grigio scuro:* D. puntazzo.



Surface temperatures within the study period have oscillated between 11 and 27 °C (Tab. 2). Maximum and minimum SST values were respectively recorded during August and January except for the year 2000 (minimum in February). Years which have been investigated from January to December have shown a similar mean.

Tab. 2 – Minimum, maximum, mean and SD SST values for the years investigated.
Valori minimi, massimi, media e DS della temperatura superficiale per gli anni investigati.

	Years						
SST	1993	1994	1995	1996	1998	1999	2000
Max	16.0	27.0	26.0	24.0	25.0	25.0	26.0
Min	12.0	12.0	11.0	12.0	14.0	13.0	11.0
Mean	14.5	18.2	18.1	16.0	20.2	18.3	18.8
SD	1.9	4.9	4.6	4.4	4.0	4.4	5.5
N. obs.	4	37	40	16	19	25	22

The preliminary analysis of the temporal series has allowed to highlight the settlement of the three species considered within the following SST intervals: *D. sargus* between 17 and 22 °C (Mean 19.33 °C; SD 2.01 °C), *D. puntazzo* between 18.5 and –22 °C (Mean 20 °C; SD 1.37 °C) and *D. vulgaris* between 12 and –14.5 °C (Mean 13.10 °C; SD 0.89 °C) (Fig. 1).

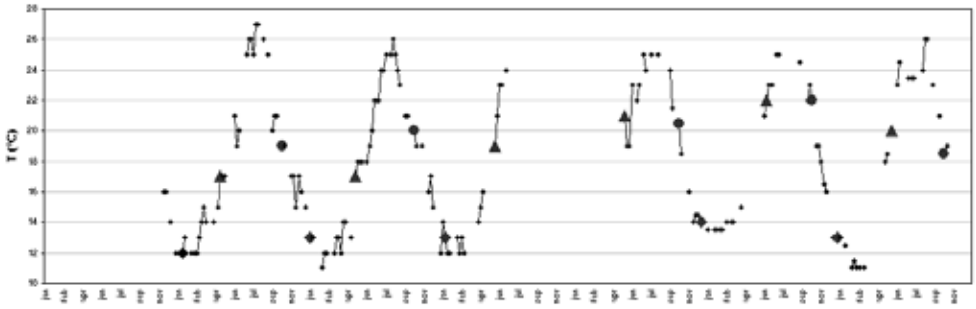


Fig. 1 – SST curve within the years considered. Rhomb, triangle and circle highlight respectively the settlement date of *D. vulgaris*, *D. sargus* and *D. puntazzo*.
Curva delle temperature superficiali negli anni considerati. Il rombo, il triangolo ed il cerchio evidenziano rispettivamente l'insediamento di D. vulgaris*,* D. sargus *e* D. puntazzo*.*

Regression curves highlight the relationship between SST and the time of settlement. Tab. 3 shows the slope (*b*) and the regression lines equations and R^2 values extrapolated from the descending part of the SST curve. Slope values obtained for years 1994 and 1995 are lower than those calculated for the years 1998 and 1999. Comparisons among b values are significant for b1 vs b4 $T(15)=3.81$ ($p<0.01$), b1 vs b3 $T(12)=2.074$ ($p=0.054$) and b2 vs b4 $T(15)=3.01$ ($p<0.01$).

Equations calculated for the ascending part of the SST show similar *b* values (Tab. 3). The statistical test applied confirms that the data were sampled from populations of equal slopes ($F_s = 4.74 < F_{.001}$ [4,44] since $F_{.001}$ [4,60] = 5.31).

Tab. 3 – Regression lines equations and R^2 values calculated for the years investigated extrapolated from the descending and ascending SST curve.
Equazioni delle rette di regressione e valori di R^2 calcolati per gli anni investigati estrapolati per i tratti discendenti e ascendenti dalle curve di temperature superficiali.

Curve		Years	Regression Lines	R^2
Descending	1	1994	y = -0.4969x + 24.901	0.90
	2	1995	y = -0.5556x + 25.944	0.92
	3	1998	y = -0.7625x + 28.025	0.90
	4	1999	y = -0.8249x + 30.363	0.96
Ascending	5	1994	y = 0.2645x + 10.842	0.77
	6	1995	y = 0.2918x + 9.286	0.66
	7	1996	y = 0.3169x + 10.156	0.83
	8	1999	y = 0.3563x + 11.308	0.86
	9	2000	y = 0.5629x + 6.6121	0.95

Conclusions

Temporal series confirm the studied species fidelity to their settlement period along during the year (Tunesi *et al.*, 1996; Vigliola *et al.*, 1998).

The SST seems to play a key role in timing the settlement mainly for *D. vulgaris*. In the study area this species seems to be influenced by the speed rate (*b* value) of achievement of the optimal SST. In fact settlement was registered in January ($b \sim 0.5$) during the years 1994 and 1995 and in December ($b \sim 0.7/0.8$) during the years 1998 and 1999. Moreover the registered SD of settlement SST resulted to be the lowest. On the contrary *D. puntazzo* and *D. sargus* arrivals seem not to be affected by an optimal SST range. The first species settles in a very narrow time interval (from 13 to 20 October) during which SST values vary remarkably due to the mixing regimes typical of this period. Sea storms are in fact frequent during November-December and March-April whereas calm periods are observed between May and September (Morri *et al.*, 1986). *D. sargus* settlement shows the highest SST range and relative SD, a wide time interval of arrival and a similar SST trend. In conclusion, different factors, such as biophysical and other meteorological conditions, should be taken into account to understand the *D. puntazzo* and *D. sargus* settlement process.

References

AZUMAYA T., ISHIDA Y., UENO Y., WAKABAYASHI K. (1998) - Long term and spatial correlations between survival rates of pink salmon (*Onchorhynchus gorbuscha*) and sea surface temperatures in the North-Pacific Ocean. *Tech. Rep. North Pac. Anadr.Fish. Comm.*: 16-17.

COLE J. (1999) - Environmental conditions, satellite imagery, and clupeid recruitment in the northern

Benguela Upwelling system. *Fisheries Oceanography*, **8** (1): 25-38.
COLE J. (2000) - Coastal sea surface temperature and coho salmon production off the north-west United States. *Fisheries Oceanography*, **9** (1): 1-16.
DASKALOV G. (1999) - Relating fishing recruitment to stock biomass and physical environment in the Black Sea using generalized addictive models. *Fishery Research*, **41** (1): 1-23.
DASKALOV G., PRODANOV K (1998) - Marine environmental conditions and fishery productivity in the Black Sea. In: Durand MH, Cury P., Mandelsshon R., Roy C., Bakun A., Pauly D. (eds), *Global versus local changes in upwelling systems international conference under the auspice of the Climate and Eastern Ocean Systems Project CEOS*.. ORSTOM, Paris-France: 249-265.
GIBSON R.N. (1994) - Impact of habitat quality and quantity on the recruitment of juvenile flatfishes. *Neth. J. Sea Res*, **32**: 191-206.
HARMELIN-VIVIEN M.L., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABE G., BLANC F., CHEVALIER R. (1985) - The underwater observation of fish communities and fish populations: Methods and problems. *Rev. Ecol. Terre Vie*, **40**: 467-540.
LEVIN P.S. (1994) - Fine-scale temporal variation in recruitment of a temperate demersal fish: the importance of settlement versus post-settlement loss. *Oecologia,* **97**: 124-133.
MACPHERSON E., BIAGI F., FRANCOUR P., GARCIA-RUBIES A., HARMELIN J.-G., HARMELIN-VIVIEN L., JOUVENEL J.Y., PLANES S., VIGLIOLA L., TUNESI L. (1997) - Mortality of juveniles fishes of the genus Diplodus in protected and unprotected areas in the western Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Progr. Series*, **160**: 135-147.
MORRI C., BIANCHI C.N., DAMIANI V., PEIRANO A., ROMEO G., TUNESI L. (1986) - The marine environment between Punta della Chiappa and Sestri Levante (Ligurian Sea): ecotipological outline and proposal of a biocenotic map. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **52** (Suppl.): 213-231.
NOTO M., AND YASUDA I. (1999) - Population decline of japanese sardine *Sardinops melanostictus* in relation to sea surface temperature in the Kuroshio Extension. *Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat. Sci*., **56** (6): 973-983.
PEPIN P. (1991) - Effects of temperature and size on development mortality and survival rate of pelagic early life history stages of marine fish. *Can. J. Fish. Aq. Sci*., **48**: 503-551.
SOKAL R.R., ROHLF F.J. (2000) - *Biometry: The Priciples and Practice of Statistics in Biological Research*. - 3d Ed. W.H. Freeman and Company, New York: 850 pp.
SHAFER D.J. (1999) - Early life history, growth and settlement dynamics of a tropical reef fish. *Diss. Abst. Int. Pt. B Sci. and Eng*., **59** (12): 61-69.
STEGMANN P.M., YODER J.A. (1996) - Variability of sea- surface temperature in the South Atlantic Bight as observed from satellite: implications for offshore-spawning fish. *Cont. Shelf Res*., **16** (7): 843-861.
TUNESI L., VACCHI M., MORI M. (1996) - Osservazioni sugli stadi giovanili del genere *Diplodus* nelle acque del Golfo Tigullio (Mar Ligure). *Atti Xi Congr. A.I.O.L. (Sorrento, 26-28 ottobre 1994)-Genova*: 213-224.
TUNESI L., MARIANI L., MORI M. (1997) - Insediamento di stadi giovanili di specie ittiche nelle acque costiere del Golfo Tigullio (Mar Ligure). *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 282-290.
VIGLIOLA L., HARMELIN-VIVIEN L., BIAGI F., GALZIN R., GARCIA-RUBIES A., HARMELIN J.G., JOUVENEL J.Y., LE DIREACH-BOURSIER L., MACPHERSON E., TUNESI L. (1998) - Spatial and temporal patterns of settlement among sparid fishes in the northwestern Mediterranean. *Mar. Ecol. Progr. Series*, **168**: 45-56.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 631-635

F. Azzaro, F. Decembrini, F. Raffa, S. Greco*

IAMC, Istituto Ambiente Marino Costiero-Talassografico-CNR, Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.
*ICRAM, Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare, Roma, Italia.

CARATTERISTICHE IDROBIOLOGICHE DELLO STRATO EUFOTICO NEL TIRRENO SUD ORIENTALE: PRIMAVERA 2001

HYDROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE EUPHOTIC LAYER IN THE SOUTH-WESTERN TYRRHENIAN SEA: SPRING 2001

Abstract

Hydrobiological characteristics of Eolian Archipelago and surrounding basins were studied in 0-200 m layer. Thermohaline vertical structure showed the presence of three different water masses: Tyrrhenian Surface Water (TSW); Atlantic Water (AW); Tyrrhenian Intermediate Water (TIW).

Chlorophyll a *distribution appears quite independent from thermohaline properties of the water, but controlled by correct equilibrium among quantity of light and nutrients availability.*

Key-words: *hydrology, nutrients, chlorophyll* a.

Introduzione

In questo lavoro sono presentati i risultati preliminari della campagna oceanografica eseguita nel Tirreno Sud Orientale, nell'ambito del programma multidisciplinare F.A.D.'s (Fishing Aggregating Devices) finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole.

Nello strato eufotico delle acque circostanti le Isole Eolie e nei bacini limitrofi di Cefalù e Gioia sono state esaminate le distribuzioni verticali dei nutrienti (NH_4, NO_2, NO_3, PO_4), della fluorescenza e della clorofilla *a* in rapporto alle caratteristiche idrologiche. Il Tirreno Sud Orientale è un'area tipicamente oligotrofica e poco studiata dal punto di vista chimico e biologico (Magazzù *et al*., 1975; De Domenico, 1979; Carrada *et al*., 1992; Povero *et al.,* 1998).

Materiali e metodi

I rilevamenti sono stati effettuati con la MN/R Thetis dal 21 al 25 maggio 2001, nell'area compresa tra l'Arcipelago delle Eolie ed i Bacini di Gioia e di Cefalù (Fig. 1).

Nelle 24 stazioni esaminate, la misura dei parametri fisico-chimici è stata effettuata utilizzando una sonda multiparametrico SBE911 *plus* della Sea Bird Electronics, corredato da un fluorimetro Seatech/Wetlabs FLF.

Nelle stazioni antistanti C.o Rasocolmo (R1, R2, R3), C.o d'Orlando (O1, O2, O3) e le Isole Eolie (E1, E2, E3, E4), sono stati effettuati campionamenti d'acqua, utilizzando una "rosette" della General Oceanics munita di bottiglie idrologiche tipo Niskin da 10 litri. Le quote di campionamento sono state prevalentemente: 0, 5, 10, 25, 50, 75-80, 100, 150 e 200 m.

I campioni d'acqua sono stati prefiltrati su retini di nylon di maglia 200 µm e quindi filtrati su membrane Whatman GF/F per la determinazione di nutrienti (ammoniaca, nitriti, nitrati, ortofosfati) e clorofilla *a*. Le analisi degli ortofosfati, nitriti e nitrati sono state effettuate secondo le metodiche descritte da Strickland e Parsons (1972), mentre

l'ammoniaca è stata analizzata secondo il metodo di Aminot e Chaussepied (1983). La concentrazione di clorofilla *a* ed i pigmenti degradati sono stati determinati per via spettrofluorimetrica su estratto acetonico al 90% (Lazzara *et al*., 1990).

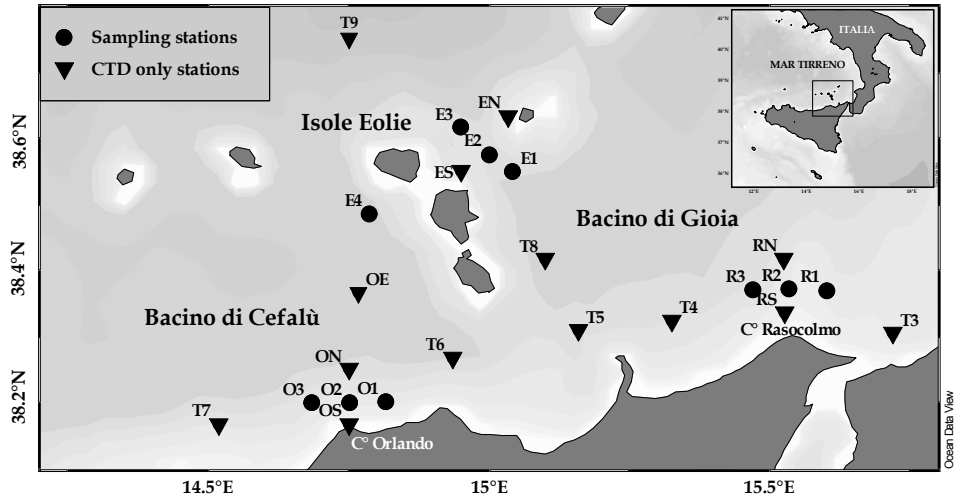


Fig. 1 - Ubicazione delle stazioni.
Locations of the stations.

Risultati

L'analisi del diagramma temperatura-salinità (Fig. 2), nello strato compreso tra la superficie e 200 m, ha evidenziato caratteristiche simili in tutta la zona indagata e tipiche del Tirreno Sud Orientale in primavera.

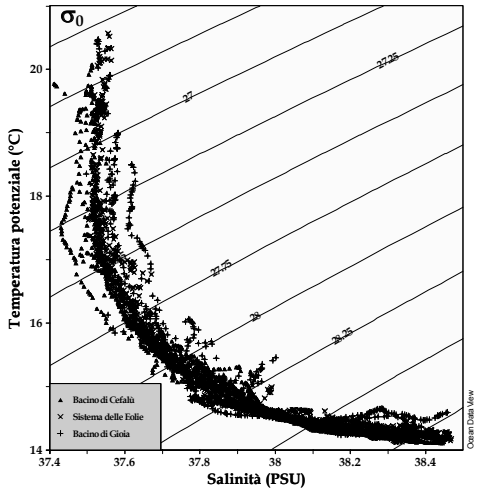


Fig. 2 – Diagramma temperatura-salinità di tutte le stazioni.
Temperature-Salinity diagrams of all stations.

La struttura temoalina dell'area presenta, nello strato superficiale (0-10 m), valori compresi tra 18.5-20.5 °C e 37.5-37.6 PSU e caratterizza l'acqua tirrenica superficiale (TSW) derivata dalle modificazioni dell'acqua atlantica. Nel Bacino di Cefalù e nell'area delle Eolie, tra 10 e 50 m, si colloca l'acqua atlantica (AW, 16 °C e 37.8 PSU) e nello stesso strato si evidenzia il termoclino. Al di sotto dei 50 m fino ai 200 m è presente l'acqua tirrenica intermedia (TIW), con temperatura e salinità che raggiungono i valori di 14.2 °C e 38.3 PSU (Innamorati *et al*., 1996). Il Bacino di Gioia, a differenza delle altre aree, è influenzato dalle correnti dello Stretto di Messina che provocano un innalzamento dell'aloclino e la TIW presente già a 20 m si estende fino alla quota di 200 m.

La distribuzione dei nutrienti lungo la colonna d'acqua nelle aree studiate è molto simile. In particolare i valori dell'azoto nitrico hanno mostrato (Fig. 3) un incremento graduale verso il fondo, con valori in superficie di 0.10 µM, a 100 metri 0.8 µM e a 200 metri circa 3.50 µM. Nella stazione O1 a 200 metri si è riscontrata la massima concentrazione di nitrati (4.19 µM). L'azoto nitroso ha valori medi di 0.12±0.06 µM con concentrazioni che sono comprese tra circa lo zero in superficie e massime alle quote comprese tra 75 e 100 metri. L'ammoniaca ha presentato valori bassi su tutta l'area (0.13±0.13 µM), tranne che nella stazione O2 a 5 metri dove è stato rilevato il massimo di 0.91 µM. Dall'analisi dei dati degli ortofosfati non si evidenzia un gradiente di distribuzione, ma incrementi puntuali, con concentrazioni medie di 0.27±0.12 µM.

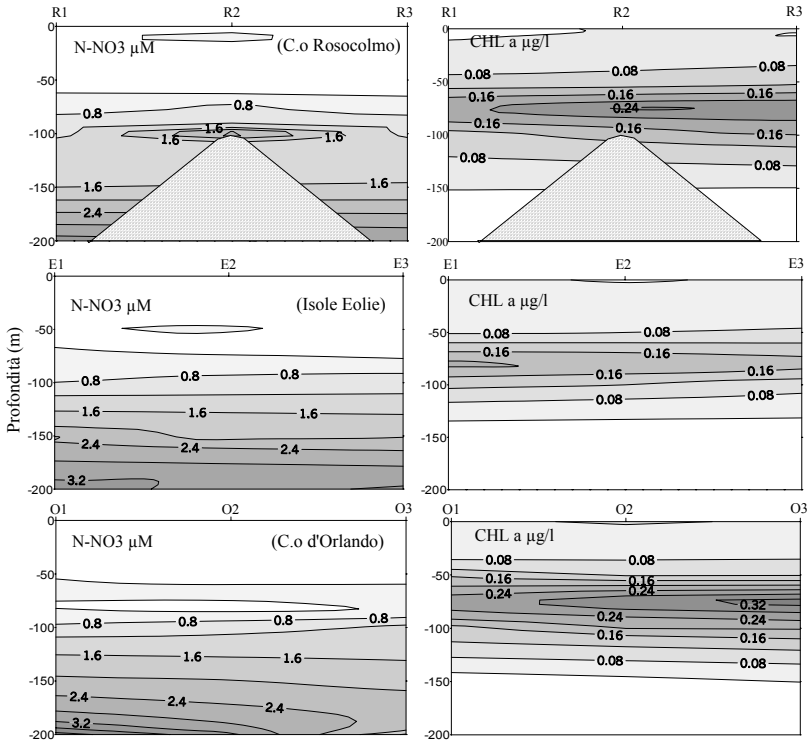


Fig. 3 – Distribuzione spaziale dei nitrati e clorofilla *a* nelle stazioni R1-2-3, E1-2-3, O1-2-3.
Spatial distribution of nitrates and chlorophyll a. *in the stations R1-2-3, E1-2-3, O1-2-3.*

La biomassa fitoplanctonica nell'area studiata è risultata bassa con una concentrazione media di clorofilla *a* di 0,1 ± 0,07 µg-Chla/l tipica di acque oligotrofiche del Mar Tirreno (Della Croce, 2000). I massimi valori di fluorescenza (Figg. 3-4) sono stati riscontrati alle quote 75–80 metri in corrispondenza degli addensamenti fitoplanctonici riportati da altri autori (Innamorati *et al*., 1996). Il confronto tra i bacini studiati evidenzia, nello strato fotico (0-100 m), biomasse più consistenti nella zona di Capo d'Orlando con il massimo di 35,6 mg-Chla/m^2 nella stazione O2 (Bacino di Cefalù). Al contrario nell'area delle Isole Eolie sono stati determinati i valori di clorofilla integrata più bassi (31,1 mg/m^2) e precisamente nella stazione E3, posta più a largo.

Gli andamenti verticali di fluorescenza (Fig. 4) mostrano, in generale, più basse densità fitoplanctoniche nello strato 0-50 metri, in rapporto al deplemento di sali nutritivi ed ai più elevati valori d'irradianza, il DCM (massimo di clorofilla profondo) è compreso fra 60 ed 80 metri dove s'individua il massimo di 0,34 µg/l (Staz. O3). Nello strato più profondo la concentrazione dei pigmenti degradati è alta in rapporto a quella della clorofilla *a* attiva indicando così il passaggio alla zona disfotica.

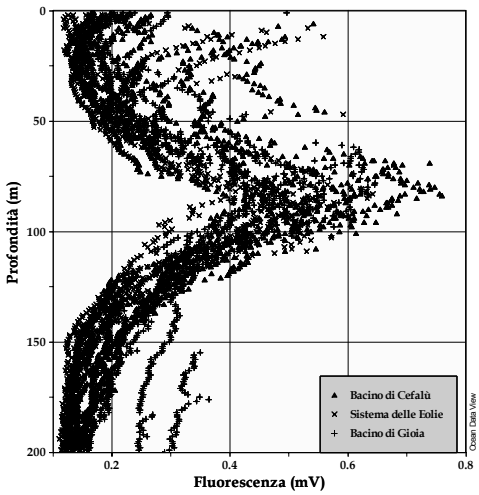


Fig. 4 – Distribuzione verticale della fluorescenza di tutte le stazioni.
Vertical distribution of fluorescence of all stations.

Conclusioni

Dai risultati ottenuti è possibile evidenziare nello strato superficiale di 200 m dell'Arcipelago delle Eolie e dei Bacini di Cefalù e Gioia, la presenza di tre distinte masse d'acqua quali la TSW, la AW e la TIW.

Le strutture termoaline verticali nel Bacino di Cefalù e nel Sistema delle Eolie, durante il periodo primaverile, sono molto simili e si differenziano dal Bacino di Gioia dall'altezza dell'aloclino.

La distribuzione della biomassa fitoplanctonica sia orizzontale che lungo la colonna d'acqua nel tirreno meridionale non sembra essere correlato alle variazioni delle caratteristiche idrologiche, ma all'equilibrio tra la quantità di luce e la disponibilità di sali nutritivi (Azzaro *et al.,* 1998) e soprattutto e alla presenza dell'azoto nitrico.

Bibliografia

AMINOT A., CHAUSSEPIED M. (1983) - Manuel des analyses chimiques en milieu marin. *Centre National pour l'Exploration des Oceans*: 1-395.

AZZARO F., LEONARDI M. MAZZOLA S. (1998) – Osservazioni sull'ecosistema Canale di Sicilia: nutrienti, particellato organico e clorofilla *a*. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (1): 606-610.

CARRADA G.C., RIBERA D'ALCALÀ M., SAGGIOMO V. (1992) – The pelagic system of the southern Tyrrhenian Sea. Some comments and working hypotheses. *Atti 9° Congr. A.I.O.L.:* 151-166.

DE DOMENICO E. (1979) – Le acque costiere della Sicilia e della Calabria. "Atti Convegno sull'Eutrofizzazione in Italia". Roma 1978. *Pubbl.P.F. CNR* Ambiente, AC/2/60: 257-267.

DELLA CROCE N. (2000) – Il Mar Tirreno. *Atti 13° Congr. A.I.O.L.:* 363-378.

INNAMORATI M., MASSI L., NUCCIO C. (1996) – Indipendenza delle cenosi fitoplanctoniche dalle masse d'acqua circostanti le isole Eolie. *Atti 11° Congr. A.I.O.L.:* 645-654.

LAZZARA L., BIANCHI F., FALCUCCI M., HULL V., MODIGH M., RIBERA D'ALCALA' M. (1990) - Pigmenti clorofilliani. *Nova Thalassia*, **11**: 207-223.

MAGAZZU'G., ANDREOLI C., MUNAÒ' F. (1975) – Ciclo annuale del fitoplancton e della produzione primaria del Basso Tirreno (1969-1970). *Mem. Biol. Mar. Ocean*., **5** (2): 25-49.

POVERO P., MISIC C., ACCONERO A., FABIANO M. (1998) – Distribuzione e caratterizzazione biochimica della sostanza organica particellata nelle acque del tirreno Sud Orientale. *Atti 12° Cong. A.I.O.L.*: 227-237.

SCHLITZER R. (2001) - Ocean Data View V5.4, 2001 Alfred Wegener Institute.

STRICKLAND J.F.H., PARSON T.R. (1972) - A pratical handbook of seawater analisys. *Bull. Fish. Res. Ed. Can*., **167**: 1-311.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 636-639

E. Baraldi, M. Mauri, R. Simonini

Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia,
Via Campi, 213/D – 41100 Modena, Italia.

EFFETTI DI ZINCO SU TRE GENERAZIONI DI *DINOPHILUS GYROCILIATUS* (POLYCHAETA): UN APPROCCIO DEMOGRAFICO

EFFECTS OF ZINC ON DEMOGRAPHY OF THREE GENERATIONS OF DINOPHILUS GYROCILIATUS *(POLYCHAETA)*

Abstract

The effects of zinc on life history and demography of Dinophilus gyrociliatus *(Polychaeta) were studied. The life tables of three successive generations (P, F_1, F_2) were derived from a control cohort and a treated cohort kept in artificial seawater enriched with 1.0 μg Zn/ml. Zinc affected survival and fecundity of the three successive generations with different modality and intensity, determining a generalised reduction of all demographic indices and different demographic responses among generations.*

Key-words*:* Dinophilus gyrociliatus*, zinc, life history, population dynamics, ecotoxicology.*

Introduzione

Dinophilus gyrociliatus (Polychaeta: Dinophilidae) è un polichete interstiziale che vive negli ambienti portuali e salmastri. Questa specie è considerata una buona candidata per test ecotossicologici in laboratorio a causa della piccola taglia, del breve ciclo biologico e della sensibilità a diversi tipi di inquinanti (Reish e Gerlinger, 1997; Mauri *et al*., 2002). Gli effetti dello zinco sulle caratteristiche delle life history e sulla demografia di questa specie sono stati studiati tramite "life table response experiments" (Caswell, 2000) in un una coorte esposta a 1.0 μg Zn/ml e in una coorte di controllo per tre generazioni successive (P, F_1, F_2). E' stato così possibile: a) studiare gli effetti a lungo termine dello zinco su diversi parametri della life-history e sulla demografia di *D. gyrociliatus*; b) valutare se le risposte variano nelle generazioni successive.

Materiali e metodi

Gli esperimenti sono stati effettuati utilizzando coorti di *Dinophilus gyrociliatus* della stessa età provenienti da un allevamento di laboratorio. Dettagli relativi all'allevamento in laboratorio e al ciclo biologico sono riportati in Prevedelli e Zunarelli Vandini (1999) e in Mauri *et al.* (2002). Ogni coorte sperimentale era costituita da 35 individui distribuiti in 7 replicati. Sono state considerate tre generazioni successive mantenute ad una concentrazione di 1.0 μg Zn/ml. Il livello di metallo sperimentale era più basso di quello in grado di provocare effetti letali identificato da precedenti esperimenti a breve termine. Per ogni gruppo trattato è stata allestita una coorte di controllo. I valori della sopravvivenza e della fecondità età specifiche riferiti a ciascuna coorte sono stati utilizzati per costruire modelli di popolazione classificati per età (con un periodo di proiezione di due giorni, a partire dallo stadio di zigote) per calcolare i principali indici demografici: aspettativa di vita e^0, tasso netto di accrescimento R_0, tempo di generazione *T,* tasso di crescita della popolazione λ.

Risultati

I gruppi di controllo delle tre generazioni successive mostrano trends di sopravvivenza paragonabili. Al contrario l'arricchimento in zinco influisce sulla sopravvivenza con modalità ed intensità differenti nelle tre generazioni considerate. Nella generazione parentale (P) lo zinco determina un declino della sopravvivenza intorno al 16°-18° giorno; nella prima generazione filiale (F_1) il gruppo trattato appare caratterizzato da un calo della sopravvivenza embrionale; nella seconda generazione filiale (F_2) l'arricchimento ambientale di zinco non influenza la sopravvivenza sia giovanile che dell'adulto: le curve della sopravvivenza del gruppo trattato e del controllo mostrano infatti andamenti paragonabili (Fig. 1a-c).

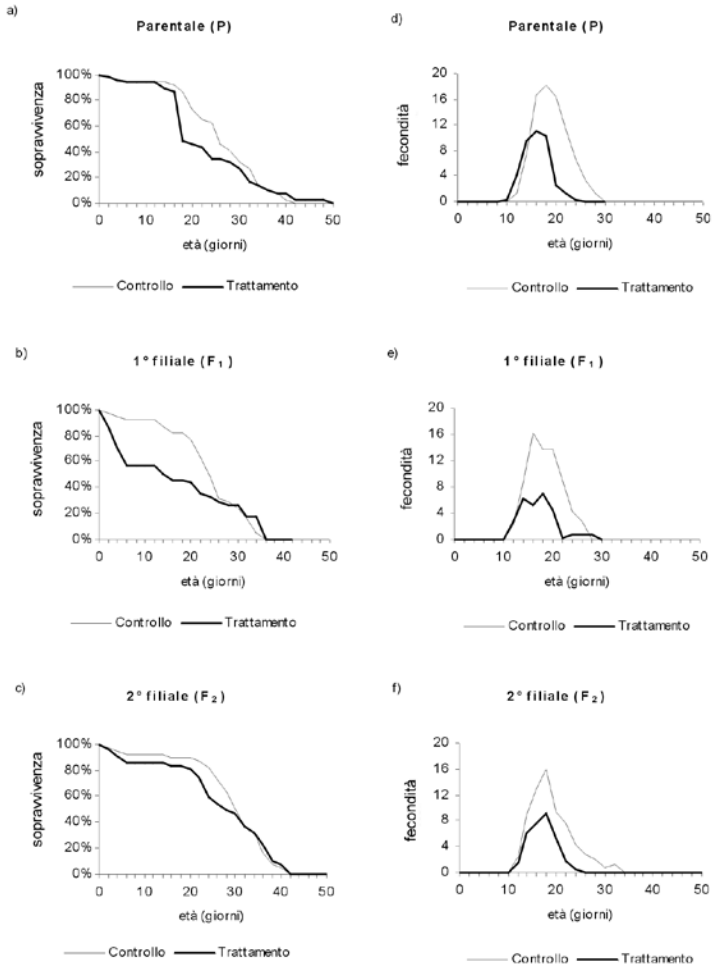


Fig. 1 – Sopravvivenza e fecondità (uova/femmina/2 giorni) in *D. gyrociliatus* trattati e di controllo nelle tre generazioni.

Survival and fecundity (eggs/female/2 days) in exposed and control D. gyrociliatus *in the three successive generations.*

Nei gruppi di controllo le curve della fecondità età specifica delle tre generazioni successive sono molto simili. Nei gruppi trattati invece l'effetto del metallo sulla fecondità è diverso nelle tre generazioni considerate. In P lo zinco determina un lieve aumento della fecondità nelle prime deposizioni, seguito da un vistoso declino; in F_1 l'andamento della fecondità appare molto simile a quello osservato in P ma senza il vantaggio riproduttivo iniziale; in F_2 la fecondità mostra un andamento intermedio tra quelli delle due generazioni precedenti (Fig. 1d-f).

Tab. 1 – *D. gyrociliatus:* parametri demografici ottenuti per le coorti di controllo e le coorti trattate nelle tre generazioni.

D. gyrociliatus*: demographic parameters for treatments and control cohorts of the three generations.*

	controllo			trattamento		
	P	F_1	F_2	P	F_1	F_2
Aspettativa di vita (e^0)	25.61	23.11	28.49	22.71	16.14	26.20
Limite fiduciario al 95% superiore	29.37	24.32	30.34	25.53	18.88	27.98
Limite fiduciario al 95% inferiore	22.49	21.95	26.92	19.33	13.40	24.03
Tasso netto di riproduzione (R_0)	61.90	50.96	58.06	26.66	12.75	26.05
Limite fiduciario al 95% superiore	76.47	56.96	63.60	33.04	19.44	30.96
Limite fiduciario al 95% inferiore	50.35	45.90	52.32	18.41	4.91	20.80
Tempo di generazione (T)	19.37	18.77	19.49	16.44	17.60	18.00
Limite fiduciario al 95% superiore	20.08	19.21	19.87	16.94	18.69	18.48
Limite fiduciario al 95% inferiore	18.94	18.33	19.15	16.08	16.30	17.58
Tasso di crescita (λ)	1.57	1.56	1.57	1.51	1.35	1.46
Limite fiduciario al 95% superiore	1.59	1.58	1.58	1.56	1.45	1.49
Limite fiduciario al 95% inferiore	1.55	1.54	1.56	1.47	1.27	1.43

Tab. 2 – *D. gyrociliatus:* valori di significatività *p* (test di permutazione) delle differenze tra i gruppi sperimentali.

D. gyrociliatus*: p values (permutation test) of the differences among experimental groups.*

Confronto tra diverse generazioni	λ	R_0	T	e^0
entro i controlli	0.545	0.278	0.11	0.055
entro i trattati	0.011	0.034	0.018	0.002
Confronto tra trattati e controlli	λ	R_0	T	e^0
P	0.046	0.004	0.001	0.282
F_1	< 0.001	< 0.001	0.043	0.010
F_2	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.142
Confronto tra trattati	λ	R_0	T	e^0
P *vs* F_1	0.005	0.045	0.050	0.015
F_1 *vs* F_2	0.044	0.035	0.753	< 0.001
P *vs* F_2	0.094	0.923	0.002	0.095

Non sono state osservate differenze significative nei parametri demografici delle coorti di controllo delle tre generazioni considerate. Al contrario l'arricchimento con zinco ha determinato: 1) una generalizzata riduzione degli indici demografici nei gruppi trattati; 2) risposte demografiche diverse nelle tre generazioni. L'aspettativa di vita e^0 risulta simile in P e F_2 e minore in F_1. Il tempo di generazione T è inferiore a quello delle coorti di controllo in tutti i gruppi trattati. Il tasso netto di accrescimento R_0 e il tasso di crescita della popolazione λ risultano particolarmente ridotti nella F_1 (Tabb. 1, 2).

Conclusioni

I risultati hanno evidenziato che l'arricchimento ambientale di zinco può determinare alcune complesse conseguenze sulla sopravvivenza, la fecondità e la demografia di *D. gyrociliatus*. Inoltre, gli effetti dell'esposizione al metallo possono manifestarsi nei diversi tratti della life history con modalità e in misure differenti in generazioni successive.

Nella generazione parentale infatti lo zinco induce una ridistribuzione dello sforzo riproduttivo, determinando perciò sia effetti positivi che negativi a seconda dei tratti della life history considerati. F_1 è la generazione che risente maggiormente del metallo: la minore sopravvivenza embrionale qui osservata potrebbe essere dovuta all'esposizione allo zinco durante la generazione precedente. La maggiore tolleranza mostrata dalla F_2 potrebbe essere attribuita al manifestarsi di meccanismi di resistenza.

La sensibilità di *D. gyrociliatus* a Zn e ad altri inquinanti (Reish e Gerlinger, 1997) lo rende un organismo tester appropriato per studiare l'effetto di sostanze tossiche tramite: a) test di tossicità acuta, utilizzando le giovani femmine; b) "life table response experiments", per valutare l'effetto a livello di popolazione.

Le diverse risposte all'arricchimento ambientale di Zn in generazioni successive di *D. gyrociliatus* evidenziano l'importanza dello studio delle risposte demografiche a più lungo termine di quanto normalmente effettuato in valutazioni degli effetti di contaminanti ambientali.

Bibliografia

CASWELL H. (2000) - *Matrix population models.* Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA: 722 pp.

MAURI M., SIMONINI R., BARALDI E. (2002) - Demographic responses of the polychaete *Dinophilus gyrociliatus* to chromium exposure. *Env. Toxicol. Chem.*, **21** (9): 1903-1907.

PREVEDELLI D., ZUNARELLI VANDINI R. (1999) - Survival, fecundity and sex ratio of *Dinophilus gyrociliatus* (Polychaeta: Dinophilidae) under different dietary conditions. *Mar. Biol.*, **132**: 163-170.

REISH D.J., GERLINGER T.V. (1997) – A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bull. Mar. Sci.,* **60** (2): 584-687.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 640-643

E. Baraldi, C. Virno-Lamberti*, D. Pellegrini*, F. Leasi, M. A. Todaro

Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia,
Via Campi, 213/D – 41100 Modena, Italia.
*I.C.R.A.M., Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.

BIOMONITORAGGIO DI UN'AREA DI DUMPING: LA COMUNITÀ MEIOBENTONICA

BIOMONITORING OF A DUMPING AREA: THE MEIOBENTHIC COMMUNITY

Abstract

Meiofauna abundance and community structure were investigated in a sea disposal site in the Ligurian Sea, 1 year after the dumping of material dredged from the harbour of Livorno. Faunistic analysis of cores taken from three stations subject to sediment discard and one in a control site revealed in all cases the Nematoda as the dominant taxon followed by the Harpacticoida Copepoda. While ANOVA could not detect statistically significant differences among stations, except station H5, the number of taxa and their density were higher than values obtained from samples collected two weeks and two months after the dumping. Sites H5 previously indicated as the most impacted site, showed the highest density of total meiofauna and the most well-balanced repartition of taxa. Overall data support the working hypothesis of a progressive but differentiate faunistic recovery of the impacted sites.

Key-words: *dumping, meiobenthos, environmental assessment, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Da tempo sono in atto ricerche volte al monitoraggio delle caratteristiche biotiche ed abiotiche di un'area del Mar Ligure sud-orientale (latitudine 43°38'N; longitudine 9°59'E) scelta per lo sversamento del materiale di dragaggio del porto di Livorno. Poiché in diverse occasioni sono state fatte rilevare le potenzialità dell'utilizzo della meiofauna in studi di impatto ambientale (es. Kennedy e Jacoby, 1999), l'analisi faunistica, dapprima circoscritta al solo macrozoobenthos, è stata negli ultimi anni (1999-2001) estesa anche a quest'ultima componente (Todaro *et al.*, 2000, 2001). Nel presente lavoro vengono fornite le informazioni sul meiobenthos relative alla campagna di prelievi effettuata nell'agosto 2001, circa un anno dopo l'ultimo sversamento compiuto nel settore H, un quadrato di circa 1 miglio di lato.

Materiali e metodi

La meiofauna è stata estratta da carote di sedimento ottenute subcampionando il materiale prelevato con un box corer in tre siti (H3, H4 e H5) situati nell'area interessata dallo sversamento, ed in un sito (HB) situato in un'area adiacente non coinvolta, utilizzata come controllo. In ognuna delle quattro stazioni di raccolta sono stati prelevati tre campioni, ciascuno dei quali è stato subcampionato due volte inserendo manualmente nel sedimento per 2,4 cm un tubo di Plexiglas di 2,75 cm di diametro; in totale sono state ottenute $3 \times 2 \times 4$ carote. La fauna è stata narcotizzata con $MgCl_2$ al 7% e successivamente fissata e conservata in una soluzione al 10% di formalina neutra, preventivamente addizionata con Rosa Bengala. La separazione della fauna dal sedimento, ripetuta tre volte, è stata eseguita mediante centrifugazione in gradiente di LUDOX AM-30 e filtraggio del surnatante per mezzo di due setacci con maglie di 1,0

e 0,063 mm sovrapposti (Higgins e Thiel, 1988). Gli animali trattenuti sul setaccio con maglie più fini sono stati poi identificati per gruppo tassonomico e contati. Conformemente ad altri studi, i nauplii sono stati considerati come costituenti un gruppo sistematico distinto (Warwick *et al*., 1990). La significatività delle differenze osservate sono state valutate per mezzo dell'analisi della varianza (one-way ANOVA o ANOVA on Ranks).

Risultati e conclusioni

L'analisi del sedimento defaunato ha consentito di accertare che l'efficienza del tipo di estrazione adottato è stato pressoché del 100%.

Nei campioni esaminati sono stati rinvenuti organismi appartenenti a 18 gruppi sistematici maggiori, di cui sei presenti in tutte le stazioni. Il sito di controllo HB e il sito H3 sono risultati quelli con il più alto numero di taxa, 15 e 13 rispettivamente (Tab. 1).

Tab. 1 – Densità media ± d.s. (ind./10 cm^2) e abbondanza relativa (%) dei taxa e del popolamento complessivo rinvenuto nei quattro siti investigati.

Mean density ± s.d. (ind./10 cm^2) and relative abundance (%) of major taxa and total meiofauna found in four investigated sites. The relative abundance of single taxa is derived from total density.

	HB		H3		H4		H5	
	M ± s.d.	%	M ± s.d.	%	M ± s.d.	%	M ± s.d.	%
NEMATODA	311,2 ± 68,2	(91,4)	372,4 ± 161,7	(86,4)	241,6 ± 102,7	(91,2)	447,6 ± 125,7	(77,4)
COPEPODA	5,9 ± 3,6	(1,7)	23,0 ± 8,8	(5,3)	11,5 ± 9,0	(4,3)	52,5 ± 32,5	(9,1)
NAUPLII	4,5 ± 3,6	(1,3)	9,0 ± 8,1	(2,1)	2,2 ± 2,0	(0,8)	28,6 ± 19,6	(5,0)
POLYCHAETA	8,4 ± 5,5	(2,5)	14,0 ± 9,2	(3,3)	5,6 ± 4,2	(2,1)	31,7 ± 15,9	(5,5)
TURBELLARIA	2,8 ± 3,3	(0,8)	4,2 ± 3,9	(1,0)	0,8 ± 1,4	(0,3)	5,3 ± 6,0	(0,9)
ACARIDA	0,3 ± 0,7	(0,1)	0,8 ± 1,4	(0,2)	-		-	
OSTRACODA	3,6 ± 3,6	(1,1)	3,9 ± 3,1	(0,9)	2,0 ± 4,0	(0,7)	10,7 ± 7,4	(1,8)
NEMERTEA	0,6 ± 0,9	(0,2)	-		-		0,6 ± 0,9	(0,1)
TANAIDACEI	0,3 ± 0,7	(0,1)	0,3 ± 0,7	(0,1)	0,6 ± 1,4	(0,2)	-	
KINORHYNCHA	0,8 ± 1,4	(0,2)	0,8 ± 0,9	(0,2)	-		0,6 ± 0,9	(0,1)
BIVALVIA	0,6 ± 1,4	(0,2)	-		-		0,3 ± 0,7	(0,1)
CLADOCERA	0,6 ± 1,4	(0,2)	0,3 ± 0,7	(0,1)	-		-	
SIPUNCULA	0,6 ± 0,9	(0,2)	-		-		0,3 ± 0,7	(0,1)
OPHIUROIDEA	0,3 ± 0,7	(0,1)	-		-			
SYNCARIDA	0,3 ± 0,7	(0,1)	-		-		-	
OLIGOCHAETA	-		1,1 ± 1,4	(0,3)	0,3 ± 0,7	(0,1)	-	
ISOPODA	-		0,8 ± 0,9	(0,2)	-		-	
AMPHIPODA	-		0,3 ± 0,7	(0,1)	0,3 ± 0,7	(0,1)	-	
Σ TAXA: TU-AM °	10,7 ± 8,8	(3,1)	12,6 ± 8,0	(2,9)	3,9 ± 3,9	(1,5)	17,7 ± 13,6	(3,1)
MEIOFAUNA TOTALE *	**340,6 ± 63,2**		**431,0 ± 186,9**		**264,9 ± 109,2**		**578,0 ± 167,5**	

° Sommatoria delle densità dei taxa dai Turbellari agli Anfipodi

* Differenze statisticamente significative (ANOVA, $p < 0.05$)

Le densità medie complessive sono variate da 264,9 ± 109,2 ind./10 cm^2 della stazione H4 a 578,0 ± 167,5 ind./10 cm^2 della stazione H5. Per la stazione di controllo HB è stata calcolata una densità media totale di 340,6 ± 63,2 ind./10 cm^2. I Nematodi sono risultati gli animali più abbondanti, seguiti nell'ordine da Copepodi, Policheti e Nauplii. I rappresentanti di altri 14 gruppi, Turbellari, Acari, Ostracodi, Nemertini, Tanaidacei, Chinorinchi, Bivalvi, Cladoceri, Sipunculidi, Ofiuroidei, Sincaridi, Oligocheti, Isopodi ed Anfipodi sono stati rinvenuti solo in piccolo numero e/o in maniera sporadica, raggiungendo al massimo una densità complessiva di 17,7 ± 13,6 ind./10 cm^2 nella stazione H5 (Tab. 1). Questi taxa, causa la loro scarsa abbondanza, nel corso delle analisi statistiche sono stati raggruppati nella categoria "Altri" (Fleeger *et al*., 1996).

Le abbondanze medie taxon specifiche, rientrano nel campo di variabilità riportato in letteratura per il tipo di sedimento e profondità investigati, posizionandosi tuttavia su valori medio bassi (Giere, 1993; Soltwedel, 2000).

I Nematodi hanno costituito sempre la frazione maggiore (dal 77,4% al 91,4% rispettivamente in H5 e HB); i Copepodi sono risultati secondi per abbondanza percentuale in tutte le stazioni con valori compresi tra il 1,7% (HB) ed il 9,1% (H5); i Policheti sono risultati sempre il terzo gruppo per abbondanza numerica con percentuali comprese tra 2,1% (H3) e 5,0% (H5) mentre i Nauplii sono risultati quarti sia per abbondanza che per valori percentuali. Altri taxa hanno costituito dall'1,5 al 3,1% del popolamento totale (Tab. 1).

La composizione percentuale delle comunità meiobentoniche investigate non sembra differire in maniera sostanziale da quelle riportate per habitat con simili caratteristiche granulometriche e valori di batimetria (Coull, 1998).

Inaspettatamente nella stazione H5 è stata riscontrata sia una maggiore densità di popolazione (ANOVA, $p < 0,05$; Tab. 1) sia una più equilibrata ripartizione dei taxa presenti (eveness di Pielou J = 0,374, 0,193, 0,245, 0,174 in H5, H4, H3 e HB rispettivamente). Negli anni precedenti i valori di abbondanza, generalmente più bassi, e il minor numero di taxa rinvenuto nella stazione H5 la indicavano come quella maggiormente influenzata dallo sversamento del materiale di dragaggio, in accordo anche con la sua posizione centrale nella zona di scarico. Mentre i fattori causali responsabili delle variazioni osservate nella stazione H5 non sono al momento noti, il maggior numero di taxa rinvenuti nei siti di scarico e i più alti valori di abbondanza riscontrati in generale in quest'ultima campagna, sono molto probabilmente dovuti al maggior lasso di tempo intercorso tra lo scarico del materiale e la raccolta dei campioni (ca. 1 anno nel 2001 *vs* ca 2 mesi nel 2000). Questo rafforzerebbe precedenti osservazioni circa il recupero progressivo ma differenziato delle comunità meiobentoniche dei diversi siti investigati (Todaro *et al.*, 2001).

Bibliografia

COULL B.C. (1998) – Ecology in the marine meiofauna. In: Higgins R.P., Thiel H. (eds), *Introduction to the Study of Meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.: 18-38.

FLEEGER J.W., SHIRLEY T.C., CARLS M.G., TODARO M.A. (1996) - Meiofaunal recolonization experiment in oiled sediments. In: Rice S., Spies A., Wolfe D.A., Wright B.A. (eds), Proceedings of the Exxon Valdez oil spill symposium. *American Fisheries Society Symposium*, Bethesda, MD: 271-285.

GIERE O. (1993) - *Meiobenthology. The Microscopic Fauna in Aquatic Sediments*. Springer-Verlag, Berlin: 328 pp.

HIGGINS R.P., THIEL H. (eds) (1988) - Introduction to the Study of Meiofauna. *Smithsonian Institution Press*, Washington D.C.: 287 pp.

KENNEDY A.D., JACOBY A.C. (1999) – Biological indicators of marine environmental health: meiofauna – a neglected benthic component. *Environ. Monit. Assess.,* **54**: 47-68.

SOLTWEDEL T. (2000) – Metazoan meiobenthos along continental margins: a review. *Prog. Oceanogr.*, **46**: 59-84.

TODARO M.A., VIRNO-LAMBERTI C., PULCINI M., PELLEGRINI D., DE RANIERI S. (2000) - Monitoraggio di un'area soggetta a sversamento di materiale di dragaggio: evidenza di una rapida ricolonizzazione dei fanghi da parte della meiofauna. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 865-868.

TODARO M.A., VIRNO-LAMBERTI C., PULCINI M., PELLEGRINI D., DE RANIERI S. (2002) – La meiofauna di un'area soggetta a sversamento di materiale di dragaggio. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 647-650.

WARWICK R.M., PLATT H.M., CLARKE K.R., AGARD J., GOBIN J. (1990) - Analysis of macrobenthic and meiobenthic community structure in relation to pollution and disturbance in Hamilton Harbour, Bermuda. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., **138**: 119-142.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 644-646

M. Baroli, G. De Falco, G. Piergallini

IMC – International Marine Centre, Località Sa Mardini - 09072 Torregrande, Oristano, Italia.

CARTOGRAFIA AD ALTA RISOLUZIONE DEI POPOLAMENTI BENTONICI DELLA FASCIA COSTIERA DELL'AREA MARINA PROTETTA DELLA PENISOLA DEL SINIS – ISOLA DI MAL DI VENTRE FINALIZZATA ALLA GESTIONE DEL DIPORTO NAUTICO

HIGH RESOLUTION MAPPING OF BENTHIC ASSEMBLAGES OF THE COASTAL ZONE OF THE MARINE PROTECTED AREA - SINIS PENINSULA - MAL DI VENTRE ISLAND - FINALISED TO THE MANAGEMENT OF PLEASURE NAVIGATION

Abstract

Mapping of benthic assemblages of the coastal zone was realised in the Marine Protected Area of Sinis – Mal di Ventre (Western Sardinia) in order to identify the suitable areas for the anchoring of pleasure boats. Based of the nature of substrata and benthic assemblages different solutions for the management of anchoring were proposed.

Key-words*: cartography, aerial photography,* Posidonia oceanica*, anchoring.*

Introduzione

L'ancoraggio determina un impatto meccanico sulle biocenosi bentoniche con la rimozione della vegetazione dei fondali. In particolare si ritiene che tale pratica sia una delle cause della regressione delle praterie di *Posidonia oceanica*, come documentato in zone ad alta concentrazione di imbarcazioni da diporto lungo le coste mediterranee della Francia (Poulain, 1986).

L'istituzione nel 1997 dell'Area Marina Protetta (AMP) del Sinis - Isola di Mal di Ventre (Sardegna occidentale), ha suscitato l'opposizione delle associazioni dei diportisti per il divieto di accesso alle poche aree riparate dai venti dominanti, utilizzate nel periodo estivo come siti di ormeggio dalle imbarcazioni da diporto.

Nell'ambito di una Convenzione tra IMC - Centro Marino Internazionale - e il Comune di Cabras (OR), Ente Gestore dell'AMP, è stata realizzata la mappatura delle biocenosi bentoniche presenti tra la linea di riva e la distanza di 600 m dalla costa, con l'obiettivo di fornire uno strumento di gestione per regolamentare l'approdo e l'ancoraggio di imbarcazioni da diporto e di servizio.

Materiali e metodi

La cartografia è stata eseguita con analisi d'immagine di foto aeree, digitalizzate con una risoluzione di circa 1 m, integrata da sopralluoghi *in situ*.

Le immagini sono state georeferenziate mediante adattamento polinomiale della foto ad una base cartografica di riferimento in scala 1:5000, utilizzando 15-20 punti comuni, e elaborate mediante analisi d'immagine utilizzando il software Multiscope (Pasqualini *et al.*, 1998).

Per la destinazione d'uso dei fondali sono state considerate le seguenti tipologie:

aree con ancoraggio libero, aree con divieto di ancoraggio, aree con ancoraggio regolamentato (es. campi-boe). Queste tipologie sono state identificate in base all'impatto dell'ancoraggio sulle diverse biocenosi bentoniche.

Risultati

La restituzione cartografica finale ha prodotto 13 elaborati in scala 1:5000 con l'individuazione e la delimitazione di diversi tipi di fondale (sabbie, rocce con alghe fotofile, praterie di fanerogame). Sulla base di questa cartografia sono state identificate quattro aree (Capo San Marco-La Caletta, Capo San Marco-Mare Vivo, Capo Seu, Isola di Mal di Ventre) destinate all'approdo delle imbarcazioni, per le quali è stata realizzata una mappatura di dettaglio in scala 1:1000. La scelta delle quattro aree ha tenuto in considerazione l'esposizione rispetto ai venti dominanti, oltre che la natura del fondale e i popolamenti bentonici presenti.

In base alla distribuzione delle tipologie di fondale così individuate sono state proposte diverse soluzioni per la gestione dell'approdo e dell'ormeggio delle imbarcazioni da diporto e da servizio: delimitazione di aree in cui è possibile il libero ormeggio, creazione di campi-boe (Fig. 1).

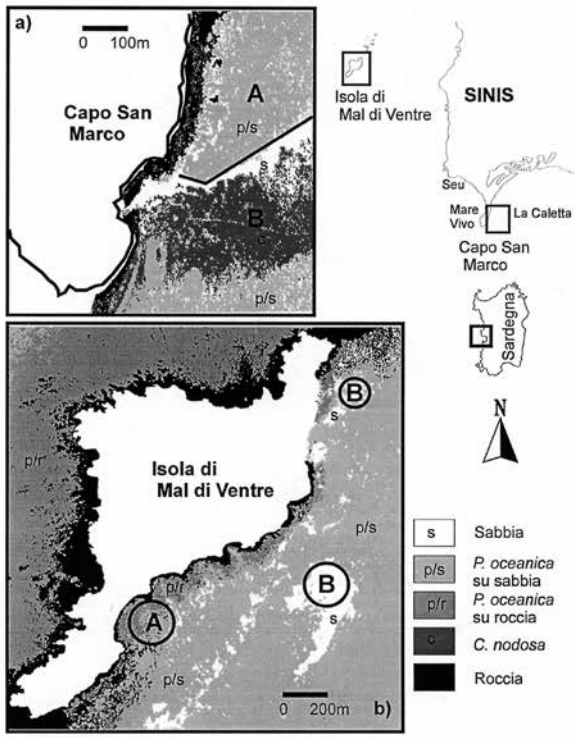


Fig. 1 – Mappa dei popolamenti bentonici e proposta di regolamentazione dell'ancoraggio nelle aree di Capo San Marco – La Caletta e Isola di Mal di Ventre. A = ancoraggio regolamentato, B = ancoraggio libero.

Map of benthic assemblages and proposal for anchoring regulation in the areas of Cape San Marco – La Caletta and Mal di Ventre Island. A = controlled anchoring, B = free anchoring.

Conclusioni

Nella zona della Caletta é stata individuata un'area (Area A) colonizzata da *Posidonia oceanica*, che deve essere soggetta a regolamentazione per l'ancoraggio, mediante la predisposizione di un numero limitato di punti di approdo fissi (Fig. 1a) e un'area (Area B) in cui l'ancoraggio potrebbe essere liberamente consentito (Fig. 1a).

L'area di Capo San Marco - Mare Vivo può essere ritenuta non soggetta ad impatto ambientale in seguito ad ancoraggio per l'assenza di praterie di *Posidonia* e/o altre formazioni sensibili ad impatto meccanico.

Per l'area di Seu si ritiene che l'ancoraggio debba essere limitato alla zona sottocosta (entro i 100 m) da segnalare con boe, o con il posizionamento di punti di approdo comuni.

Nell'isola di Mal di Ventre l'ancoraggio libero può essere consentito nelle aree sabbiose, che debbono essere opportunamente segnalate; è necessario limitare l'ancoraggio nel resto dell'area con la predisposizione di campi-boe (Fig. 1b).

Le soluzioni proposte consentono di eliminare l'impatto sui fondali dovuto all'ancoraggio non regolamentato, e la fruizione dei litorali da parte dei diportisti nautici, contribuendo all'accettazione, da parte della popolazione locale, dell'AMP.

Bibliografia

PASQUALINI V., PERGENT-MARTINI C., CLABAUT P., PERGENT G. (1998) - Mapping of *Posidonia oceanica* using aerial photographs and side scan sonar: application off the island of Corsica. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **47** (3): 359-368.

POULAIN M. (1996) – Le mouillage forain dans le Parc National de Port-Cros. Impact sur les herbiers à *Posidonia oceanica*. Mémoire DESS "Ecosystèmes Méditerranéens", GIS Posidonie publ., Fr.: 1-53 +9 annexes.

Lavoro eseguito con contributo dell'Ente gestore dell'AMP del Sinis-Mal di Ventre e del progetto SIMBIOS - Cluster Ambiente Marino, MIUR.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 647-649

G. Belmonte, S. Bussotti, A. Costantini*, F. Denitto,
M. Metrangolo, L. Muscogiuri, R. Onorato*

Stazione di Biologia Marina, DiSTeBA, Università degli Studi, Ecotekne - 73100 Lecce, Italia.
*CSSA, Centro di Speleologia Sottomarina "Apogon" - Nardò, Lecce, Italia.

INDAGINE FAUNISTICA SULLE GROTTE SOTTOMARINE DEL CAPO DI LEUCA (MAR IONIO-PUGLIA)

FAUNA OF SUBMARINE CAVES OF CAPE OF LEUCA (IONIAN SEA - APULIA)

Abstract

The coasts of Salento (SE Italy) are mostly constituted by calcareous rocks which are rich in marine caves of karstic origin. A first inventory of fauna (sessile epifauna, meiofauna, benthic vagile invertebrates, plankton and fish) inhabiting three caves of Cape of Leuca is reported. The recorded biodiversity gives to submerged caves of Salento an important role in the coastal marine ecology.

Key-words: *submarine caves, biodiversity, fauna, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Le difficoltà legate al campionamento all'interno delle grotte marine sommerse hanno limitato lo studio dei differenti comparti biotici. Nel Mediterraneo, i dati prodotti dalla "Tyrrhenia expedition" sulle grotte della penisola Sorrentina (AA.VV., 1959) e l'opera di sintesi di Riedl (1966), continuano ad essere, a decenni dalla loro pubblicazione, i più validi punti di riferimento per una rassegna completa sulla biologia delle grotte sommerse. La maggior parte degli studi successivi ha riguardato soprattutto i popolamenti sessili di substrato duro (vedi Bianchi *et al.,* 1996). La costa del Salento, situata all'estremità Sud-Est della Puglia, è una zona molto ricca di grotte marine di origine carsica (vedi Onorato *et al*., 1999). L'Università di Lecce ha iniziato da alcuni anni un programma a lungo termine di caratterizzazione dell'ambiente marino di grotta in quest'area (Denitto *et al*., 1999; Bussotti *et al*., 2001). In questo lavoro sono brevemente presentate alcune informazioni qualitative sull'epifauna sessile di fondo duro, sui macroinvertebrati vagili, sulla fauna ittica e sul plancton di tre grotte sommerse del Capo di Leuca (LE). Prelievi di meiofauna sono stati effettuati da ricercatori delle Università di Modena e di Urbino. Il presente contributo vuole fornire una base di partenza per la definizione dello "status" della biodiversità delle grotte marine di questa parte del Salento.

Materiali e metodi

Le grotte oggetto di studio sono localizzate in un tratto di costa di circa 4 km sul versante orientale della penisola Salentina: "Grotta Piccola del Ciolo" (39°50'38" N, 18°23'11" E, lunga 120 m); "Grotta di Marinella" (39°49'00" N; 18°23'24" E, lunga 65 m); "Galleria della Principessa" (39°48'18" N, 18°22'43" E, lunga 85 m). I campionamenti eseguiti in immersione con ARA sono stati effettuati tra luglio 2000 e luglio 2001. I rilevamenti sono stati: fotografici per il macrobenthos sessile di fondo duro; visuali per i macroinvertebrati vagili e la fauna ittica; con prelievo per l'analisi degli

idroidi e di altre specie sessili non riconoscibili in fotografia (grattaggi), del plancton (trascinamento orizzontale di retini con maglie da 200 μm), e del meiobenthos (prelievo di sedimento).

Risultati

Ad oggi sono stati identificati in totale 209 taxa. Nel benthos di fondo duro sono stati individuati, con una sottostima dovuta al largo impiego del metodo fotografico (Morri *et al.*, 1999), 105 taxa tra cui 38 cnidari (30 idrozoi + 8 antozoi), 36 poriferi, 12 briozoi, 10 molluschi. La spongofauna, dominante in quanto a ricoprimento, è risultata diversificata e comprendeva tipicamente specie di ambienti cavernicoli (*Aaptos aaptos*, *Cliona schmidti*, *Erylus euastrum*, *Merlia normani*, *Myrmekioderma spelaea*). Solo poche specie di idroidi sono state rinvenute nelle zone più interne delle grotte dove il movimento dell'acqua è più ridotto e, di conseguenza, l'apporto di alimento limitato. In tutti i casi queste appartenevano all'ordine dei tecati, in cui i singoli polipi sono adattati alla penuria di cibo, e possono retrarsi all'interno della teca nei lunghi periodi in cui l'attività trofica risulta ridotta. Tra gli cnidari va inoltre segnalata la presenza del ceriantide sabulicolo *Arachnantus oligopodus*, rinvenuto per la prima volta in Italia in un'altra grotta salentina (Denitto *et al*., 1999). Nella meiofauna sono state rinvenute 12 specie di gastrotrichi e 1 priapulide. Di queste, 5 specie sono risultate nuove per la Scienza e sono in via di descrizione (Todaro *et al*., 2001; Todaro, com. pers.). Per quanto riguarda i macroinvertebrati vagili sono state censite 25 specie, tra cui alcune erano presenti anche come forme giovanili (*Coscinasterias tenuispina*, *Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus*, *Aplysia punctata*, *Scyllarides latus*).

Il plancton è stato campionato in una sola grotta (Principessa) e non in diversi periodi dell'anno, per cui i 36 *taxa* fin qui rinvenuti sono sicuramente una sottostima di ciò che l'ambiente può ospitare. Almeno 4 specie sono risultate nuove per la fauna Italiana, ed in uno di questi casi si tratta della prima segnalazione, in Italia, della sottoclasse di recente istituzione Facetotecta (Maxillopoda, Crustacea) (Grygier, 1987). Tra le 30 specie di pesci censiti alcuni sono tipici di grotta e/o ambienti profondi (ad es., *Grammomus ater*). E' stata inoltre individuata una specie raramente segnalata nel Mediterraneo e mai avvistata prima in Italia (il gobide *Corcyrogobius liechtensteini*). Di molte specie ittiche sono stati censiti anche gli stadi giovanili. Questo potrebbe suggerire un ruolo delle grotte marine superficiali quali aree di rifugio per alcune specie ittiche (non solo quelle sciafile) durante le più critiche e precoci fasi del loro ciclo vitale.

Conclusioni

Le grotte marine di quest'area, in generale, hanno mostrato una maggiore integrità delle biocenosi rispetto a quanto si riscontra in aree costiere limitrofe che, almeno in alcuni tratti, hanno subito gravi impatti antropici come la pesca del dattero di mare (es: Fanelli *et al*., 1994). Inoltre, l'elevato numero di novità faunistiche (nonostante il campionamento, in alcuni casi, sia stato del tutto "esplorativo") è evidente segnale della ricchezza della biodiversità di questi ambienti o della scarsa conoscenza che se ne ha. Il ruolo di riserve di biodiversità, di rifugio faunistico per specie in pericolo all'esterno, e di siti "source" o "sink" per l'ecologia del rifornimento laterale pongono forte l'accento sull'importanza dell'inserimento di questi ambienti nei progetti di conservazione, tutela e valorizzazione della fascia costiera.

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare C. Vaglio per il supporto tecnico durante le immersioni, e C. Chimenz (Roma), C. Longo (Bari), F. Mastrototaro (Bari) e H. Zibrowius (CNRS-Marsiglia) per l'aiuto fornito nell'identificazione di briozoi, poriferi, ascidie e antozoi madreporari.

Bibliografia

AA.VV. (1959) - *Ergebnisse der Osterreichischen* Tyrrhenia expedition (1952). *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, **30** (Suppl.): 787 pp.

BIANCHI C.N., CATTANEO-VIETTI R., CINELLI F., MORRI C., PANSINI M. (1996) - Lo studio biologico delle grotte sottomarine: conoscenze attuali e prospettive. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **60-61** (1994-95): 41-69.

BUSSOTTI S., DENITTO F., METRANGOLO M., MUSCOGIURI L., BELMONTE G., BOERO F. (2001) - Distribuzione spaziale di comunità sessili di fondo duro in tre grotte marine della Penisola Salentina (Mar Ionio- Puglia Meridionale). *62° Congresso Nazionale dell' Unione Zoologica Italiana*, UZI, Sanremo (IM): 79.

DENITTO F., LONGO C., BELMONTE G., COSTANTINI A., POTO M., ONORATO R. (1999) - Biocenotica della grotta sottomarina delle Corvine (Cala di Uluzzu, Nardò, Lecce). *Itinerari Speleologici.,* **8**: 7-16.

FANELLI G., PIRAINO S., BELMONTE G., GERACI S., BOERO F. (1994) – Human predation along Apulian rocky coasts (SE Italy): desertification caused by *Lithophaga lithophaga* (Mollusca) fisheries. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **110**: 1-8.

GRYGIER M.J. (1987) - New records, external and internal anatomy, and systematic position of Hansen's y-larvae (Crustaea, Maxillopoda, Facetotecta). *Sarsia*, **72**: 261-278.

MORRI C., BIANCHI C.N., COCITO S., PEIRANO A., DE BIASI A.M., ALIANI S., PANSINI M, BOYER M, FERDEGHINI F, PESTARINO M, DANDO P. (1999) - Biodiversity of marine sessile epifauna at an Aegean island subject to hydrothermal activity: Milos, Eastern Mediterranean Sea. *Mar. Biol.*, **135**: 729-739.

ONORATO R., DENITTO F., BELMONTE G. (1999) - Le grotte marine del Salento: classificazione, localizzazione e descrizione. *Thalassia Salentina*, **23**: 67-116.

RIEDL R. (1966) - *Biologie der Meeresholen*. Verlag Paul Parey, Hamburg and Berlin: 639 pp.

TODARO M.A., BALSAMO M., MOSCI D., TONGIORGI P. (2001) - Emergenze meiobenthoniche di una grotta marina del litorale salentino (LE). *62° Congresso Nazionale dell'Unione Zoologica Italiana*, UZI, Sanremo (IM): 49.

La ricerca è stata svolta nell'ambito del progetto INTERREG II Italia-Grecia, e con i fondi dell'Accordo di Programma Provincia - Università di Lecce.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 650-654

F. Bianchi, F. Acri

Istituto di Biologia del Mare CNR, Castello 1364/A - 30122 Venezia, Italia.

DISTRIBUZIONE DELL'IDROCHIMICA NELLE ACQUE COSTIERE DELL'ISOLA DI PANTELLERIA: RISULTATI PRELIMINARI

DISTRIBUTION OF HYDROCHEMISTRY IN THE COASTAL WATERS OF THE ISLAND OF PANTELLERIA: PRELIMINARY RESULTS

Abstract

This paper refers to a preliminary investigation on hydrochemistry of the coastal waters of the island of Pantelleria (channel of Sicily, Italy). Late summer vertical distributions of temperature, salinity, dissolved nutrients and chlorophyll on 10 stations (50 m depth) are reported. Results indicate a strong stratification in temperature and a complicated distribution of salinity, while the oligotrophic feature was pointed out by the low concentrations detected in chlorophyll and nutrients. Continuous recordings of T and S at the bottom of a fixed station (22 m depth) showed a very dynamic pattern.

Key-words: *island of Pantelleria, coastal waters, channel of Sicily, hydrology, biological oceanography.*

Introduzione

L'isola di Pantelleria è situata nel canale di Sicilia, soglia che divide il mare Mediterraneo in due bacini, occidentale ed orientale. Mentre le proprietà oceanografiche delle diverse masse d'acqua transienti nel canale sono state oggetto di studio soprattutto dal punto di vista fisico (Manzella *et al.*, 1988; Astraldi *et al.*, 1999; Sparnocchia *et al.*, 1999), le loro caratteristiche chimiche e biologiche sono state poco approfondite (Budillon *et al.*, 1992; Astraldi *et al.*, 2002), né risultano presenti studi sull'oceanografia biologica delle acque costiere pantesche. Allo scopo di iniziare un'indagine conoscitiva sulle proprietà biogeochimiche delle acque che lambiscono le coste dell'isola, indagine propedeutica a studi di fattibilità circa la creazione di una futura area marina protetta, richiesta recentemente della comunità locale, l'Istituto di Biologia del Mare ha intrapreso un programma di ricerca sulla caratterizzazione spazio-temporale di alcuni parametri idrologici, chimici e biologici. In questo lavoro vengono esposti i risultati di uno studio preliminare effettuato nel periodo agosto-settembre 2001.

Materiali e metodi

Su 10 stazioni costiere, posizionate sulla batimetrica dei 50 m (Fig. 1), il 1 settembre sono stati eseguiti profili verticali, mediante sonda multiparametrica Hydrolab Datasonde4, di temperatura, salinità, ossigeno disciolto e fluorescenza. Sono stati inoltre condotti prelievi discreti a quote fisse (5, 20 e 50 metri) mediante bottiglie Niskin, per analizzare la distribuzione dei nutrienti (azoto ammoniacale, nitroso, nitrico, silicio da ortosilicati, fosforo da ortofosfati) e della biomassa fitoplanctonica esaminata come clorofilla *a*. Sia i campioni di clorofilla che di nutrienti (30 in totale) sono stati filtrati a bordo su filtri Whatman GF/F (porosità nominale 0.7 μm), conservati in borsa termostatica e congelati a terra a –30 °C. Le analisi sono state eseguite presso l'Istituto di Biologia del Mare del CNR di Venezia entro 30 giorni dal prelievo. I nutrienti sono stati analizzati secondo le metodiche descritte da Strickland e Parsons (1972) e da

Hansen e Koroleff (1999) utilizzando un autoanalizzatore Systea-Alliance; la clorofilla *a* è stata analizzata in spettrofluorimetria (Perkin-Elmer LS-5B) secondo Holm-Hansen *et al.*, 1965.

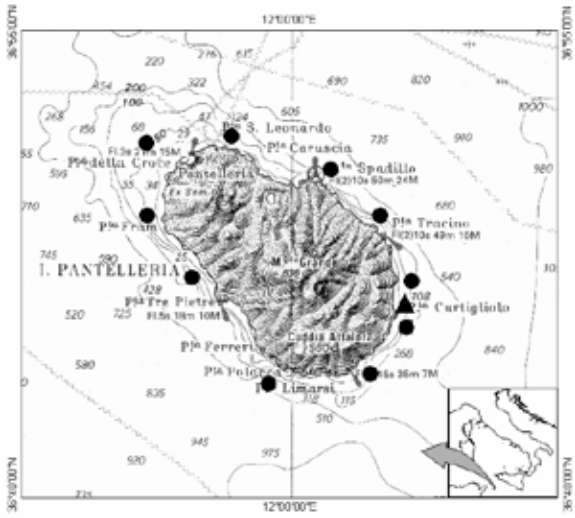


Fig. 1 – Ubicazione delle stazioni. I cerchi identificano le stazioni di misura lungo la colonna d'acqua, il triangolo la stazione studiata in continuo.
Sampling stations. Circles represent stations interested by vertical measurements, while triangle refers to the continuous monitored station.

Inoltre, è stato condotto uno studio sulla variabilità a breve scala temporale su una stazione fissa, la Ficara (profondità 22 m, prossima alla stazione 6), nella zona prevista a tutela integrale della futura area marina protetta. La sonda multiparametrica, posizionata sul fondo, è stata programmata con frequenza di acquisizione ogni 10' per un periodo di 120 h (25-30 agosto).

Risultati e conclusioni

Nella situazione esaminata, è stata riscontrata la presenza di un termoclino stagionale attorno ai 30-35 m, che separava acque superficiali, con T attorno ai 27 °C, da acque profonde, con T compresa tra 16.6 e 18.6 °C (Fig. 2a), e una distribuzione verticale della salinità molto complessa, caratterizzata da valori superficiali medi (0-5 m) di 37.56 PSU, intermedi (10-30 m) pari a 37.80 PSU e profondi (30-50 m) di 37.46 PSU (Fig. 2b). Tali andamenti risultano, limitatamente allo strato superficiale considerato, in sostanziale accordo con il modello delle masse d'acqua presenti nello stretto di Sicilia (Robinson *et al.*, 1999) e con dati riportati in letteratura (Rabitti *et al.*, 1994). Il carattere oligotrofico delle acque è evidenziato dalle basse concentrazioni della clorofilla *a*, pari a circa 0.1-0.2 μg/dm^3 lungo tutta la colonna, e dei nutrienti, con medie di azoto inorganico disciolto (DIN), ortosilicati e ortofosfati rispettivamente pari a 0.31 μM (ds=0.13), 1.04 μM (ds=0.14) e 0.05 μM (ds=0.02).

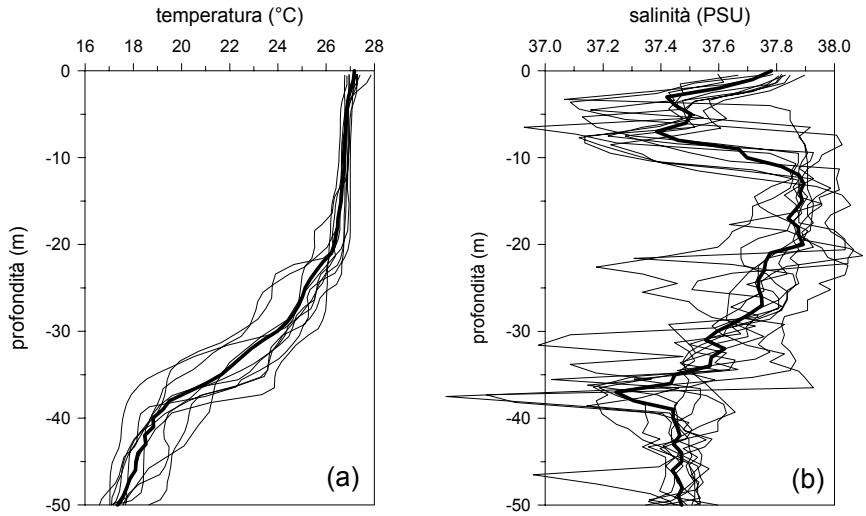


Fig. 2 – Profili verticali della temperatura (a) e salinità (b) da sonda multiparametrica. Il tratto marcato unisce i valori medi calcolati per metro di profondità.

Vertical profiles of temperature (a) and salinity (b) by multiparametric probe. Bold line connects the average values at each meter of depth.

Le registrazioni continue effettuate al fondo della stazione fissa, la Ficara, hanno evidenziato una situazione estremamente dinamica, con pronunciate escursioni di temperatura (>5 °C) e di salinità (~1 PSU) verificatesi in poche ore, con un andamento ripetuto nel tempo (Fig. 3).

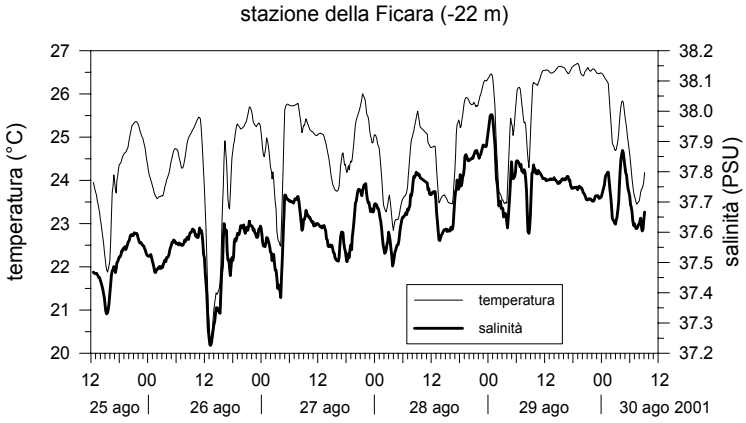


Fig. 3 – Registrazioni in continuo di temperatura (tratto sottile) e salinità (tratto marcato) effettuate al fondo della stazione della Ficara (vedi testo). E' rappresentata la media mobile di ordine 5.

Continuous recordings of temperature (thin) and salinity (bold) performed at the Ficara station (depth 22 m, see text). The running average calculated on 5 values is represented.

L'ipotesi più probabile, in assenza di ulteriori elementi conoscitivi, è che le acque situate a profondità maggiori, caratterizzate da T e S più basse, siano risalite lungo il fondale fino alla quota dove sono state intercettate e misurate (si osservi il decremento del 26 agosto, con la brusca caduta di T a circa 20 °C associata a S di 37.2 PSU, valori che, in colonna d'acqua, sono stati rinvenuti attorno ai 35 m di profondità; Fig. 2a e 2b), per poi affondare nuovamente, con una ciclicità che, ad eccezione del plateau del 29-30 agosto, sembra ripetersi circa ogni 12 ore. Scartata la dipendenza dal ciclo nictemerale, l'attenzione si è concentrata sul ciclo tidale. In mancanza di dati di marea esistenti per l'isola, si sono utilizzati i valori della previsione, considerandone quindi la sola componente astronomica, che a nostro avviso non dovrebbe essersi discostata molto da quella osservata, poichè durante questo esperimento le condizioni meteomarine erano particolarmente stabili (venti a regime di brezza, pressione livellata e mare calmo). Relazioni statisticamente significative sono risultate tra i minimi e massimi di marea contro temperatura e densità (per entrambi $r=-0.53$, $n=19$; $p<0.05$), indicando come la marea presente a Pantelleria, anche se di ampiezza limitata (escursione attorno ai 20 cm), potrebbe contribuire ad un movimento periodico delle acque seguendo il profilo batimetrico della costa, influenzando in tal modo i fondali dell'isola.

Le osservazioni suesposte, che vogliono rappresentare solo un primo approccio di studio delle proprietà idrochimiche della colonna d'acqua pantesca, andranno validate da studi più prolungati nel tempo in analoghe e/o diverse situazioni stagionali, ed integrate con maggiori informazioni sulla biologia della colonna d'acqua, da estendersi alla componente fito- e zooplanctonica, e sulla dinamica delle acque, mediante l'utilizzo di strumentazione dedicata, quali correntometri e mareografi.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento a: Guido Picchetti, Mariella Morselli, Walter Pane, Giorgio Montesi, Angelo Mojetta, Massimo Brunelli, il Centro Immersioni Pantelleria di Maria Ghelia, i volontari dell'Acquario Civico e dell'Associazione Verdeacqua di Milano, la Corr-Tek di Verona, la Soco di Agrate Brianza (MI).

Bibliografia

ASTRALDI M., BALOPOULOS S., CANDELA J., FONT J., GACIC M., GASPARINI G.P., MANCA B., THEOCARIS A., TINTORÉ J. (1999) - The role of straits and channels in understanding the characteristics of Mediterranean circulation. *Progress in Oceanography,* **44**: 65-109.

ASTRALDI M., CONVERSANO F., CIVITARESE G., GASPARINI G.F., RIBERA D'ALCALÀ M., VETRANO A. (2002) - Water mass properties and chemical signature in the central Mediterranean region. *J. Mar. Sys*., **33-34**:155-177.

BUDILLON G., CONVERSANO F., CAMPILI F., CORATO F., SPEZIE G. (1992) – Alcune caratteristiche dei processi biogeochimici nel canale di Sicilia. *Atti 10° Congresso AIOL*, Alassio: 155-165.

HANSEN H.P., KOROLEFF F. (1999) - Determination of nutrients. In: Grasshoff K., Cremling K., Erhardt M. (eds), *Methods of Seawater Analysis*, Wiley-VCH Verlag: 159-228.

HOLM-HANSEN O., LORENZEN C.J., HOLMES R.W., STRICKLAND J.D.H. (1965) - Fluorometric determination of chlorophyll. *J. Cons. perm. Int. Explor. Mer*., **30**: 3-15.

MANZELLA G.M.R., GASPARINI G.P., ASTRALDI M. (1988) - Water exchange between the eastern and western Mediterranean through the Strait of Sicily. *Deep Sea Res*., **35** (6A): 1021-1035.

RABITTI S., BIANCHI F., BOLDRIN A., DA ROS L., SOCAL G., TOTTI C. (1994) – Particulate matter and phytoplankton in the Ionian Sea. *Oceanol. Acta*, **17** (3): 297-307.

ROBINSON A.R., SELLSCHOPP J., WARN-VARNAS A., LESLIE W.G., LOZANO C.J., HALEY Jr P.J., ANDERSON L.A., LERMUSIAUX P.F.J. (1999) – Tha Atlantic Ionian Stream. *J. Mar. Sys.*, **20**: 129-156.

SPARNOCCHIA S., GASPARINI G.P., ASTRALDI M., BORGHINI M., PISTEK P. (1999) - Dynamics and mixing of the Eastern Mediterranean outflow in the Tyrrhenian basin. *J. Mar. Sys.,* **20**: 301-317.

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R. (1972) - A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167**: 331 pp.

Lavoro commissionato dal Comitato Pro Parco Marino di Pantelleria, con i fondi messi a disposizione dal prof. Brian Davies (International Fund for Animal Wellfare, USA).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 655-658

B. Catalano, U. Scacco, M. Vacchi

ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

NOTE SULLA BIODIVERSITA' DEI PESCI CARTILAGINEI DEL PARCO DELL'ASINARA

NOTES ON BIODIVERSITY OF CARTILAGENEOUS FISHES OF THE ASINARA MARINE RESERVE

Abstract

An high biodiversity of cartilagineous fishes was observed in the Asinara marine reserve. A total of 13 different species were captured using artisanal fisheries during a three year period study. Of particular interest the captures of Raja brachyura *and* Torpedo nobiliana*, rare species for the Mediterranean waters. The high diversity occurred is probably due to the biocenosis heterogeneity present in the area.*

Key-words: *Elasmobranch, biodiversity, NW Sardinia.*

Introduzione

L'isola dell'Asinara, ubicata nella parte nord-occidentale della Sardegna, di fronte alla costa di Stintino, si estende per più di cinquemila ettari con una lunghezza massima di 17,5 km ed una larghezza massima di 6,14 km. L'isola, interdetta a partire dagli anni '70 per la presenza del carcere di massima sicurezza, è divenuta Parco Nazionale dal 1998 con l'istituzione di un Ente Gestore provvisorio ai sensi della legge 394/91.

Grazie ai divieti istituiti prima con la creazione del carcere e poi con quella del Parco, la biodiversità marina dell'isola, come pure quella terrestre, si è mantenuta elevata.

Questo studio, svoltosi nell'ambito del progetto triennale di ricerca: "Interazioni competitive tra il segmento di popolazione del Tursiope, *Tursiops truncatus*, e la pesca artigianale del Parco Nazionale dell'Asinara", vuole dare un quadro dei popolamenti dei pesci cartilaginei riscontrati nel Parco dell'Asinara, aumentando pertanto le conoscenze sulla biodiversità dell'isola. Gli elasmobranchi inoltre, considerate le loro peculiari caratteristiche bio-ecolgiche, sono dei buoni indicatori dello stato di salute dell'ambiente.

Materiali e metodi

Nell'arco dei tre anni di campionamento sono state seguite le attività di pesca di 15 imbarcazioni afferenti al porto di Stintino e praticanti la pesca con il tramaglio, uno dei pochi mestieri consentiti all'interno del Parco. Complessivamente sono state monitorate 81 giornate di pesca per un totale di 202 cale effettuate. Le aree di pesca hanno interessato tanto la costa orientale quanto quella occidentale dell'isola dell'Asinara limitatamente alle normali attività di pesca di ciascuna imbarcazione, in un range batimetrico compreso tra 10 e 100 m. La tipologia della rete da posta utilizzata variava a seconda della stagione di pesca. Tra i mesi di maggio ed agosto l'attività di pesca si concentrava soprattutto sulle catture di *Palinurus elephas*, con l'utilizzo di reti a maglia larga (60 mm), mentre tra i mesi di agosto e settembre si preferiva l'utilizzo di una maglia

più fine (27 mm) per la cattura di *Mullus surmuletus*. Per ciascuna cala effettuata sono stati rilevati i dati relativi alla posizione geografica, alla profondità e durata della cala, alla composizione ed al peso di ciascuna specie presente nel pescato ed infine è stata rilevata la lunghezza totale (LT) delle specie ritenute commercialmente importanti.

Risultati

L'analisi dei dati ha mostrato la presenza di 13 specie di elasmobranchi (Fig. 1). I Rajidae occupano una posizione di dominanza nell'ambito delle catture dei pesci cartilaginei; su un totale di 618 individui censiti, infatti, circa il 64% è risultato appartenere a questa famiglia.

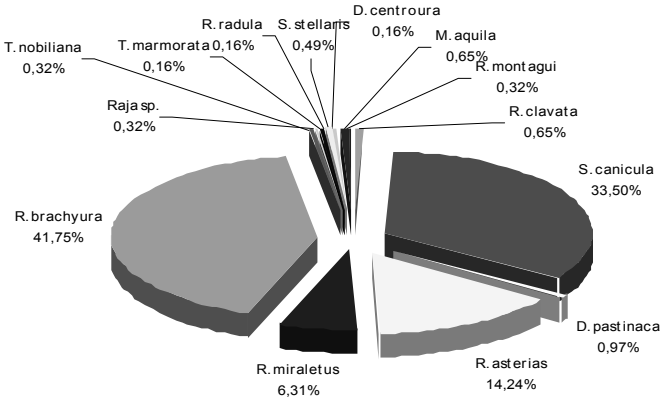


Fig. 1 – Composizione in percentuale del numero di catture di Elasmobranchi.
Elasmobranch catch composition expressed as percentages of number caught.

Di particolare rilievo le catture di *Raja brachyura* che, pur essendo una specie considerata rara per il bacino del Mediterraneo, è risultata essere la più abbondante con una percentuale rispetto al totale delle catture degli elasmobranchi di circa il 42%. Le catture di interessato una porzione rappresentativa della popolazione con individui di taglia compresa tra 18 e 98 cm di lunghezza totale (Fig. 2).

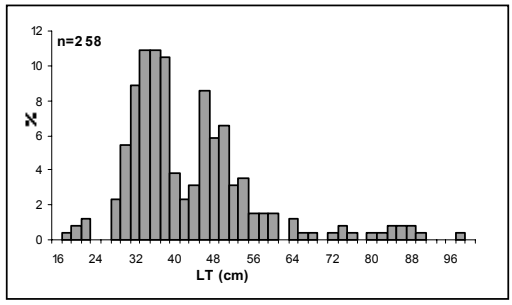


Fig. 2 – Distribuzione di frequenza di *R. brachyura.*
Frequency distribution of R. brachyura.

Questa specie, inoltre, risulta avere una distribuzione spaziale altamente localizzata essendo stata catturata esclusivamente nelle acque antistanti l'estremità nord occidentale dell'isola dell'Asinara (Fig. 3) tra i 30 ed i 60 m di profondità. Da segnalare anche la presenza di altre quattro specie di Rajidi caratteristici dei fondi duri e molli dell'area: *Raja clavata*, *R. miraletus, R. montagui* e *R. radula.* Secondo in abbondanza è risultato essere lo squaliforme *Scyliorhinus canicula* (33.50% rispetto al totale delle catture) con individui pescati durante tutto l'arco del campionamento. A differenza della *R. brachyura*, le taglie di lunghezza di questo pesce cartilagineo sono risultate essere comprese tra 36 e 50 cm (Fig. 4). Da segnalare anche le catture di un individuo di *Dasyatis centroura* (n=1, TL=92 cm) e di due individui di *Torpedo nobiliana* (n=1, TL=54.4 cm; n=2, TL=31 cm) specie rare in particolar modo nelle catture della piccola pesca.

Fig. 3 – Localizzazione delle catture di *R. brachyura.*
Catch distribution of R. brachyura.

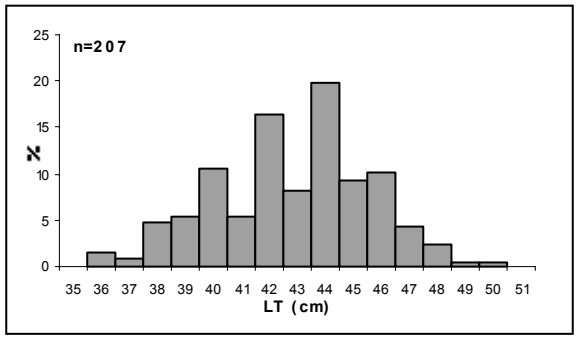


Fig. 4 – Distribuzione di frequenza di *S. canicula.*
Frequency distribution of S. canicula.

Conclusioni

La ricchezza specifica riscontrata all'interno del taxon è senz'altro determinata dell'elevata varietà morfologica e biocenotica delle acque del Parco. In particolare le catture di cinque specie di Rajidi sono da mettere in relazione a questo aspetto, considerata la forte dipendenza di questo gruppo nei confronti delle caratteristiche bioecologiche dell'ambiente circostante. Le biocenosi dei fondi molli, presenti oltre i 30 m nella parte orientale dell'isola dove il fondale declina gradualmente fino ad una profondità massima di circa 50 m, spiegano la presenza di *R. miraletus* e *R. asterias*. Queste specie infatti sono tipiche dei substrati incoerenti delle sabbie fini ben calibrate e delle sabbie miste a fango. *R. radula*, *R. montagui* e *R. clavata* sono invece tipiche di substrati fango argillosi, rocciosi o misti, questi ultimi ben rappresentati in modo discontinuo nelle acque di tutto il perimetro insulare. Ancora più interessante la massiccia e concentrata presenza di *R. brachyura* le cui catture si sono verificate nell'estremità NE dell'isola tra Punta Scorno e Punta Corvi. In questa zona i fondali sono caratterizzati da una copertura di *Posidonia oceanica* nei primi 15 m, seguita dalla biocenosi delle sabbie bioclastiche detta del Detritico Costiero (DC). Intorno ai 40 m di profondità si sviluppa, in particolare davanti a Punta Scorno, una comunità dominata da alcune grandi Feoficee tra cui la *Cystoseira zosteroides*, estremamente rara in Mediterraneo. La particolare varietà e ricchezza dei fondali risulterebbe pertanto un ipotetico habitat ideale per lo sviluppo di questa specie. La presenza dell'ampio intervallo di taglie riscontrato può essere infatti un'indicazione dell'esistenza di una comunità stanziale nell'area. Per quanto riguarda le catture di *S. canicula*, queste si sono verificate prevalentemente nel settore S-SW dell'isola. Le taglie riscontrate nelle catture rappresentano la porzione di subadulti ed adulti della popolazione (Capapè, 1977; Tortonese, 1956) e sono probabilmente determinate dalla selettività dell'attrezzo da pesca. Di particolare rilievo a nostro avviso le due catture di *T. nobiliana*. Questa specie, pur essendo stata segnalata nelle acque mediterranee (Fisher *et al.,* 1987*;* Whitehead *et al.,* 1984), rimane ancora poco conosciuta sia a livello biologico che ecologico (Tortonese, 1956). La sua presenza nelle acque del Parco dell'Asinara è un'ulteriore conferma dell'elevata qualità ambientale del luogo.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Dott. G. Lauriano per la collaborazione offertaci.

Bibliografia

BINI G. (1967) - *Atlante dei pesci delle coste italiane*. Mondo sommerso srl, Milano **1**: 207 pp.

CAPAPE' C. (1977) - Contribution à la biologie des Scyliorhinidae des côtes tunisiennes. 1. *Scyliorhinus canicula* (Linnae 1758) Rèpartition gèographiques et bathymètrique, sexualitè, reproduction, feconditè. *Bull. Off. Natl. Peches Tunisia*, **1** (1): 83-101.

FICHER W., SCHNEIDER M., BAUCHOT M.L. (1987) - *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la peche. Méditerranée et mer Noire. Zone de peche 37.* Vertébrés, FAO, **2**: 761-1530.

TORTONESE E. (1956) - *Leptocardia, Cyclostomata e Selachii.* Fauna d'Italia. Ed. Calderini, Bologna: 334 pp.

WHITEHEAD P.J.P, BAUCHOT M.L., HUREAU J.C., NIELSEN J., TORTONESE E. (1984) - *Fishes of the north-eastern Atlantic and Mediterranean*. UNESCO, Paris, **1**: 510 pp.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (1): 659-662

L. Ceriola, G. Marano, A.M. Pastorelli, P.G. Tiscar*, A. Ciarelli*

Laboratorio Provinciale di Biologia Marina, Molo Pizzoli (Porto) – 70123 Bari, Italia.
biologia.marina@teseo.it
* Fac. Med. Vet., Univ. degli Studi, P.zza A. Moro - 64100 Teramo, Italia.

BIODIVERSITÀ DEI FONDI MOBILI NELL'AREA COSTIERA DI TORRE DEL CERRANO (ABRUZZO, ITALIA)

SOFT BOTTOM BIODIVERSITY IN THE "TORRE DEL CERRANO (ABRUZZO, ITALY)" COASTAL AREA

Abstract

The biodiversity of the soft bottom in the coastal area from the Vomano river to the Piomba river (Central Adriatic) has been studied. Three sub-areas characterised by different biodiversity levels have been found following latitudinal gradient (North to South).

Key-words: *zoobenthos, biodiversity, coastal zone, substrata, Adriatic Sea.*

Introduzione

Nell'ambito della seconda fase dello studio di fattibilità propedeutico all'istituzione dell'Area Marina Protetta "Torre del Cerrano" in provincia di Teramo (Abruzzo, Italia), è stata condotta una indagine conoscitiva relativa alle comunità bentoniche dei substrati incoerenti nel tratto di mare compreso tra le foci dei fiumi Vomano e Piomba (Adriatico Centrale).

Scopo dello studio e del presente lavoro è stato una prima valutazione del livello di diversità dell'area d'indagine attraverso analisi qualitativa e quantitativa delle specie macrozoobentoniche presenti.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati utilizzando una benna tipo Van Veen da 0,0625 m^2, lungo dieci transetti perpendicolari alla linea di costa indicati con lettere dalla A alla L, e posti ad una distanza di un miglio l'uno dall'altro. Il primo transetto (A), quello più a Nord, è stato dislocato in prossimità della foce del fiume Vomano, l'ultimo (transetto L) quello più a Sud, all'altezza della foce del torrente Piomba. Lungo questi transetti è stato effettuato un prelievo ogni due metri di profondità fino alla batimetria dei dieci metri, per un totale di 50 campioni.

Per ciascun punto di prelievo è stata realizzata un'analisi qualitativa (riconoscimento tassonomico a livello di specie/genere) e quantitativa (in termini di abbondanza e biomassa) degli organismi macrozoobentonici raccolti.

I dati relativi alle specie ed agli individui rinvenuti sono stati utilizzati per lo studio della struttura delle comunità attraverso analisi univariata con il calcolo degli indici di diversità specifica di Shannon-Weaver e di dominanza di Simpson (Magurran, 1988), e multivariata attraverso Cluster Analysis (cluster gerarchico agglomerativo, legame lineare) (Clarke and Warwick, 1994), indice di similarità di Bray-Curtis, in seguito alla normalizzazione dei dati attraverso radice quarta (Clarke and Green, 1988), per ridurre l'influenza delle specie occasionalmente molto abbondanti.

Risultati

L'analisi dei campioni ha portato al riconoscimento di 29 *taxa* appartenenti ai seguenti gruppi tassonomici: Bivalvi (14), Policheti (5), Gasteropodi (3), Crostacei (2), Cnidari (2), Echinodermi (2) e Scafopodi (1) (Fig. 1). Molluschi Bivalvi ed Anellidi Policheti sono risultati i *taxa* più abbondanti e frequenti con *Donax semistriatus* ed *Owenia fusisormis* presenti in 48 punti di prelievo su 50.

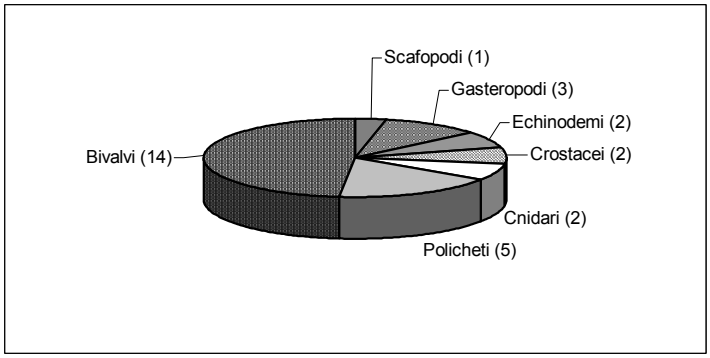


Fig. 1 – Distribuzione qualitativa dei diversi *taxa* rinvenuti.
Qualitative distribution of the collected taxa.

La distribuzione di questi *taxa* ha determinato, nell'ambito dell'area d'indagine, la presenza di livelli di biodiversità differenti procedendo in direzione Nord-Sud e dalla linea di costa verso il largo, come mostrato dall'andamento dei bioindici. Il valore massimo dell'indice di diversità, ed il minimo dell'indice di dominanza (Shannon-Weaver = 0,840; Simpson = 0,242) sono stati riscontrati in prossimità del fiume Vomano; ed il minimo di diversita specifica con massimo di dominanza nella parte centrale dell'area (Shannon-Weaver = 0,194; Simpson = 0,894) (Fig. 2). Caratteristico di tutta l'area, inoltre, l'incremento della diversità riscontrato in direzione costa–largo a fronte di una riduzione della dominanza specifica (Fig. 3).

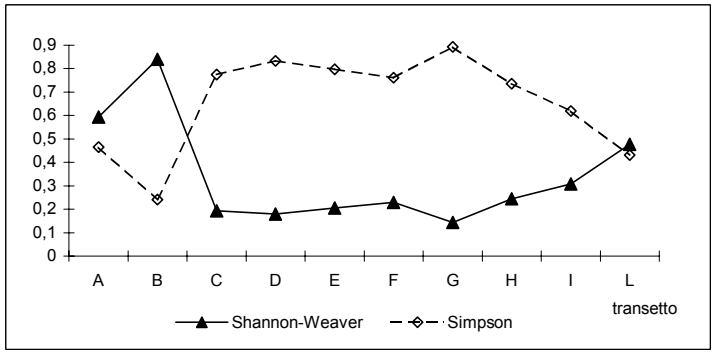


Fig. 2 – Andamento dei bioindici rispetto ai singoli transetti.
Trend of the bioindices per sampling transepts.

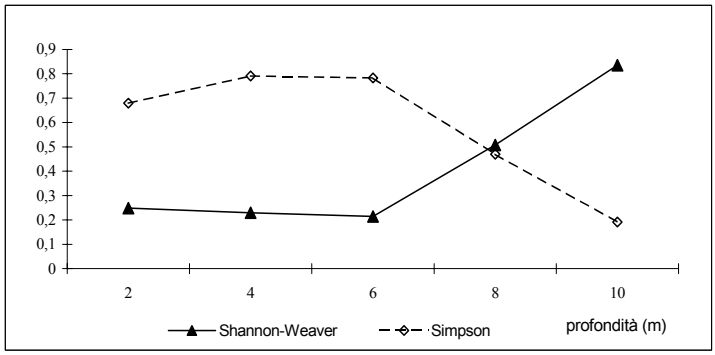


Fig. 3 – Andamento dei bioindici rispetto alla profondità.
Trend of the bioindices per sampling depths.

La Cluster Analysis ha mostrato, ad un livello di similarità del 30%, l'esistenza di quattro raggruppamenti di stazioni. La distribuzione spaziale delle stazioni afferenti a questi cluster ha permesso di individuare, all'interno dell'area d'indagine e procedendo in direzione Nord-Sud, tre sub-aree caratterizzate da un livello di similarità differente. La prima in prossimità del fiume Vomano, la seconda comprendente la quasi totalità dell'area, ed una terza, piccola, che comprende parte dei transetti più a Sud (Fig. 4).

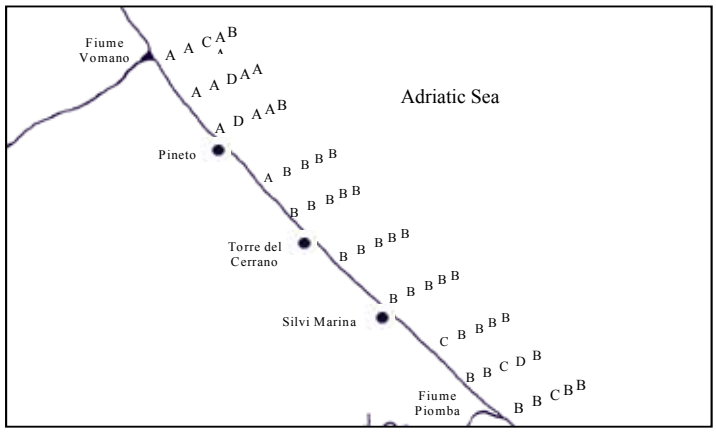


Fig. 4 – Raggruppamenti delle stazioni risultanti dalla Cluster-Analysis.
Classification of sampling sites by means of Cluster-Analysis.

Conclusioni

I risultati ottenuti mostrano, procedendo in direzione Nord-Sud, la presenza di una prima zona, relativamente ricca di specie e con il livello di biodiversità maggiore nell'ambito dell'intera area d'indagine; di una seconda, comprendente la quasi totalità dell'area e con al centro la proiezione della Torre del Cerrano, più povera rispetto alla

precedente; e di una terza, comprendente pochi punti di prelievo, a Sud, con un leggero incremento dei valori di diversità rispetto alla seconda.

L'intera area, inoltre, alla luce di questi primi dati appare caratterizzata dalla presenza di un popolamento bentonico piuttosto omogeneo e non particolarmente ricco di specie.

Bibliografia

CLARKE K.R., GREEN R.H. (1988) – Statistical design and analysis for a "biological effects" study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **46**: 213-226.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) – Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Environmental Research Council, UK*: 144 pp.

MAGURRAN A.E. (1988) - Ecological diversity and its measurement. *Chapman & Hall, London*: 192 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 663-666

L.A. Chessa, P. Melis[1], A. Pais, M. Scardi[2], S. Serra, P. Di Dato[2]

Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari, Via E. De Nicola, 9 - 07100 Sassari, Italia.
[1]DISAABA, Università di Sassari, Italia.
[2]Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", Italia.

RICERCA DI STADI GIOVANILI DI *CERASTODERMA GLAUCUM* E *TAPES DECUSSATUS* NELLO STAGNO DI CALICH (ALGHERO)

SEARCH OF JUVENILE STAGES OF CERASTODERMA GLAUCUM *AND* TAPES DECUSSATUS *IN THE CALICH LAGOON*

Abstract

This paper deals with a study on the changes in abundance and size structure of the juvenile populations of Cerastoderma glaucum *and* Tapes decussatus *(Bivalvia) in the Calich lagoon (Sardinia) throughout a whole yearly cycle. Our results show that in spite of the sedimentary homogeneity of the lagoon, the two populations show significant differences among sites.*

Key-words*: lagoon, molluscs, Sardinia.*

Introduzione

Una precedente ricerca (Chessa *et al.*, 1999) ha consentito di studiare la distribuzione dei molluschi bivalvi di fondo mobile di interesse commerciale dello stagno di Calich. I risultati avevano messo in luce il valore di queste risorse, ma anche indicato la probabile scarsità di stadi giovanili. In questo lavoro si è voluta condurre un'indagine mirata alla ricerca di tale componente al fine di fornire un ulteriore contributo conoscitivo in vista del prossimo sfruttamento a fini economici dei molluschi bivalvi del Calich.

Materiali e metodi

Ai fini della ricerca degli stadi giovanili sono state considerate le 4 stazioni che l'indagine precedente aveva indicato come rappresentative (Fig. 1). Per quanto concerne le specie indagate, sono state scelte le 2 più valorizzate dal mercato locale: l'arsella, *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789) e la vongola verace, *Tapes decussatus* (Linneo, 1758).

I campionamenti sono stati effettuati stagionalmente nell'arco di 12 mesi. Per le raccolte ci si è avvalsi di una vongolara professionale a cui era stata applicata una rete con maglie da 3 mm ed i campioni sono stati prelevati in ciascuna stazione procedendo dalla linea di riva verso il largo. Ci si è imposti di raccogliere un numero di individui per stazione non inferiore a 50. Ciò ha comportato un minimo di 5 repliche per stazione per ogni stagione, pari ad un volume totale di sedimento di 74 litri. Il setacciamento e la fissazione (formalina al 4% neutralizzata) sono stati effettuati *in situ*, mentre in laboratorio si è proceduto alle verifiche tassonomiche, all'enumerazione ed alle misure biometriche degli esemplari, misurando la lunghezza massima (asse oro-aborale). Sono stati considerati tutti gli esemplari delle due specie fino alla taglia massima di 25 mm. L'analisi statistica dei dati, a causa della non normalità delle distribuzioni delle taglie, è stata effettuata facendo ricorso al test non parametrico di Kruskal-Wallis (1952), analogo all'analisi della varianza.

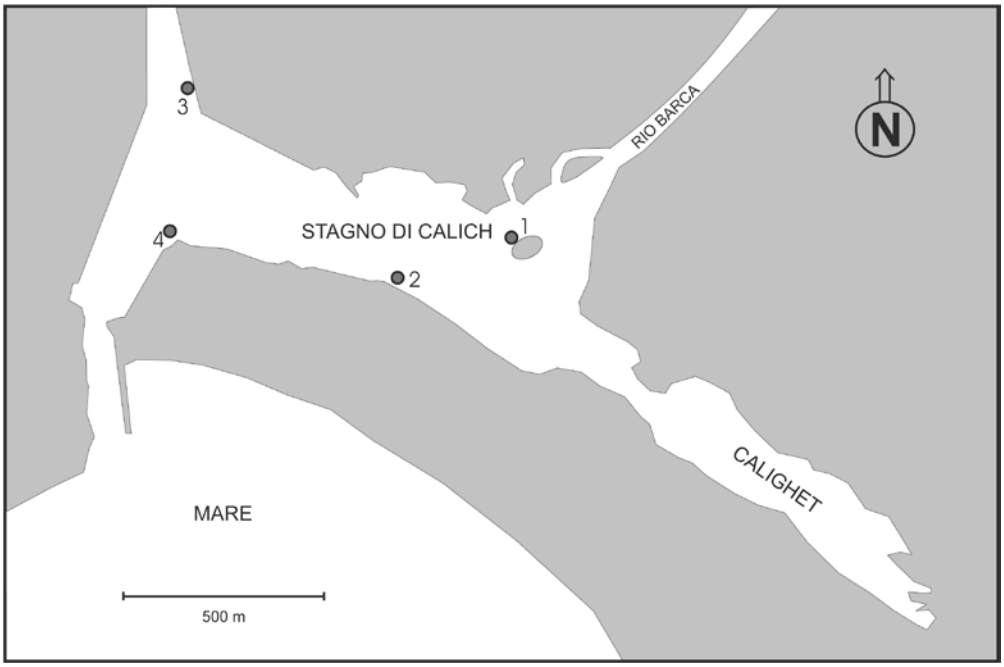


Fig. 1 – Stagno di Calich: stazioni di raccolta del seme di *Cerastoderma* e *Tapes*.
The Calich lagoon: sampling stations of the seed of Cerastoderma *and* Tapes.

Risultati

Osservando la Tab. 1 si nota come *C. glaucum* sia ben rappresentato soprattutto nella stazione 1 in quasi tutti i periodi dell'anno, ma particolarmente in primavera ed autunno, mentre *T. decussatus* presenta le maggiori densità nelle stazioni 3 e 4, cioè più vicino alla foce del Calich. Dall'esame delle taglie (Tabb. 2-3), si osserva che per *C. glaucum* quelle minime (mediana di 12 e 10 mm; stazioni 1 e 2 rispettivamente), sono più abbondanti nel periodo estivo.

Tab. 1 – Dati sui campioni e densità di *Cerastoderma* e *Tapes*. ST: Stazioni; VS: volume del sedimento (l) globalmente raccolto; Cg: *Cerastoderma*; Tp: *Tapes* (individui/m^3).
Samples data and densities of Cerastoderma *and* Tapes*. ST: Stations; VS: total sediment volume (l); Cg:* Cerastoderma*; Tp:* Tapes *(individuals/m^3).*

	AUTUNNO			INVERNO			PRIMAVERA			ESTATE		
Stazione	**VS**	**Cg**	**Td**	**VS**	**Cg**	**Td**	**Vs**	**Cg**	**Td**	**VS**	**Cg**	**Td**
1	59	3110	799	118	1053	425	88	3298	703	118	603	561
2	74	476	843	88	963	725	88	816	499	59	1768	1564
3	44	748	2311	59	1326	2074	59	1683	1700	88	873	1666
4	59	595	1445	59	1156	1581	59	1020	2142	59	2278	2380

Tab. 2 – *Cerastoderma glaucum*: distribuzione delle lunghezze delle conchiglie in quartili.
Cerastoderma glaucum*: quartile shell length distribution.*

data	**07-08/11/1996**				**20/02/1997**				**20/05/1997**				**25/09/1997**			
stazione	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**
massimo	21	20	22	21	25	25	25	25	25	25	25	25	20	24	23	23
3° quartile	16	17	20	20	21	24	24	24	21	22	22	23	15	14	18	19
mediana	14	14	19	18	18	22	22	23	18	17	21	22	12	10	13	17
1° quartile	12	11	16	18	16	17	21	21	15	9	20	18	10	8	11	15
minimo	6	6	8	9	8	8	14	13	8	7	8	7	8	6	5	6

Tab. 3 – *Tapes decussatus*: distribuzione delle lunghezze delle conchiglie in quartili.
Tapes decussatus*: quartile shell length distribution.*

data	**07-08/11/1996**				**20/02/1997**				**20/05/1997**				**25/09/1997**			
stazione	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**
massimo	25	25	24	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
3° quartile	21	23	20	21	22	23	23	24	18	18	21	17	22	19	21	22
mediana	14	19	16	18	20	20	18	21	14	13	15	12	20	15	18	17
1° quartile	12	16	13	15	16	17	15	17	11	10	11	8	17	13	14	13
minimo	6	9	7	6	8	6	8	9	8	7	6	4	10	6	6	6

La distribuzione delle 2 specie nelle 4 stazioni non sembra collegabile alla tessitura dei sedimenti (dati non riportati) da cui emergono, per tutte, percentuali della frazione sabbiosa abbastanza simili, con l'eccezione della stazione 1, ove si osserva la massima incidenza di questa frazione (45%) con dominanza tuttavia di *Cerastoderma*.

I test di Kruskal-Wallis (Tabb. 4-5) hanno dato per *Cerastoderma* e *Tapes* una risposta univoca: infatti per tutte le stazioni e per tutti i periodi, con la sola eccezione del campione invernale di *Tapes*, si può rigettare l'ipotesi nulla di omogeneità delle taglie. Ciò, ovviamente, implica una certa eterogeneità spaziale delle due popolazioni.

Tab. 4 - C*erastoderma glaucum*: test di Kruskal-Wallis.
Cerastoderma glaucum*: Kruskal-Wallis test.*

Stagione	**n**	**H**	**p(H)**
Autunno	286	72,293	0,000**
Inverno	354	67,145	0,000**
Primavera	521	59,878	0,000**
Estate	386	84,536	0,000**

Tab. 5 – *Tapes decussatus*: test di Kruskal-Wallis.
Tapes decussatus*: Kruskal-Wallis test.*

Stagione	n	H	p(H)
Autunno	289	13,424	0,004**
Inverno	329	6,456	0,091
Primavera	331	14,947	0,002**
Estate	453	25,081	0,000**

È interessante notare come i valori della statistica H di Kruskal-Wallis siano molto maggiori per *Cerastoderma* che per *Tapes*, più o meno a parità di dimensioni dei campioni: ciò evidentemente conferma il fatto che la popolazione della prima specie è più eterogenea nelle stazioni esaminate rispetto a quella della seconda.

Dai dati (non riportati), di presenza nelle 4 stazioni del vero "seme" (taglia fino a 10 mm) resta confermata l'importanza delle stazioni 1 e 2 per *Cerastoderma* e 3 e 4 per *Tapes*. Il reclutamento di *Cerastoderma* appare più intenso nel periodo estivo e ciò è particolarmente evidente nel caso della stazione 2. Quello di *Tapes* ha inizio invece in primavera per estendersi poi all'estate.

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno mostrato come lo stagno di Calich sia sostanzialmente omogeneo per ciò che riguarda la matrice sedimentaria (dati non riportati), probabilmente anche a causa dei fenomeni di risospensione dei sedimenti dovuti alle attività di pesca ed all'azione delle forzanti eoliche ed idrodinamiche. Nonostante ciò, le popolazioni delle due specie indagate appaiono eterogenee nelle diverse stazioni considerate. Ciò riafferma ancora una volta l'importanza delle conoscenze biologiche ai fini di un corretto sfruttamento delle risorse dello Stagno, anche in considerazione del fatto che esso non pare disporre di quantità di seme tali da far fronte ad una pesca intensiva di vongola ed arsella per fini commerciali.

Bibliografia

CHESSA L.A., PAIS A., SCARDI M., SERRA S. (1999) - Distribuzione dei Molluschi Bivalvi di fondo mobile d'interesse commerciale nel compendio ittico di Calich (Sardegna Nord-occidentale). *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 561-565.

KRUSKAL W.H., WALLIS W.A. (1952) - Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J. Am. Stat. Assoc.*, **47**: 583-621.

Ricerca finanziata dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 667-670

I. Corsi, M. Mariottini, V. Menchi, S. Bonacci,
N. Borghesi, G. Frenzilli*, M. Nigro*, S. Focardi

Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena,
Via delle Cerchia, 3 - 53100 Siena, Italia.
*Dip. Morfologia Umana e Biologia Applicata, Università degli Studi di Pisa, Italia.

APPLICAZIONE DI UN APPROCCIO INTEGRATO DI BIOMARKERS E ANALISI CHIMICHE PER VALUTARE IL GRADO DI INQUINAMENTO IN AMBIENTE ACQUATICO: A CONFRONTO DUE LAGUNE COSTIERE ITALIANE

APPLICATION OF MULTIPLE BIOMARKERS AND CHEMICAL ANALYSIS FOR ASSESSING ENVIRONMENTAL POLLUTION: A FIELD STUDY IN TWO ITALIAN COASTAL LAGOONS

Abstract

*European eels (*Anguilla anguilla *L.) were collected in Winter 2001 from the highly eutrophicated Orbetello lagoon and the low polluted Santa Giusta lagoon (Italy). Contaminants exposure levels were assessed by measuring cytochrome P450 activities in liver tissues while in muscle tissue, concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were determined. Environmental exposure to insecticides was evaluated by measuring Acetylcholinesterase (AChE) activity. Moreover, DNA integrity was evaluated in erythrocytes by single cell gel electrophoresis.*

Key-words: *CYP1A1, DNA damage, AChE, contaminants.*

Introduzione

Le lagune costiere caratterizzate da un elevato valore ecologico sono spesso esposte ad elevate pressioni antropogeniche dovute all'incrementarsi di attività agricole, industriali ed urbane. Negli ultimi anni si è assistito allo sviluppo e diffusione di programmi di monitoraggio basati sull'applicazione di un approccio integrato dato dall'insieme di un gruppo di *biomarker* sensibili all'esposizione ai più diffusi inquinanti ambientali e dall'analisi degli stessi nei tessuti di organismi bersaglio individuati quali bioindicatori dell'area di studio. L'utilizzo di tecniche analitiche sensibili e riproducibili ha permesso talvolta di individuare i cambiamenti cui è soggetto l'ambiente naturale sia in condizioni "normali" che di stress associato a fenomeni di inquinamento. La misura delle risposte biologiche, note come *biomarker,* a differenti livelli dell'organizzazione biologica, può permettere di valutare effetti sub-letali quali potenziali campanelli d'allarme di fenomeni di tossicità per le forme biologiche. Allo stesso tempo, le incertezze legate al tipo di inquinante responsabile di una determinata risposta biologica, possono trovare risposta negli strumenti chimico-analitici con la determinazione del contenuto a livello dell'organismo dei principali inquinanti dell'ambiente marino. Il presente studio è stato condotto in esemplari di *Anguilla anguilla* prelevati da due lagune costiere caratterizzate da differente grado di antropizzazione quali la laguna di Orbetello (GR) situata nel Tirreno nord occidentale e quella di Santa Giusta (OR) situata nell'area del golfo di Oristano.

Materiali e metodi

Esemplari giovanili di anguilla (lunghezza 42,33 ± 5,15 cm e 30 ± 2,89 cm Orbetello e Santa Giusta rispettivamente) sono stati prelevati nell'inverno 2001 in entrambi i bacini di Ponente e di Levante della laguna di Orbetello e nella laguna di Santa Giusta mediante comuni pratiche di pesca. Tutti gli organismi sono stati dissezionati *in situ*: campioni di sangue sono stati trasportati entro 24 h in laboratorio per le analisi del danno al DNA mentre fegato, cervello e porzioni di muscolo dorsale trasportate in azoto liquido e conservati a –80 °C fino al momento dell'analisi. Le attività EROD (Burke e Mayer, 1974) e BaPMO (Kurelec *et al*., 1977) sono state determinate sulla frazione microsomiale epatica; l'attività AChE è stata determinata su omogenato muscolare e cerebrale (Ellman *et al*., 1960) e il Comet assay su emociti (Frenzilli *et al*., 1999). La determinazione dei Policlorobifenili (PCB) come Aroclor 1254 mediante GC/ECD e dei 16 Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) raccomandati dall'Environmental Protection Agency (EPA) mediante HPLC/fluorescenza (modificato da Cousins *et al*., 1999), è stata condotta su tessuto muscolare dorsale.

Risultati

I risultati ottenuti dalle analisi biochimico-enzimatiche (Tab. 1) e chimico-analitiche (Tab. 2) in entrambe le aree hanno permesso di descrivere le condizioni delle due lagune costiere in termini di esposizione ed effetti biologici a carico della fauna ittica. Le attività del sistema P450 quali EROD e BaPMO risultano significativamente più elevate ($p < 0.05$) negli esemplari prelevati ad Orbetello rispetto a quelli povenienti da Santa Giusta.

Tab. 1 – Media e deviazione standard (ds) dei biomarkers analizzati nelle anguille.
Mean and standard deviation (sd) of all biomarkers analysed in European eels.

Laguna	Lunghezza cm	EROD[1]	BaPMO[2]	NADH ferrired [3]	NADH cit c [3]	NADPH cit c [3]	AChE m[3]	AChE c[3]	Comet
Orbetello	42,33	37,3	5,5	850,2	10	18,2	45,5	130,1	42,41
	(5,15)	(2,2)	(2,6)	(231,9)	(3,3)	(7,2)	(11,5)	(40,2)	(10,87)
S. Giusta	47,64	20,5	3,8	1310	17,6	72,6	37,6	57	33,87
	(16,48)	(1,11)	(1,4)	(321,4)	(3,1)	(24)	(12,6)	(26,6)	(13,34)

[1] pmol/min/mg proteine
[2] UF/min/mg proteine
[3] nmol/min/mg proteine

Tab. 2 – Media e deviazione standard (ds) del contenuto muscolare di PCB (somma di 49 congeneri) e IPA nelle anguille.
Mean and standard deviation (sd) of PCBs (sum of 49 congeners) and PAHs muscle content expressed on lipid base.

Laguna	PCB*	IPA*	% lipidi
Orbetello	164,85	6,46	25
	(20,85)	(6,91)	
S. Giusta	73,84	24,35	27
	(53,49)	(3,93)	

* ng/g lipidi

Entrambe le attività risultano inoltre dello stesso ordine di quelle osservate su anguille provenienti dalla laguna di Orbetello ed esposte in laboratorio a concentrazioni di 10 mg/Kg peso corporeo di Aroclor 1254 (Regoli *et al*., 2002). Il contenuto di PCB (somma di 49 congeneri) a livello muscolare (ng/g peso lipidico) risulta più elevato negli esemplari prelevati ad Orbetello rispetto a Santa Giusta. Al contrario in accordo con quanto riportato per questa specie in letteratura, livelli più elevati dei 16 IPA si riscontrano nelle anguille di Orbetello in seguito a metabolizzazione da parte del sistema MFO (van der Oost *et al*., 1994) . Per la laguna di Orbetello si ipotizza quindi un maggior apporto di idrocarburi clorurati ed aromatici come già documentato dalla presenza di fonti puntiformi di composti aromatici e diossino-simili nell'area del depuratore ed ex Sitoco (Jimenez *et al*., 1998).

Analogamente, eritrociti di anguille campionate ad Orbetello hanno mostrato una minore integrità del DNA rispetto alle cellule degli organismi campionati a S. Giusta.

Per quanto riguarda la funzionalità dell'enzima AChE, i valori registrati negli esemplari di Santa Giusta risultano inferiori a quelli di Orbetello sia a livello muscolare che cerebrale. In particolare, a livello cerebrale, gli esemplari di Santa Giusta presentano attività AChE inferiori del 50% rispetto agli esemplari di Orbetello, facendo ipotizzare che in questa laguna vi sia un maggior rilascio di sostanze ad azione inibitoria nei confronti di questo enzima quali insetticidi organofosforici e carbammati.

Conclusioni

L'approccio multilivello utilizzato ha permesso di ottenere un quadro generale sulle condizioni biologiche (fauna) e chimiche (inquinamento) delle due lagune costiere quale punto di partenza per predisporre, ove necessario, interventi adeguati al risanamento e al controllo delle fonti e dell'entità dei fenomeni inquinanti. Sono attualmente in corso studi per approfondire eventuali variazioni stagionali nei parametri osservati al fine di identificare lo stress negli ambienti lagunari a carico della fauna ittica. In particolare lo studio attualmente condotto nella laguna di Orbetello dagli autori del Dipartimento di Scienze Ambientali nei sedimenti e nella fauna ittica potrà fornire utili informazioni sulla presenza, biodisponibilità ed effetti biologici delle principali classi di inquinanti dell'ecosistema acquatico.

Bibliografia

BURKE M.D., MAYER R.T. (1974) - Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal-*O*-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholantrene. *Drug Metab. Dispo.*, **2** (6): 583-588.

COUSINS I.T., GEVAO B., JONES K.C. (1999) - Measuring and modelling the vertical distribution of semivolatile organic compounds in soils. I: PCB and PAH soil core data. *Chemosphere*, **39** (14): 2507-2518.

ELLMAN G.L., COURTNEY K.D., ANDREAS V. Jr., FEATHERSTONE R.M. (1961) - A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7**: 82-88.

FRENZILLI G., SCARCELLI V., TADDEI F., NIGRO M. (1999) - Adaptation of SCGE for monitoring marine ecosystems. *Neoplasma*, **46**: 6-7.

KURELEC B., BRIVTIC S., RIJAVEC M., MULLER W.E.G., ZAHN R.K. (1977) - Benzo(a)pyrene monooxigenase induction in marine fish. Molecular response to oil pollution. *Mar. Biol.*, **44**: 211-216.

JIMENEZ B., HERNANDEZ L.M., GONZALEZ M.J., ELJARRAT E., RIVERA J., FOSSI M.C. (1998) - Congener specific analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in

crabs and sediments from the Venice and Orbetello lagoons, Italy. *Environ. Sci. Technol.,* **32***:* 3853-3861.

REGOLI F., GORBI S., FRENZILLI G., NIGRO M., CORSI I., FOCARDI S., WINSTON G. (2002) - Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Mar. Environ. Res.*, **54**: 419-423.

VAN DER OOST R., VAN SCHOOTEN F., ARIESE F., HEIDA H., SATUMALAY K., VERMEULEN N.P.E., (1994) - Bioaccumulation, biotrasformation and DNA binding of PAHs in feral eel (*Anguilla anguilla*) exposed to polluted sediments: a filed survey. *Environ. Toxicol. Chem*., **13** (6): 859-870.

Lo studio è stato condotto nell'ambito del cofinanziamento MIUR 1999-2001 "Biodiversità, conservazione e gestione dei biotopi salmastri lungo le coste italiane" coordinatore Prof. Cognetti, Università di Pisa.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 671-674

G. De Falco, E. Molinaroli*, M. Baroli, S. Bellacicco*

International Marine Centre, Località Sa Mardini - 09072 Torregrande, Oristano, Italia.
*Dip. Sc. Ambientali, Università di Venezia, Venezia, Italia.

INFLUENZA DELLE PRATERIE DI *POSIDONIA OCEANICA* SULLA COMPOSIZIONE DEI SEDIMENTI DELLE SPIAGGE DELLA PENISOLA DEL SINIS (SARDEGNA OCCIDENTALE)

INFLUENCE OF POSIDONIA OCEANICA *MEADOWS ON SEDIMENT COMPOSITION OF SANDY SHORES OF SINIS PENINSULA (WESTERN SARDINIA)*

Abstract

The contribution of biogenic sediments produced by the Posidonia oceanica *seagrass ecosystem to shore sediment composition was studied in four beaches along the Sinis Peninsula, west Sardinia. The beach sediments showed a variable amount of biogenic carbonate derived from sediments of* P. oceanica *meadows.*

Key-words*:* Posidonia oceanica*, beaches, biogenic sediments.*

Introduzione

Posidonia oceanica stabilizza i litorali sabbiosi attenuando il moto ondoso con le foglie e contribuendo all'innalzamento dei fondali in seguito alla crescita verticale della *matte* (Boudouresque e Jeudy de Grissac, 1983). La regressione del limite superiore delle praterie può causare arretramento della linea di riva, in seguito all'aumento della pendenza della spiaggia sommersa (Jeudy de Grissac e Boudouresque, 1985).

I sedimenti associati alle praterie mostrano frequentemente un elevato contenuto in carbonati biogenici legati alla elevata produzione di fauna con guscio carbonatico associata alle praterie (De Falco *et al*., 2000; Jeudy de Grissac e Boudouresque, 1985).

Pochi studi hanno tuttavia analizzato il contributo al bilancio sedimentario delle spiagge dovuto all'apporto in sedimenti carbonatici biogenici prodotti all'interno delle praterie.

In questo lavoro è stato effettuato uno studio sedimentologico su quattro spiagge (Mari Ermi, Is Arutas, Maimoni e S. Giovanni del Sinis) della penisola del Sinis (Sardegna occidentale), con l'obiettivo di valutare le relazioni tra la composizione dei sedimenti delle spiagge e i sedimenti delle praterie di *P. oceanica*.

Materiali e metodi

E' stata realizzata la mappatura dei fondali adiacenti le spiagge con trattamento di immagini derivate da rilievi aerei al computer (software Multiscope) (Cancemi *et al.*, 2001), al fine di rilevare il limite superiore delle praterie di *P. oceanica*, e la distribuzione dei sedimenti mobili e dei fondali rocciosi.

I sedimenti sono stati campionati sulla battigia, sulla spiaggia sommersa tra il limite superiore delle praterie e la linea di riva, e all'interno delle praterie ad una profondità di circa 10 m (Fig. 1). I sedimenti sono stati analizzati per la granulometria (setacciatura e granulometria laser Galai Cis-1) e per il contenuto in carbonati (perdita in peso dopo attacco con HCl 1N).

Risultati

La cartografia dei fondali è riportata in Fig. 1. I depositi sabbiosi sono confinati nel settore Sud delle spiagge di Mari Ermi e Maimoni, sono ampiamente estesi in prossimità della spiaggia di San Giovanni e sono pressoché assenti di fronte alla spiaggia di Is Arutas. Il limite superiore delle praterie di *P. oceanica* è discontinuo con una progressiva colonizzazione dei fondali tra 5 e 10 m di profondità (Fig. 1).

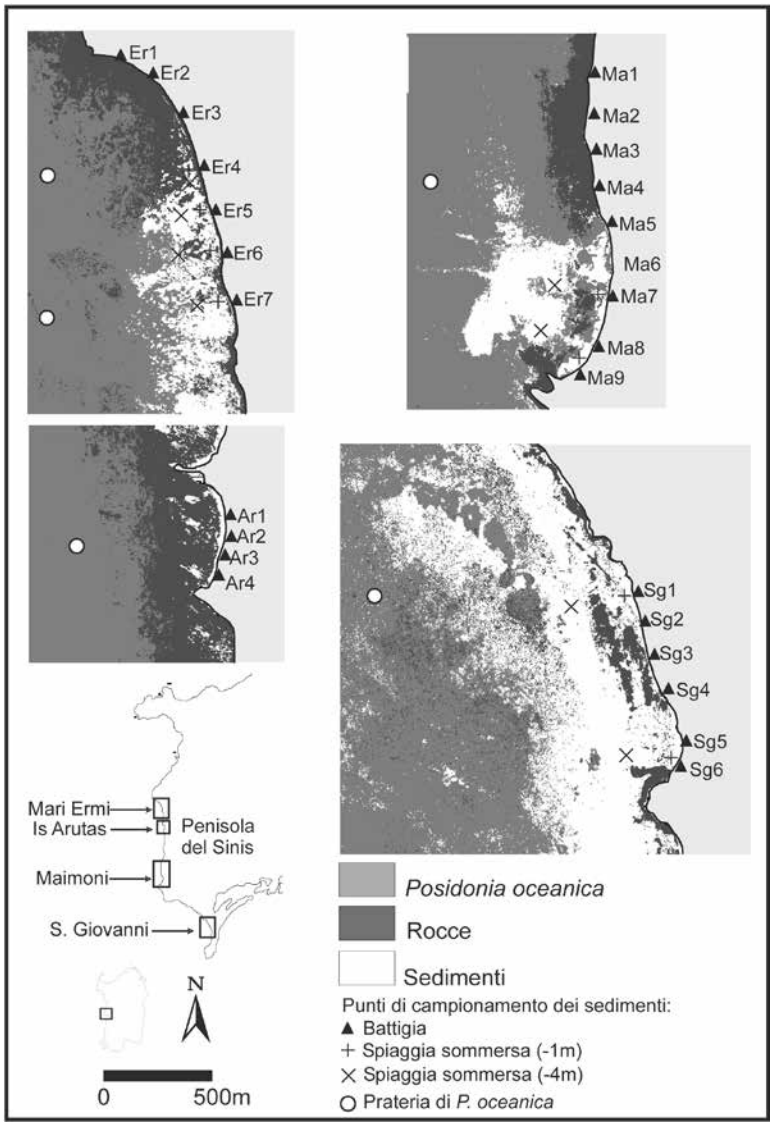


Fig. 1 – Mappe dei fondali con la distribuzione delle praterie di *P. oceanica* e le stazioni di campionamento lungo le spiagge studiate.

Seabed maps showing distribution of P. oceanica *and sampling stations along analysed beaches.*

I sedimenti delle praterie sono costituiti da sabbie grossolane prevalentemente biogeniche, con un contenuto in carbonati compreso tra il 70% e il 90%.

I depositi sabbiosi della spiaggia sommersa sono costituiti da sabbie medio fini prevalentemente biogeniche, con un contenuto in carbonati compreso tra il 40% e il 90% (Fig. 2).

I sedimenti della battigia presentano una granulometria eterogenea che va dalle sabbie grossolane e ghiaie (Nord di Mari Ermi Nord, Is Arutas, Nord di Maimoni) alle sabbie medio-fini (San Giovanni) con un contenuto in carbonati compreso tra 0% e 60% (Fig. 2).

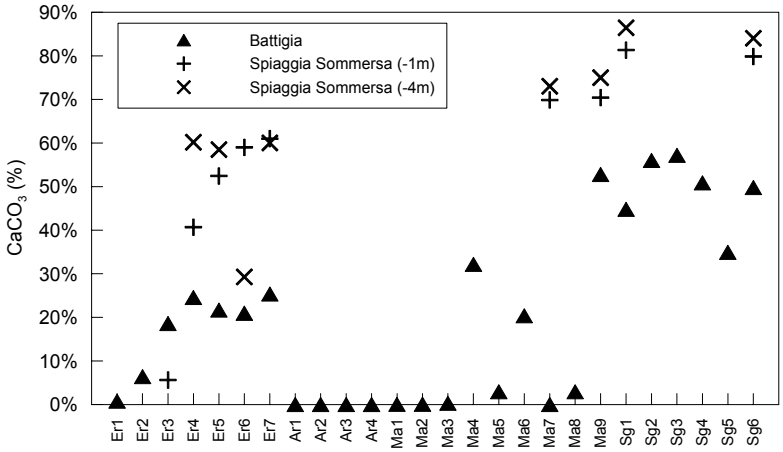


Fig. 2 – Contenuto in carbonati biogenici nei sedimenti della battigia e della spiaggia sommersa lungo le quattro spiagge studiate.
Biogenic carbonate content in foreshore and shoreface sediments along the four studied beaches.

Le curve di distribuzione granulometrica dei sedimenti della battigia e della spiaggia sommersa sono marcatamente bimodali (59% dei campioni). Il contenuto in carbonati è correlato alla frazione granulometrica <1 mm ($R = 0.98$, $p < 0.0001$).

I sedimenti della battigia prelevati nei tratti di spiaggia in corrispondenza dei depositi di sedimenti mobili sul fondale (Sud di Mari Ermi, Sud di Maimoni, spiaggia di San Giovanni), mostrano un più elevato contenuto in carbonati. I tratti di spiaggia in corrispondenza di fondali rocciosi (Nord Mari Ermi, Is Arutas e Nord Maimoni) mostrano una composizione dei sedimenti della battigia esclusivamente silicoclastica (Figg. 1 e 2).

Conclusioni

I sedimenti delle spiagge del Sinis sono il risultato di un mescolamento di una componente silicoclastica grossolana e di una componente carbonatica biogenica più fine che hanno origine da due sorgenti differenti. I sedimenti carbonatici potrebbero derivare in gran parte dall'esportazione di detrito biogenico prodotto all'interno delle praterie di *P. oceanica.* L'andamento del contenuto in carbonati biogenici decrescente

dai sedimenti delle praterie alla spiaggia sommersa fino alla battigia sembra confermare questa ipotesi. Non si esclude, tuttavia, anche un contributo all'apporto in carbonati dovuto all'erosione degli affioramenti rocciosi sedimentari presenti lungo la costa del Sinis.

Bibliografia

BOUDOURESQUE C.F., JEUDY DE GRISSAC A. (1983) - L'herbier à Posidonia oceanica en Méditerranée: les interactions entre le plant et le sédiment. *J. Rech.. Océanor*., **8** (2-3): 99-122.

CANCEMI G., BAROLI M., DE FALCO G., AGOSTINI S., PIERGALLINI G., GUALA I. (2000) - Cartografia integrata delle praterie marine superficiali come indicatore dell'impatto antropico sulla fascia costiera. *Biol. Mar. Medit.,* **7** (2): 509-516.

DE FALCO G., FERRARI S., CANCEMI G., BAROLI M. (2000) - Relationship between sediment distribution and Posidonia oceanica seagrass. *Geo-marine Letters,* **20** (1): 50-57.

JEUDY DE GRISSAC A., BOUDOURESQUE C.F. (1985) - Rôles des herbiers de phanérogames marines dans les mouvements des sédiments côtiers: les herbiers à Posidonia oceanica. *Colloque franco-japonais Oceanographie*. Marseille 16-21 Sept. 1985, **1**: 143-151.

Lavoro eseguito con il contributo del progetto SIMBIOS – Cluster Ambiente Marino, MIUR.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 675-678

L. Di Turi, S. Lo Caputo[1], M.C. Marzano[1], A.M. Pastorelli[1], M. Pompei[2], L. Rositani[1], N. Ungaro[1]

Dip. Produzione Animale, Università degli Studi di Bari, Via Amendola, 165/A - 70126 Bari, Italia.
[1]Lab. Prov. di Biologia Marina, Molo Pizzoli (Porto) – 70123 Bari, Italia.
[2]Centro Ricerche Marine, Cesenatico, Italia.

SULLA PRESENZA DI OSTREOPSIDIACEAE (DINOPHYCEAE) LUNGO IL LITORALE BARESE

OSTREOPSIDIACEAE (DINOPHYCEAE) PRESENCE ALONG THE COASTAL AREA OF BARI

Abstract

Epiphytic dinoflagellates of the genus Ostreopsis *bloomed in a south-eastern Adriatic coastal area during the summer 2001. The species was identified as* Ostreopsis ovata *Fukujo. In the same time, occasional diseases occurred for the local bathers, as well as murrains of marine organisms in limited areas. The reported diseases could be linked to the potential toxicity of the dinoflagellates and magnitude of bloom (1,000,000-2,000,000 cell./l).*

Key-words*: Dinoflagellates,* Ostreopsis*, toxic algae, South Adriatic.*

Introduzione

Alcune specie di microalghe appartenenti al gruppo delle dinoflagellate sono implicate a vario titolo in alcune problematiche di natura ambientale, quali ad esempio le "maree rosse" e le morie di organismi marini (Anderson, 1989). Tra le dinoflagellate sono inoltre incluse specie bentoniche ed, in alcuni casi, epifite di macroalghe (Bomber *et al*., 1989). Proprio queste ultime, in particolare quelle appartenenti ai generi *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Coolia* ed *Ostreopsis* sono potenzialmente tossiche, producendo sostanze quali ciguatossine e maitotossine (Yasumoto *et al*., 1987) tristemente famose in quanto causa di sindromi gravi quali la *Ciguatera* nelle aree tropicali (Russel e Egen, 1991).

Nell'ultimo decennio, alcuni dei generi menzionati sono stati segnalati anche in Mediterraneo, con la prima segnalazione in acque italiane di *Ostreopsis ovata* da parte di Tognetto *et al*. (1995) nel Mar Tirreno.

Durante l'estate del 2001, ed in particolare in agosto, alcune aree costiere del litorale barese (Adriatico sud-occidentale) sono state interessate da fenomeni di sofferenza sia dell'ambiente marino, con segnalazioni sulla presenza di aggregati pseudo-mucillaginosi in superficie e localizzate morie di organismi, sia in numerosi bagnanti con malesseri quali rino-faringiti, congiuntiviti e dermatiti.

Nel tentativo di spiegare la causa di tali fenomeni sono stati ipotizzati diversi scenari e sono state analizzate e misurate le principali variabili ambientali, nonché studiata la componente fitoplanctonica e bentonica che ha permesso di verificare la fioritura di *Ostreopsis,* genere appartenente alle Dinophyceae.

Materiali e metodi

Nel mese di agosto 2001, a seguito di segnalazioni da parte delle autorità competenti, tecnici e biologi del Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari si sono

recati presso un tratto costiero localizzato immediatamente a sud della cittadina di Mola di Bari (Fig. 1).

Fig. 1 – Area interessata alla fioritura di *Ostreopsis*.
Location of the Ostreopsis *bloom.*

Durante i sopralluoghi si è proceduto ad un'ispezione visiva, oltre che al prelievo di quattro campioni di acqua ed organismi, in un area ristretta direttamente interessata al fenomeno, per le successive analisi. I principali parametri chimico-fisici quali temperatura (°C), salinità (g/l) e pH sono stati misurati in loco mediante l'utilizzo di una sonda multiparametrica.

I quattro campioni sono stati analizzati al fine di valutare la concentrazione dei nutrienti e la composizione quali-quantitativa del fitoplancton. L'analisi dei nutrienti è stata effettuata per via spettrofotometrica in accordo con le metodiche standard (Strickland e Parsons, 1972), mentre per l'analisi del fitoplancton, dopo fissazione in soluzione 4% di formalina neutralizzata, si è seguita la metodologia di Utermöhl (Zingone *et al.,* 1990).

Per la determinazione del fitoplancton è stato seguito anche il metodo di Friz e Triemer (1985) che utilizza il calcofluor quale colorante fluorescente.

Risultati

L'ispezione visiva del luogo ha evidenziato, nella piccola baia situata nel tratto di costa rettilineo, una discreta sospensione di macroalghe frammentate. Inoltre, nelle pozze di marea circostanti, si è rilevata una certa presenza di organismi marini morti. Più in particolare si trattava di alcuni crostacei decapodi dei generi *Eriphia* e *Pachygrapsus*, oltre ad alcune oloturie e spugne.

Nello stesso tratto costiero le acque superficiali presentavano i valori dei parametri chimico-fisici illustrati nella Tab. 1. Sia i valori di temperatura (compresi tra 26.40 e 27.12 °C), sia quelli di salinità (compresi tra 36.75 e 38.44‰) e di pH (compresi tra 8.00 e 8.16) rientrano nel range di normalità per l'area ed il periodo. La concentrazione dei nutrienti, in special modo l'azoto nitrico, è invece risultata decisamente superiore alle medie di riferimento (Regione Puglia, 2001).

Tab. 1 – Variabili chimico-fisiche misurate nei quattro campioni prelevati nell'area interessata dalla fioritura di *Ostreopsis*.
Measurements of chemical and physical variables in four samples collected at the Ostreopsis *bloom location.*

	Camp.1	**Camp.2**	**Camp.3**	**Camp.4**
Temperatura (°C)	26.4	27.12	26.4	26.7
Salinità (g/l)	36.75	38.44	37.87	37.87
pH	8.00	8.06	8.16	8.08
$N\text{-}NO_2$ (μg/l)	21.7	8.5	n.d.	n.d.
$N\text{-}NO_3$ (μg/l)	497.6	136	435	307
$P\text{-}PO_4$ (μg/l)	4.2	3.6	3.29	4.61
P-tot. (μg/l)	169.7	54.2	55.5	23.2

La composizione quali-quantitativa della comunità fitoplanctonica ha evidenziato poche specie di microalghe tra cui, in ordine di importanza, *Ostreopsis* sp. (1.480.000 cell/l), *Navicula* sp. (247.200 cell/l), *Licmophora gracilis* (Ehrenberg) Grunow (11.200 cell/l) e *Prorocentrum* sp. (4.000 cell/l).

Con il metodo del calcofluor la classificazione delle microalghe appartenenti al genere *Ostreopsis* è stata approfondita e lo studio morfologico della teca ha consentito di determinare la specie come *O. ovata* Fukujo, dinoficea tipica delle aree subtropicali e tropicali (Fig. 2).

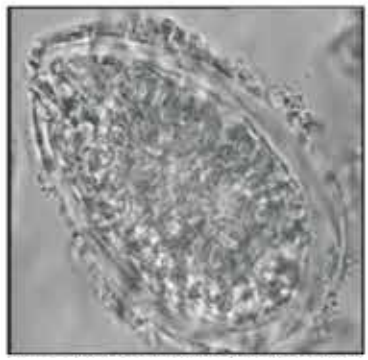


Fig. 2 - *Ostreopsis ovata* Fukujo (× 1200).
Ostreopsis ovata *Fukujo (× 1200).*

Conclusioni

La presenza di microalghe epi-bentoniche potenzialmente tossiche in Mediterraneo è stata determinata e studiata da tempi relativamente brevi (Vila *et al*., 2001). Nel-

l'ultimo quinquennio i mari italiani, soprattutto il bacino tirrenico e ligure, sono stati interessati da fioriture di *Ostreopsis* (Sansoni *et al*., 2000; Grillo e Melchiorre, Com. Pers.).

In tutte le segnalazioni precedenti, e in quella oggetto di questo lavoro, la fioritura algale sembra strettamente legata alla situazione stagionale e meteomarina nei giorni precedenti il fenomeno. In particolare, un lungo periodo di alta pressione atmosferica (forte irraggiamento) insieme a condizioni di mare calmo ed assenza di vento (scarso idrodinamismo) favorisce la fioritura microalgale nei mesi più caldi, mentre la concentrazione di nutrienti sembra svolgere un ruolo molto più limitato (Vila *et al*., 2001).

Per quanto riguarda la moria degli organismi e le patologie riscontrate in alcuni bagnanti del luogo, ricordiamo che le alghe del genere *Ostreopsis* sono potenzialmente tossiche, sembra in relazione alla componente idrosolubile della tossina (Vila *et al*., 2001). Le morie associate alla fioritura potrebbero essere legate a tale aspetto, così come le patologie umane riscontrate potrebbero essere riconducibili ad un effetto aerosol, anche se questo ultimo fenomeno è stato documentato solo per il genere *Gymnodinium* (Pierce *et al*., 1990).

La problematica è alquanto complessa e proprio per questo è necessario proseguire le indagini sull'argomento, al fine di meglio conoscere le dinamiche ed i processi che regolano sia la fioritura che la tossicità delle microalghe in questione.

Bibliografia

ANDERSON D.M. (1989) – Toxic algal blooms and red tides: a global perspective. In: T. Okaichi, D.M. Anderson and T. Nemoto (eds), *Red tides: Biology Environmental Science and Toxicology, Elsevier, New York*: 11-16.

BOMBER J.W., RUBIO M.G., NORRIS D.R. (1989) – Epiphytism of dinoflagellates associated with the disease ciguatera: substrate specifity and nutrition: *Phycologia*, **28**: 360-368.

FRITZ L., TRIEMER R.E. (1985) - A rapid and simple technique utilizing Calcofluor White M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *Journal Phycology*, **21**: 662-664.

PIERCE R.H., HENRY M.S., PROFFITT L.S., HASBROUCK P.A. (1990) – Red tide toxin (brevetoxin) enrichment in marine areosol. In: E. Graneli, S. Sundstron, L. Elder, D.M. Anderson (eds), *Toxic Marine Phytoplankton*: 397-402.

REGIONE PUGLIA (2001) – Monitoraggio delle acque costiere (Fiume Candelaro–Brindisi). Relazione Finale Marzo 2000–Dicembre 2000. *Regione Puglia Assessorato all'Ambiente – Settore Ecologia*.

RUSSEL F.E., EGEN N.B. (1991) – Ciguatera fishes, ciguatoxin (CTX) and ciguatera poisoning. *J. Toxicol. – toxin review*, **10** (1): 37-62.

SANSONI G., BORGHINI B., CAMICI G., CASOTTI M., RUSTIGHI C. (2000) – Fioriture algali marine di *Ostreopsis ovata* e malesseri da inalazione di aeresoli marini: un problema emergente. *Abstract 3° Convegno Nazionale delle Scienze del Mare – Conisma. Genova, 22-25 novembre 2000*: 270 pp.

STRICKLAND J.D.H., PARSON T.R. (1972) – A pratical and handbook of sea water analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167**: 311 pp.

TOGNETTO L., BELLATO S., MORO I., ANDREOLI C. (1995) – Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during summer 1994. *Bot. Mar*., **38**: 291-295.

VILA M., GARCÉS E., MASO M. (2001) – Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquat. Micr. Ecol*., **26**: 51-60.

YASUMOTO T., SEINO N., MURAKAMI Y., MUATA M. (1987) – Toxin produced by benthic dinoflagellates. *Biol. Bull*., **172**: 128-131.

ZINGONE A., HONSELL G., MARINO D., MONTRESOR M., SOCAL G. (1990) – Fitoplancton. In: M. Innamorati, D. Marino, I. Ferrari, M. Riberia d'Alcalà (eds), *Metodi nell'ecologia del plancton marino. Nova Thalassia,* **11**: 183-198.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 679-681

O. Faraponova, M.A. Todaro*, F. Onorati, M.G. Finoia

I.C.R.A.M., Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*Dipartimento di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia.

SENSIBILITÀ SESSO ED ETÀ SPECIFICA DI *TIGRIOPUS FULVUS* (COPEPODA, HARPACTICOIDA) NEI CONFRONTI DI DUE METALLI PESANTI (CADMIO E RAME)

SEX AND AGE SENSITIVITY OF TIGRIOPUS FULVUS *(COPEPODA, HARPACTICOIDA) TOWARDS TWO HEAVY METAL (CD AND CU)*

Abstract

The paper reports the results of preliminary toxicity tests monitoring adult and larval stages of T. fulvus *survival in presence of two heavy metals (Cu and Cd). Data indicate males as more senisitive than females to presence of both contaminants and nauplii as the most sensitive of all. The ease of culturing and the values of* LC_{50} *comparable to those of other test-species suggest the possible use of this meiobenthic crustacean in ecotoxicology studies.*

Key-words: Tigriopus fulvus, *experimental culture, toxicity test, heavy metals.*

Introduzione

L'inserimento di specie autoctone all'interno di una batteria di saggi biologici attribuisce alla valenza predittiva sul rischio ambientale, propria dei test ecotossicologici, una maggior verosimiglianza (Hill *et al.*, 1993). Uno studio preliminare, volto all'implementazione della batteria di saggi biologici impiegata dal nostro gruppo (cf. Pellegrini *et al.*, 2001) per la valutazione della biodisponibilità dei contaminanti presenti negli ecosistemi marini e salmastri del Mediterraneo, aveva individuato nel copepode arpacticoide *Tigriopus fulvus* (Fisher) una possibile specie-test (Todaro *et al.*, 2001).

In questa occasione vengono descritte le modalità di coltura e la sensibilità specifica degli adulti e degli stadi naupliari di questo microcrostaceo nei confronti del Rame e del Cadmio.

Materiali e metodi

La popolazione originaria, proveniente dalla costa livornese, viene mantenuta in laboratorio dal febbraio 2000. La coltura massiva si riproduce con successo in acqua di mare sintetica Instant Ocean®, con salinità variabile da 17 a 50‰, all'interno di cristallizzatori in vetro da 2 lt e/o in fiasche per coltura da 0,5 l con tappo ventilato dotato di membrana da 0,22 μm. I contenitori sono alloggiati in una cella termostatica a 18±1 °C con fotoperiodo 16L/8B. L'alimentazione viene effettuata settimanalmente *ad libitum* con mangime per pesci Tetramarin®.

Sono state testate le sensibilità specifiche al Cd^{++} e al Cu^{++} utilizzando soluzioni standard per AAS in HCl e HNO_3 nei confronti di maschi, femmine e naupli, questi ultimi derivanti da una coltura sincronizzata. I test di tossicità sono stati eseguiti in piastre da 6/12 pozzetti (5/3 ml) utilizzando acqua di mare sintetica al 33‰ Instant Ocean® o prodotta secondo norme EPA (Peltier e Weber, 1985). I test sugli adulti sono stati eseguiti in acqua marina sintetica EPA, utilizzando standard acidificati in HCl, mentre quelli sui naupli sono stati eseguiti sia in acqua EPA che Instant Ocean® (I.O.), utilizzando

standard acidificati in HCl e HNO_3. Si è scelto di utilizzare anche acqua I.O. per i test sui naupli poiché in tale medium gli stadi larvali risultano sempre più attivi rispetto a quando allevati nella meno completa acqua EPA. Ogni test ha previsto 5 concentrazioni (4 diluizioni più il controllo) con 3 repliche e 7 individui ciascuna (ISO/FDIS, 1998).

La sensibilità specifica è stata espressa mediante LC_{50} (Lethal Concentration del 50% di individui), calcolata con il metodo proposto da Horning e Weber (1985), mentre le differenze tra i risultati dei test sono state valutate mediante test-t di Student per dati appaiati (Glantz, 1988).

Risultati

I risultati dei test di tossicità applicati agli individui adulti e ai naupli sono illustrati rispettivamente nelle Tabb. 1 e 2.

Tab. 1 – Risultati dei test di tossicità con adulti di *T. fulvus* rispetto a Cd^{++} e Cu^{++} in acqua di mare sintetica EPA e con standard di riferimento acidificato in HCl.
Effects of Cd^{++} and Cu^{++} on adults of T. fulvus*; tests were carried out in synthetic EPA water using as xenobiotic standards in HCl.*

Sensibilità al Rame								
	24 ore		48 ore		72 ore		96 ore	
Sex	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95% (mg l^{-1})	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%
♀♀	6,89	6,29 – 8,31	5,76	5,31 – 6,34	5,28	4,81 – 5,75	4,91	4,39 – 5,34
♂♂	< 4,00	n.d.	< 4,00	n.d.	< 4,00	n.d.	< 4,00	n.d.
Sensibilità al Cadmio								
	24 ore		48 ore		72 ore		96 ore	
♀♀	12,48	10,30 – 25,78	7,04	6,31 – 7,83	6,18	1,75 – 6,84	3,10	2,47 – 3,58
♂♂	7,48	3,44 – 11,81	6,98	6,64 – 7,17	6,08	n.d.	1,13	n.d.

n.d.: non determinabile

Tab. 2 – Risultati dei test di tossicità con naupli di *T. fulvus* rispetto a Cd^{++} e Cu^{++} su due tipi di acqua di mare sintetica (EPA e Instant Ocean®) e due diverse soluzioni standard di riferimento.
Effects of Cd^{++} and Cu^{++} on larvae of T. fulvus*; tests were carried out in both synthetic EPA water using as xenobiotic standards in HCl, and in synthetic Instant Ocean® water using standards in HNO_3.*

Sensibilità al Rame									
		24 ore		48 ore		72 ore		96 ore	
H_2O	Std	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95% (mg l^{-1})	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%	LC50 (mg l^{-1})	Limiti fiduciali al 95%
EPA	HCl	0,39	0,33 – 0,46	0,09	0,00 – 0,17	< 0,08	n.d.	< 0,08	n.d.
EPA	HNO_3	0,21	0,16 – 0,30	0,09	0,06 – 0,12	0,05	0,02 – 0,07	0,03	0,00 – 0,05
I.O.	HCl	0,33	0,23 – 20,03	0,15	0,08 – 0,21	0,09	0,00 – 0,13	0,07	0,01 – 0,10
I.O.	HNO_3	> 0,05	n.d.	> 0,05	n.d.	> 0,05	n.d.	0,04	0,03 – 0,05
Sensibilità al Cadmio									
		24 ore		48 ore		72 ore		96 ore	
EPA	HCl	1,52	1,10 – 2,64	0,76	0,58 – 1,02	0,41	0,29 – 0,54	0,24	0,16 – 0,31
EPA	HNO_3	> 1,00	n.d.	0,50	0,28 – 1,07	0,31	0,22 – 0,38	0,18	0,10 – 0,23
I.O.	HCl	> 2,00	n.d.	> 2,00	n.d.	1,00	0,75 – 1,26	0,41	0,13 – 0,61
I.O.	HNO_3	> 0,30	n.d.	> 0,30	n.d.	0,30	n.d	0,25	0,18 – 0,49

I dati indicano una sensibilità significativamente maggiore dei maschi rispetto alle femmine per il Rame (con 3 g.l., t=3,976: p=0,028), ma non per il Cadmio (con 3 g.l. e t=1,535: p=0,222) e che i naupli possiedono, come atteso, una rilevante sensibilità rispetto agli adulti per entrambe i metalli testati (per Cu t=15,759 con 4 g.l., p<0,001; per Cd t=3,036 con 4 g.l. p=0,039). Gli stadi naupliari costituirebbero pertanto gli elementi del ciclo vitale più idonei per lo sviluppo di un protocollo esecutivo specifico.

I valori di LC_{50} riscontrati sono del tutto paragonabili con quelli riferiti ad altri copepodi quali *Acartia clausi* (Calanoida), la cui LC_{50} per popolazioni selvatiche nei confronti del Rame ($CuSO_4$) è risultata pari a 0,034 mg/l^{-1} a 48 ore (Verriopoulos, 1992) e *Tigriopus brevicornis*, la cui LC_{50} per popolazioni selvatiche nei confronti del Cadmio ($CdCl_2$) per i naupli è risultata pari a 0,017 mg/l^{-1} a 96 ore (Forget *et al.*, 1998).

Conclusioni

Allo stato attuale della ricerca le indicazioni raccolte per la coltura e la sensibilità specifica di *T. fulvus* sono certamente favorevoli al sua impiego come specie-test per matrici ambientali liquide marine e salmastre, in quanto soddisfano la maggior parte dei requisiti richiesti per l'attendibilità di un saggio biologico, tra i quali:

1. semplicità di allestimento e mantenimento della coltura;
2. tollerabilità alle condizioni di laboratorio;
3. ridotti volumi necessari per test e/o saggi biologici (<50 ml);
4. facilità di esecuzione del test e di interpretazione dell'end-point;
5. buona sensibilità specifica, soprattutto degli stadi naupliari;
6. economicità.

Bibliografia

FORGET J., PAVILLON J.F., MENASRIA M.R., BOCQUENÉ G. (1998) - Mortality and LC50 values for several stages of marine Copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to the metals Arsenic and Cadmium and the pesticides Atrazine, Carbofuran, Dichlorvos, and Malathion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **40**: 239-244.

GLANTZ S.A. (1988) - *Statistica per discipline bio-mediche*. Mc Graw-Hill, ed. Libri Italia s.r.l.

HILL I.R., MATTHIESSEN P., HEIMBACH F. (1993) - Sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environment. Workshop on sediment toxicity assessment, Renesse, The Netherlands, 8-10 November 1993 SETAC Europe.

HORNING W.B., WEBER C.I. (1985) - Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. *Env. Monitoring & Support Lab.*, ESEPA, Cincinnati, Ohio 45268: 173 pp.

ISO/FDIS (1998) - Water quality: determination of acute lethal toxicity to marine copepods (*Copepoda, Crustacea*), ISO/FDIS 14669: 16 pp.

PELLEGRINI D., ENNAS C., BERTOLOTTO R.M., BIGONGIARI N. (2001) - Utilizzo di una batteria di saggi biologici sui sedimenti marini e valutazione dei risultati: un caso di studio. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (2): 123-135.

PELTIER W.H., WEBER C.I. (1985) - Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organism. *EPA/600/4-85/013*.

TODARO M.A., FARAPONOVA O., ONORATI F., PELLEGRINI D., TONGIORGI P. (2001) - *Tigriopus fulvus* (Copepoda, Harpacticoida) una possibile specie-target nella valutazione della tossicità dei fanghi portuali: ciclo vitale e prove tossicologiche preliminari. *Biol. Mar. Medit.*, **8**: 869-872.

VERRIOPOULOS G. (1992) – Effects of sublethal concentrations of Zinc, Chromium and Copper on the marine Copepods *Tisbe holothuriae* and *Acartia clausi*. UNEP, MAP Technical Reports Series, **69**: 265-275.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 682-684

S. Ferrari, F. Mela*, D. Pellegrini*

Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata, Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
*ICRAM, Roma, Italia.

LIVELLI DI MERCURIO NEL TESSUTO MUSCOLARE DI *MULLUS BARBATUS* LUNGO LE COSTE SETTENTRIONALI DELLA TOSCANA

MERCURY LEVELS IN MULLUS BARBATUS *MUSCLE TISSUE ALONG THE NORTHERN COAST OF TUSCANY (ITALY)*

Abstract

The aim of the present study was the determination of mercury levels in Mullus barbatus *(Osteichthyes, Mullidae) muscle tissue collected along the northern coast of Tuscany. Results show that the highest concentrations were detected in the southern stations and values increase with the depth. These data are consistent with the ones determined by other authors who carried out similar experiments. Since the sediments of the study sites do not show high mercury concentrations, the high mercury accumulation detected in marine biota of some sampling sites need to be already explained.*

Key-words: *mercury, heavy metals*, Mullus barbatus, *Southern Ligurian Sea.*

Introduzione

Lo scopo del presente lavoro, in relazione al monitoraggio del sito di scarico del materiale dragato nel porto di Livorno (attività avvenuta tra il 1997 ed il 2000), è la determinazione delle concentrazioni di Hg nel tessuto muscolare di *Mullus barbatus* al fine di valutare l'andamento spazio temporale ed il grado di contaminazione da parte di questo metallo in siti lungo il litorale settentrionale della Toscana, sul quale insistono differenti attività antropiche.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati eseguiti, mediante pesca a strascico, in cinque cale: Q, 50-100 m; Q1, 120-170 m, T, 70 m; S, 100-140 m e V, 50 m (Fig. 1). Le cale sono posizionate in prossimità della zona di scarico dei materiali dragati del porto di Livorno (S) e nelle zone che potevano risultare influenzate dallo sversamento (V e T) o che potevano essere utilizzate come zone di controllo (Q e Q1) considerando la corrente prevalente S-N. Il campionamento è stato ripetuto, per tutte le cale, nei mesi di agosto o settembre in anni differenti (da due a cinque) tra il 1994, 1998, 1999, 2000 e 2001. Le analisi sono state condotte su due pools costituiti da organismi selezionati secondo due classi di taglia: 14-16 cm e 16-18 cm. La mineralizzazione del campione è stata eseguita con attacco acido e digestione in un sistema chiuso a microonde. La determinazione analitica è stata effettuata mediante AAS a vapori freddi con l'impiego di $SnCl_2$ (Pellegrini *et al.,* 2001). L'accuratezza delle procedure di digestione e di analisi dei campioni è stata verificata impiegando il materiale standard certificato di riferimento DORM-2 (CNR, Canada). La percentuale di Hg recuperato con il suddetto metodo variava tra il 95 ed il 103%.

Sono stati inoltre prelevati ed analizzati (anni '98-'00) i sedimenti di alcune stazioni localizzate nell'area di scarico dei materiali dragati del porto di Livorno, considerati gli

alti valori di Hg ritrovati nel tessuto muscolare degli organismi della cala S. Per le altre cale i valori di concentrazione sono stati desunti dalla letteratura (Baldi e Bargagli, 1984).

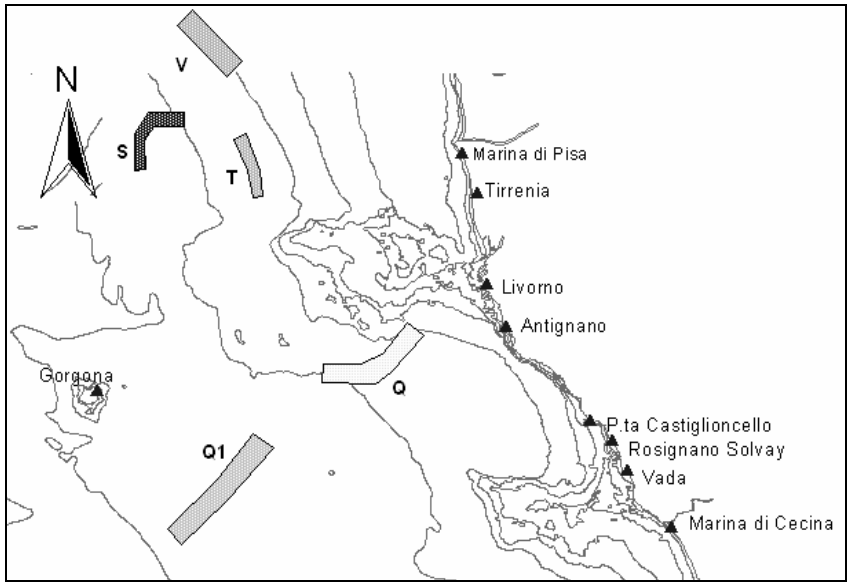


Fig. 1 – Aree di studio con indicate le stazioni di campionamento (mappa non in scala).
Location of the study area and sampling stations (not scaled map).

Risultati

I valori riportati nei grafici sono la media dei risultati ottenuti da 3 repliche effettuate su uno stesso pool (Fig. 2).

Nella cala Q i valori di concentrazione risultano piuttosto bassi e tendono a mantenersi costanti nel tempo, mentre nella cala Q1 i valori risultano più elevati, soprattutto nella classe di taglia più grande dell'ultimo campionamento. Al contrario, la cala V mostra concentrazioni molto basse ed in costante diminuzione nel tempo. Per la cala T emerge un andamento oscillante, con valori che aumentano negli anni '98 e '99 per tornare nel 2000 ai livelli del 1994. Le concentrazioni rimangono comunque mediamente basse. Nella cala S la taglia 14-16 cm mostra valori che oscillano tra 2 e 4 mg/kg p.s., con le concentrazioni minori nell'ultimo anno; per la taglia 16-18 cm i valori rimangono più stabili (5-7 mg/kg p.s.) escluso il '94 dove risultano bassi. Le concentrazioni risultano comunque piuttosto elevate anche se confrontabili con quelle della letteratura (Renzoni, 1986). Una scarsa presenza del metallo è stata tuttavia rilevata nei sedimenti superficiali limitrofi alla cala S (X medio 0,21; range 0,05-0,40 mg/kg p.s.), valori confrontabili con quelli trovati per gran parte dei sedimenti superficiali delle coste della Toscana non soggetti a particolari apporti antropici.

La deviazione standard dei risultati, rispetto al valore medio ottenuto dalle tre repliche, non supera mai il 10%.

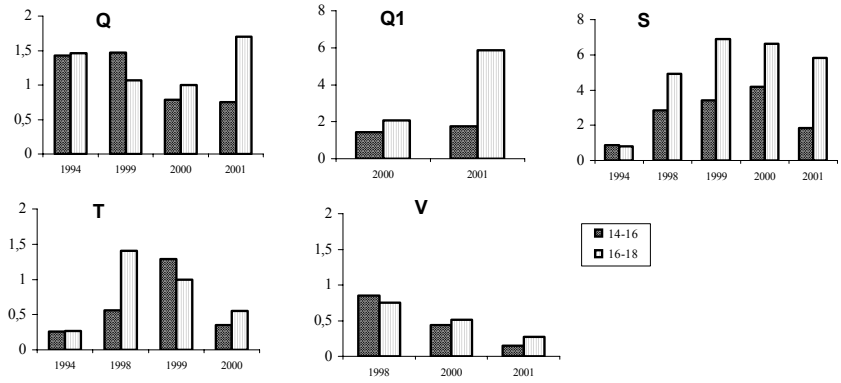


Fig. 2 – Concentrazioni medie del mercurio (mg/kg p.s.) presente nei campioni analizzati.
Mean concentrations of mercury (mg/kg p.s.) in the analysed samples.

Conclusioni

Dai risultati ottenuti nel presente lavoro si può rilevare che gli organismi delle cale profonde presentano livelli più alti di Hg, come già evidenziato da altri autori si tratta di zone a diversa biodisponibilità del Hg dovuta anche alla diversa profondità di cattura (Bacci *et al*., 1979). Rimane comunque da indagare la causa di questa diversa biodisponibilità, che alcuni autori attribuiscono alla maggiore presenza di metil-Hg dovuta al minor effetto fotolitico alle profondità maggiori o al diverso tenore di sostanza organica presente nel sedimento (Bacci, 2001; Bacci *et al.,* 1980). Confrontando le concentrazioni di Hg nelle stazioni alla medesima profondità, risulta che V<T<Q e Q1<S. I valori di concentrazione di mercurio risultano in genere paragonabili con quelli riportati da altri autori per la medesime aree (Renzoni, 1986). Le maggiori concentrazioni trovate nella cala S non trovano un sufficiente riscontro nell'analisi dei sedimenti indagati. Inoltre i più bassi valori trovati nella cala V testimoniano una minore influenza delle fonti naturali e antropiche presenti nella parte centro-meridionale della costa toscana

Bibliografia

BACCI E., FOCARDI S., LEONZIO C., RENZONI A. (1979) - Contaminanti in organismi del Mar Tirreno. Atti Conv. Scient. Nazionale C.N.R., P.F. "Oceanografia e fondi marini", Roma 5-7 Marzo.

BACCI E., FOCARDI S., LEONZIO C., RENZONI A. (1980) - Mercury concentration in muscle, liver and stomach content of *Mullus barbatus* of the northern Tyrrhenian. *RAC II Newletter*, **2**: 5-10.

BACCI E. (2001) - *Evoluzione del tenore di mercurio nel tratto di mare antistante lo stabilimento di Rosignano Solvay Chimica Italia SpA*. Dipartimento di Scienze Ambientali Università degli Studi di Siena. Relazione tecnica: 46 pp.

BALDI F., BARGAGLI R. (1984) - Mercury pollution in marine sediments near a chlor-alkali plant: distribution and availability of the metal. *Sci. Total. Environ.,* **39**: 15-26.

PELLEGRINI D., SALIVA B., REGOLI F. (2001) - In AA.VV. Programma di monitoraggio per il controllo dell'ambiente marino costiero - metodologie analitiche di riferimento - Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, ICRAM-ANPA; scheda 6.

RENZONI A. (1986) - UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of metals, particulary mercury and cadmium, in marine organisms (MED/POL II). Map Tecnical Reports Series n° 2. UNEP, Athens: 125-139.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 685-688

C. Fiordelmondo, A. Pusceddu, E. Manini*, C. Gambi, R. Danovaro

Dipartimento Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.
*Istituto Scienze Marine, Sezione di Lesina CNR, Via Pola, 4 - 71010 Lesina, Foggia, Italia.

IMPATTO DELLA PESCA DI MOLLUSCHI BIVALVI SU CIRCUITO MICROBICO E MEIOFAUNA NELLA SACCA DI GORO (FE)

IMPACT OF CLAM FISHING ON MICROBIAL LOOP AND MEIOFAUNA IN THE SACCA DI GORO (FE)

Abstract

Benthic clam fishing with manual devices determines a strong sediment resuspension, increases inputs of suspended material in the water column and it is expected to have important effects also on the benthic biota. During a field short-term experiment carried out in the Goro lagoon we found that sediment resuspension induced by clam fishing may exert an important role on the microbiota, giving rise to an increased transfer of bacterial biomass towards higher trophic levels.

Key-words: *clam fishing, resuspension, bacteria, protozoa, meiofauna.*

Introduzione

La pesca dei molluschi bivalvi in ambiente lagunare costiero ha subito un notevole incremento negli ultimi dieci anni. L'introduzione della vongola *Tapes philippinarum* nella Sacca di Goro, Delta del Po, all'inizio degli anni '80, ha reso quest'area uno dei siti più produttivi a livello europeo (Carrieri *et al.*, 1992). I metodi di raccolta implicano l'uso di arnesi in grado di setacciare uno strato di sedimento fino a 20 cm di profondità. Questo determina la risospensione dei sedimenti, con l'immissione in colonna d'acqua di notevoli quantità di materiale organico ed inorganico e rilevanti cambiamenti nelle comunità bentoniche. Studi sull'impatto dell'attività di pesca a strascico hanno evidenziato una considerevole rimozione di epifauna, l'omogeneizzazione delle caratteristiche del sedimento (Jennings e Kaiser, 1998) ed importanti effetti sulla biodiversità e sulla struttura trofica delle comunità di invertebrati macrobentonici (Thrush *et al.*, 2001). Tuttavia, gli effetti di tali attività sulle componenti micro- (batteri, protozoi) e meiobentoniche sono a tutt'oggi poco note. Lo scopo di questa ricerca è stato di studiare l'impatto a breve termine della risospensione del sedimento indotta dalla raccolta di molluschi bivalvi sul circuito microbico bentonico e sulla meiofauna nei sedimenti della Sacca di Goro.

Materiali e metodi

Nel giugno 2000, sono state studiate presso la Sacca di Goro (Fig. 1) due aree adiacenti di 25 m^2, una sottoposta alla raccolta, con attrezzi manuali, della vongola *T. philippinarum*, l'altra non sottoposta al prelievo, scelta come controllo. Campioni di sedimento superficiale sono stati prelevati in tre repliche in ciascuna delle due aree mediante carotatore manuale prima della raccolta delle vongole e dopo 5, 24 e 48 ore. Su tali campioni sono state determinate: densità e biomassa batterica (Danovaro e Fabiano, 1995), produzione secondaria batterica (Van Duyl e Kop, 1994), attività enzimatiche extracellulari (aminopeptidasi e β-glucosidasi, Hoppe, 1993), abbondanza

del nanobenthos (flagellati e ciliati) eterotrofo (Epstein, 1995) e della meiofauna (Heip *et al.*, 1985).

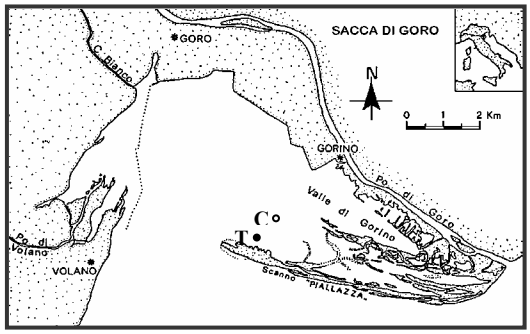


Fig. 1 – Localizzazione dell'area di studio (Sacca di Goro, Delta del Po). Sono indicati i due siti: C (controllo) e T (trattato).

Location of study area (Sacca di Goro, Delta del Po). Two sites: C (control) and T (treated) are indicated.

Risultati

Abbondanza e biomassa batteriche (Tab. 1) hanno mostrato lo stesso andamento con una diminuzione statisticamente significativa dopo la rimozione delle vongole (ANOVA, $p<0.05$). Tale diminuzione non è stata evidente per l'abbondanza e la biomassa dei nanoflagellati eterotrofi (Tab. 1) con valori, per altro, statisticamente differenti da quelli del sito di controllo ($p<0.05$). L'abbondanza dei ciliati ha mostrato differenze significative tra i due siti, e, nel sito trattato, tra i diversi campionamenti ($p<0.05$), con valori più elevati dopo 48 h (Tab. 1).

Tab. 1 – Andamenti temporali di abbondanza e biomassa batteriche, abbondanza e biomassa di nanoflagellati eterotrofi, abbondanza di ciliati e meiofauna nei due siti campionati. Sono riportate le deviazioni standard.

Temporal pattern of bacterial abundance and biomass, heterotrophic nanoflagellate abundance and biomass, ciliate abundance and meiofauna abundance in two sampled sites. Standard deviations are reported.

Sito	Tempi (ore)	Abbondanza batterica (cell 10^8 g^{-1})	Biomassa batterica (µgC g^{-1})	Abbondanza nanoflagellati (cell 10^5 g^{-1})	Biomassa nanoflagellati (µgC g^{-1})	Ciliati (cell 10^3 g^{-1})	Meiofauna (ind 10 cm^{-2})
Controllo	**0**	1.85 ± 0.51	61.1 ± 12.1	3.21 ± 0.27	2.6 ± 0.6	3.63 ± 0.97	2222 ± 166
	5	1.40 ± 0.34	45.5 ± 11.9	3.50 ± 0.13	2.1 ± 0.2	4.31 ± 0.83	2975 ± 1336
	24	2.53 ± 0.34	77.1 ± 19.8	4.77 ± 0.38	2.8 ± 0.3	4.92 ± 0.40	3432 ± 1243
	48	2.18 ± 0.47	58.5 ± 13.7	7.18 ± 0.64	4.9 ± 0.6	5.20 ± 0.51	2747 ± 1209
Trattato	**0**	2.15 ± 0.29	63.3 ± 9.4	2.35 ± 0.10	1.8 ± 0.2	2.24 ± 0.53	3203 ± 1173
	5	1.66 ± 0.38	54.5 ± 17.2	2.03 ± 0.19	1.4 ± 0.2	1.63 ± 0.41	2489 ± 530
	24	1.45 ± 0.23	43.1 ± 4.6	3.62 ± 0.70	1.8 ± 0.3	2.39 ± 0.67	2002 ± 363
	48	0.54 ± 0.17	17.1 ± 6.1	3.05 ± 0.36	1.9 ± 0.2	3.16 ± 0.53	2493 ± 504

In accordo con studi precedenti (Schratzberger *et al.*, 2002), l'abbondanza della meiofauna non ha mostrato differenze statisticamente significative (Tab. 1), ma una modificazione della struttura di comunità, dovuta principalmente al differente contributo di nematodi e copepodi (Fig. 2).

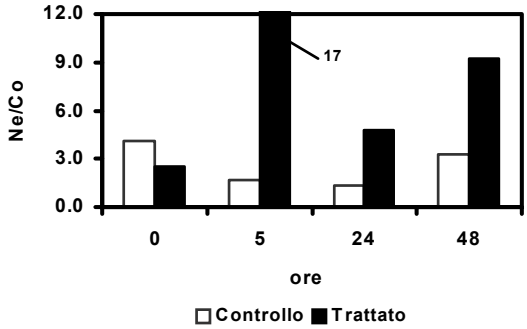


Fig. 2 – Andamento temporale del rapporto nematodi:copepodi nei due siti campionati.
Temporal pattern of nematode:copepod ratio in two sampled sites.

A parte la meiofauna, i comparti bentonici studiati sembrano subire l'influenza della risospensione. Infatti, analizzando i rapporti di abbondanza tra batteri/nanoflagellati e batteri/ciliati è possibile evidenziare per entrambi una progressiva diminuzione fino alle 48 h (circa 5 volte). Tali andamenti suggeriscono una crescente importanza dei consumatori di batteri (flagellati e ciliati) rispetto alla loro risorsa. Nonostante studi precedenti indichino l'influenza della risospensione dei sedimenti sull'attività batterica (Ritzrau e Graf, 1992), i nostri risultati hanno mostrato un debole effetto sia sulla degradazione potenziale della sostanza organica (attività aminopeptidasica) che sull'incorporazione di questa in biomassa batterica (Tab. 2).

Tab. 2 – Andamenti temporali della produzione secondaria batterica e delle attività enzimatiche extracellulari: aminopeptidasica e β-glucosidasica nei due siti campionati. Sono riportate le deviazioni standard.
Temporal pattern of bacterial secondary production and extracellular enzymatic activities: aminopeptidase and β-glucosidase in two sampled sites. Standard deviations are reported.

Sito	Tempi (ore)	Produzione batterica (ngC g^{-1} h^{-1})	Attività aminopeptidasica (nmol g^{-1} h^{-1})	Attività ß-Glucosidasica (nmol g^{-1} h^{-1})
Controllo	**0**	326.4 ± 68.2	66.7 ± 44.0	9.9 ± 2.4
	5	456.5 ± 47.6	58.4 ± 9.9	7.3 ± 0.7
	24	390.5 ± 37.8	361.4 ± 3.2	8.3 ± 3.0
	48	367.2 ± 55.5	273.7 ± 57.5	2.6 ± 0.4
Trattato	**0**	506.4 ± 64.6	51.2 ± 8.2	6.9 ± 1.3
	5	640.1 ± 50.5	26.1 ± 1.9	7.7 ± 2.2
	24	314.1 ± 40.8	160.5 ± 9.3	8.3 ± 4.3
	48	392.5 ± 76.0	115.9 ± 0.3	4.4 ± 0.3

Conclusioni

I risultati di questo esperimento suggeriscono che la risospensione del sedimento indotta dalla pesca delle vongole, induce un impatto a breve termine sui differenti comparti bentonici (batteri, protozoi, meiofauna) in termini quantitativi, più che sui processi di remineralizzazione batterica della sostanza organica. Tale ipotesi è supportata dalla mancanza di differenze significative nei flussi di nutrienti inorganici alla colonna d'acqua, prima e dopo la raccolta delle vongole (Castaldelli *et al.*, 2002), ma, data la natura sperimentale di questo studio, tale ipotesi necessita di ulteriori approfondimenti.

Bibliografia

CASTALDELLI G., MANTOVANI S., ROSSI R., MISTRI M., FANO E.A. (2002) - Impatto della raccolta della vongola verace filippina sulla colonna d'acqua e sulla comunità macrozoobentonica nella Sacca di Goro. *Workshop finale dei progetti COFIN 99*, Parco Area delle Scienze, Università di Parma, 18-19 marzo 2002.

CARRIERI A., PAESANTI F., ROSSI R. (1992) - Risultati dell'introduzione di vongola filippina *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) nella Sacca di Goro (Delta del Po). *Oebalia*, **17**: 97-104.

DANOVARO R., FABIANO M. (1995) - Seasonal and inter-annual variation of bacteria in a seagrass bed of the Mediterranean Sea: relationship with labile organic compounds and other environment factors. *Aquat. Microb. Ecol.*, **9**: 17-26.

EPSTEIN S.S. (1995) - Simultaneous enumeration of protozoa and micrometazoa from marine sandy sediments. *Aquat. Microb. Ecol.*, **9**: 219-227.

HEIP C., VINCX M., VRANKEN G. (1985) - The ecology of marine nematodes. *Oceanogr. Mar. Biol. a Review*, **23**: 399-489.

HOPPE H.G. (1993) - Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity (EEA) of bacteria. In: Kemp P.F., Sherr B.F., Sherr E.B., Cole J.J. (eds), *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*, Lewis, Boca Raton: 423-431.

JENNINGS S., KAISER M.J. (1998) - The effects of fishing on marine ecosystems. *Adv. Mar. Biol.*, **34**: 203-314.

RITZRAU W., GRAF G. (1992) - Increase of microbial biomass in the benthic turbidity zone of Kiel Bight after resuspension by a storm event. *Limnol. Oceanogr.*, **37**: 1081-1086.

SCHRATZBERGER M., DINMORE T.A., JENNINGS S. (2002) - Impacts of trawling on the diversity, biomass and structure of meiofauna assemblages. *Mar. Biol.*, **140**: 83-93.

THRUSH S.F., HEWITT J.E., FUNNELL G.A., CUMMINGS V.J., ELLIS J., SCHULTZ D., TALLEY D., NORKKO A. (2001) - Fishing disturbance and marine biodiversity: the role of habitat structure in simple soft-sediment systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **223**: 277-286.

VAN DUYL F.C., KOP A.J. (1994) - Bacterial variation in North Sea sediments: clues to seasonal and spatial variations. *Mar. Biol.*, **120**: 323-337.

Questa ricerca è stata finanziata nell'ambito del progetto COFIN 1999.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 689-692

S. Gambaccini, R. Degl'Innocenti[1], S. De Ranieri[2]

Aplysia p.s.c.r.l., Via delle Viole, 1 - 57124 Livorno, Italia.
aplysia1@libero.it
[1]D.S.U.A., Università di Pisa, Pisa, Italia.
[2]C.I.B.M., Livorno, Italia.

OSSERVAZIONI SULL'ACCRESCIMENTO DEI GIOVANILI DI SARAGO MAGGIORE (*DIPLODUS SARGUS*, L. 1758) NEL MAR LIGURE SUD-ORIENTALE

*OBSERVATIONS ON THE GROWTH OF JUVENILES WHITE SEABREAM (*DIPLODUS SARGUS, *L. 1758) IN THE SOUTH-EASTERN LIGURIAN SEA*

Abstract

A six months investigation was carried out in two areas of the south-eastern Ligurian Sea by visual census to study spatial variability in the growth of Diplodus sargus *after its settlement.*

Growth rate, measured as the slope of linear relationship between mean size and time, did not change between and within areas. The existence of a common growth rate between stations probably could be due to similar environmental conditions occurred in the study period.

Key-words: *settlement, growth, spatial distribution, regression analysis.*

Introduzione

L'accrescimento, stimato come la velocità con la quale un individuo aumenta le dimensioni corporee in lunghezza totale o in peso nel tempo, è il parametro più sensibile alle condizioni ambientali tanto che la stessa specie può mostrare diversi modelli di crescita in differenti ambienti (Planes *et al.,* 1999). Esso integra le variazioni biologiche ed ecologiche che si verificano nell'ambiente, per cui le condizioni idrodinamiche, climatiche e trofiche o la disponibilità di rifugi determinano in parte lo sviluppo morfometrico (Macpherson, 1996; Planes *et al.,* 1999). In generale, a partire dalla distribuzione di frequenza delle taglie della coorte è possibile stimare il tasso di accrescimento come incremento della taglia media nel tempo. In questo lavoro, è stato studiato l'accrescimento del sarago maggiore, *Diplodus sargus*, L. 1758, specie di notevole valore economico e che costituisce una frazione rilevante del popolamento ittico costiero nel bacino mediterraneo occidentale (Harmelin, 1987; Macpherson, 1996, Biagi *et al*., 1997).

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati da maggio a settembre 2000, con cadenza quasi settimanale (condizioni meteo-marine permettendo), in quattro stazioni: due lungo le coste di Livorno (ST1–ST2) e due a nord dell'Isola d'Elba (ST3–ST4). Complessivamente sono stati eseguiti 75 rilevamenti, rispettivamente: 21 nella stazione ST1, 20 nella ST2, 19 e 15 nella ST3 e ST4. Il metodo utilizzato è stato quello del percorso casuale in *snorkeling*; per ogni campionamento è stata rilevata l'abbondanza numerica per 9 classi di taglia (10-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-50, 51-60, 61-70 mm LT) (Macpherson, 1996; Planes *et al*., 1999), che ha permesso successivamente di stimare il tasso di accrescimento (coefficiente angolare della retta) mediante regres-

sione lineare semplice. Successivamente è stata utilizzata l'analisi della covarianza (ANCOVA) per verificare eventuali differenze significative tra i coefficienti angolari delle quattro rette di regressione. L'accrescimento è stato studiato dal momento dell'insediamento delle post-larve fino al raggiungimento della taglia di 70 mm LT, fase in cui i giovanili aumentano il loro *home-range*, ed abbandonano l'area di studio (Macpherson, 1996; Planes *et al*, 1999).

Risultati

L'insediamento della specie è avvenuto esclusivamente nella fascia superiore dell'infralitorale (<2 m), a partire dall'inizio di maggio, lungo le coste livornesi, e dopo la metà dello stesso mese, lungo quelle elbane, ad una taglia compresa tra 10 e 15 mm LT. Il periodo di insediamento osservato nelle due aree è del tutto simile a quello riportato da altri autori lungo le coste dell'Isola d'Elba (Biagi *et al*., 1997; 1998), di Portofino (Tunesi *et al*., 1996) e dell'Isola di Capraia (Sorrentino, 2000), mentre in altre aree geografiche come Marsiglia e le Isole Medas (Macpherson, 1996) varia leggermente, verificandosi intorno alla metà di giugno.

Le post-larve si sono insediate in due microcoorti separate e con abbondanze diverse nelle stazioni di Livorno, con una singola microcoorte all'Isola d'Elba (Tab. 1). Da studi condotti nelle medesime stazioni dell'Isola in anni precedenti (Biagi *et al*., 1997, 1998), è emerso come *D. sargus* si fosse insediato con due microcoorti, la prima osservata a partire dai primi di maggio, la seconda all'inizio di giugno. All'Isola d'Elba nell'anno 2000, l'intensità dell'insediamento è risultata minore rispetto agli anni precedenti; l'arrivo della seconda microcoorte potrebbe, perciò, essere passato inosservato a causa delle scarse abbondanze delle post-larve della seconda coorte, sottoposte ad immediata predazione.

Tab. 1 – Intensità e date di insediamento della 1ª, della 2ª microcoorte e del picco massimo di *D. sargus* nelle 4 stazioni considerate.

D. sargus *settlement intensity and date of first arrival of 1ª, 2ª settlers pulse and peak abundance in the four stations.*

Località	Stazione	Data di 1° insediamento	N° di individui all'insed.	Data 2° microcoorte	N°di individui 2° microc.	Data del picco massimo	N° di ind. al picco massimo
Livorno	ST1	04.05.00	85	19.06.00	61	19.06.00	99
	ST2	16.05.00	104	19.06.00	17	16.05.00	104
Isola d'Elba	ST3	20.05.00	2	---	---	14.06.00	40
	ST4	18.05.00	73	---	---	04.06.00	88

Il tasso di accrescimento giornaliero di *D. sargus*, per l'anno 2000, è risultato pari a 0,485 e 0,488 mm al giorno a Livorno e di 0,358 e 0,363 mm al giorno all'Isola d'Elba (Tab. 2; Fig. 1); l'accrescimento totale percentuale è pari rispettivamente al 91% e all'81% nella prima zona e all'82% e all'85% nella seconda. L'ANCOVA non ha evidenziato differenze significative ($p<0,01$) tra i tassi di accrescimento nelle quattro stazioni, permettendo così di stimare un tasso comune pari a 0,409 mm al giorno.

L'omogeneità dell'accrescimento nelle stazioni considerate, potrebbe essere dovuta alle condizioni ambientali del tutto simili, presenti nel periodo interessato dal campionamento, nella scala spaziale considerata.

Tab. 2 - Parametri di crescita lineare per *D. sargus*; a e b sono i parametri dell'equazione LT = a + b * x , r è il coefficiente di correlazione di Pearson.
D. sargus *linear growth paramiter: LT = theoretical total length at T time; b = growth rate in mm/d (slope of linear model); a = intercept; x = time in day; r = Pearson correlation coefficient.*

Località	Stazione	Data di fine regressione	N° di ind. fine regressione	Durata regressione (giorni)	a	b	r
Livorno	ST1	25.09.00	8	145	7,3	0,485	0,97
	ST2	25.09.00	12	133	14,6	0,488	0,99
Isola d'Elba	ST3	15.10.00	25	149	11,3	0,358	0,98
	ST4	15.10.00	27	151	9,4	0,363	0,99

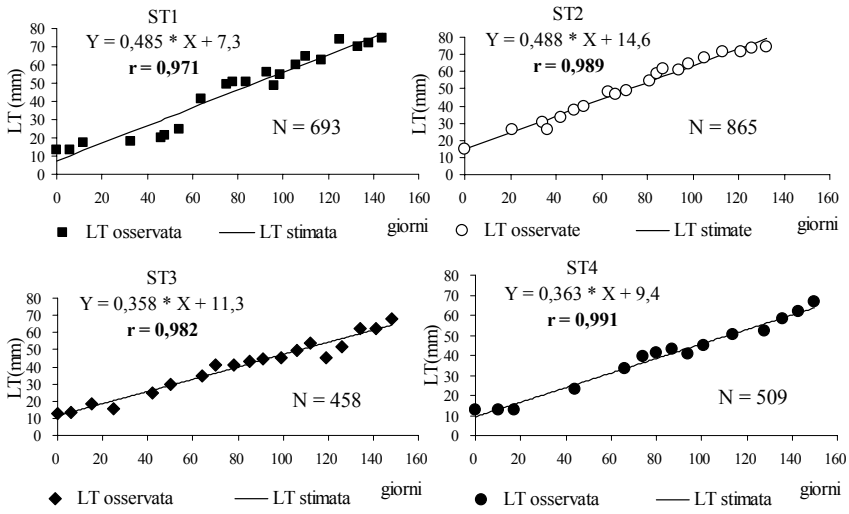


Fig. 1 - Rette di regressione della lunghezza media (in mm) sul tempo (in giorni), in *D. sargus* nelle 4 stazioni.
Linear regression of mean length (mm) versus time (day) in D. sargus.

Da ricerche eseguite in diverse aree del Mediterraneo, considerando scale spaziali maggiori, è emerso che l'accrescimento in *D. sargus* varia significativamente tra siti (Planes *et al.,* 1999). Questi autori hanno ipotizzato che l'accrescimento sia stato influenzato soprattutto dalle differenze climatiche conseguenti a correnti calde e fredde che interessavano le coste in maniera diversa da regione a regione.

Conclusioni

L'accrescimento, come tutti i fenomeni naturali, è soggetto ad una elevata variabilità sia spaziale che temporale. Per stabilire senza ombra di dubbio il miglior modello applicabile, sono necessarie serie storiche molto lunghe con frequenze di campionamento più elevate e concentrate soprattutto nel primo periodo di insediamento. Inoltre per quantificare l'importanza di quei fattori, quali temperatura e disponibilità di cibo, che possono influenzare l'accrescimento.

Sarebbe inoltre importante riuscire a stabilire le reali dimensioni della scala spaziale entro la quale l'accrescimento dei giovanili di *D. sargus* non varia.

Bibliografia

BIAGI F., GAMBACCINI S., ZAZZETTA M. (1997) - Insediamento e microhabitat di specie ittiche nella fascia costiera toscana. *Biol. Mar. Medit.,* **4** (1): 195-202.

BIAGI F., GAMBACCINI S., ZAZZETTA M. (1997) - Popolamento ittico di un'area protetta all'isola d'Elba. *Biol. Mar. Medit.,* **4** (1): 466-468.

BIAGI F., GAMBACCINI S., ZAZZETTA M. (1998) - Competizione inter- ed intra-specifica in tre specie di saraghi (*Diplodus puntazzo*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris*) in un ambiente costiero del Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit*., **5** (1): 1-10.

DEGL'INNOCENTI R. (2000) - *Ecologia e dinamica di popolazione di* Diplodus sargus (Linneo, 1758) *in un'area costiera del mar Ligure Orientale.* Tesi di laurea, Università di Pisa: 105 pp.

HARMELIN J.G. (1987) - Structure and variability of the ichthyofauna in a Mediterranean Protected Rocky Area (National Park of Port-Cros, France). *P.S.Z.N.I.: Marine Ecology*, **8** (3): 263-284.

MACPHERSON E. (1996) - *Studies on Mediterranean fishes: settlement and mortality patterns in protected and unprotected areas*. Final Report. Research Project financed by the Commission of the European Union within the frame of the Research Programme Studies in the Fisheries Sector: 232 pp.

PLANES S., MACPHERSON E., BIAGI F., GARCIA-RUBIES A.,HARMELIN J., HARMELIN-VIVIEN, JOUVENEL J.-Y., TUNESI L., VIGLIOLA L., GALZIN R. (1999) - Spatio-temporal variability in growth of juvenile sparid fishes from the Mediterranean littoral zone. *J. Mar. Biol. Ass. U.K*., **79**: 137-143.

SORRENTINO B. (2000) - *Requisiti ambientali per l'insediamento di giovanili in tre specie di sparidi:* Diplodus sargus*,* Diplodus puntazzo *,* Diplodus vulgaris*. Caratterizzazione del microhabitat e distribuzione dei siti di insediamento all'Isola di Capraia (Mar Ligure)*. Tesi di Laurea, Università di Pisa: 163 pp.

TUNESI L., VACCHI M., MORI M. (1996) - Osservazioni sugli stadi giovanili del genere *Diplodus* nelle acque del Golfo Tigullio (Mar Ligure). In: G. Albertelli, A. De Maio, M. Piccazzo (eds), *Atti dell'11° Congresso dell'Associazione Italiana di Oceanologia e Limnologia (Sorrento, 26-28 Ottobre 1994)*. Genova: 213-224.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 693-695

V. Gazale, A. Cossu[1], A. Zanello, M. Carta, I. Milella[2], F. Ragazzola[1]

Parco Nazionale dell'Asinara, Via Iosto, 7 – 07046 Porto Torres, Sassari, Italia.
[1]Dip. Botanica ed Ecol. Veg., Univ. Sassari, Sassari, Italia.
[2]Dip. Zoologia e Antrop. Biol., Univ. Sassari, Sassari, Italia.

STUDIO E REALIZZAZIONE DI SENTIERI MARINI ALL'INTERNO DEL PARCO NAZIONALE DELL'ASINARA

DESIGN AND ESTABLISHMENT OF SUBMARINE TRAILS IN ASINARA NATIONAL PARK

Abstract

Four submarine trails has been designed and established in Asinara National Park (NW Sardinia, Italy) according to bionomic composition of most popular species and recreational purposes. Lithologic composition, exposition to more relevant winds and distance to docks and landings has also been taken into account. The final result is well-fitted in a more wide range of educational activities of the Park.

Key-words: *submarine trails, Asinara, National Park.*

Introduzione

Il presente lavoro è inserito all'interno dei progetti del Piano Operativo Plurifondo della Regione Sardegna relativo alla valorizzazione del Parco Nazionale dell'Asinara che ha come obiettivi principali la riqualificazione ambientale e la realizzazione di alcuni interventi per migliorare l'attività di visita e fruizione dell'area protetta. In questo senso sono stati progettati e realizzati quattro sentieri marini in prossimità dei punti di approdo, parte integrante dell'istituenda Rete per l'Educazione e la Ricerca Ambientale del Parco.

Materiali e metodi

Nel 1998 sono state effettuate delle indagini geofisiche e biologiche tramite sonar a scansione laterale (S.S.S.) ad alta definizione, finalizzate alla realizzazione di una carta biocenotica in scala 1: 25.000 per tutta l'isola (Cossu *et al*., 2000; 2001). La particolare morfologia della costa e dei fondali ha portato ad effettuare ulteriori rilievi S.S.S. a copertura totale, integrati da riprese video in tutto il versante sud-orientale dell'isola. Quest'area è stata inoltre scelta perché più soggetta alla frequentazione e quindi maggiormente idonea al posizionamento di sentieri naturalistici subacquei.

Per la definizione dei sentieri sono stati infine associati dei rilievi aerofotogrammetrici in scala 1:4.000 effettuati nel 1998, opportunamente georeferenziati e, tramite osservazioni dirette, sono state realizzate delle carte tematiche (Fig. 1) e delle tabelle, che costituiscono dei database relazionali associati.

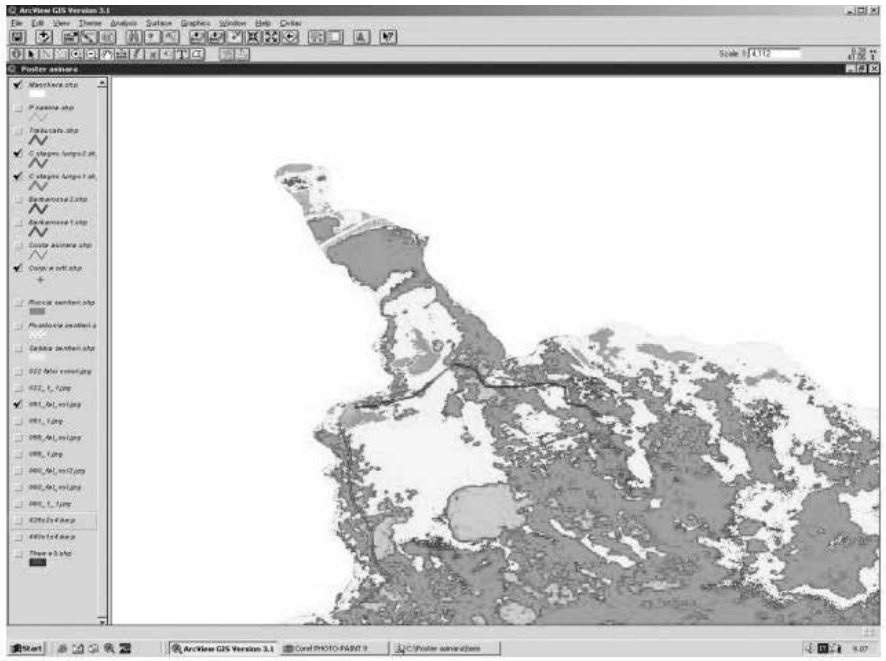


Fig. 1 – Immagine a falsi colori dell'area di Cala Stagno Lungo, che mostra le diverse unità dei popolamenti bentonici georeferenziati; in bianco l'area terrestre.
False colours geo-referenced image of Cala Stagno Lungo, showing different types of benthic populations; terrestrial area in white color.

Risultati e conclusioni

I risultati delle indagini hanno consentito di individuare, progettare e realizzare quattro sentieri subacquei per attività di snorkeling all'interno della fascia batimetrica 0-5 m, a: Punta Barbarossa, Cala Stagno Lungo, Trabuccato e Punta Sabina. La posizione dei sentieri è stata individuata tenendo conto dell'accessibilità, della vicinanza ai moli di approdo, della sicurezza dei visitatori e dell'importanza naturalistica.

I percorsi sono stati segnalati da boe superficiali e corredati da opportuni cartelli a terra e sul fondale marino per un'immediata informazione dell'itinerario da seguire e delle specie e popolamenti da osservare. Per la realizzazione sono stati utilizzati dei blocchi in pietra naturale (granito), di dimensioni di circa cm $40 \times 25 \times 25$ h, al fine di limitare qualsiasi impatto sull'ambiente. I corpi morti sono stati posizionati ad una distanza di circa 25 m l'uno dall'altro (in relazione al tipo di fondale) e sono stati uniti da una cima per facilitare l'individuazione del sentiero.

Per quanto riguarda gli aspetti floro-faunistici, le specie di maggiore interesse scientifico presenti lungo i percorsi sono risultate *Cystoseira amentacea* var. *stricta* (Mont.) Sauv., *Lithophyllum lichenoides* (L.) Phil., *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch., *Posidonia oceanica* (L.) Del., *Cladocora cespitosa* (L.), *Pinna nobilis* (L.), *Patella ferruginea* (Gmelin), *Epinephelus* spp., *Diplodus* spp., *Sciaena umbra* (L.).

Bibliografia

COSSU A., GAZALE V., ORRÙ P., PALA D., PUDDU A. (2000) – Lineamenti morfologici e cartografia dei popolamenti bentonici di rada della Reale nell'Isola dell'Asinara (Sardegna NW). *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 478-487.

COSSU A., PALA D., GAZALE V., DEGIOANNIS N., PERGENT G. (2001) – Un sistema integrato per la cartografia dei popolamenti bentonici. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 654-659.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 696-697

V. Gazale, D. Pala, N. Sechi

Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale, Università di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.

INDIVIDUAZIONE DI ATTIVITÀ ILLEGALI DI PESCA A STRASCICO ALL'INTERNO DELLA BAIA DI PORTO CONTE (SARDEGNA NW)

EVIDENCE OF ILLEGAL TROWLING ACTIVITIES IN PORTO CONTE BAY (NW SARDINIA)

Abstract

A benthic resources mapping program has been carried out in Porto Conte bay (NW Sardinia, Italy), during 1997 and 1998. 472 side scan sonar images, covering an area of 5.55 km^2, has been taken in the field, joined in a geo-referenced mosaic and managed in ArcView 3.0 GIS platform. 158 trawls scars has been detected inside the bay with a maximum density (34,1 scars/km^2; n = 59) between 20 m depth and the lower limit of the local Posidonia oceanica bed.

Key-words: *side scan sonar, GIS platform, trawl scars,* Posidonia oceanica.

Introduzione

Nell'ambito degli studi di caratterizzazione bionomica dell'istituenda area marina protetta di Capo Caccia, è stata posta particolare enfasi nello studio della prateria a *Posidonia oceanica*, permettendo di evidenziare alcuni aspetti degenerativi determinati da attività di pesca a strascico condotte illegalmente in acque superficiali.

Materiali e metodi

I rilievi sono stati eseguiti nella baia di Porto Conte, localizzata nell'estremità nord occidentale della Sardegna (Fig. 1), negli anni 1997 e 1998 tramite sonar a scansione laterale a correzione di immagine computerizzata (PC Sea Scan Marine Sonic Technology, ltd.) con una frequenza di 600 kHz e una battuta di 100 m, secondo il metodo delle fasce a copertura totale (Cossu *et al.,* 2000; Pala *et al.,* 2001). L'acquisizione diretta in forma digitale dei sonogrammi ha permesso l'osservazione in tempo reale delle immagini sullo schermo del computer e di conoscere e memorizzare le coordinate geografiche dei punti di rilevante interesse, nonché la lunghezza, altezza e superficie di qualunque oggetto rilevato. Attraverso l'uso del software Total Alignment System (TAS) professional, si è proceduto successivamente alla georeferenziazione e unione delle immagini in un mosaico all'interno dell'ambiente GIS Arcview 3.0.

Risultati e conclusioni

Sono stati registrati 472 sonogrammi per una superficie pari a 5.55 km^2 compresa fra le isobate dei 5 e dei 50 m. L'interpretazione di tali sonogrammi ha consentito di evidenziare complessivamente 158 segni riconducibili all'azione dei divergenti delle reti a strascico o degli ancoraggi delle imbarcazioni, che raggiungono la densità massima (34.1 segni/km^2; n = 59) fra 20 m ed il limite inferiore della prateria (circa 30 m). Sono stati inoltre rinvenuti 46 segni di rete a strascico fra 5 e 10 m di profondità su un'area di 1.94 km^2; 53 segni fra 10 e 20 m di profondità su un'area di

1.88 km^2. La densità media, calcolata sull'intera superficie campionata, è pari a 28.66 ± 7.47 segni/km^2. Il numero totale di segni rinvenuti a Porto Conte è ben 5,4 volte superiore a quello della Rada della Reale, un'area di circa 20 km^2 ubicata nel Parco Nazionale dell'Asinara (Pala *et al.,* 2001). Questi risultati mettono in evidenza la forte incidenza di un'attività di pesca praticata in maniera illegale (al di sopra dell'isobata dei 50 m) e all'interno di un'area marina protetta di prossima istituzione. Considerando i danni che questa attività determina nei confronti delle comunità biologiche superficiali, in particolare della prateria a *P. oceanica*, è evidente la necessità di adottare opportune misure di controllo e tutela.

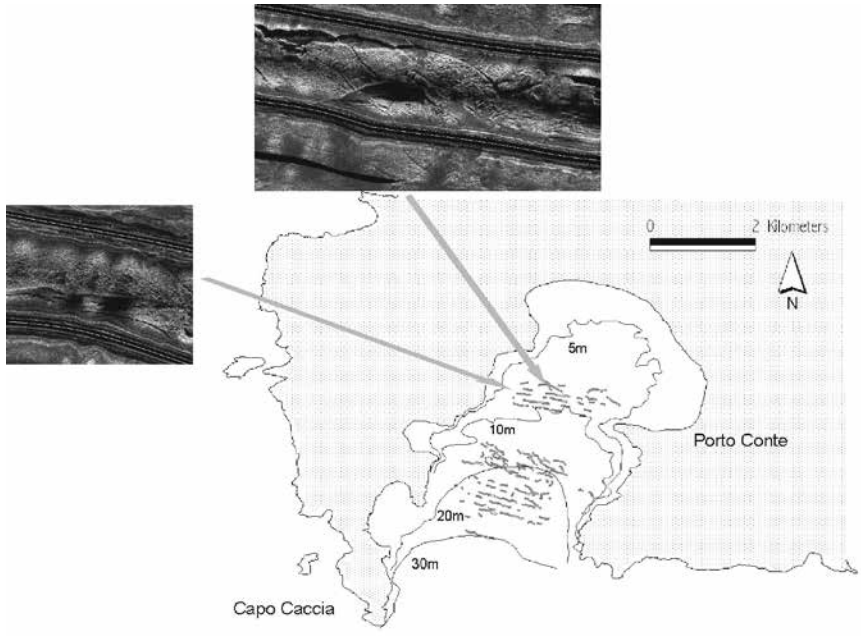


Fig. 1 – Mappa dell'area di studio. In nero sono indicati i segni riconducibili all'azione di reti a strascico, visibili in dettaglio sulle immagini al side scan sonar.

Study area map. Black lines indicates the trawl scars, also visible with more detail in side scan images.

Bibliografia

COSSU A., PALA D., PERGENT G. (2000) - Proposte per una metodologia finalizzata all'individuazione e alla valutazione dello stato delle praterie a *Posidonia oceanica* lungo i litorali sardo-corsi. In: A.A.V.V. Interreg II, programme de coopération scientifique Corte, Pise, Sassari, Cagliari: bilan et perspectives. *Environnement et Identité en Mediterranée*. Environnement, Corte, **2**: 39-46.

PALA D., COSSU A., GAZALE V. (2001) - Evidenza di attività illegali di pesca a strascico nella Rada della Reale, Parco Nazionale dell'Asinara. *Biol. Mar. Medit.,* **8** (1): 684-686.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 698-700

F. Gelli, A.M. Cicero[1], P. Melotti[2], A. Roncarati[2], L. Pregnolato, F. Savorelli[1], D. Palazzi, L. Mariani[1], G. Casazza[3]

Laboratorio Ittiologico di A.R.P.A. E.R.- Sez. Prov.le di Ferrara, Corso Giovecca, 169 – Ferrara, Italia.
[1]I.C.R.A.M., Roma, Italia.
[2]C.U.R.D.A.M., Università di Camerino, Italia.
[3]A.N.P.A., Roma, Italia.

IMPIEGO DI STADI LARVALI E GIOVANILI DI *D. LABRAX* (L.) IN SAGGI BIOLOGICI: VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DI ACQUE MARINE, SALMASTRE E DI SEDIMENTI ATTRAVERSO TEST ACUTI

USE OF D. LABRAX *(L.) LARVAE AND JUVENILES IN BIOASSAYS: EVALUATION OF THE QUALITY OF MARINE WATERS, BRACKISH WATERS AND SEDIMENTS IN ACUTE TOXICITY TESTS*

Abstract

15, 30 and 60 days old Dicentrarchus labrax *(L.) (Teleostei: Serranidae) larvae and juveniles were exposed to two reference toxicants (Sodium laurylsulphate and Cadmium chloride) in order to verify if this species of fish can be selected as appropriate organism to use in short term acute tests. The effects have been evaluated on the survival rates of the toxicants throughout 24 hours. The results of this trials confirm the possibility to candidate the European seabass as bioassay organism for validation procedures for short term acute tests.*

Key-words*:* Dicentrarchus labrax*, bioassays, ecotoxicology, test organisms.*

Introduzione

La legislazione italiana ha solo di recente auspicato l'introduzione e l'esecuzione del saggio di tossicità a breve e lungo termine che utilizzi specie ittiche autoctone al fine di concorrere a rappresentare un giudizio di qualità delle acque marino-costiere, integrato rispetto ai dati chimico-fisici dello stesso comparto.

Fra gli organismi acquatici marini, alcune specie ittiche di origine nordamericana sono state testate con successo ai fini della esecuzione di saggi di tossicità a breve e lungo termine (*Cyprinodon variegatus, Menidia beryllina*) (Viganò, 1998; US EPA, 1993; Klemm, 1994). In Italia questa problematica è stata affrontata negli ultimi due anni (ICRAM, ANPA, ARPA ER - Ferrara) attraverso le indagini su specie quali *Atherina boyeri* e *Aphanius fasciatus*, per le quali sono state ottimizzate tecniche di riproduzione artificiale. Un ulteriore approfondimento degli studi ha spostato l'attenzione sulla specie ittica eurialina autoctona *Dicentrarchus labrax*, di cui è stata testata la sensibilità per un suo possibile utilizzo nei saggi ecotossicologici. Questa specie, infatti, è estremamente diffusa e reperibile tutto l'anno nel bacino del Mediterraneo poiché viene prodotta in decine di milioni di esemplari nelle avannotterie commerciali presenti in Spagna, Francia, Italia, Grecia, Turchia e nord Africa. I saggi di tossicità acuta sono stati condotti sia su larve che su stadi giovanili di branzino, esposti a differenti concentrazioni di 2 composti considerati come tossici di riferimento, quali il Sodio laurilsolfato e il Cloruro di cadmio.

Materiali e metodi

Allo scopo di testare la sensibilità della specie ittica *Dicentrarchus labrax* e la conformità delle procedure sperimentali per l'esecuzione di test di tossicità, sono stati selezionati ed adottati due tossici di riferimento: Sodio laurilsolfato (SLS) e Cloruro di cadmio (Cd Cl_2 2,5 idrato).

Nella fase sperimentale sono state condotte 200 prove su branzini di differenti età esposti a concentrazioni dei tossici di riferimento variabili. Le matrici impiegate sono state acque marine ed elutriati di sedimento mantenendo costanti i valori di salinità, temperatura e fotoperiodo nel corso di tutti i saggi condotti.

Risultati e conclusioni

I dati ottenuti dalle determinazioni evidenziano che a 24 ore la specie ittica testata, in particolare in corrispondenza degli stadi larvali, risulta molto più sensibile ai tossici testati rispetto al crostaceo *Artemia salina*, organismo previsto dal D. L.vo 152/99 per l'esecuzione di test ecotossicologici in scarichi di acque salate.

In una prima fase è stato effettuato un saggio preliminare a 24 ore con branzini di 15, 30 e 60 giorni di età per determinare la tossicità del Sodio laurilsolfato e del Cloruro di cadmio.

Per le larve di branzino di 15 giorni, la mortalità totale è stata osservata per il Sodio laurilsolfato a 10 mg/l e per il Cloruro di cadmio a 100 mg/l; lo stesso risultato è stato osservato negli organismi di 30 e 60 giorni. Questi dati hanno consentito di stabilire l'ambito di diluizione (compresa tra 1 e 10 mg/l per il SLS; tra 10 e 100 mg/l per il $CdCl_2$) entro il quale ricade la LC50. Sia nelle prove preliminari che in quelle definitive, la mortalità nel controllo è stata pari al 4,5%, valore ben al di sotto della soglia standard di riferimento stabilita per l'accettabilità dei test ecotossicologici (10%). La LC50 a 24 ore del Sodio laurilsolfato sul *D. labrax* è risultata per le larve di 15 giorni pari a 1,50 mg/l (limiti fiduciali: 1,35-1,67), per quelle di 30 giorni 2,04 mg/l (limiti fiduciali: 1,38-2,52), per i giovanili di 60 giorni 5,36 mg/l (limiti fiduciali: 5,23-5,50). Nei test con Cloruro di cadmio, la LC50 a 24 ore ottenuta è uguale a 10,55 mg/l (limiti fiduciali: 7,96-13,12) per le larve di 15 giorni, 16,16 mg/l (limiti fiduciali: 13,10-19,03) per gli organismi di 30 giorni, 36,21 mg/l (limiti fiduciali: 33,93-38,81) per i giovanili di 60 giorni. Questi valori appaiono significativamente inferiori rispetto a quelli ottenuti con naupli di *Artemia sp.* (24h-LC50 con SLS: 30,98 mg/l; con $CdCl_2$: 477,28 mg/l). Il dato riscontrato permette di candidare il branzino nel novero degli organismi marini autoctoni utilizzabili per lo svolgimento di saggi ecotossicologici sia in acque marine che salmastre che su elutriati ottenuti da sedimenti, così come richiesto dalle più recenti normative nazionali e sovranazionali.

Bibliografia

KLEMM D.J., MORRISON G.E., NORBERG-RING J.J., PELTIER W.H., HEBER M.A. (1994) - *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms.* EPA-600/4-91/003, Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.

TESTO AGGIORNATO DEL DECRETO LEGISLATIVO 11 maggio 1999, n. 152, recante: "Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole", a seguito delle disposizioni correttive ed integrative di cui al decreto legislativo 18 agosto 2000, n. 258. Supplemento ordinario n. 172/L alla "*Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*", n. 246 del 20 ottobre 2000 - Serie generale.

US EPA (1993) - *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwaters and marine organisms.* EPA/600/4-90/027F, Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio: 71-91.

VIGANÒ L. (1998) - Metodo per test di tossicità cronica (7 giorni) con *Cyprinodon variegatus. Not. Metodi Anal. IRSA-CNR,* ISSN:1125-2464, maggio 1998: 13-19.

Ricerca eseguita con fondi dell'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (ANPA) e dell'Istituto per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare (ICRAM), nell'ambito del Programma di Ricerca "Attività di studio e sperimentazione sui criteri e sulle metodologie per la verifica delle caratteristiche trofiche delle acque marine costiere e livelli di contaminanti nei sedimenti".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 701-705

A. Gentile, S. Riggio

Dipartimento di Biologia Animale, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

SVILUPPO DI UN DATABASE G.I.S. COME STRUMENTO DI GESTIONE IN UN PIANO DI MONITORAGGIO E CONTROLLO DELLA FASCIA COSTIERA

THE USE OF A G.I.S. DATABASE AS A MANAGEMENT TOOL FOR THE MONITORING CONTROL OF THE COASTAL ZONE

Abstract

An advanced GIS database has been designed, addressed to the sustainable development and non-destructive use of the natural resources. This database is founded on a thorough inventory of the flora and fauna present in the area examined, and incorporates the evaluation of the ecological meaning of the organisms and their biotic associations. The outcome is tested through an assessment of the stability of the dominant communities. A preliminary test implemented in N/W Sicily is reported and discussed to illustrate the method and its outcome.

Key-words: *GIS, coastal management, bionomic cartography,* Posidonia oceanica*, Sicily.*

Introduzione

La gestione della fascia costiera comporta la disponibilità di una base di dati sul territorio e sulle risorse naturali integrate da reti informatiche capaci di correlare blocchi di informazioni provenienti da fonti diverse. Nello studio prodotto i dati provenienti da lavori di cartografia bionomica sono stati confrontati con le informazioni fornite da alcuni bioindicatori significativi rilevati in situ (Barone *et al*., 1985). E' stata elaborata una banca dati GIS, indirizzato alla realizzazione di un programma di monitoraggio e controllo dei parametri biotici (AA.VV. 1994; Barlett, 1994; 2000; De Mers, 1997). Fra i descrittori più idonei sono stati scelti: a) la prateria di *Posidonia oceanica*; b) la malacofauna associata alla prateria di *P. oceanica*; c) la malacofauna associata alle biocenosi ad alghe fotofile; d) le piattaforme litoranee a vermetidi. La scelta degli indicatori è basata su esperienze precedenti condotte negli stessi ambienti e che hanno giustificato proposte di gestione conservativa della fascia sommersa (Chemello *et al.*, 1997; Pandolfo *et al*., 1992; Toccaceli e Alessi, 1989).

Materiali e metodi

L'area dell'indagine è la Baia di Carini (Sicilia nord occidentale), caratterizzata da una marcata eutrofizzazione, soprattutto nel settore ovest. L'eutrofizzazione costiera è massima nel periodo estivo e si attenua con il procedere delle stagioni, con un minimo nel periodo invernale (Riggio *et al*., 1995a, 1995b). L'indagine cartografica (fino alla batimetrica di circa –50 metri) si è servita del rilevamento acustico del fondale effettuato con Side Scan Sonar (EG&G) a doppia frequenza (100 e 500 KHz). Il posizionamento è stato garantito da un sistema di radiolocalizzazione statellitare differenziale DGPS (TRIMBLE 4000SE) composto da una stazione GPS di riferimento posta a terra ed una stazione GPS di misura posta nell'imbarcazione da ricerca.

L'analisi bionomica è stata compiuta in immersione con ARA ed ha comportato

l'analisi *in situ* ed il rilevamento mirato su campioni animali e vegetali considerati come importanti descrittori ambientali (Gili e Ros, 1985) alle profondità di –1, –3, –5, –10 e –15 metri, lungo transetti costa-largo. In ogni stazione sono stati prelevati fasci di *P. oceanica* dei quali sono stati contati le densità foliare e la percentuale di ricoprimento (Giraud, 1979); i molluschi sono stati campionati con retino a mano (Russo *et al*., 1984).

I dati ottenuti dalle indagini condotte in campo sono stati riportati in un GIS. L'archiviazione dei dati raccolti all'interno del GIS è avvenuta secondo le seguenti modalità: a) una archiviazione in formato raster (mediante il software IDRISI) del fotomosaico Side Scan Sonar (Fig. 1) del fondale studiato; b) una archiviazione in formato vettoriale (mediante il software ATLAS GIS) dei poligoni descriventi le diverse mofologie riscontrate dall'analisi dei dati acustici; c) una archiviazione delle diverse informazioni ambientali ottenute dalle immersioni dirette di subacquei in apposite tabelle (in ambiente Microsoft ACCESS). Il database GIS riporta, oltre le caratteristiche geografiche della zona interessata dalle indagini, anche diverse caratteristiche ambientali.

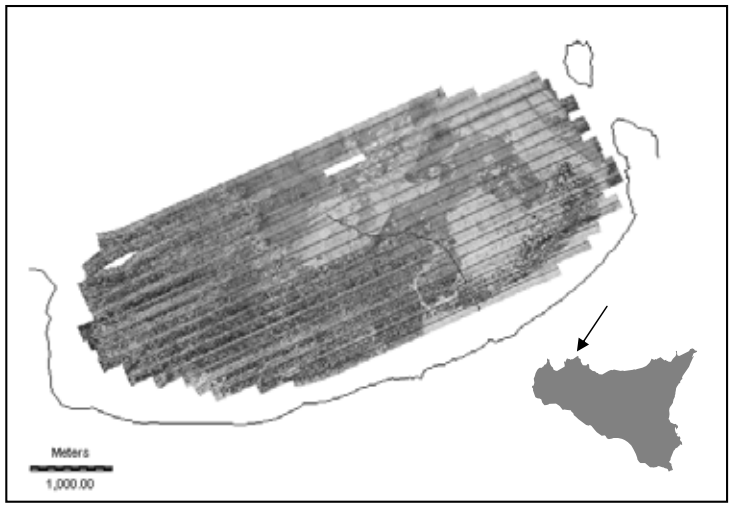


Fig. 1 – Carta del fotomosaico Side Scan Sonar.
Photomosaic chart of Side Scan Sonar.

Risultati

Gli aspetti salienti dell'area in esame sono stati esposti in carte tematiche fra le quali vanno segnalate: a) carta delle biocenosi bentoniche; b) carta della distribuzione della *P. oceanica*; c) carta del fotomosaico elaborata con il Side Scan Sonar; d) carta della sensibilità ambientale; e) carta dell'uso del territorio.

La mappa delle biocenosi bentoniche (Fig. 2) ottenuta dall'elaborazione dei dati prodotti dal Side Scan Sonar ed interpolati con i rilevamenti diretti individua 12 categorie bionomiche comprese fra la batimetrica dei –5 m e i –50 m, ripartite come segue: 5 categorie rientrano nella prateria di *P. oceanica* (macchie sparse *P. oceanica* su

sabbia, *P. oceanica* su sabbia, su roccia e matte, su matte con ampi solchi e con matte sparsa su sabbia); 2 corrispondono alla *Cymodocea nodosa* (fitta su sabbia e turf; rada su sabbia); 4 rientrano nelle biocenosi delle sabbie di fondo (ripartite in sabbie fini e molto fini, sabbie grossolane bioclastiche, melange di sabbie fini e grossolane, sabbie fini con affioramenti rocciosi e coralligeno); 1 corrispondente al mosaico di matte morta e sabbia. Le alghe fotofile caratterizzano l'infralitorale superiore dell'isola di Fuori (Isola delle Femmine) e di Punta del Passaggio ad est, di Torre Muzza ad ovest ed un tratto centrale della Baia, e si estendono dalla linea di costa fino alle profondità di –5/–10 metri.

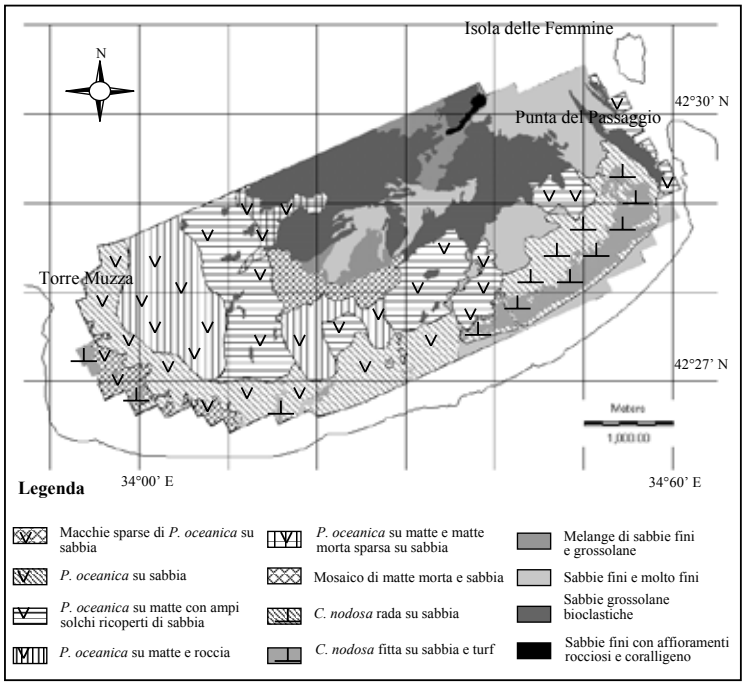


Fig. 2 – Carta delle biocenosi bentoniche dell'area marina costiera della Baia di Carini.
Bionomic chart of marine coastal zone of Carini Bay.

La *P. oceanica* prevale essenzialmente sul versante occidentale, dove si impianta su un substrato misto matte/sabbia con una marcata un'estensione (circa 3.79 Km^2). All'interno della prateria sono presenti numerosi punti di erosione dovuti agli ancoraggi; l'erosione si accentua presso la costa. Nella parte centrale della Baia la *P. oceanica* si impianta essenzialmente su roccia sviluppando anche qui una estesa prateria (1.87 Km^2). Al largo si estende una vasta zona di matte morta, la cui estensione indica una regressione naturale che dal largo si spinge fin sotto la costa. Nel versante orientale due grossi canali isolano una piccola prateria di *P. oceanica* impiantata su matte (0.14 Km^2) fortemente erosa. La densità media del posidonieto oscilla tra i 298 fasci/m^2 (–15 m) ed i 332 fasci/m^2 (–1 m), caratteristici di una prateria rada o molto rada (Giraud, 1979),

mentre il coefficiente "A" (di erosione degli apici fogliari) oscilla tra il 50% (–1 m) ed il 20.5% (–15 m).

La *Cymodocea nodosa* colonizza il settore orientale lungo due cinture caratterizzate da un substrato misto sabbia/turf sotto costa (0.88 Km^2) e di sola sabbia per quella estesa verso il largo (0.84 Km^2). Una cintura a *C. nodosa* si impianta su matte morta intorno ai –10 m lungo tutto il versante occidentale (0.84 Km^2) ed indica un processo di erosione della *P. oceanica* presso la costa, sostituita dalla *C. nodosa*, più tollerante alle variazioni ambientali ed agli impatti di origine antropica.

Le indicazioni bionomiche fornite dalla malacofauna sono riassumibili nei seguenti dati inseriti nel database GIS: 90 specie associate al posidonieto, ripartite in 85 Gasteropodi (97%), un Poliplacoforo e 4 Bivalvi. La componente a molluschi associata alle alghe fotofile è invece presente con 118 specie tra Poliplacofori (7.6%), Gasteropodi (76.3%) e Bivalvi (16.1%). Estrapolando *Dendropoma petraeum* che costituisce il concrezionamento, il popolamento a molluschi presente nel trottoir a vermeti conta 83 specie ripartite in 6 Poliplacofori (7.2%), 60 Gasteropodi (78.3%) e 13 Bivalvi (14.5%).

Conclusioni

L'elaborazione dei dati bionomici della Baia di Carini rivela un quadro ambientale di particolare sofferenza a causa della somma di interventi antropici rovinosi; questo è osservabile dallo stato di degrado in cui versano le praterie di *P. oceanica*. Il maggior degrado si evidenzia sul versante di ponente, dove la concentrazione di nutrienti, derivanti dai numerosi scarichi di reflui non controllati, viene innalzata ad opera delle correnti superficiali di NE-SW. Il fenomeno si accentua nel periodo estivo dove spesso esplodono blooms fitoalgali.

La recente costruzione delle condotta sottomarina per la dispersione dei reflui dell'abitato di Carini raccomanda l'avvio di un programma di monitoraggio della prateria di *P. oceanica*. La raccolta ed elaborazione di dati sulla Baia di Carini va quindi considerata nella sua duplice funzione di studio preliminare del territorio finalizzato alla conservazione ambientale, ed esperimento nella formazione di un programma valido in generale per aree costiere in pericolo.

Bibliografia

AA.VV. (1994) – *Breve introduzione ai Sistemi Informativi Geografici*. Franco Ziviani, Milano: 48 pp.

BARLETT D.J. (1994) – *GIS and the Coastal Zone: Past, Present and Future*. AGI Notes (association for Geographic Information, UK), London: 30 pp.

BARLETT D.J. (2000) – Working on the Frontieres of Science: Applying GIS to the Coastal Zone. In: Wright & Barlett (eds), *Marine and Coastal Geographical Information Systems*: 11-24.

BARONE R., DE LORENZO R., DRAGO D., GIACCONE G., MUSCETTA P.M. (1985) – Metodi biologici per la valutazione di impatto ambientale a mare: la cartografia biocenotica. *Ingegneria ambientale*, **14** (10): 563-852.

CHEMELLO R., DI PIAZZA F., DIELI T., RIGGIO S. (1997) – Struttura della malacocenosi associata ad alghe fotofile: effetti della profondità e della complessità d'habitat. *Biol. Mar. Medit.*, **4** (1): 167-168.

CHEMELLO R., RUSSO G.F. (2001) – *MaREP (Marine Reserve Evaluation Procedures)*. Valtrend, Pozzuoli (Napoli): 46 pp.

DE MERS M.N. (1997) – *Fundamentals of Geographic Information System*. Wiley & Sons, New York: 486 pp.

GILI J.M., ROS J. (1985) – Study and cartography of the benthic communities of Medes Islands (NE Spain), *Mar. Ecol*., **6** (3): 219-238.

GIRAUD G. (1979) – Essai de classament des herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Botanica Marina*, Berlin, **20** (8): 487-491.

PANDOLFO A., CHEMELLO R., RIGGIO S. (1992) – Notes sur la signification ecologique de la malacofaune d'un "Trottoir a Vermets" le long de la cote de Palerme (Sicile). *Rapp. Comm. Int. Mer Medit.*, **33**: 47 pp.

RIGGIO S., CHEMELLO R., D'ANNA G., ARCULEO M. (1995a) – Milieu cotier et ressources marines dabs le Golfe de Castellammare (Sicilie NO). In: *Villes des rivages et environment littoral en Mediterranèe*, Montpellier: 77-81.

RIGGIO S., CALVO S., FRADA' ORESTANO C., CHEMELLO R., ARCULEO M. (1995b) – La degradation du milieu dans le Golfe de Palerme (Sicilie NO) et les perspectives d'assainissement. *Ibid*.: 82-89.

RUSSO G.F., FRESI E., VINCI D., CHESSA L.A. (1984) – Mollusk syntaxon of foliar stratum along the depth gradient in a *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow: diel variability. In: Boudureseque C.F., Jeudy de Grissac A., Oliver J. (eds), International Workshop on Posidonia Beds, *GIS Posidonie Publ*., Fr., **1**: 303-310.

TOCCACELI M., ALESSI M.C. (1989) – Cartografia biocenotica delle praterie a fanerogame marine della baia di Carini (Sicilia nord-occidentale). *Oebalia*, **15**, 1 (n.s.): 341-344.

Questo lavoro è stato finanziato con i fondi ex-60% (MIUR) di uno degli autori.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 706-710

A. Gentile, S. Riggio

Dipartimento di Biologia Animale, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

LA RAPPRESENTAZIONE CARTOGRAFICA IN AMBIENTE G.I.S. DELLE BIOCENOSI BENTONICHE MARINE NELL'AREA DI CAPO GALLO (SICILIA NORD-OCCIDENTALE)

THE BIONOMIC CARTOGRAPHY IN GIS ENVIRONMENT IN THE AREA OF CAPO GALLO (NORTH-WEST SICILY)

Abstract

The bionomic cartography is one of the most important tools in the coastal zone management, in particular in the MPA. In this project, different acoustic surveying techniques of the seafloor have been used along with a GIS system. The research was conducted on the coast between Capo Gallo and Isola delle Femmine (north-west Sicily).

Key-words: *GIS, bionomic cartography,* Posidonia oceanica*, Sicily.*

Introduzione

La rappresentazione cartografica delle biocenosi bentoniche è essenziale nella gestione della fascia costiera, ed acquista maggior rilevanza nelle aree protette (AMP). La creazione di un database in ambiente GIS è pertanto preliminare ad ogni scelta gestionale (Barlett, 1994). I fondali antistanti un tratto di costa a N/W del Golfo di Palermo sono stati analizzati e mappati nella prospettiva dell'istituzione della riserva marina costiera di *Capo Gallo – Isola delle Femmine*. Nell'ambito del progetto sono stati impiegati diversi strumenti per il rilievo acustico del fondale, i cui risultati sono stati riportati in un sistema GIS nel quale sono state integrate le informazioni sui diversi settori dell'indagine.

Materiali e metodi

L'area sottoposta all'indagine cartografica ha un'estensione lineare di circa 17 Km ed una larghezza di circa 1,5 Km verso il largo. La zona interessata si estende tra la punta esterna dell'isolotto delle Femmine fino al promontorio di Capo Gallo (Punta Mondello) situata a nord-ovest del Golfo di Palermo, dalla linea di costa fino alla batimetrica dei –50 metri circa (Riggio e Raimondo, 1991; Milazzo *et al.*, 2000). Nello sviluppo della carta delle biocenosi bentoniche marine in scala 1:10.000 sono stati impiegati diversi sistemi per il rilievo acustico del fondale marino. Ne è risultato un rilevamento di dettaglio delle unità morfologiche, ai fini sia della localizzazione delle diverse biocenosi presenti che dello sviluppo di una carta batimetrica a risoluzione elevata (prossima ad 1 cm circa). L'elaborazione della carta batimetrica ha consentito lo sviluppo di un modello DTM (Digital Terrain Model) dell'area in esame (Fig. 1).

Gli strumenti usati sono stati: un sonar a single beam a doppia frequenza (24-200 kHz), un sistema multibeam (Simrad EM 3000) operante alla frequenza di 300 kHz, ed un sonar a scansione laterale (Datasonics SIS-1000) con incorporato un Sub-Bottom Profiler. Il corretto posizionamento dei tratti morfologici riprodotti sulla carta è stato

garantito mediante l'impiego di un WADGPS (Wide Area Differential GPS) della Racal Skyfix.

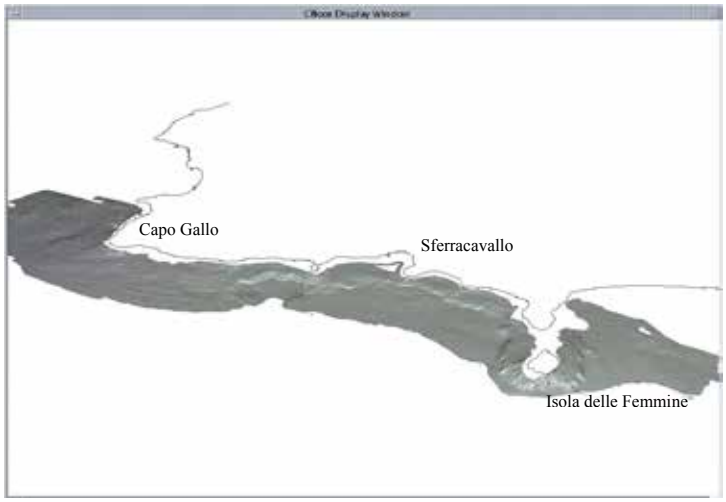


Fig. 1 – Digital Terrain Model (DTM) del tratto di fascia costiera compreso tra Punta Capo Gallo ed Isola delle Femmine.
Digital Terrain Model (DTM) of the coastal zone between Capo Gallo and Isola delle Femmine.

Al fine di identificare correttamente le diverse biocenosi si sono impiegate metodologie di osservazione diretta dei fondali. A tale scopo si è provveduto all'impiego di operatori subacquei (Gili e Ros, 1985; Pansini e Pronzato, 1982) ed all'impiego di un R.O.V. *Hyball* (Hydrovision) in grado di videoregistrare su VHS il fondale osservato. Lo strumento è fornito oltre che di una videocamera orientabile a 360°, di 4 motori che ne consentono un perfetto controllo via cavo (fino a circa –80 m di profondità) da parte dell'operatore posto sull'imbarcazione d'appoggio. Il veicolo è stato condotto lungo 11 transetti ortogonali alla costa (Ardizzone, 1992), ed è stato impiegato per l'dentificazione visiva dei target poco chiari riscontrati durante i rilievi acustici, sostituendo l'impiego dei subacquei per le profondità maggiori.

Le informazioni ambientali prodotte per mezzo delle metodologie descritte sono state trasferite all'interno di un software GIS (IDRISI ver. 2.0), al fine di produrre un sistema di facile accesso, capace di visualizzare le carte prodotte e di effettuare analisi relative ai dati inseriti. Il trasferimento dei dati nel GIS è consistito nella trasformazione in formato raster, compatibile con le caratteristiche tecniche del software IDRISI, sia del fotomosaico Side Scan Sonar che del DTM prodotto dal MultiBeam. Nel tempo il sistema può essere ampliato ed aggiornato (De Mers, 1997; Diviacco *et al*., 2000).

Risultati

I risultati della campagna di rilevamento bionomico del fondale evidenziano 12 unità cenotiche (Meinesz *et al.*, 1983) illustrate nella Fig. 2 e così riassumibili: 2 rag-

gruppamenti (RIPC/c + RIPC/o, RIHC + RIS) identificano fondi duri a ricoprimento algale; 4 individuano la vegetazione a Fanerogame marine, rispettivamente rappresentate dai posidonieti su roccia e/o sabbia, e dalla *pelouse* a *Cymodocea nodosa*; 6 unità tipiche dei fondi molli (SFBC e SGCF). In quest'ultima categoria rientrano le sabbie grossolane caratterizzate da ripple marks e da strutture a gradoni e gli affioramenti rocciosi su sabbia.

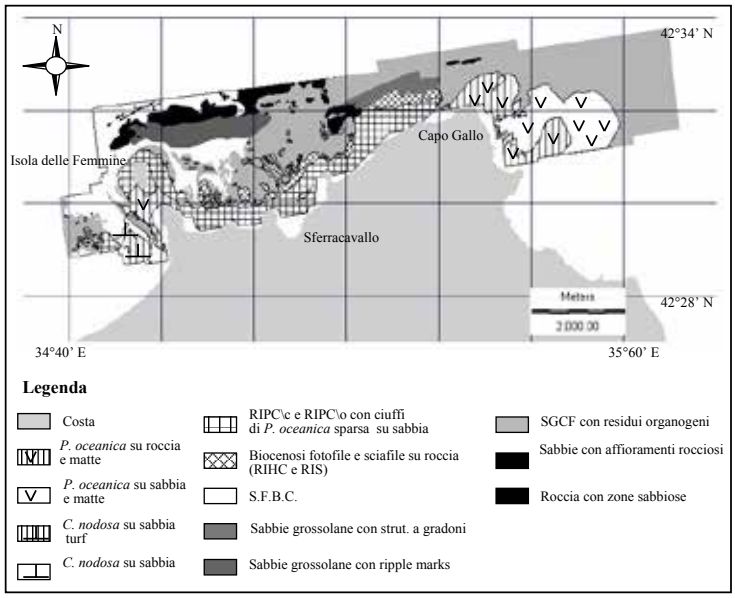


Fig. 2 – Carta bionomica dell'area marina costiera di Capo Gallo – Isola delle Femmine.
Bionomic chart of marine coastal zone of Capo Gallo – Isola delle Femmine.

Sono state individuate due zone caratterizzate dalla presenza delle praterie di *P. oceanica*. Un'area abbastanza estesa situata a nord-est di Capo Gallo dove la Posidonia è impiantata su roccia mista a sabbia sui substrati più superficiali compresi entro la profondità di –15 / –20 m. Oltre tale profondità, in direzione del limite inferiore della fanerogama (presso l'isobata dei –35 m), la prateria si sviluppa su un fondo di sabbie fini. La seconda prateria, di minore estensione, è stata rinvenuta nei pressi dell'Isolotto delle Femmine e di Punta del Passaggio, radicata quasi esclusivamente su roccia.

L'intera fascia costiera compresa tra Isola delle Femmine e Capo Gallo è caratterizzata da biocenosi fotofile e sciafile di substrato duro fino a circa –20/–30 metri di profondità, oltre i quali comincia un fondale di sabbie grossolane e medio grossolane (SGCF). La frangia litorale presenta una comunità fitoalgale ad alghe calcaree incrostanti (*Lithophillum lichenoides*) ed è caratterizzata dalla presenza dei trottoir a vermeti (*Dendropoma petreum*). Le biocenosi fotofile di roccia infralitorale di moda calma sono caratterizzate da cinture a *Cystoseiretum* le cui specie dominanti sono la *Cystoseira amentacea* e la *C. compressa*; queste si alternano ad aree coperte da lenti sabbiose occupate da ciuffi di *P. oceanica* sparsa. I fondi caratterizzati da sabbie fini ben classate

(SFBC) sono composti da sedimenti molto omogenei, leggermente fangosi e spesso di origine terrigena (derivante essenzialmente dall'erosione delle rocce litorali). Va inoltre segnalata la presenza di fondi ad Anfiosso, *Brachiostoma lanceolatum*, coincidenti con le lenti di SGCF comprese fra le orlate rocciose alle profondità di –40/–50 metri.

Conclusioni

L'impiego di tecniche e strumentazioni tipiche delle indagini cartografiche ha fornito i dati per la messa a punto della carta bionomica dell'area di Capo Gallo – Isola delle Femmine, indispensabile per l'istituzione della Riserva Marina. L'integrazione delle informazioni raccolte durante i rilievi in un sistema GIS ha permesso di collocare le diverse unità bionomiche all'interno di un sistema informatizzato GIS per la gestione dei dati cartografici ed ambientali. La mappatura realizzata detta le linee per la zonizzazione di massima, proposta in accordo con le finalità di salvaguardia del biotopo e con gli usi dell'area metropolitana (Fig. 3).

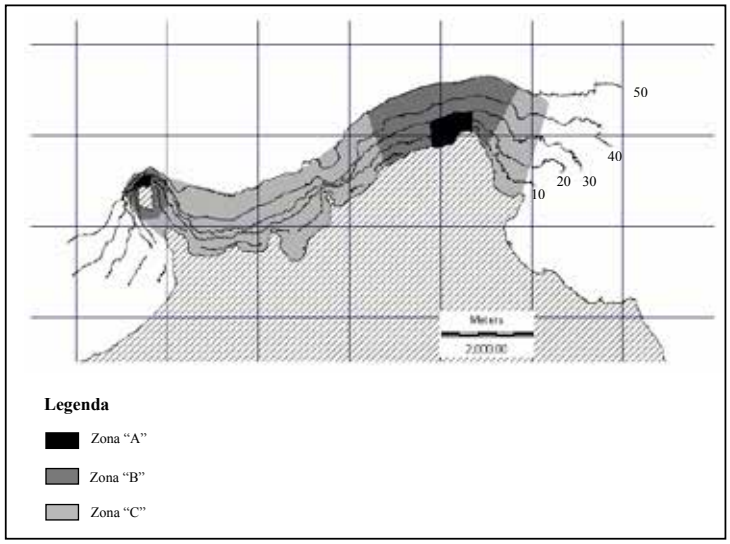


Fig. 3 – Carta della zonizzazione dell'area marina costiera di Capo Gallo – Isola delle Femmine.
Zoning chart of marine coastal zone of Capo Gallo – Isola delle Femmine.

Bibliografia

ARDIZZONE G.D. (1992) – Cartografia bentonica con sistemi videocontrollati a distanza. *Oebalia*, **17** (Suppl.): 441-452.

BARLETT D.J. (1994) – *GIS and the Coastal Zone: Past, Present and Future.* AGI Notes (association for Geographic Information, UK), London: 30 pp.

DE MERS M.N. (1997) – *Fundamentals of Geographic Information System*. Wiley & Sons, New York: 486 pp.

DIVIACCO G., TUNESI L., IANNIRUBERTO M., PICCIONE M.E. (2000) – Rappresentazione cartografica delle informazioni biocenotiche disponibili per la fascia costiera della provincia di Savona (Mar Ligure). *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 488-494.

GILI J.M., ROS J. (1985) – Study and cartography of the benthic communities of Medes Islands (NE Spain), *Mar. Ecol*., **6** (3): 219-238.

MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., FALCONETTI C., ASTIER J.M., BAY D., BLANC J.J., BOURCIER M., CINELLI F., CIRIK S., CRISTIANI G., DI GERONIMO I., GIACCONE G., HARMELIN J.G., LAUBIER L., LOVRIC A.Z., MOLINIER R., SOYER J., VAMVAKAS C. (1983) – Normalisation des symboles pour la représentation et la cartographie des biocénoses benthiques littorales de Méditerranée. *Annales de l'institutet Océanographique, Paris,* **59** (2): 155-172.

MILAZZO M., CHEMELLO R., GENTILE A., NASTA E., RIGGIO S. (2000) – *La scelta del sito nell'istituzione di aree marine protette e l'importanza della cartografia tematica*. 10° Congresso Nazionale della SitE. Pisa, 14-16/09/2000: 63-64.

PANSINI M., PRONZATO R. (1982) – L'impiego della tecnica subacquea nel rilevamento delle biocenosi bentoniche di substrato duro. *Naturalista Sicil*., S. IV, **6** (Suppl. 3): 467-476.

RIGGIO S., RAIMONDO F.M. (1991) – Proposta di una riserva marina per la tutela e la valorizzazione dei biotopi di Isola delle Femmine e di Monte Gallo (Palermo). *Quad Bot. Ambientale Appl.*, **2**: 59–96.

Questo lavoro è stato finanziato con i fondi ex-60% (MIUR) di uno degli autori.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 711-713

L. Giani, A. Cossu*

Dipartimento di Botanica ed Ecologia, Università degli Studi di Camerino,
Via Pontoni, 5 – 62032 Camerino, Macerata, Italia.
* Dipartimento di Botanica ed Ecologia vegetale, Università degli Studi di Sassari,
Via Muroni, 25 – 07100 Sassari, Italia.

STRESS ANTROPICO E CONDIZIONI ECOLOGICHE DELLE PRATERIE DI *POSIDONIA OCEANICA* (L.) DELILE NEL PARCO NAZIONALE DI LA MADDALENA (NE SARDEGNA)

STRESS OF ANTHROPIC EFFECTS AND ECOLOGICAL CONDITIONS OF THE POSIDONIA OCEANICA *FIELDS IN THE MADDALENA NATIONAL PARK (NE SARDINIA)*

Abstract

Three years of summer sampling, from 1999 to 2001, have permitted the verification of a close relationship between the depletion of Posidonia oceanica *bed in Maddalena National Park (NE Sardinia) and several factors of anthropogenic origin. Among them, the increase in water turbidity and the effects of boats anchoring on the sea floor are the principal causes for the reduction of the density, leaf length and coverage of the phanerogam. 78 circular areas 40 meters in diameter has been monitored by SCUBA diving, glass floored inflatable dinghy and a high definition (600 kHz) side scan sonar with a coverage of approximately 300 hectares, allowing the identification of the most affected areas and the quantification of the effects. The consequences of these effects on* P. oceanica *beds are evident by comparison with the values measured in non affected areas.*

Key-words: Posidonia oceanica*, anthropogenic impact, cartography, National Park.*

Introduzione

Il presente lavoro mira a verificare le condizioni ecologiche delle praterie a *Posidonia oceanica* in particolare delle aree danneggiate nel Parco Nazionale di La Maddalena. Effetti di fenomeni degenerativi erano già stati segnalati in precedenti campagne di ricerca (Cossu *et al*., 1990, 1997 a e b). Tali fenomeni sono essenzialmente riconducibili sia ad azioni meccaniche nel fondo sia a modificazioni indotte sulla colonna d'acqua, azioni comunque riconducibili ad attività di origine antropica. Il rilevante afflusso turistico in quest'area nel periodo estivo, modifica lo stato trofico delle acque e la sua trasparenza. L'eccessiva sospensione, il risultato dei versamenti diretti di acque non depurate e dei rimescolamenti dei fondali limoso argillosi, limita la capacità di accrescimento di *Posidonia oceanica.* La concentrazione di un consistente numero di imbarcazioni in aree limitate moltiplica le azioni meccaniche come effetto di solcature delle ancore che rompono la continuità delle matte; le forti correnti di fondo presenti nell'area contribuiscono ad accrescere il fenomeno.

Materiali e metodi

Le stazioni sono state scelte tra le zone soggette a maggiore frequentazione ed utilizzo. Sono state ispezionate con autorespiratore 78 aree circolari di 40 metri di diametro, a profondità variabili tra i 5 e i 15 metri di profondità per valutare la macrostruttura della prateria e in queste sono stati scelti dei campioni quadrati di 40 cm di lato. Si sono misurati valori di densità dei fasci, delle lunghezze fogliari e la copertura percentuale

di ricoprimento; la torbidità dell'acqua è stata valutata empiricamente dall'operatore subacqueo misurando la profondità allo sfumare dei contorni dell'imbarcazione appoggio soprastante. Con un Side Scan Sonar (SSS) ad alta frequenza (600 kHz), sono stati coperti circa 300 ettari; le scansioni prodotte erano di 200 metri di lunghezza e 100 di larghezza. Sono stati effettuati inoltre alcuni transetti sia in immersione sia con telecamera filoassistita per lo studio dei limiti inferiori e della continuità delle praterie. Tutti i posizionamenti sono stati effettuati con GPS differenziale. I dati medi di copertura in relazione alla profondità sono stati raggruppati nelle tre modalità proposte da Pergent-Martini (1994) per la valutazione della condizione di normalità.

Risultati

Le praterie di *Posidonia oceanica*, ponderando la densità di fasci in rapporto alla profondità, sono (Fig. 1) per il 37% dei casi esaminati in un buono stato di conservazione (normale), per il 24% in uno stadio di transizione (subnormale), per il 39% in una condizione di regressione incipiente (anormale - IV classe), con matte morta o di degenerazione (V classe) (Giraud, 1977; Pergent-Martini, 1994).

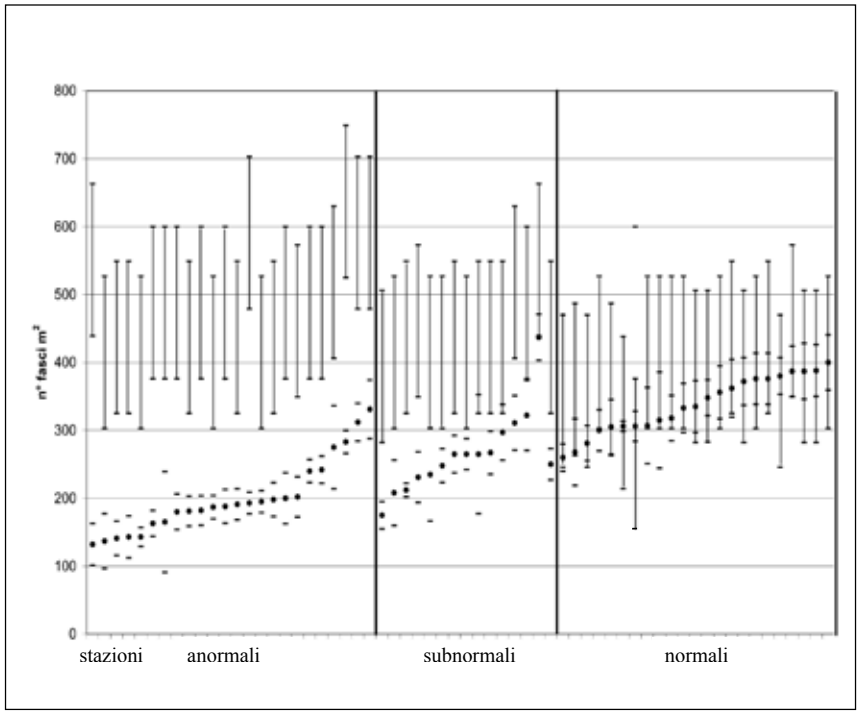


Fig. 1 – Densità dei fasci fogliari nelle stazioni esaminate. Le barre indicano l'intervallo di valori "normali" a quella profondità (Pergent-Martini, 1994); i segni • e - rispettivamente la media e l'ampiezza della deviazione standard.

Shoot density of the examined stations. Bars indicates the normal range in relation to depth (Pergent - Martini, 1994), • and - symbols are the mean and standard deviation respectively.

Le aree soggette ad un'elevata torbidità dell'acqua sono situate nel canale tra le isole di La Maddalena, Caprera e Santo Stefano, antistanti la città di La Maddalena e la base americana dell'isola di Santo Stefano. I valori di copertura di Posidonia in queste aree sono minori o uguali al 50%, incluse nelle classi IV e V di Giraud. Le aree in cui si è stimato il maggior danno da periodica frequentazione di ormeggi all'ancora sono quelle ridossate al dominate vento di Maestrale come anche quelle prossimali ai principali porti turistici. Tra quelle più danneggiate citiamo il Porto della Madonna e il Passo della Ceca di Morto a sud dell'Isola di Santa Maria e quelle a sud di Spargi a cala Corsara; ampi solchi da catena di ancora e da reti a strascico sono state registrate con il SSS a sud delle Isole di Budelli e di Spargi. Le aree meglio conservate sono a Cala Muro tra le isole di Santa Maria e Razzoli, a Cala d'Inferno a ovest di La Maddalena e lungo il perimetro delle piccole isole meridionali dell'Arcipelago.

Conclusioni

Alcune praterie di *Posidonia oceanica* del Parco Nazionale di La Maddalena presentano uno stato degenerativo attribuibile alla scarsa trasparenza dell'acqua; esse sono ubicate in prossimità delle zone più antropizate. Altre aree, più distribuite nell'arcipelago, mostrano danni causati degli apparati di ancoraggio delle imbarcazioni alla fonda durante i mesi estivi soprattutto nelle baie riparate e maggiormente frequentate. Vi è concordanza tra gli sforzi protezionistici operati dall'Ente Parco nelle aree marine "MA" a massimo grado di tutela e le praterie in esse residenti testimoniato dalla elevata densità fogliare e dalla assenza di solcature e matte morta. La recente istallazione di gavitelli per la sosta di imbarcazioni, unitamente al divieto di ancoraggio di alcune aree fortemente incise permetterà a questa importante formazione vegetale di mantenersi nel tempo. L'estensione della norma anche per le formazioni non in aree "MA" e più soggette ad impatto da ancoraggio permetterebbe un ulteriore miglioramento dell'assetto complessivo della prateria.

Bibliografia

COSSU A., GAZALE V., MARTINELLI M.R., MILELLA I., MORUCCI C., PAIS A., PORCHEDDU A., SABA S., SOLINAS P. L., VIRDIS G. (1990) - L'Arcipelago della Maddalena: aspetti naturalistici e prospettive per la costituzione di un parco internazionale. In: Cossu A., Gazale V., Milella I. (eds), *Atti del Congresso "I Parchi Marini del Mediterraneo aspetti naturalistici e gestionali"*. S. Teodoro 28-30 aprile 1989: 187-204.

COSSU, A., GAZALE V. (1997 a) - Caratterizzazione del benthos per la definizione del parco internazionale delle Bocche di Bonifacio. *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 481-482.

COSSU A., GAZALE V. (1997 b) - Caratteri della componente bentonica. In: Macciocco G. (ed), *I Luoghi dell'Acqua e della Terra - Rapporto di sintesi dello studio di definizione del Parco internazionale dell'Arcipelago di La Maddalena e delle bocche di Bonifacio*. Dip. Botanica ed Ecologia vegetale, Univ. di Sassari: 76-98.

GIRAUD G. (1977) - Essai de classement des herbiers de *Posidonia oceanica* (Linne) Delile. *Botanica Marina*, West Germ., **20** (8): 487-491.

PERGENT-MARTINI C. (1994) - *Impact d'un rejet d'eaux usées urbaines sur l'herbier à* P. oceanica*, avant et après la mise en service d'une station d'épuration*. Thèse Doctorat Univ. Corté, Corse: 1-191.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 714-716

P. Guidetti, S. Fraschetti, A. Terlizzi, C. Falugi*, F. Boero

Laboratory of Zoology and Marine Biology, DiSTeBA, CoNISMa, University of Lecce,
Via Prov.le Monteroni - 73100 Lecce, Italia.
paolo.guidetti@unile.it
*DiBiSAA, University of Genoa, Italia.

HUMAN PREDATION ON THE SEA URCHIN *PARACENTROTUS LIVIDUS* ALONG THE SOUTHERN APULIAN ROCKY COASTS: EFFECTS ON POPULATIONS

LA PESCA DEL RICCIO DI MARE PARACENTROTUS LIVIDUS *LUNGO LE COSTE ROCCIOSE DELLA PUGLIA MERIDIONALE: EFFETTI SULLE POPOLAZIONI*

Abstract

The edible sea urchins Paracentrotus lividus *(Echinodermata: Echinoida) is intensively harvested by humans along the southern Apulian rocky coasts. This study provides evidence that intense sea urchin harvesting might significantly reduce average size of* P. lividus*. Number of individuals and biomass (wet weight) per surface unit, instead, appeared to be unaffected. Implications for possible environmental impacts, remedial actions and management strategies of this fishery resource are discussed.*

Key-words*: echinoderm fisheries, man-induced effects, variance analysis, Mediterranean Sea.*

Introduction

The sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lam.) is distributed in the Mediterranean and along the Atlantic European coasts (from Ireland to Morocco), where it thrives at shallow depth (down to about 20 m) in seagrass meadows and rocky reefs (Fischer *et al.*, 1987). *P. lividus* is intensively harvested in several areas of the Mediterranean. In spite of the diffused concern for potential consequences on both *P. lividus* populations and whole subtidal assemblages, previous studies about the effects of sea urchin fisheries chiefly focused on depletion of commercial stocks (Boudouresque, 1987). This study is aimed at assessing the effects of sea urchin harvesting along the southern Apulian rocky coasts (where it is intensively fished according to tradition) strictly considering the effects on populations of *P. lividus*.

Materials and methods

Density (no. of individuals m^{-2}; n = 30 random quadrats per location), test diameter without spines (mm; n = 115 individuals > 1 cm per location) and biomass (g ww m^{-2}; estimated on 10 quadrats per location by length/weight relationship; Ballesteros, 1981) of *P. lividus* were evaluated in summer 2001 at 4-7 m depth in four locations of the Apulian coast (SE Italy), according to an asymmetrical 'beyond BACI' design (Underwood, 1994). Porto Selvaggio (thereafter named as F) is easily accessible from land and intensively fished by local people (both authorised fishermen and poachers) and tourists; Ciolo, Torre Minervino and Torre del Serpe (C1, C2 and C3 respectively), inaccessible from land, were selected as controls (Cs).

Results and conclusions

Mean density of individuals was not significantly affected by fishery (Fig. 1A; Tab. 1). In contrast, average size was significantly lower at F than at the Cs (Fig. 1B; Tab. 1). A great variability in mean biomass was observed among Cs, and no impact was detected (Tab. 1). The lowest values observed at F, although not statistically different, anyway suggest some possible effects that would deserve further attention (Fig. 1C).

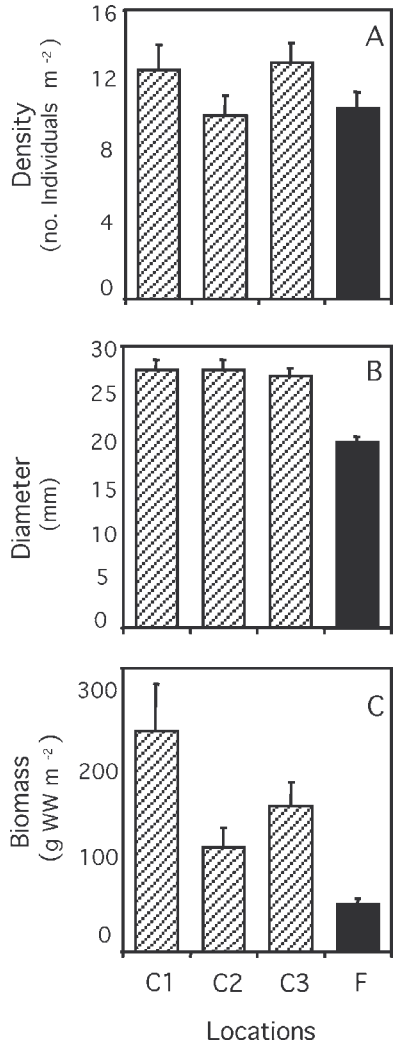


Fig. 1 – Mean (±SE) density, size and biomass of *P. lividus* at the fished location (F) and the three controls (C1, C2, C3).

Densità, taglia e biomassa medie (±SE) di P. lividus *presso la località soggetta a prelievo (F) ed i tre controlli (C1, C2, C3).*

Tab. 1 – Summary of ANOVAs testing for effects of sea urchin harvesting on average density (A), size (B) and biomass (C) of *Paracentrotus lividus* in a fished location (F) and three controls (Cs). Significance levels: ns = p > 0.05; * = p < 0.05; ** = p < 0.01.

Quadro sintetico delle ANOVA effettuate per testare gli effetti della raccolta del riccio di mare sulla densità (A), taglia (B) e biomassa (C) medie di P. lividus *in una località soggetta a pesca (F) e tre controlli (Cs). Livelli di significatività: ns = p > 0.05; * = p < 0.05; ** = p < 0.01.*

Source	A			B			C		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Location	3	81.4		3	2353.6		3	118.5	
F*vs* Cs	1	55.2	1.0ns	1	7049.9	59.2**	1	24.8	0.4ns
among Cs	2	94.4	1.7ns	2	5.4	0.1ns	2	56.9	3.4*
Residual	116	55.3		456	119.0		36	16.5	
Total	119			459			39		

Results thus show that human predation on the edible sea urchin *P. lividus* chiefly causes reduction in mean size. Similarly, previous studies reported the decrease in the abundance of large-sized specimens in overfished areas (see Boudouresque, 1987). The number of individuals, instead, does not appear significantly lowered. This outcome could be explained by the high reproductive potential of *P. lividus* since specimens far smaller than the commercial size (~4 cm) might be mature (Lozano *et al.*, 1995). This could warrant the maintenance of sea urchin populations (in terms of numbers) even in areas characterised by intense exploitation. This would lead to conclude that sea urchin harvesting, at least in Apulia, does not cause detrimental effects strictly considering *P. lividus* populations. Appropriate strategies (e.g. observance of the minimum harvestable size, catch quotas, and rotational fishery) would be sufficient to manage the resource. Indirect effects of this fisheries, like changes in populations of other co-existing sea urchins (e.g. *Arbacia lixula*) and possible alterations of whole sessile assemblages in shallow subtidal rocky substrates, however, should be assessed to take into consideration other management measures (e.g. sea urchin farming).

References

BALLESTEROS E. (1981) - Algunos datos biométricos de *Paracentrotus lividus* (Lmk.), *Arbacia lixula* (L.) y *Sphaerechinus granularis* (Lmk.) (Echinodermata, Echinoidea). *Oecol. Aquat.*, **5**: 227-231.

BOUDOURESQUE C.F. (1987) - *Colloque international sur* Paracentrotus lividus *et les oursins comestibles*. GIS Posidonie publ., Marseille: 433 pp.

FISCHER W., BAUCHOT M.L., SCHNEIDER M. (1987) – Fiches FAO d'identification des éspèces pour le besoin de la pêche (Rev. 1). Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. Volume I. Végétaux et Invertébrés. FAO, Rome: 760 pp.

LOZANO J., GALERA J., LOPEZ S., TURON X., PALACIN C., MORERA G. (1995) – Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **122**: 179-191.

UNDERWOOD A.J. (1993) - The mechanisms of spatially replicated sampling programmes to detect environmental impacts in a variable world. *Aust. J. Ecol.*, **18**: 99-116.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 717-720

G. Lauriano[1], P. Mackelworth[1,2], C.M. Fortuna[1], G. Moltedo[1],
G. Notarbartolo Di Sciara[1]

[1]Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
[2]UCL, London, UK.

DENSITÀ E ABBONDANZA DEL TURSIOPE (*TURSIOPS TRUNCATUS*) NEL PARCO NAZIONALE DELL'ASINARA, SARDEGNA

*BOTTLENOSE DOLPHIN (*TURSIOPS TRUNCATUS*) DENSITY AND ABUNDANCE IN THE ASINARA NATIONAL PARK, SARDINIA*

Abstract

In 2001 a dedicated survey was conducted in the Asinara Island National Park in order to estimate T. truncatus *(Cetacea: Odontoceti) population density and abundance. Photoidentification's data were used for capture-recapture method in CAPTURE software.*

Key-words: Tursiops truncatus*, population number, Asinara National Park, mark-recapture techniques*.

Introduzione

Nelle acque del Parco dell'Asinara nel 1994 è stato avviato uno studio sulla presenza del tursiope (Lauriano, 1997). Nel 2001, nell'ambito di una ricerca sulle interazioni tra tursiopi e pesca artigianale, si è stimata la dimensione del segmento della popolazione che frequenta queste acque e calcolata la frequenza degli animali nell'area, attraverso i dati di fotoidentificazione (Wursing e Jefferson, 1990) elaborati con il programma CAPTURE (White *et al*., 1978).

Materiali e metodi

L'area di studio considerata (Fig. 1) è di 480 km^2. Le piattaforme di osservazione sono un gommone e alcuni pescherecci; sono state seguite delle rotte casuali. Solo i dati da gommone, con sforzo di ricerca positivo (forza del vento ≤ 3 Beaufort; velocità di 15 nodi), sono stati utilizzati per la frequenza di avvistamento e per la densità dei gruppi nell'area (n° gruppi avvistati/Kmq). Di ogni individuo è stata fotografata la pinna dorsale per il riconoscimento individuale. Per la stima si sono scelte solo diapositive di buona qualità, in cui le condizioni di messa a fuoco e luminosità permettevano la sicura identificazione dell'esemplare. Le fotografie del 2001 sono state poi confrontate con il catalogo degli individui identificati negli anni '94–'96 e '99–'00. Gli individui con segni permanenti sulla pinna dorsale (es. tacche), riconoscibili in qualsiasi situazione, sono stati classificati come "Altamente Marcati" (HM). La curva di scoperta (N "nuovi esemplari" fotoidentificati su N totale), per il periodo di studio 2001, tende all'asintoto (Fig. 2); quindi si è assunto che il segmento di popolazione fosse demograficamente chiuso. La stima di popolazione è stata calcolata sugli HM utilizzando il modello di stima M_{th} (Chao *et al*., 1992) del programma CAPTURE. L'estimatore M_{th} tiene conto della variazione individuale e temporale della probabilità di cattura. La stima totale della popolazione deriva quindi (Wilson *et al*., 1999) dalla stima ottenuta con CAPTURE, pesata per gli individui non-marcati e scarsamente marcati,

$\tilde{n}_{totale} = \tilde{n} / HM\theta$ dove $\tilde{n}$ = stima con CAPTURE

$HM\theta$ = tasso di individui Altamente Marcati sul totale avvistati

Il tasso di riavvistamento degli esemplari identificati, numero di volte in cui l'individuo è avvistato, è stato calcolato sul totale degli animali in catalogo. La frequenza di avvistamento è stata calcolata come il numero di individui incontrati sui chilometri percorsi, in condizioni positive.

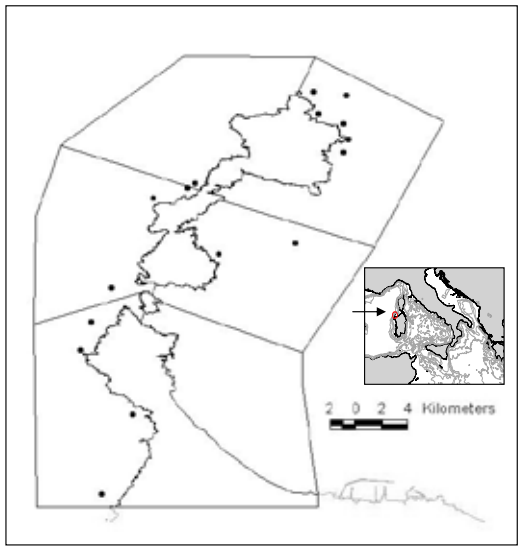


Fig. 1 – Area di studio con gli avvistamenti del 2001. Isola dell'Asinara.
Study area with sightings on 2001. Asinara Island.

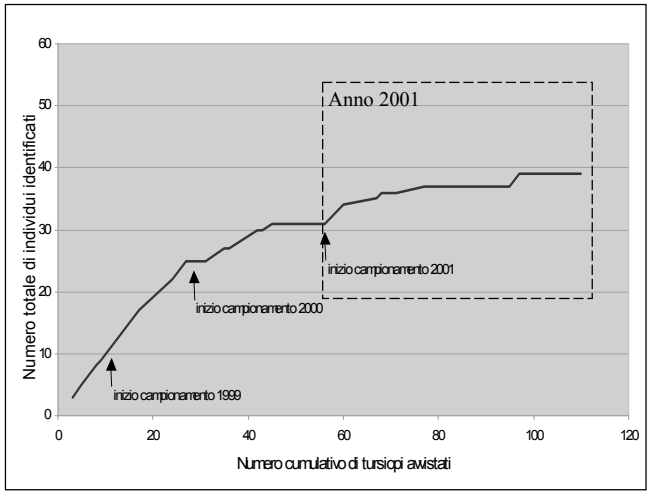


Fig. 2 – Curva di scoperta di nuovi esemplari identificati.
Discovery curve of new identified individuals.

Risultati

In totale, tra febbraio e ottobre 2001, in 26 giorni di ricerca, sono stati effettuati 16 avvistamenti (6 da peschereccio e 10 da gommone) in condizioni positive. Dal gommone, su 782,73 km percorsi, sono stati osservati 10 gruppi per un totale di 48 individui; la frequenza di avvistamento è di 0,013 gruppi per chilometro. La densità è di 0,021 gruppi per Kmq. Le dimensioni del gruppo variano da 1 a 10 individui (n=16; media=4,9; moda=4; DS=3,0). Per la stima di popolazione sono stati utilizzati 15 avvistamenti (1 in inverno, 2 in primavera, 7 in estate e 5 in autunno), in cui si è proceduto alla identificazione fotografica degli esemplari; la stima di popolazione è di 22 individui (95% IC: 22-27, ES=0,58; HMθ=0,64). Su un totale di 39 esemplari fotoidentificati dal 1994 al 2001, il 35% è stato avvistato solo una volta, mentre il 33% quattro o più volte.

Conclusioni

La modesta pendenza della curva di scoperta nel 2001, sembrerebbe indicare che la maggior parte degli individui che frequenta l'area potrebbe già essere stata identificata e che quindi siano trascurabili le variazioni nel numero degli esemplari che frequentano l'area. Tuttavia, l'incremento del numero di nuovi identificati, all'inizio di ciascuna stagione di ricerca, potrebbe indicare sia un reclutamento in termini demografici, sia che esemplari precedentemente non marcati, diventano identificabili. L'esigua stima numerica degli esemplari che frequentano le acque del Parco potrebbe essere il risultato delle ridotte dimensioni dell'area di campionamento. Inoltre, a causa delle condizioni meteomarine avverse durante il periodo invernale, la maggioranza degli avvistamenti si concentrano nel periodo estivo. Ciò potrebbe quindi determinare l'identificazione solo di alcuni esemplari appartenenti a sotto-unità di una stessa popolazione (Rossbach e Herzing, 1999). Le differenze nelle frequenze di riavvistamento, infatti, indicano un elevato grado di fedeltà all'area solo di alcuni individui e una frequentazione sporadica di altri. Le acque dell'Asinara rappresentano quindi una porzione dell'*home range* della popolazione di tursiopi. Questo fatto è documentato in letteratura anche per altre zone (Wilson *et al*., 1997). Al fine di monitorare le eventuali presenze di gruppi transienti in altri periodi dell'anno e di una maggiore precisione della stima numerica del segmento di popolazione, sarà quindi necessario ampliare lo studio in termini temporali e spaziali.

Bibliografia

CHAO A., LEE S.M., LENG S.L. (1992) - Estimating population size for capture-recapture data when capture probabilities vary by time and individual animal. *Biometrics*, **48**: 201-216.

LAURIANO G. (1997) – Distribution of bottlenose dolphin around the Island of Asinara (Notrh-Western Sardinia). In: Evans P.G.H., Parsons E.C.M., Clark S.L. (eds), *European Research on Cetaceans* 11, Kiel: 153-155.

ROSSBACH K.A., HERZING D.L. (1999) - Inshore and offshore bottlenose dolphin (Tursiops truncatus) communities distinguished by association patterns near Grand Bahama Island, Bahamas. *Canada Journal of Zoology*, **77**: 581-592.

WHITE G.C., BURNHAM K.P., OTIS D.L., ANDERSON D.R. (1978) – Program CAPTURE. *www.mbrpwrc.usgs.gov/software.html*

WILSON B., THOMPSON P.M., HAMMOND P.S. (1997) - Habitat use by bottlenose dolphins: seasonal distribution and stratified movement patterns in the Moray Firth, Scotland. *Journal of Applied Ecology,* **34**: 1365-1374.

WILSON B., HAMMOND P.S., THOMPSON P.M. (1999) - Estimating size and assessing trends in a coastal bottlenose dolphin population. *Ecological Applications,* **9** (1): 288-300.

WURSIG B., JEFFERSON T.A. (1990) - Methods of photo-identification for small cetaceans. In: Hammond P.S., Mizroch S.A., Donovan G.P. (eds), *Individual Recognition of Cetaceans: Use of Photoidentification and Techniques to estimate Population Parameters*. Report International Whaling Commission, Special Issue 12, Cambridge: 43-52.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 721-723

F. Maltagliati, P. Domenici[1], C. Franch Fosch[2], P. Cossu[3], M. Casu[3], A. Castelli

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
[1]I.M.C., Torregrande, Oristano, Italia.
[2]Dep. Biol. Anim., Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.
[3]Dip. Zool. Antropol. Biol., Università di Sassari, Sassari, Italia.

DIVERSITÀ MORFOLOGICA E GENETICA SU PICCOLA SCALA SPAZIALE IN *APHANIUS FASCIATUS* (CYPRINODONTIDAE) DA UNO STAGNO SALMASTRO E UNA POZZA ADIACENTE DEL NORD SARDEGNA

SMALL SPATIAL SCALE MORPHOLOGICAL AND GENETIC DIFFERENTIATION IN APHANIUS FASCIATUS *(CYPRINODONTIDAE) FROM A BRACKISH-WATER POND AND AN ADJACENT POOL IN NORTHERN SARDINIA (ITALY)*

Abstract

Two samples of the cyprinodont fish Aphanius fasciatus *(total No. of individuals = 235) were collected in the Pilo pond (NW Sardinia) and in an adjacent pool of small surface area in order to test the hypothesis that different predation pressures in the two habitats may be associated with morphological (length-depth relationship) and/or genetic (RAPDs) differences. The unexpectedly high level of morphological and genetic divergence between pond and pool samples and the high genetic variability of pool population suggest that diversity in the pool is due to non-recent colonisation events.*

Key-words: Aphanius fasciatus*, morphology, Random Amplified Polymorphic DNA, small-scale divergence.*

Introduzione

Il nono, *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae), è distribuito negli ambienti salmastri di tutto il Mediterraneo, ad esclusione delle aree più occidentali e orientali. La specie è caratterizzata da spiccato dimorfismo sessuale e da scarsa potenzialità per la dispersione, avendo uova bentoniche, essendo priva di fasi larvali e potendo compiere l'intero ciclo vitale negli ambienti salmastri.

Nello stagno di Pilo il nono è soggetto a predazione da parte di pesci e uccelli, mentre nella pozza la predazione è ridotta, in quanto non sono presenti altri pesci e la ricca vegetazione bentonica gli permette di nascondersi ed evitare la predazione da parte degli uccelli. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di studiare la variabilità morfologica e genetica di *A. fasciatus* provenienti da due biotopi separati da una duna di terra larga circa 15 metri, per verificare l'ipotesi che le differenze nella pressione di predazione nei due siti siano associate a diversità morfologiche e/o genetiche.

Materiali e metodi

Nel giugno del 2000 sono stati prelevati e conservati in etanolo (70%) 92 individui dallo Stagno di Pilo (40°80' N, 8°25'E) e 143 individui da una pozza situata a circa 15 metri di distanza. L'analisi morfologica è stata condotta stimando il rapporto tra la lunghezza (*L*) e l'altezza (*D*) di ciascun individuo, poiché per individui di una data

lunghezza *L*, una maggiore altezza *D* può diminuirne la vulnerabilità (Brönmark e Miner, 1992). Per l'analisi genetica è stato estratto il DNA genomico totale dal tessuto muscolare di 32 individui dello stagno e 26 della pozza. Le reazioni di amplificazione mediante PCR (polymerase chain reaction) sono state effettuate utilizzando otto primer per l'analisi RAPD (random amplified polymorphic DNA) e ripetute due volte per saggiare la riproducibilità delle bande. Sono state calcolate l'eterozigosità attesa (H_e) e l'F_{ST} secondo Weir e Cockerham (1984) assumendo l'equilibrio di Hardy-Weinberg nella popolazione della pozza, mentre tale condizione è già stata verificata per la popolazione dello stagno (Maltagliati, 2002). Gli individui sono stati ordinati mediante multidimensional scaling (MDS) sulla base delle distanze genetiche interindividuali (1 - similarità di Rogers e Tanimoto, 1960).

Risultati e conclusioni

L'analisi morfologica ha evidenziato che in entrambi i siti il rapporto *L-D* è più alto tra le femmine che tra i maschi (ANOVA, $P<0.001$). Differenze significative nel rapporto *L-D* (ANOVA $P<0.01$) sono state trovate solo tra le femmine dei due habitat. Quindi, in contrasto con l'ipotesi di partenza, le femmine dello stagno presentano un rapporto *L-D* più alto. L'analisi genetica suggerisce la presenza di un effetto fondatore nella popolazione della pozza, in quanto l'eterozigosità media di questa popolazione, $H_e = 0.227 \pm 0.041$, è significativamente minore rispetto a quella rilevata nello stagno, $H_e = 0.324 \pm 0.036$ - $P<0.001$ al *t*-test sui dati trasformati in arcsen$\sqrt{x}$ (Archie, 1985). L'MDS evidenzia inoltre una netta separazione tra gli individui dello stagno e quelli della pozza con l'eccezione di quattro individui dello stagno che sono situati in una posizione approssimativamente intermedia tra le due principali nubi di punti (Fig. 1).

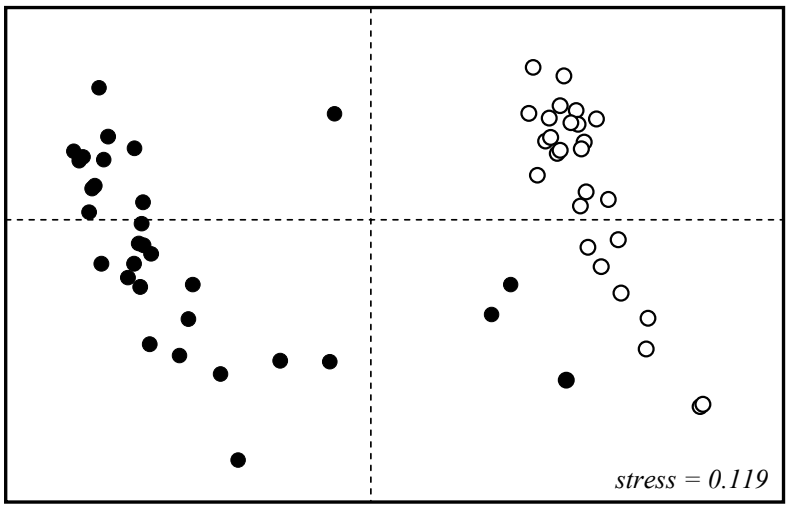


Fig. 1 - Ordinamento mediante multidimensional scaling degli individui di *A. fasciatus* sulla base delle distanze genetiche (1 - similarità di Rogers e Tanimoto) ottenute con i dati RAPD. ●: individui dello stagno; ○: individui della pozza.

Multidimensional scaling of individuals of A. fasciatus *based on genetic distances (1 - Rogers and Tanimoto's similarity) calculated from RAPD data. ●: pond individuals; ○: pool individuals.*

L'indice di divergenza genetica ($F_{ST}=0.301\pm0.058$), altamente significativo al test di permutazione ($P<0.001$, con 10000 pseudorepliche), suggerisce la presenza di bassi livelli di flusso genico (inteso anche in senso storico) tra le due popolazioni. L'elevato grado di divergenza genetica tra i due campioni analizzati indica un'origine non recente della popolazione della pozza e non consente di valutare il ruolo che ha avuto la vicarianza e la differente pressione selettiva presente nei due habitat nel determinare il differenziamento morfologico rilevato.

Bibliografia

ARCHIE J.W. (1985) - Statistical analysis of heterozygosity data: independent sample comparisons. *Evolution*, **39**: 623-637.

BRÖNMARK C., MINER J.G. (1992) - Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science*, **258**: 1348-1350.

MALTAGLIATI F. (2002) - Diversità genetica di *Aphanius fasciatus* (Teleostei: Cyprinodontidae) in biotopi salmastri sardo-corsi: fattori storici e implicazioni per la conservazione. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 470-478.

ROGERS D.J., TANIMOTO T.T. (1960) - A computer program for classifying plants. *Science*, **132**: 1115-1118.

WEIR B.S., COCKERHAM C.C. (1984) - Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 724-726

V. Matozzo, L. Ballarin, M.G. Marin

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via U. Bassi, 58/B - 35131 Padova, Italia.

PARAMETRI CELLULARI IN POPOLAZIONI DI VONGOLE (*TAPES PHILIPPINARUM*) SOGGETTE A DIVERSO IMPATTO DI PESCA IN LAGUNA DI VENEZIA

CELL PARAMETERS IN CLAMS (TAPES PHILIPPINARUM) *SUBJECTED TO DIFFERENT FISHING IMPACT IN THE LAGOON OF VENICE*

Abstract

Variations in functional responses of haemocytes (haematocrit, phagocytosis, lysozyme and superoxide dismutase activities) were evaluated in the clam Tapes philippinarum *(Bivalvia: Veneridae) subjected to different fishing impact in the Lagoon of Venice.*

Key-words*: clams, haemocytes, biomarkers, fishing impact, Lagoon of Venice.*

Introduzione

In questo studio sono stati valutati i possibili effetti di condizioni ambientali diverse, l'attività di pesca in particolare, su importanti parametri cellulari degli emociti del bivalve *Tapes philippinarum*, un veneride di rilevante interesse commerciale soggetto ad un'intensa pesca nella Laguna di Venezia. La raccolta delle vongole è generalmente effettuata mediante un rastrello manuale ("rasca") o tramite un sistema meccanizzato noto come "rusca". L'approccio cellulare è stato scelto considerando il ruolo che gli emociti svolgono nel trasporto dei pigmenti respiratori e nella difesa interna degli organismi da agenti patogeni. La risposta immunitaria si espleta prevalentemente attraverso la fagocitosi del materiale estraneo e la produzione di enzimi idrolitici, lectine, lisine e intermedi reattivi dell'ossigeno (ROS). Diversi fattori ambientali, naturali o antropogenici, possono influenzare i meccanismi di difesa dei molluschi, stimolando o inibendo la risposta immunitaria (Pipe *et al*., 1995; Fisher *et al*., 1996). Gli emociti sono stati utilizzati in colture cellulari a breve termine (max 90 min.) per valutare l'ematocrito e l'indice di fagocitosi, e in saggi spettrofotometrici per misurare l'attività del lisozima e della superossido dismutasi (SOD).

Materiali e metodi

I molluschi sono stati raccolti con un rastrello manuale ("rasca") in due differenti aree della Laguna di Venezia: la prima, nel bacino centrale, caratterizzata da attività di pesca libera (S. Angelo: SA), la seconda, nel bacino meridionale all'interno di una concessione nei pressi di Chioggia. In quest'ultima sono state individuate due diverse sotto-aree: una in cui veniva praticata la normale attività di pesca (CP), un'altra in cui tale attività è stata sospesa durante il periodo di studio (CNP). Le vongole, appena pescate, sono state trasferite in laboratorio e immediatamente usate per le analisi. L'emolinfa è stata prelevata dal muscolo adduttore anteriore mediante una siringa contenente 300 µl di soluzione anticoagulante di L-cisteina in acqua di mare filtrata

(FSW), pH 7.5. L'ematocrito (espresso come n° di emociti/ml di emolinfa) e l'attività fagocitica (indice di fagocitosi) sono stati valutati individualmente su 10 vongole mediante i metodi proposti da Pipe *et al*. (1995) e Ballarin *et al*. (1994). L'attività del lisozima (espressa come µg lisozima/mg di proteine) e della SOD (espressa come U SOD/mg proteine) sono state invece misurate nel lisato di emociti di 5 diversi pool di emolinfa (ciascuno ottenuto da 5 animali) senza l'utilizzo di L-cisteina, secondo i metodi proposti rispettivamente da Fisher *et al*. (1996) e Flohé e Ötting (1984), opportunamente modificati. La concentrazione proteica nel lisato cellulare è stata quantificata secondo Bradford (1976). L'analisi statistica dei risultati è stata effettuata mediante il test ANOVA.

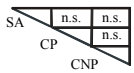
Risultati

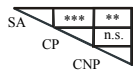
I risultati sono riportati in Tab. 1. Il valore di ematocrito, sebbene più alto nelle vongole di CP, non è risultato significativamente diverso da quello degli animali delle altre due zone. L'indice di fagocitosi invece è risultato maggiore nei bivalvi raccolti nei due siti di Chioggia rispetto a quelli di SA ($p<0.001$ a CP e $p<0.01$ a CNP, rispettivamente). L'attività più alta del lisozima e della SOD ($p<0.05$) è stata registrata nelle vongole raccolte a SA.

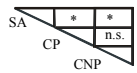
Tab. 1 – Ematocrito, indice di fagocitosi, attività del lisozima e della SOD in *T. philippinarum*. I valori sono riportati come media±d.s. ANOVA: * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$.

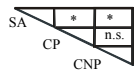
Haematocrit, phagocytic index, lysozyme and SOD activities in T. philippinarum*. Values are means±s.d. ANOVA: *p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.*

	Ematocrito (n° emociti ($x10^6$)/ ml emolinfa)	**Indice di fagocitosi** (%)	**Lisozima** (µg lisozima/ mg proteine)	**SOD** (U SOD/ mg proteine)
S. Angelo (SA)	4.04 ± 0.69	10.9 ± 2.08	2.56 ± 0.23	3.51 ± 0.1
Chioggia zona di pesca (CP)	4.54 ± 0.43	15.88 ± 2.95	2.19 ± 0.27	3.05 ± 0.23
Chioggia zona di non-pesca (CNP)	4.05 ± 0.51	14.08 ± 1.5	2.26 ± 0.59	2.98 ± 0.15









Conclusioni

Sebbene i valori di indice di fagocitosi portino ad ipotizzare un diverso livello di stress nelle vongole del bacino centrale (SA) rispetto a quelle delle due aree di

Chioggia, complessivamente non è possibile evidenziare un chiaro effetto dell'attività di pesca sui parametri cellulari indagati in *T. philippinarum*. L'analisi dei dati ottenuti risulta ancora più complessa se si considera che i valori più alti di fagocitosi sono stati riscontrati negli animali provenienti dalla zona di pesca di Chioggia (CP) e che le attività enzimatiche più alte, viceversa, sono state registrate proprio nelle vongole pescate a SA. Meno accentuate sono apparse le differenze tra le vongole di CP e CNP. Ulteriori indagini, da svolgersi considerando anche gli effetti di fattori sia di natura endogena (ciclo riproduttivo) che esogena (presenza di contaminanti ambientali) e il confronto con altri indici di stress di tipo fisiologico, potranno consentire una validazione dei metodi proposti e una migliore interpretazione dei risultati ottenuti.

Bibliografia

BALLARIN L., CIMA F., SABBADIN A. (1994) - Phagocytosis in the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. *Dev*. *Comp*. *Immunol*., **18**: 467-481.

BRADFORD M.M. (1976) - A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding. *Anal*. *Biochem*., **72**: 248-254.

FISHER W.S., OLIVER L.M., EDWARDS P.E. (1996) - Hematologic and serologic variability of eastern oysters from Apalachicola Bay, Florida. *J*. *Shellfish Res*., **15**: 554-564.

FLOHÉ L., ÖTTING F. (1984) - Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*., **105**: 93-104.

PIPE R.K., COLES J.A., THOMAS M.E., FOSSATO V.U., PULSFORD A.L. (1995) - Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussels from the Venice Lagoon. *Aquat*. *Toxicol*., **32**: 59-73.

La ricerca è stata finanziata dalla Comunità Europea nell'ambito del progetto Studies 99/062: "Assessing the impact of bivalve fisheries on the benthic ecosystems of the Ria Formosa lagoon (Portugal), Venice lagoon (Italy), Aegean Sea (Kavala-Greece) and on the juvenile flatfish in the South coast of Portugal (IMPACTO)".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 727-729

M. Milazzo, I. Anastasi, F. Badalamenti*, R. Chemello

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
*IRMA-CNR, Castellammare del Golfo, Trapani, Italia.

IMPATTO DEI TURISTI NELL'AMP "ISOLA DI USTICA": CAMBIAMENTI NEL COMPORTAMENTO DI PESCI COSTIERI

TOURIST IMPACT WITHIN THE USTICA ISLAND MPA: BEHAVIOURAL CHANGES OF COASTAL FISHES

Abstract

The effect of feeding activity by humans on the behaviour of coastal fishes in the Ustica Island has been here investigated. In impacted sites, ten fish species showed a human-oriented behaviour, as a result of fish feeding, forming large aggregations around the observer. These non-natural aggregations were not evident in control sites, only occasionally some individuals showed this behaviour.

Key-words: *man-induced effects, marine parks.*

Introduzione

In molte aree protette, sia terrestri che marine, viene somministrato cibo agli animali selvatici allo scopo di farli avvicinare e renderli visibili ai visitatori (Sweatman, 1996; Walpole, 2001). Questa attività può avere effetti negativi sulle popolazioni selvatiche e molto spesso, per questo motivo, è stata regolamentata o proibita (Sweatman, 1996).

In ambiente marino il cibo viene somministrato per attrarre pesci e divertire i turisti sia in acque basse che in acque profonde. Gli effetti di questa attività di pasturazione (o *feeding*) sul popolamento ittico sono poco studiati anche se alcuni autori riportano cambiamenti nella distribuzione su piccola scala e nel comportamento di alcune specie in seguito alla somministrazione di cibo (Cole, 1994; Sweatman, 1996).

Nel 1991 l'Ente Gestore dell'AMP 'Isola di Ustica' ha inserito tra le sue attività anche le visite guidate per apneisti, che oggi si svolgono in due piccole baie poste all'interno della riserva integrale. Durante le visite, quotidiane da fine giugno fino ai primi di settembre, le guide della riserva somministrano cefalopodi e gamberi sconge-lati per attirare diverse specie di pesci. Inoltre, più volte al giorno, decine di turisti 'fai da te' si dilettano ad attrarre pesci generalmente utilizzando del pane.

Questo studio ha l'obiettivo di verificare se l'attività di *feeding* nella riserva integrale di Ustica determina in alcune specie un comportamento orientato verso l'uomo, cioè se i pesci in presenza di un subacqueo si concentrano attorno ad esso in attesa del cibo.

Materiali e metodi

Le indagini sono state svolte ad Ustica nei due siti dove avviene il *feeding* (impatto) ed in quattro siti di controllo, tutti ricadenti nell'infralitorale superiore roccioso ad una profondità di circa 4-5 metri. Tre controlli ricadono in aree molto frequentate dai turisti, il quarto ricade all'interno della riserva integrale (Fig. 1). In ciascun sito sono stati effettuati 30 rilevamenti tra luglio e settembre 2001 utilizzando una tecnica di censimento visivo denominata 'punto fisso inverso'. Un osservatore, giunto nel sito di

campionamento, si soffermava per tre minuti contando ed identificando tutti i pesci che entravano all'interno di un cilindro immaginario con raggio ed altezza di 2 m (volume totale 25 m^3) ed avente per base la superficie del mare e come asse la sagoma dell'osservatore. L'analisi della varianza ad una via è stata utilizzata per valutare eventuali differenze tra impatti e controlli.

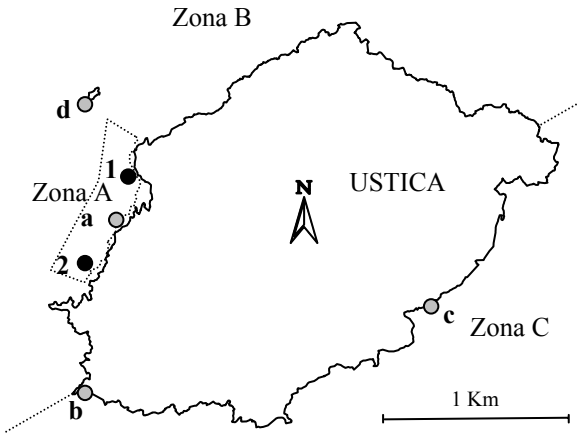


Fig. 1 – Area di studio e siti di campionamento. In nero i siti d'impatto: Cala Sidoti (1) e Cala Acquario (2). In grigio i siti di controllo: Sbarramento (a), Piscina Naturale (b), Punta San Paolo (c) e Scoglio del Medico (d).

Study area and sampling sites. In black the impacted sites: Cala Sidoti (1) and Cala Acquario (2). In grey the control sites: Sbarramento (a), Piscina Naturale (b), Punta San Paolo (c) and Scoglio del Medico (d).

Risultati

Nei 180 rilevamenti effettuati sono stati censiti 10 *taxa*, solo 4 dei quali sono stati rinvenuti nei controlli (Tab. 1). Le specie che hanno mostrato un chiaro comportamento orientato verso l'uomo sono: *Thalassoma pavo*, *Coris julis*, *Symphodus ocellatus*, *Epinephelus marginatus, Oblada melanura*, *Sarpa salpa*, *Diplodus* spp., *Spondyliosoma cantharus*, *Mugil* spp., e *Chromis chromis*. Le specie più abbondanti sono risultate *Thalassoma pavo*, *Oblada melanura* e *Chromis chromis*, tutte caratterizzate da un comportamento gregario. Nel complesso, il numero di individui che mostrano un effettivo comportamento orientato verso l'uomo ha mostrato differenze altamente significative ($p < 0{,}001$) tra impatti (in media 31,2 individui) e controlli (0,4 individui).

Conclusioni

Nei siti impattati si osserva una evidente aggregazione di individui attorno all'osservatore. Tale aggregazione non avviene nei controlli dove la presenza di pesci all'interno del volume osservato è da considerarsi casuale. Le 10 specie individuate, risentendo dell'attività di *feeding*, abbandonano il loro habitat naturale e perdendo l'innata diffi-

denza per l'uomo circondano l'osservatore in attesa di ricevere cibo. Circa un quarto delle specie censite nell'infralitorale superiore di substrato duro dell'Isola di Ustica sembrano essere influenzate da questa attività ricreativa. *Apogon imberbis, Atherina* spp., *Muraena helena* ed altre specie di serranidi e labridi, seppure presenti nelle aree di studio (La Mesa e Vacchi, 1999; Milazzo, dati non pubblicati) non vengono influenzate dal *feeding*.

Tab. 1 – Abbondanza media (±d.s.) delle specie censite nei siti d'impatto e controllo.
Average (±s.d.) abundance of the fish species censused both in the impacted and control sites.

	Impatto 1		Impatto 2		Controllo a		Controllo b		Controllo c		Controllo d	
Specie												
Chromis chromis	83	(47,4)	76,8	(60,7)	0,7	(1,5)	0,8	(1,5)	0,8	(1,3)	0,6	(1,1)
Coris julis	11,7	(6,8)	2	(1,8)	-	-	-	-	-	-	-	-
Diplodus spp.	9,3	(7,4)	0,8	(2,2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Epinephelus marginatus	0,3	(0,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mugil spp.	1,1	(3,1)	2	(6,3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Oblada melanura	132,2	(79,5)	66	(28,8)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sarpa salpa	23,4	(27,2)	30	(19,1)	0,1	(0,3)	0,1	(0,5)	0,2	(0,5)	0,2	(0,6)
Spondyliosoma cantharus	5,3	(4,8)	4,6	(4)	-	-	-	-	0,1	(0,4)	-	-
Symphodus ocellatus	4,6	(6,2)	0,1	(0,4)	-	-	-	-	-	-	-	-
Thalassoma pavo	104,3	(56)	85,9	(30)	0,4	(0,8)	0,9	(1,2)	0,8	(1,2)	0,9	(1,2)

E' possibile che oltre agli effetti diretti sulle specie qui descritti, se ne generino altri, indiretti, che potenzialmente potrebbero influenzare la comunità dell'infralitorale fotofilo.

Sembra infatti probabile che la formazione di aggregazioni di pesci a livello locale, in seguito al *feeding*, possa avere effetti negativi sull'abbondanza di altre specie della comunità (le loro prede) (Sweatman, 1996).

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare Raffaele Camarda, Roberto Gorgone ed Angelo Palmeri (Università di Palermo) per l'indispensabile aiuto durante le fasi di campionamento. Tutto lo staff dell'AMP di Ustica per il supporto. Questo studio è parte della tesi di dottorato di M.M.

Bibliografia

COLE R.G. (1994) - Abundance, size structure, and diver-oriented behaviour of three large benthic carnivorous fishes in a marine reserve in Northeastern New Zealand. *Biol. Conserv.*, **70**: 93-99.

LA MESA G., VACCHI M. (1999) - An analysis of the coastal fish assemblage of the Ustica Island Marine Reserve (Mediterranean Sea). *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.,* **20** (2): 147-165.

SWEATMAN H.P.A. (1996) - *Impact of tourist pontoons on fish assemblages on the Great Barrier Reef*. CRC Reef Research Centre, Townsville: 58 pp.

WALPOLE M.J. (2001) - Feeding dragons in Komodo National Park: a tourism tool with conservation complications. *Anim. Conserv.*, **4**: 67-73.

Ricerca finanziata dal MURST ex 60% (Chemello).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 730-733

M. Milazzo, A. Palmeri, R. Chemello

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

IMPATTO DEI TURISTI NELL'AMP "ISOLA DI USTICA": EFFETTO IMMEDIATO DEL CALPESTIO UMANO

TOURIST IMPACT WITHIN THE USTICA ISLAND MPA: IMMEDIATE EFFECT OF HUMAN TRAMPLING

Abstract

The immediate responses of upper infralittoral erect macroalgae to trampling simulation experiments in the Ustica Island MPA were investigated. Higher levels of disturbance significantly affected both algal cover and canopy at an increasing rate.

Key-words: *human impact, trampling, marine protected area, Ustica Island, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Negli ultimi anni è stato rivolto un grande interesse allo studio degli effetti di attività ricreative sulle comunità sia di mari tropicali che temperati. Parte della letteratura esistente ha messo in risalto l'importanza dell'*harvesting* (raccolta selettiva di specie animali e vegetali per scopi ricreativi o commerciali) e del *trampling* (calpestio umano) come impatti diretti sulle comunità di substrato duro più superficiali (Moreno *et al.*, 1984; Kingsford *et al.*, 1991; Brosnan e Crumrine, 1994).

La rimozione di una data specie per scalzamento, rottura o indebolimento del suo attacco al substrato per effetto del calpestio da parte dell'uomo, può avere delle conseguenze non solo sulla dimensione della sua popolazione ma anche, attraverso processi di competizione o strutturazione di habitat, sull'abbondanza e la ricchezza specifica delle altre specie della comunità (Brown e Taylor, 1999). Per la presenza di una zona di riserva integrale facilmente accessibile via terra, dove qualsiasi attività umana è assolutamente vietata, l'area marina protetta 'Isola di Ustica' offre la possibilità di studiare in campo l'effetto del *trampling* umano sul popolamento algale. Obiettivo di questo studio, il primo di questo tipo in Mediterraneo, è la determinazione attraverso esperimenti di simulazione a diverse intensità degli effetti immediati del *trampling* sulle macroalghe erette dell'infralitorale superiore.

Materiali e metodi

Nel mese di maggio 2000, in località Sbarramento (zona di riserva integrale) è stata scelta una piattaforma basaltica (~1000 m^2 di estensione) a copertura algale omogenea e compresa tra 30 e 60 cm di profondità. All'interno di questa piattaforma sono stati sistemati alcuni transetti (2 m in lunghezza e 40 cm in larghezza) in maniera random. L'area di studio presenta caratteristiche ambientali (esposizione e topografia costiera) simili alle due zone di balneazione poste all'interno della riserva integrale.

Per gli esperimenti sono stati considerati 6 diversi trattamenti in replica: 0 (controllo), 10, 25, 50, 100, e 150 passaggi. Dodici transetti estratti casualmente sono stati calpestati da un operatore con scarpe in gomma. Copertura (%) (effettivo attacco al

substrato di ciascun individuo algale) e canopy (%) (proiezione della volta algale sul substrato) delle macroalghe erette sono state stimate visivamente (5 repliche) su quadrati (30×30 cm), prima ed immediatamente dopo l'impatto. I dati raccolti sono stati elaborati utilizzando l'ANOVA a due fattori: Intensità (6 livelli, fisso e ortogonale) e Transetto (2 livelli, random *nested* nell'intensità) (vedi Schiel e Taylor, 1999).

Risultati

Cystoseira brachicarpa J. Agardh var. *balearica* (Sauvageau) Giaccone e *Dictyota mediterranea* (Schiffner) G. Furnari sono le due specie dominanti con una copertura complessiva compresa tra 55% e 80%. Risultati simili sono stati osservati sulla canopy, dove in alcuni casi sono stati registrati valori prossimi al 100%.

Prima dell'impatto i transetti non mostravano differenze significative (Tab. 1). Dopo l'impatto, l'andamento delle variabili mostra risultati contrastanti ad intensità crescenti di calpestio umano (Tab. 2, test SNK). La copertura non evidenzia differenze significative tra bassi livelli di intensità (10 passaggi) e controlli. Livelli intermedi di intensità (25, 50 e 100 passaggi) hanno effetti simili sulle macroalghe, mentre dopo 150 passaggi, la copertura è estremamente ridotta e pari a 4,2% (±0,8 d.s.).

Tab. 1 – Analisi della varianza di copertura (%) e canopy (%) delle macroalghe dell'infralitorale superiore dell'Isola di Ustica prima del *trampling* simulato. ns (non significativo).
Analysis of variance of % cover and % canopy of the upper infralittoral macroalgae of the Ustica Island before trampling simulations. ns (not significant).

ANOVA

Fonte di Variazione		Copertura %		Canopy %	
	df	MS	F	MS	F
Intensità: In	5	120	$0,58^{ns}$	192,23	$2,19^{ns}$
Transetti (In)	6	205,83	$1,62^{ns}$	87,68	$1,08^{ns}$
Residui	48	126,87		81,07	
Test di Cochran		C = 0,20, p>0,05		C = 0,18, p>0,05	
Trasformazione		nessuna		ArcSen(%)	

Un andamento più lineare è evidenziabile esaminando i valori di canopy. Intensità di impatto crescenti hanno effetti significativamente più alti sulle macroalghe. I transetti di controllo mostrano in media una canopy pari a 88% (±7,5 d.s.), mentre nei transetti altamente impattati (150 passaggi) si registrano valori estremamente ridotti (6,5%±2,4 d.s.).

Tab. 2 - Analisi della varianza di copertura (%) e canopy (%) delle macroalghe dell'infralitorale superiore dell'Isola di Ustica dopo il *trampling* a diverse intensità. ns (non significativo); * ($p<0,05$); *** ($p<0,001$).

*Analysis of variance of % cover and % canopy of the upper infralittoral macroalgae of the Ustica Island immediately after trampling simulations at different intensities. ns (not significant); * ($p<0,05$); *** ($p<0,001$).*

ANOVA

Fonte di Variazione		Copertura %		Canopy %	
	df	MS	F	MS	F
Intensità: In	5	50,4	$48,61^{***}$	8600,8	$94,81^{***}$
Transetti (In)	6	1,0	$3,02^{*}$	90,7	$1,21^{ns}$
Residui	48	0,3		75,2	
Test di Cochran		C = 0,26, p>0,05		C = 0,19, p>0,05	
Trasformazione		Radq(X+1)		nessuna	
Test SNK					
Intensità		0=10>25=50=100>150		0>10>25>50>100>150	

Conclusioni

I risultati di questo studio mostrano chiaramente come i danni causati dal calpestio umano sul popolamento algale dell'infralitorale superiore siano cumulativi e direttamente proporzionali al crescere dell'uso da parte dell'uomo. Ricerche condotte in altre aree confermano i nostri risultati, evidenziando che le alghe erette possono essere notevolmente danneggiate dal *trampling* anche nel breve periodo (Schiel e Taylor, 1999). Le conclusioni del nostro studio, abbinate alla corretta valutazione della velocità di recupero del sistema ed all'identificazione degli effetti indiretti sulle altre specie della comunità (attualmente in fase di studio), rappresentano un'informazione importante per la corretta gestione e modulazione delle attività ricreative umane all'interno dell'AMP di Ustica.

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare Raffaele Camarda, Linda Caradonna e Roberto Imbornone (Università di Palermo) per l'assistenza in campo. La Dott.ssa Bianca Maria Ferreri (Università di Palermo) per l'identificazione delle alghe. Tutto lo staff dell'AMP di Ustica per il supporto.

Bibliografia

BROSNAN D.M., CRUMRINE L.L. (1994) - Effects of human trampling on marine rocky shore communities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **177** (1): 79-97.

BROWN P.J., TAYLOR R.B. (1999) - Effects of trampling by humans on animals inhabiting coralline algal turf in the rocky intertidal. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **235** (1): 45-53.
KINGSFORD M.J., UNDERWOOD A.J., KENNELLY S.J. (1991) - Humans as predators on rocky reefs in New South Wales, Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **72**: 1-14.
MORENO C.A., SUTHERLAND J.P., JARA J.H. (1984) - Man as a predator in the intertidal zone of central Chile. *Oikos*, **42**: 155-160.
SCHIEL D.R., TAYLOR D.I. (1999) - Effects of trampling on a rocky intertidal algal assemblage in southern New Zealand. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **235** (2): 213-235.

Questo studio è parte della tesi di dottorato di M.M. ed è stato finanziato dal progetto MIUR-Giovani Ricercatori (1999/Milazzo) e dal Murst ex 60% (Chemello).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 734-737

A. Molinari, L. Tunesi

ICRAM, Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.

CHARACTERIZATION OF THE ARTISANAL FISHERY ACTIVITIES IN THE BERGEGGI ISLAND'S WATERS (LIGURIAN SEA)

CARATTERIZZAZIONE DELLE ATTIVITA DI PESCA ARTIGIANALE CONDOTTE NELLE ACQUE DELL'ISOLA DI BERGEGGI (MAR LIGURE)

Abstract

The seasonality and the catch composition of the artisanal fishery operating around the Bergeggi Island have been studied in order to collect data useful to support the institution of a marine protected area. This contribution, focusing on catches composition related to the seasonal use of the different fishing gears, points out the highest species richness of catches in summer, obtained by means of anchored nets, and the highest abundance values in autumn, using the purse seine.

Key-words: *artisanal fishing, marine parks, marine fish, Ligurian Sea.*

Introduction

The coastal area of Bergeggi (Western Ligurian Sea), including the cliff and the homonymous island, is a Ligurian Regional Natural Reserve and it is identified by the Italian legislation to become a national marine protected area (MPA).

The creation of MPAs is actually considered an important tool to achieve the conservation of the fish biodiversity and to support fishery management (Roberts & Hawkins, 2000; National Research Council, 1999). To be effective in this, the institution and the planning of a new MPA needs specific data on local fishing activities (Salm *et al*., 2000; Villa *et al*., 2002).

This contribution provides information on catch composition and seasonality of the artisanal fishing activities around Bergeggi Island, increasing the existing few data for the area, available only aggregated for the main harbours of the Savona maritime compartment (Vacchi *et al*., 1992; Tunesi & Piccione, 2000). The general study was focused on catches composition *per* gear, taking into account their seasonality and allocation in the waters of the Island.

Materials and methods

Data on landing composition of 4 boats belonging to the artisanal fleet operating in the water of the Bergeggi Island was collected seasonally, from June 2000 to December 2001. The fishers were selected as descriptive of the fishing activities carried out using anchored nets (gill nets, trammel nets and combined nets) and purse seine in this area, from an amount of 30 fishermen.

Data on catch composition were collected in 112 days *per* 141 landings (27 in summer '00, 13 in autumn '00, 11 in winter 00/01, 30 in spring '01, 28 in summer '01 and 32 in autumn '01). The numbers of surveys carried out in autumn and winter '00 were lower due to unfavourable weather.

Results

Anchored nets (gill nets, trammel nets and combined nets) were mainly used during spring, summer and, to a smaller extent, autumn, while purse seine were preferred in autumn and winter. Trammel nets were the lesser used. Fishing activities around the Bergeggi Island decrease in summer season, in concomitance with the increase of yachting and diving activities.

Tab. 1 - Catches composition *per* gear and season in the water surrounding the Bergeggi Island (A=anchored nets, S=purse seine).

Composizione delle catture ottenute nelle acque dell'isola di Bergeggi per attrezzo e stagione (A=reti da posta fisse, S=sciabica).

Fishing gears	A	A	S	S	A	Fishing gears	A	A	S	S	A
Pisces	Sum.	Aut.		Win.	Spr.	Pisces	Sum.	Aut.		Win.	Spr.
1. *Alosa fallax*	+				+	47. *Sciaena umbra*	+				+
2. *Arnoglossus* sp.	+		+		+	48. *Scomber* sp.	+				+
3. *Auxis rochei*	+				+	49. *Scorpaena notata*	+				+
4. *Belone belone*	+					50. *Scorpaena porcus*	+	+		+	+
5. *Boops boops*	+	+	+	+	+	51. *Scorpaena scrofa*	+				+
6. *Bothus podas*	+	+	+		+	52. *Scyliorhinus canicula*	+				+
7. *Cepola rubescens*	+					53. *Seriola dumerilii*		+	+	+	+
8. *Chromis chromis*			+	+		54. *Serranus cabrilla*	+	+	+		+
9. *Conger conger*	+				+	55. *Serranus scriba*	+		+		+
10. *Coris julis*			+	+		56. *Solea vulgaris*	+				+
11. *Coryphaena hippurus*			+			57. *Sparus aurata*			+		+
12. *Dasyatis pastinaca*	+					58. *Sphyraena sphyraena*	+		+	+	
13. *Dentex dentex*	+	+	+	+	+	59. *Spicara maena*	+	+	+	+	+
14. *Diplodus annularis*	+		+	+	+	60. *Spicara smaris*	+		+	+	
15. *Diplodus puntazzo*	+			+		61. *Spondyliosoma cantharus*	+		+	+	+
16. *Diplodus sargus*	+	+	+	+	+	62. *Symphodus mediterraneus*	+				
17. *Diplodus vulgaris*	+	+	+	+	+	63. *Symphodus* spp.	+	+	+	+	+
18. *Engraulis encrasicholus*			+			64. *Symphodus tinca*	+			+	+
19. *Epinephelus marginatus*	+					65. *Synodus saurus*	+				+
20. *Exocoetus volitans*					+	66. *Thunnus thynnus*	+				
21. *Helicolenus dactylopterus*	+					67. *Torpedo marmorata*	+				
22. *Heptranchias perlo*	+					68. *Trachynotus ovatus*		+			
23. *Labrus bimaculatus*						69. *Trachinus draco*	+				
24. *Labrus merula*	+					70. *Trachurus* spp.	+		+	+	+
25. *Labrus viridis*	+			+	+	71. *Trigla* spp.	+			+	+
26. *Lepidopus caudatus*	+					72. *Umbrina cirrosa*	+				+
27. *Lichia amia*	+		+		+	73. *Uranoscopus scaber*	+	+			+
28. *Lithognathus mormyrus*	+				+	74. *Zeus faber*	+			+	
29. *Lophius piscatorius*	+		+	+	+	Cephalopoda					
30. *Merluccius merluccius*	+				+	75. *Eledone* sp.	+				
31. *Microchirus ocellatus*	+					76. *Illex coindetii*			+	+	
32. *Mugil* spp.	+	+			+	77. *Loligo vulgaris*	+				+
33. *Mullus barbatus*	+		+	+	+	78. *Octopus macropus*	+				
34. *Mullus surmuletus*	+	+	+	+	+	79. *Octopus vulgaris*	+	+	+	+	+
35. *Muraena helena*					+	80. *Sepia officinalis*	+	+			+
36. *Oblada melanura*	+					81. *Todarodes sagittatus*			+	+	
37. *Pagellus acarne*	+	+	+	+	+	Crustacea					
38. *Pagellus bogaraveo*	+				+	82. *Calappa granulata*	+				
39. *Pagellus erythrinus*	+	+	+	+	+	83. *Homarus gammarus*	+				
40. *Pagrus pagrus*	+	+	+	+	+	84. *Maja squinado*	+				+
41. *Parophidion vassali*	+					85. *Nephrops norvegicus*	+				
42. *Phycis blennoides*	+				+	86. *Palinurus elephas*	+				+
43. *Pomatomus saltator*		+				87. *Paramola cuvieri*	+				
44. *Sarda sarda*	+					88. *Penaeus kerathurus*	+				
45. *Sardina pilchardus*	+		+	+	+	89. *Squilla mantis*	+				
46. *Sarpa salpa*	+	+	+	+	+						

On the whole, census activities allowed to record 21,081 catches (7,376 using anchored nets and 13,705 using purse seine), and to identify 89 different commercial species (Tab. 1).

Summer was the season with the highest number of fished species (76), followed by spring (52), winter (48) and autumn (39). Anchored nets allowed catching 76 species during summer, 21 in autumn and 52 in spring, while the purse seine allowed catching 33 species during autumn and 48 in winter.

Highest values of mean number of catches *per* landing *per* season were registered in autumn 2001, winter 2000/2001 and autumn 2000 (Tab. 2), while the lowest value was in charge to spring 2001.

Tab. 2 - Total number of specimen and fishing yields (mean number of specimen *per* landing) ascribed to each season.
Numero complessivo di individui e rendimenti (numero medio di esemplari per sbarcato) riferiti a ciascuna stagione.

	Summer '00 (27 landings)	**Autumn '00** (13 landings)	**Winter '00-01** (11 landings)	**Spring '01** (30 landings)	**Summer '01** (28 landings)	**Autumn '01** (32 landings)
n. specimen	2380	2706	2610	1902	2963	8520
fishing yields	88.15	208.15	237.27	63.40	105.82	266.25

Species characterising autumnal and winter catches belonged to Centracanthidae (*Spicara smaris* and *S. maena*), Mullidae (*M. surmuletus*) and Sparidae (*B. boops*) (Tab. 3), and they were fished mainly using purse seine. In spring, the catches were characterised by Scorpaenidae (*S. porcus*), Sparidae (*B. boops*, *O. melanura*) and *S. officinalis*, while in summer by Mullidae (*M. surmuletus*), Sparidae (*B. boops, P. bogaraveo*), Merlucciidae (*M. merluccius*), Carangidae (*Trachurus* sp.) and Scorpaenidae (*S. porcus*) (Tab. 3).

Tab. 3 - Higher fishing yields (mean number of specimen *per* landing) *per* species *per* each season.
Specie che hanno fornito i rendimenti maggiori (numero medio di esemplari per sbarcato) per stagione.

Summer '00 (27 landings)		**Autumn '00** (13 landings)		**Winter '00-01** (11 landings)		**Spring '01** (30 landings)		**Summer '01** (28 landings)		**Autumn '01** (32 landings)	
M. surmuletus	14.93	*S. smaris*	119.23	*S. smaris*	112.27	*S. porcus.*	6.97	*B. boops*	14.36	*S. smaris*	106.25
M. merluccius	13.64	*B. boops*	34.62	*B. boops*	63.64	*B. boops*	6.90	*M. surmuletus*	13.82	*B. boops*	77.,84
S. porcus	7.04	*M. surmuletus*	11.23	*S. maena*	10.09	*S. officinalis*	5.83	*Trachurus* sp.	13.57	*M. surmuletus*	19.41
P. bogaraveo	6.93	*S. maena*	7.92	*M. surmuletus*	7.27	*O. melanura*	4.87	*S. porcus*	8.46	Labridae	12.38

Conclusions

The present contribution, producing first data on catches abundance and composition, gives a preliminary picture of artisanal fishing activities strictly operating in the Bergeggi Island water's. In particular collected data show a strong seasonality in gears

use, pointing out a relevant species richness in summer, using anchored nets, and the presence of the highest fishing yields in autumn, using the purse seine.

The pointed out strong fishing gears seasonality stresses the experience required by the fishermen along the western Ligurian coast to foresee the species catch availability associated to season and area (Tunesi *et al.*, 2002), furnishing specific data on the artisanal fishing activities allocated just in Bergeggi Island waters.

Further researches on the seasonality of the fishing gears use on a spatial scale basis, applying GIS (Tunesi *et al.*, 2002), are crucial for obtaining solid management elements to support the planning of the future MPA.

Acknowledgements

The authors wish to thank the fishers Mr Vincenti (Noli), Mr Perata (Bergeggi) and Mr Scarsi and Mr Levratto (Vado Ligure) for their active collaboration. Furthermore A. Molinari wishes to thank Bergeggi municipality for funding field activities.

References

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1999) - *Sustaining Marine Fisheries*. National Academy Press, Washington, DC: 184 pp.

ROBERTS C.M., HAWKINS J.P. (2000) – *Fully-protected marine reserves: a guide*. WWF Endangered Seas Campaign, 1250 24th Street, NW, Washington, DC 20037, USA and Environment Department, University of York, York, YO10 5DD, UK: 133 pp.

SALM R.V., CLARK J., SIIRILA E. (2000) - *Marine and coastal Protected Areas: A guide for planners and managers*. IUCN., Washington DC: xxi+ 371 pp.

TUNESI L., FERRETTI M., MOLINARI A., PALLADINO S. (2002) – Catch composition of the artisanal fisheries in the Gallinaria Island's waters (Ligurian Sea). *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 706-709.

TUNESI L., PICCIONE M.E. (2000) – Rappresentazione e analisi preliminari di informazioni relative alla flottiglia da pesca artigianale del compartimento marittimo di Savona mediante G.I.S. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 558-564.

VACCHI M., LA MESA G., GIANNI A. (1992) – La piccola pesca nel compartimento di Savona: tipologie degli attrezzi e composizione delle catture. *Atti del 10° Congr. A.I.O.L.*, **10** (1): 503-511.

VILLA F., TUNESI L., AGARDY T. (2002) – Optimal zoning of marine protected areas through spatial multiple criteria analysis: the case of the Asinara Island National Marine Reserve of Italy. *Conservation Biology*, **16** (2): 1-12.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 738-741

V. Moschino, M. Deppieri, M.G. Marin

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via U. Bassi, 58/B - 35131 Padova, Italia.

PARAMETRI FISIOLOGICI IN POPOLAZIONI DI VONGOLE (*TAPES PHILIPPINARUM*) SOGGETTE A DIVERSO IMPATTO DI PESCA IN LAGUNA DI VENEZIA

*PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN CLAMS (*TAPES PHILIPPINARUM*) SUBJECTED TO DIFFERENT FISHING IMPACT IN THE LAGOON OF VENICE*

Abstract

Some physiological parameters are proposed to evaluate possible chronic stress syndrome in Tapes philippinarum *populations (Bivalvia: Veneridae) variously exploited by fishing in the Lagoon of Venice. Condition index and survival in air test are able to highlight the effects of fishing, whereas filtration and respiration rates, and scope for growth are mostly affected by different environmental conditions in the central and southern basins of the lagoon.*

Key-words: *clams,* Tapes philippinarum*, physiological parameters, fishing impact, Lagoon of Venice*.

Introduzione

La Laguna di Venezia è soggetta ad un'intensa attività di pesca, legata al notevole incremento, negli ultimi anni, della produzione di vongole filippine (*Tapes philippinarum*) derivanti sia da banchi naturali sia da allevamento in aree date in concessione.

Nel presente lavoro, lo stato di benessere di popolazioni di *T. philippinarum* sottoposte a diverso impatto di pesca è stato valutato tramite l'applicazione di alcuni indici di stress, largamente utilizzati nella determinazione delle condizioni fisiologiche generali di molluschi bivalvi. Tasso di filtrazione e respirazione, *scope for growth* (SFG), indice di condizione e test di sopravvivenza in aria possono evidenziare una risposta complessiva degli animali a vari stress ambientali di origine naturale e/o antropica e trovano impiego in programmi di biomonitoraggio di aree marine costiere (Din e Ahamad, 1995; Eertman *et al.*, 1993; Marin *et al*., 2001; Widdows *et al*., 2002).

Materiali e metodi

Le vongole sono state raccolte con un rastrello manuale ("rasca") in una zona di pesca libera, S. Angelo della Polvere (SA), ed in una zona di pesca gestita, a Chioggia (CP). All'interno di quest'ultima, grazie a precisi accordi con il pescatore concessionario, è stato inoltre possibile delimitare un'area di controllo nella quale la pesca non veniva praticata (CNP). Tasso di filtrazione, respirazione e SFG sono stati misurati secondo il metodo di Widdows (1985) su un campione di 16 vongole per ogni area; 30 animali sono invece stati utilizzati per la determinazione dell'indice di condizione (Walne e Mann, 1975) e per il test di sopravvivenza in aria (Eertman *et al*., 1993).

Risultati

Le vongole raccolte a S. Angelo presentano un tasso di filtrazione significativamente più basso (0.47 l/h; $p < 0.001$; Fig. 1) ed un tasso di respirazione più alto, seppure

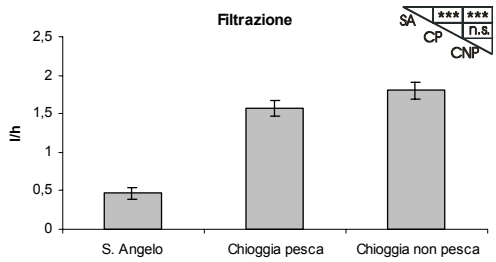


Fig. 1 - Tasso di filtrazione in *T. philippinarum* raccolto a S. Angelo e nelle due zone di Chioggia. Media±e.s., n=16. ANOVA: n.s. non significativo; ***p<0.001.

Filtration rate in T. philippinarum *collected at S. Angelo and in the two areas of Chioggia. Mean±s.e., n=16. ANOVA: n.s. not significant; ***p<0.001.*

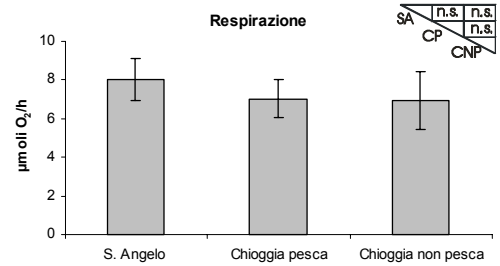


Fig. 2 - Tasso di respirazione in *T. philippinarum* raccolto a S. Angelo e nelle due zone di Chioggia. Media±e.s., n=16. ANOVA: n.s. non significativo.

Respiration rate in T. philippinarum *collected at S. Angelo and in the two areas of Chioggia. Mean±s.e., n=16. ANOVA n.s. not significant.*

non significativamente diverso (Fig. 2) rispetto a quelli delle vongole pescate nelle due aree di Chioggia; di conseguenza, anche lo SFG (Fig. 3), che rappresenta una misura

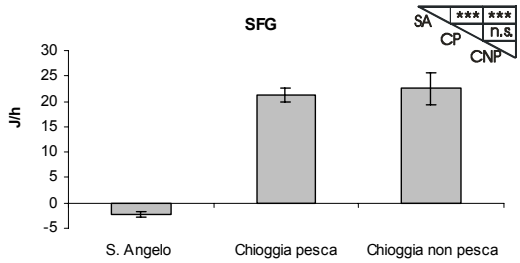


Fig. 3 - Scope for growth in *T. philippinarum* raccolto a S. Angelo e nelle due zone di Chioggia. Media±e.s., n=16. ANOVA: n.s. non significativo; ***p<0.001.

Scope for growth in T. philippinarum *collected at S. Angelo and in the two areas of Chioggia. Mean±s.e., n=16. ANOVA: n.s. not significant; ***p<0.001.*

integrata delle due precedenti risposte, mostra valori significativamente minori (–2.21 J/h; $p<0.001$) a S. Angelo. All'interno della concessione, filtrazione e SFG (1.8 l/h e 22.49 J/h per CNP, 1.57 l/h e 21.19 J/h per CP, rispettivamente) risultano maggiori negli organismi dell'area di controllo, che presentano anche il più alto valore dell'indice di condizione ($p<0.01$ rispetto a CP, $p<0.001$ rispetto a SA; Fig. 4). Nel test di sopravvivenza in aria, il valore di LT_{50} risulta significativamente più basso ($p<0.001$) negli animali della zona di pesca di Chioggia (Fig. 5).

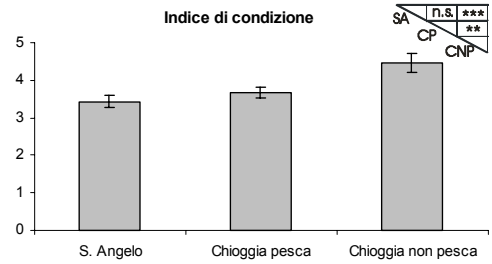


Fig. 4 - Indice di condizione in *T. philippinarum* raccolto a S. Angelo e nelle due zone di Chioggia. Media±e.s., n=30. ANOVA: n.s. non significativo;**p<0.01; ***p<0.001.

Condition index in T. philippinarum *collected at S. Angelo and in the two areas of Chioggia. Mean±s.e., n=30. ANOVA: n.s. not significant; **p<0.01; ***p<0.001.*

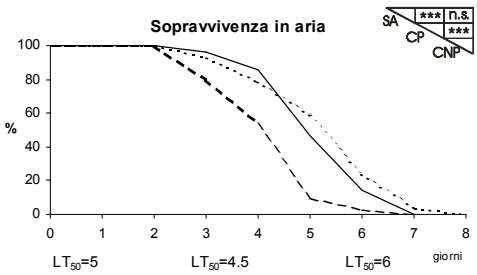


Fig. 5 - Sopravvivenza in aria in *T. philippinarum* raccolto a S. Angelo (SA) e nelle due zone di Chioggia (CP e CNP). N=30, LT_{50} espresso in giorni. Wilcoxon e Gehan (Gehan, 1965): n.s. non significativo; ***p<0.001.

Survival in air in T. philippinarum *collected at S. Angelo (SA) and in the two areas of Chioggia (CP, CNP). N=30, LT_{50} expressed in days. Wilcoxon & Gehan (Gehan, 1965):* n.s. not significant; ****p<0.001.*

Conclusioni

Tutti i parametri analizzati indicano una condizione complessivamente migliore nelle vongole non soggette ad attività di pesca. In particolare, indice di condizione e sopravvivenza in aria appaiono in grado di discriminare in modo più netto l'effetto della pesca nelle due zone della concessione di Chioggia. I valori di filtrazione, respirazione e SFG, seppure non sempre statisticamente diversi tra loro, evidenziano meglio invece le differenze tra i due siti della laguna, riflettendo nell'insieme una situazione ambientale più sfavorevole nel bacino centrale (SA).

Bibliografia

DIN Z.B., AHAMAD A. (1995) - Changes in the scope for growth of blood cockles (*Anadara granosa*) exposed to industrial discharge. *Mar. Pollut. Bull*., **31**: 406-410.

EERTMAN R.H.M., WAGENVOORT A.J., HUMMEL H., SMAAL A.C. (1993) - "Survival in air" of the blue mussels *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **170**: 179-195.

GEHAN E.A. (1965) - A generalised Wilcoxon test for comparing arbitrarily single-censored samples. *Biometrica*, **52**: 203-223.

MARIN M.G., NESTO N., DA ROS L. (2001) - Evaluation of biological stress indices in *Tapes philippinarum* from the lagoon of Venice through monitoring of natural populations and transplantation experiments. In: Faranda F.M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Mediterranean Ecosystems: Structures and Processes*. Springer-Verlag, Italy: 91-94.

WALNE P.R., MANN R. (1975) - Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In: Barnes H. (ed), *Proc. 9th Eur. Mar. Biol. Symp*., Aberdeen University Press, Aberdeen: 587-607.

WIDDOWS J. (1985) - Physiological measurements. In: Bayne B.L. *et al*. (eds), *The effects of stress and pollution on marine animals*. Praeger Press, New York: 3-45.

WIDDOWS J., DONKIN P., STAFF F.J., MATTHIESSEN P., LAW R.J., ALLEN Y.T., THAIN J.E., ALLCHIN C.R., JONES B.R. (2002) - Measurement of stress (scope for growth) and contaminants levels in mussels (*Mytilus edulis*) collected from the Irish Sea. *Mar. Environ. Res*., **53**: 327-356.

La ricerca è stata finanziata dalla Comunità Europea nell'ambito del progetto Studies 99/062: "Assessing the impact of bivalve fisheries on the benthic ecosystems of the Ria Formosa lagoon (Portugal), Venice lagoon (Italy), Aegean Sea (Kavala-Greece) and on the juvenile flatfish in the South coast of Portugal (IMPACTO)".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 742-744

F. Trebini, G. Ceccherelli, N. Sechi

Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale,
Università di Sassari, Via F. Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.

VARIAZIONE TEMPORALE DELLE MACROALGHE E DEL FITOPLANCTON NELLA LAGUNA EUTROFICA DI S'ENA ARRUBIA (SARDEGNA CENTRO-OCCIDENTALE)

TEMPORAL VARIATIONS OF MACROALGAE AND PHYTOPLANKTON DYNAMICS IN THE EUTROPHYC S'ENA ARRUBIA LAGOON (CENTRE-WESTERN SARDINIA)

Abstract

In S'Ena Arrubia Lagoon (centre-western Sardinia), phytoplankton and macroalgal component dynamics were analysed with respect to the main nutrients. Both were present in the lagoon in spring, a sharp prevalence of macroalgae was observed in summer and the phytoplankton was dominant in winter. The N:P ratio shows very low values (<16) for long periods.

Key-words: *lagoons, macroalgae, nutrients, phytoplankton.*

Introduzione

I sistemi costieri mostrano vari tipi di risposte all'introduzione di nutrienti, i quali possono provocare un aumento delle condizioni trofiche con conseguente incremento della produzione primaria generale ed accumulo di biomassa vegetale, sia fitoplanctonica sia macroalgale. Un elevato livello trofico, conseguente ad un forte input di nutrienti, viene osservato, ormai da anni, nella Laguna di S'Ena Arrubia (Fiocca *et al*. 1996).

La laguna è caratterizzata da una bassa profondità (circa 50-70 cm) e da dimensioni ridotte (circa 100 ha). Essa è il residuo di una bonifica che ha prosciugato oltre 1500 ha. La laguna è fortemente influenzata da periodiche immissioni di acqua dolce (caratterizzate da elevate concentrazioni nutrizionali) tramite un'idrovora che drena le acque provenienti dai terreni bonificati e coltivati, che si trovano al di sotto del livello del mare. Le condizioni eutrofiche di questo sito determinano periodiche fioriture di *Ulva laetevirens*, Areschoug ed *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J.Agardh, ed improvvise ed intense fioriture fitoplanctoniche. Questo lavoro ha lo scopo di analizzare le variazioni temporali, su un arco annuale, del fitoplancton e delle macroalghe in relazione alla disponibilità di nutrienti.

Materiali e metodi

Il periodo esaminato va da aprile 2001 fino a febbraio 2002. I campioni d'acqua sono stati prelevati, in due stazioni, con una cadenza settimanale nel periodo estivo e quindicinale in quello invernale, mentre le macroalghe sono state raccolte mensilmente.

Sui campioni prelevati sono stati analizzati, i contenuti di ammoniaca, nitrati, nitriti, fosforo totale, tutti secondo Strickland e Parsons (1968) e clorofilla *a* (Scor-UNESCO,

1966). I campioni di fitoplancton sono stati immediatamente fissati con formalina al 4% neutralizzata ed i conteggi sono stati effettuati seguendo il metodo di Utermöhl (1958). La componente macroalgale è stata campionata, con cadenza mensile in tre aree e, per ogni area, relativamente a tre diversi habitat (costiero, interno alla laguna e nelle concrezioni calcaree di policheti tubicoli).

Risultati e conclusioni

In primavera entrambe le componenti (Fig. 1), macroalgale e fitoplanctonica, sono state presenti nella laguna. Il massimo sviluppo delle macroalghe è stato osservato nel periodo estivo (170 g ps m^{-2}), quello del fitoplancton in primavera (massimo di 18,4 mg m^{-3} per la clorofilla *a*, di 188×10^6 cell. l^{-1} per la densità); in inverno la componente macroalgale è stata quasi del tutto assente mentre il fitoplancton ha mantenuto la sua presenza. Il massimo della clorofilla *a* ha coinciso con i picchi di densità delle specie *Cyclotella atomus* (Hustedt) e *Chlorella* sp. (rispettivamente 77×10^6 cell. l^{-1} e $88x10^6$ cell. l^{-1}).

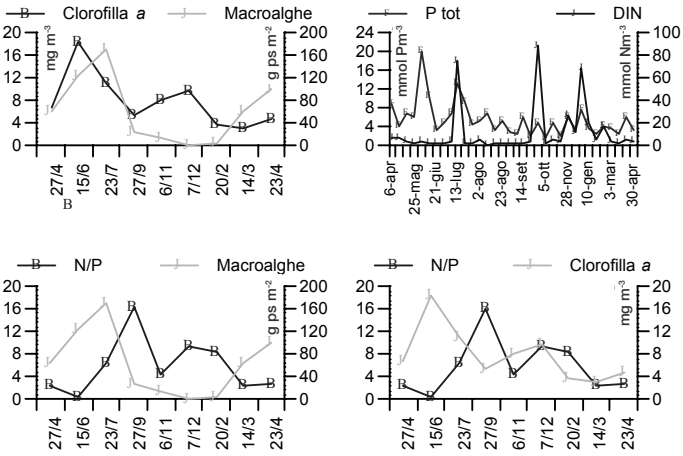


Fig. 1 – Andamenti di fitoplancton, macroalghe, DIN e fosforo totale nella Laguna di S'Ena Arrubia.
Phytoplankton, macroalgae, DIN and total phosphorus trends in S'Ena Arrubia Lagoon.

La dinamica dell'azoto inorganico disciolto (DIN) ha mostrato concentrazioni piuttosto basse nel periodo estivo-primaverile (Fig. 1), ed improvvisi ed intensi picchi nel periodo autunno-invernale (massimo di 88 mmoli N m^{-3}, 28 settembre). I valori più elevati di DIN, sono stati osservati in concomitanza dei maggiori apporti di acqua dolce, corrispondenti anche al periodo in cui lo sviluppo della componente vegetale (macroalgale e fitoplanctonica) è stato minimo; ha fatto eccezione un picco di rilievo registrato in luglio. Il fosforo totale è stato sempre presente nella laguna in elevate quantità. Il suo andamento ha mostrato le concentrazioni più elevate nella prima metà di giugno (20 mmoli P m^{-3}), mentre l'azoto mostrava un forte deficit; i valori sono stati piuttosto consistenti anche nei restanti mesi (massimo di 13,4 mmoli P m^{-3}, minimo di 1,8 mmoli P m^{-3}).

Il rapporto molare N/P (Fig. 1) nella colonna d'acqua è stato spesso molto basso, anche inferiore ad 1, ad eccezione di occasionali picchi autunno-invernali nei quali il rapporto ha raggiunto il valore di 16. È pertanto possibile, in riferimento al fatto che un rapporto N/P inferiore a 16 possa indicare azoto limitazione (Howarth, 1988), che la crescita delle macroalghe e del fitoplancton sia condizionata dalla disponibilità dell'azoto. Tuttavia sono da tener presenti le periodiche immissioni di acque dolci ad elevati contenuti nutrizionali che presumibilmente danno l'opportunità ai vegetali di esprimere livelli produttivi elevati.

Bibliografia

FIOCCA F., LUGLIÈ A., SECHI N. (1996) - The phytoplankton of S'Ena Arrubia Lagoon (centre-western Sardinia) between 1990 and 1995. *Giorn. Bot. Ital.*, **130**: 1016-1031.

HOWARTH W.R. (1988) – Nutrient limitation of net primary production in marine ecosystems. *Ann. Rev. Ecol.,* **19**: 89-110.

SCOR-UNESCO (1966) – Determination of photosynthetic pigments in seawater. *Monographs on Oceanographic Methodology*, **1**: 1-69.

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R. (1968) – *A practical handbook of seawater analysis*. Stevenson J.C., Ottawa: 310 pp.

UTERMÖHL H. (1931) – Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons (mit besonderer Beruchksichtigung des Ultraplancktons). *Ver. Int. Ver. Theor. Angew Limnol.,* **5**: 567-669.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 745-749

L. Tunesi, E. Salvati, A. Molinari

ICRAM, Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.

IL POPOLAMENTO ITTICO DEI FONDALI INTERESSATI DALLO SVERSAMENTO DI CARBONE DELLA M/V EUROBULKER IV

FISH ASSEMBLAGE OF THE SEA BOTTOMS DAMAGED BY M/V EUROBULKER'S IV COAL SPILL

Abstract

The sinking of the M/V "Eurobulker IV" in October 2000 caused the spill over of more than 17,000 tons of steam coal on the bottoms of the S. Pietro channel (SW Sardinia). The present contribution shows the results of the study of the effect of the coal's spill over on fish assemblages. Sampling activities were done by mean of visual census methods. Collected data let to point out a negative influence of the spill over, mainly in charge to fish assemblage living on Posidonia oceanica *beds.*

Key-words: *coal spill, fish visual census, SW Sardinia.*

Introduzione

Nell'ambito delle attività che l'ICRAM ha condotto al fine di accertare la sussistenza di danni ambientali dovuti allo sversamento di oltre 17.000 tonnellate carbone (*steam coal)* legati all'affondamento della M/V "Eurobulker IV" avvenuto nel mese di ottobre del 2000, è stato condotto uno studio mirato alla valutazione degli effetti sulla fauna ittica. L'area interessata dallo sversamento è all'interno del Canale di San Pietro (Sardegna SW), su di un tratto di fondale caratterizzato da una profondità massima di circa –24 m (Fig. 1).

Lo studio della fauna ittica è stato condotto mediante l'applicazione di tecniche di censimento visuale in immersione (Harmelin Vivien *et al.,* 1985), scelte sia perché di impatto ridotto, sia perché in grado consentire un'estrema precisione del rilevamento in funzione della tipologia del fondale (Tunesi e Vacchi, 1993; Tunesi *et al*., 2001).

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati condotti nel mese di luglio 2001 ed hanno previsto indagini subacquee sia nei siti interessati dallo sversamento che in aree di confronto, non impattate. Il sito interessato dallo sversamento (A in Fig. 1), di circa 100 m^2 di superficie, presentava in origine uno spessore di carbone di circa un metro, in parte rimosso dalle attività di bonifica, iniziate alla fine del 2000 e non ancora ultimate in occasione del presente studio. L'area, compresa tra –12 e –24 metri, è risultata caratterizzata da prateria di *Posidonia oceanica* e da ampi tratti di sabbia di ridottissimo spessore, perché disposti su strati rocciosi.

Lo studio del popolamento ittico è stato affrontato mediante l'applicazione di due differenti metodologie di censimento visuale in immersione: il percorso della durata di 15 minuti, per la raccolta di dati qualitativi e semiquantitativi sulla ricchezza specifica; il punto fisso di 5 m di raggio (78,5 m^2), per ottenere dati quantitativi (Harmelin-Vivien *et al*., 1985).

Il campionamento random, è stato stratificato in base alle due tipologie di fondale

presenti nel sito (prateria di *Posidonia* e fondo mobile), seguendo i criteri indicati da Tunesi e Salvati (2002). I rilevamenti su punto hanno previsto la conduzione di almeno quattro repliche per ogni tipologia di substrato, sia nella zona impattata (sito A, Fig. 1), sia per il sito di confronto o "bianco" (sito B, Fig. 1).

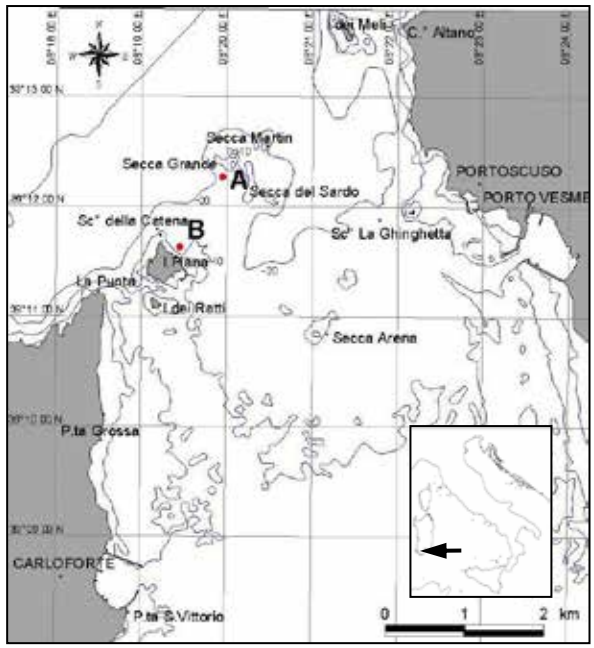


Fig. 1 - Area di studio. A = zona interessata dallo sversamento; B = zona di confronto.
Study area: A = spill zone; B = control zone.

I dati qualitativi hanno consentito la redazione di liste specie di confronto per sito di rilevamento in funzione della natura del fondale. I dati quantitativi hanno invece permesso una prima comparazione dei due siti in termini di abbondanza di specie censite. L'applicazione del test U di Mann-Whitney (Zar, 1999) ha consentito di verificare differenze significative fra i popolamenti ittici presenti nei due siti.

Risultati

Nel complesso sono stati effettuati 6 percorsi (3 per ciascun sito) e 26 punti fissi (17 nel sito A e 9 nel sito B) che hanno permesso di censire 19 specie nel sito interessato dallo sversamento e 22 nelle acque di quello di confronto (Tab. 1). La comparazione dei dati quantitativi dell'intero popolamento ittico permette di rilevare che in entrambi i siti considerati (A e B) *C. chromis, C. julis* e *S. maena* sono le specie più abbondanti.

Il sito interessato dallo sversamento (A) risulta caratterizzato da abbondanze medie minori su *P. oceanica* e maggiori su sabbia. Il popolamento rinvenuto su sabbia è in realtà molto povero di specie fossorie rispetto ad altre aree di studio mediterranee

(Tunesi *et al*., 2001), a causa del ridotto spessore che il fondo mobile presenta nell'area di studio.

Tab. 1 - Specie censite, abbondanze medie rilevate su punti e presenze registrate mediante percorsi (+). Legenda: Metodo di rilevamento: PU=punto; PE=percorso; Sito: A=interessato dallo sversamento; B=confronto; Tipo di fondo: S=Sabbie; P=*P. oceanica.*

*Recorded species, mean abundances per stationary points and presences recorded by mean of paths. Legend: Sampling method: PU=stationary point; PE=path; Zone: A=spill zone; B=control zone; Tipo di fondo: S=sands; P=*P. oceanica.

	SPECIE	metodo di rilevamento	SITO A		SITO B	
			Tipo di fondo		Tipo di fondo	
			S	P	S	P
1	*Apogon imberbis* (L., 1758)	PE				+
2	*Boops boops* L., 1758	PE	+			
3	*Chromis chromis* L., 1758	PU/PE	20,25	3,22	13,75	24,40
4	*Coris julis* L., 1758	PU/PE	19,88	19,67	10,00	29,00
5	*Diplodus annularis* L., 1758	PU/PE	0,75	1,22	+	0,60
6	*Diplodus vulgaris* G. St.Hilaire, 1817	PU/PE	4,13	1,00	5,50	0,40
7	*Gobius cobitis* (Pallas, 1811)	PU/PE			1,00	
8	*Labrus merula* (L., 1758)	PE				+
9	*Labrus viridis* L., 1758	PE				+
10	*Mullus surmuletus* L., 1758	PU/PE	0,25	0,11	0,25	+
11	*Oblada melanura* (L., 1758)	PE				+
12	*Pagrus pagrus* (L., 1758	PU/PE	0,13	+		
13	*Sarpa salpa* (L., 1758)	PU/PE	1,50	+	1,25	10,20
14	*Scorpena porcus* L., 1758	PE				+
15	*Serranus cabrilla* (L., 1758	PU/PE	2,75	0,11	3,00	3,60
16	*Serranus scriba* (L., 1758)	PU/PE	0,25	1,11	+	2,20
17	*Spicara maena* (L., 1758	PU/PE	5,25	5,89	0,25	8,20
18	*Spondyliosoma cantharus* (L., 1758)	PU	0,88	0,11	+	0,40
19	*Symphodus cinereus* (Bonnaterre, 1788)	PU/PE	1,75	0,11	+	+
20	*Symphodus doderleini* Jordan, 1891	PU/PE		0,11		
21	*Symphodus mediterraneus* (L., 1758)	PE				+
22	*Symphodus melanocercus* (Risso, 1810)	PU/PE	0,13	1,44	0,25	2,40
23	*Symphodus ocellatus* Forsskal, 1775	PU/PE	0,13	2,00	0,25	1,40
24	*Symphodus roissali* (Risso, 1810)	PU/PE		+		0,80
25	*Symphodus rostratus* (Bloch, 1797)	PE		+		
26	*Symphodus tinca* (L., 1758)	PU/PE			+	0,20
Abbondanza media totale per tipo di fondo			**58,00**	**36,11**	**35,50**	**83,80**
N° Totale specie per tipo di fondo			**15**	**18**	**15**	**21**
N° Totale specie			**19**		**22**	

Il test U di Mann-Whitney, applicato ai valori di abbondanza dell'intero popolamento ittico, indica che solo la differenza registrata per i fondali a *P. oceanica* è significativa ($p \leq 0,05$), mentre la sua applicazione ai valori di abbondanza registrati per le singole specie permette di rilevare che *S. salpa*, *S. cabrilla* ($p \leq 0,001$), *C. chromis*, *D. annularis*, *S. scriba* ($p \leq 0,05$) presentano abbondanze significativamente differenti tra il sito interessato dallo sversamento ed il bianco.

Conclusioni

I rilevamenti condotti all'interno delle aree impattate, caratterizzate da *P. oceanica* hanno evidenziato la dominanza delle famiglie dei Labridi e degli Sparidi. Questo risultato, in sostanziale accordo con i dati della letteratura per siti non impattati dove è presente la fanerogama (Harmelin-Vivien e Francour, 1992; Francour, 1997), permette di affermare che, a distanza di nove mesi dall'incidente, lo sversamento di carbone non ha compromesso questa caratteristica del popolamento ittico (Tab. 1).

Le zone caratterizzate da sabbia ed interessate dallo sversamento presentano caratteristiche di ricchezza specifica e di abbondanza simili a quelle dell'area non coinvolta dal sinistro, confermate dal test U di Mann-Whitney. Tuttavia va ricordata la particolare natura dei fondi studiati, caratterizzati da uno strato di sabbia molto sottile, che sembra non premettere la presenza di quelle specie criptiche e fossorie che generalmente caratterizzano i fondi mobili, quali i Pleuronettiformi (Torchio, 1971) ed i Trachinidi (Tunesi e Salvati, 2002). In sintesi, i fondali sabbiosi dell'area di studio sembrano presentare un popolamento ittico abbastanza povero a prescindere dalla presenza del carbone nel sedimento.

I dati raccolti evidenziano che lo sversamento del carbone e le successive attività di bonifica sembrano avere influenzato soprattutto il popolamento ittico presente sui fondali interessati dalla prateria di Posidonia. Infatti ben 5 specie sono state rinvenute solo nei rilevamenti condotti nel sito di controllo (*A. imberbis*, *L. merula*, *L. viridis*, *O. melanura* e *S. porcus*). Inoltre, tra le specie la cui presenza è stata registrata in ambedue i siti (A e B), quelle che appaiono aver risentito in modo più negativo dello sversamento risultano *C. chromis, S. cabrilla*, *S. scriba* e *S. salpa*.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il Dott. Ezio Amato dell'ICRAM, responsabile dell'incarico di studio affidato dal Servizio Difesa Mare del Ministero dell'Ambiente all'ICRAM (prot. SDM/2/4642 del 19 ottobre 2000), per aver stimolato la presente ricerca.

Bibliografia

FRANCOUR P. (1997) – Fish assemblages of *Posidonia oceanica* beds at Port-Cros (France, NW Mediterranean): assessment of composition and long-term fluctuations by visual census. *P.S.Z.N. I: Marine Ecology*, **18**: 157-173.

HARMELIN-VIVIEN M.L., FRANCOUR P. (1992) – Trawling or visual censuses? Methodological bias in the assessment of fish populations in seagrass beds. *P.S.Z.N. I: Marine Ecology*, **13**: 41-51.

HARMELIN-VIVIEN M.L., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABE G., BLANC F., CHEVALIER R. (1985) – The underwater observation of fish communities and fish populations: Methods and problems. *Rev. Ecol. Terre Vie*, **40**: 467-540.

TORCHIO M. (1971) – Nota ecologica sull'attuale popolamento dei Soleidi del Mar Ligure occidentale (*Osteichthyes Pleuronectiformes*). *Natura*, Milano, **62** (4): 479-504.

TUNESI L., SALVATI E. (2002) - Study of the coastal icthyofauna of the Arcipelago of La Maddalena to support the zoning of the marine protected area. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 710-713.
TUNESI L., SALVATI E., LAURIANO G., MARIANI L. (2001) - Study of the coastal fish fauna of the Asinara island to support the zoning of the marine protected area. *Atti A.I.O.L.*, **14**: 189-198.
TUNESI L., VACCHI M. (1993) - Indagini visuali in immersione nell'area marina di Portofino: applicazione di un metodo per lo studio dei popolamenti ittici. *Biologia Marina*, Suppl. Notiz. SIBM, **1**: 355-360.
ZAR J.H. (1999) - *Biostatistical analysis* (4th ed.). Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.: 718 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 750-754

A. Vannucci, S. Gambaccini, B. Francesconi, I. Rossetti

Aplysia p.s.c.r.l., Via delle Viole, 1 - 57124 Livorno, Italia.
aplysia1@libero.it

CENSIMENTI VISIVI IN IMMERSIONE: CONFRONTO TRA METODI DI VALUTAZIONE DI UN POPOLAMENTO ITTICO COSTIERO NELL'ISOLA D'ELBA

VISUAL CENSUS: COMPARISON OF EVALUTATION METHODS OF A COASTAL FISH ASSEMBLAGE IN THE ELBA ISLAND

Abstract

Different methods (linear transect, stationary point, random count) and techniques for underwater visual census sampling were compared in terms of number of species and density using multifactorial sampling designs. Random count seem to be the best method for qualitative description of coastal rocky fish assemblages. ANOVAs carried out on density values, showed significant differences among techniques.

Key-words: *diving surveys, sampling methods, coastal zone, variance analysis.*

Introduzione

I principali metodi di indagine tramite censimento visivo subacqueo, messi a punto fino ad oggi ed utilizzati da molti autori (Harmelin-Vivien *et al*., 1985; Bohnsack e Bannerot, 1986; Francour *et al*., 1999), sono essenzialmente tre: il transetto lineare (T), il punto fisso (D) e il percorso casuale (PC). I primi due forniscono dati sia qualitativi che quantitativi, mentre il terzo solo dati di tipo qualitativo. Lo scopo di questo studio è valutare eventuali differenze tra queste metodologie di indagine, applicate ad uno stesso popolamento ittico costiero, utilizzando come variabile di confronto il numero di specie (punto fisso, transetto e percorso casuale) e la densità (punto fisso e transetto).

Materiale e metodi

Lo studio è stato condotto nell'aprile del 1997 sul versante sud-occidentale dello Scoglietto, un piccolo isolotto incluso nella Riserva Marina delle Ghiaie, unica area protetta dell'Isola d'Elba (Mar Ligure). Nel metodo del transetto sono stati considerati due diversi volumi di campionamento rappresentati da un parallelepipedo di 3 m di altezza e di superficie 50×2 m (tecnica T2) e 50×4 m (tecnica T4). Nel punto fisso è stato indagato un cilindro con altezza di 3 m e diametro di 5 m (tecnica D5) e 10 m (tecnica D10). Nel terzo metodo (PC), non esistendo un volume di riferimento, il subacqueo ha eseguito un percorso casuale, mantenendosi ad una batimetrica costante. Nei tre metodi usati sono stati adottati gli stessi tempi di esecuzione. Nell'area di studio sono state selezionate due subaree, su substrato roccioso, di medesima ampiezza, una a 10 e una a 20 m di profondità e all'interno di queste sono stati individuati, in modo random, i punti di rilevamento (Tab. 1). I rilevamenti hanno consentito di determinare il numero di specie e le stime di abbondanza.

Il confronto tra i tre metodi è stato eseguito con un'analisi della varianza (ANOVA) (Underwood, 1981) sul numero di specie rilevate con il percorso casuale, con la tecnica T2 del transetto e D10 del punto fisso. Le medie dei valori sono state confrontate *a posteriori* con il test Student-Newman-Keuls (SNK) per confronti multipli.

Tab. 1 - Numero di campionamenti subacquei effettuati con i tre metodi a due diverse profondità (10 e 20 m).
Number of sampling carried out with three different methods at different depths (10 e 20 m).

		Metodo	**Transetto (T)**		**Punto fisso (D)**		**Percorso casuale (PC)**
Parametri rilevati		**Tecnica**	**T2**	**T4**	**D5**	**D10**	
Abbondanza	Profondità	10 m	10	10	12	12	---
		20 m	10	10	12	12	---
Numero di specie		10 m	6	---	6	---	6
		20 m	6	---	6	---	6

È stato, inoltre, analizzato il confronto tra tecniche, a 10 e 20 m di profondità, per i metodi del transetto e del punto fisso, con una ANOVA a due vie, utilizzando come variabile la densità (n° individui/m^3), calcolata dalle stime di abbondanza di quattro specie ittiche o gruppi di specie ritenute rappresentative del popolamento studiato: *Coris julis*, *Serranus cabrilla*, *Diplodus* spp. (*D. puntazzo*, *D. sargus* e *D. vulgaris*) e *Symphodus* spp. (*S. tinca*, *S. roissali*, *S. ocellatus*, *S. mediterraneus*, *S. melanocercus*, *S. melops*, *S. cinereus*, *S. doderleini*, *S. rostratus*) (Garcia-Charton *et al*., 2000).

Prima di effettuare le analisi è stata verificata l'assunzione di omogeneità delle varianze mediante test di Cochran (Winer, 1971; Underwood 1997), operando le dovute trasformazioni quando necessario.

Risultati

Nel confronto tra le tre metodologie impiegate, l'ANOVA effettuata sul numero di specie, ha mostrato differenze significative ($p<0.01$) sia per il fattore metodo che per la profondità (Tab. 2). Il test SNK ha evidenziato differenze tra il metodo PC e gli altri due metodi che tra loro non mostrano, invece, differenze significative (PC>T=D). Il numero di specie è risultato maggiore nei campionamenti effettuati alla profondità di 20 m (Fig. 1). Non è risultata, invece, significativa l'interazione tra i fattori metodo e profondità (M×P).

Tab. 2 - Effetto del fattore metodo (3 livelli: T, D e PC) e della profondità (2 livelli: 10 e 20 m) sul numero delle specie. I valori in grassetto indicano il livello di significatività ($p<0.01$).
Effect of method (3 levels: T, D and PC) and depth (2 levels: 10 and 20 m) on the number of species. Significant values are shown in bold type ($p<0.01$).

Fonti di variabilità	g.l.	$\overline{SQ}$	*F*	p	Denominatore per *F*
Metodo (M)	2	36.58	10.370	**0.0004**	Residuo
Profondità (P)	1	51.36	14.559	**0.0006**	Residuo
MxP	2	0.19	0.055	0.9465	Residuo
Residuo	30	3.53			
Trasformazione: nessuna					
Test di Cochran	C = 0.907, p > 0.05				
Test SNK	Percorso casuale > Transetto = Punto fisso				

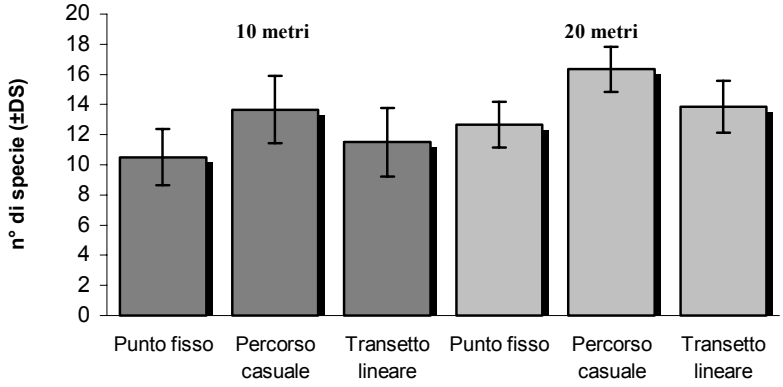


Fig. 1 - Valori medi (±DS, n=6) del numero di specie ottenute con i tre metodi di campionamento, a 10 e 20 m.
Mean values (± SD, n=6) of number of species sampled with three different methods, at 10 and 20 m.

Questi risultati evidenziano come il percorso casuale consenta una descrizione qualitativa più completa del popolamento ittico, in quanto non essendo vincolato ad un volume ben preciso permette di investigare un'area più ampia dando la possibilità al subacqueo di rilevare anche quelle specie che si mantengono ad una maggiore distanza. Inoltre questo metodo è risultato il miglior descrittore per le specie criptiche (Harmelin-Vivien *et al*., 1985).

La mancanza di differenze significative tra transetto e punto fisso può indicare che la capacità da parte del rilevatore di stimare il numero di specie non varia percorrendo una linea retta oppure restando fermi in un punto. L'analisi conferma, inoltre, l'importanza della profondità nella struttura del popolamento ittico (Bell, 1983; Dufour *et al*., 1995), evidenziando un numero di specie maggiore a 20 metri in tutti e tre i metodi.

L'ANOVA eseguita sui valori di densità ha mostrato risultati differenti per le specie considerate ma concordanti per i due metodi usati (Tab. 3). Per le specie del genere *Diplodus* il volume di campionamento non influisce sulle densità; mentre per *C. julis*, *S. cabrilla e Symphodus* spp., i valori di densità nelle tecniche T2 e D5, sono risultati significativamente maggiori rispettivamente a T4 e D10 (T2 > T4 e D5 > D10).

Questo risultato può essere interpretato considerando il particolare comportamento di queste specie nei confronti del subacqueo. Essi infatti vengono attratti per curiosità (*C. julis*) o per difesa del territorio (*S. cabrilla*) oppure non vengono disturbati dalla presenza del rilevatore (*Simphodus* spp.) avvicinandosi a distanze minori di un metro. Ciò determina un fenomeno di concentrazione in volumi minori (T2 e D5). Ciò non si verifica, per le specie del genere *Diplodus* che si mantengono, invece, a distanze maggiori.

Nel metodo del transetto il fattore profondità è risultato significativo per *S. cabrilla* (10 m < 20 m) e per i *Symphodus* spp. (10 m > 20 m), (Tab. 3).

Tab. 3 - Effetto della tecnica (2 livelli: T2 e T4 per il transetto; D5 e D10 per il punto fisso) e della profondità (2 livelli: 10 e 20 m) sulle stime di densità di alcune specie e gruppi di specie. I valori in grassetto indicano il livello di significatività ($p < 0.01$).

Effect of technique (2 levels: T2 and T4 for linear transect; D5 and D10 for stationary point) and depth (2 levels: 10 and 20 m) on density estimates of some fish species. Significant values are shown in bold type ($p < 0.01$).

Transetto lineare		*C. julis*			*Diplodus* spp.			*S. cabrilla*			*Symphodus* spp.		
Fonti di variabilità	g.l.	$\overline{SQ}$*	*F*	p	$\overline{SQ}$*	*F*	p	$\overline{SQ}$	*F*	p	$\overline{SQ}$	*F*	p
Profondità (P)	1	0.069	0.0	0.990	0.694	0.8	0.366	1.604	43.6	**0.000**	0.417	21.9	**0.000**
Tecnica (T)	1	976.600	20.2	**0.000**	0.111	0.1	0.716	0.439	11.9	**0.001**	0.383	20.2	**0.000**
PxT	1	3.674	0.1	0.784	0.027	0.1	0.855	0.085	2.3	0.137	0.001	0.1	0.818
Residuo	36	48.260			0.829			0.037			0.019		
Trasformazione		nessuna			nessuna			log			log		
Test di Cochran		C = 0.40			C = 0.37			C = 0.42			C = 0.48		
		p > 0.05			p > 0.05			p > 0.05			p > 0.05		
Punto fisso													
	g.l.	$\overline{SQ}$	*F*	p	$\overline{SQ}$*	*F*	p	$\overline{SQ}$*	*F*	p	$\overline{SQ}$*	*F*	p
Profondità (P)	1	0.097	1.3	0.269	0.235	3.1	0.085	0.023	0.5	0.496	0.251	1.8	0.189
Tecnica (T)	1	4.593	59.0	**0.000**	0.072	0.9	0.335	0.395	7.9	**0.007**	1.785	12.6	**0.000**
PxT	1	0.001	0.1	0.903	0.024	0.3	0.568	0.012	0.2	0.621	0.012	0.1	0.770
Residuo	44	0.078			0.075			0.049			0.141		
Trasformazione		log			arcoseno			arcoseno			arcoseno		
Test di Cochran		C = 0.47			C = 0.57			C = 0.42			C = 0.43		
		p > 0.05			p < 0.05			p > 0.05			p > 0.05		

* $x10^{-5}$

Conclusioni

Non esiste uno metodo di censimento visivo subacqueo comunemente valido e che possa essere applicato in modo univoco allo studio di popolamenti ittici costieri del Mediterraneo. Da questo contributo, emerge però, che il metodo migliore per descrivere, da un punto di vista qualitativo il popolamento ittico, è il percorso casuale.

Partendo dal presupposto, ormai consolidato, che per stimare l'abbondanza, su fondi eterogenei è consigliabile l'uso del punto fisso, mentre su fondi omogenei la scelta tra transetto e punto fisso è a discrezione del ricercatore (Harmelin-Vivien *et al*., 1985; Francour *et al*., 1999), l'utilizzo di tecniche diverse non sempre determina differenze nella descrizione di uno stesso popolamento. Ne consegue che la scelta di impiegare tecniche e di conseguenza volumi diversi di campionamento potrà dipendere da fattori esterni al popolamento quali, ad esempio, la visibilità o le dimensioni dell'area di studio.

Bibliografia

BELL J.D. (1983) - Effects of depth and marine reserve fishing restrictions on the structure of a rocky reef fish assemblage in the North-Western Mediterranean sea. *Jour. App. Ecol.,* **20**: 357-369.

BOHNSACK J.A., BANNEROT S.P. (1986) - A stationary visual census technique for quantitatively assessing community structure of coral reef fishes. *Nat. Ocean. Atm. Admin., USA Tecnical Report*. NMFS, **41**: 15 pp.

DUFOUR V., JOUVENEL J.Y., GALZIN R. (1995) - Study of Mediterranean reef fish assemblage. Comparison in population distribution among depth in protected and unprotected areas over one decade. *Acquat. Living Resour.*, **8**: 17-25.

FRANCOUR P., LIRET C., HARVEY E. (1999) - Comparison of fish abundance estimates made by remote underwater video and visual census. *Nat. Sicil.,* **23** (Suppl.): 155-168.

GARCIA-CHARTON J.A., WILLIAMS I.D., PEREZ-RUZAFA A., MILAZZO M., CHEMELLO R., MARCOS C., KITCOS M.-S., KOUKOURAS A., RIGGIO S. (2000) – Evaluating the ecological effects of Mediterranean marine protected areas: habitat, scale and the natural variability of ecosystems. *Environmental conservation*, **2782**: 159-178.

HARMELIN-VIVIEN M.L., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABÉ G., BLANC F., CHEVALIER R., DUCLERC J., LASSERRE G. (1985) - Evaluation visuelle des peuplements et populations de poissons: methodes et problemes. *Rev. Ecol*. (*terre vie*), **40**: 467-539.

UNDERWOOD A.J. (1981) - Techniques of analysis variance in experimental marine biology and ecology. *Oceaogr. Mar. Biol. Ann. Rev.,* **19**: 513-605.

UNDERWOOD A.J. (1997) - *Experiments in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge.

WINER B.J. (1971) - *Statistical principles in experimental designs*. McGraw-Hill, Kogakusha, Tokyo.Lor ad tis nim iureet ullupta ionulput adio conulla reet, quatio odit pratum in ulputatisi bla faciliquatie core diam dolore voluptat, quat. Ut ut wisl dolore el iuscipissi.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 755-759

T. Vega Fernández, G. D'Anna, F. Badalamenti, C. Pipitone , M. Coppola, G. Rivas*, A. Modica*

IAMC–CNR, Laboratorio di Biologia Marina, Via G. da Verrazzano, 17 - 91014 Castellammare del Golfo, Trapani, Italia.
*CEOM SpA, Piazzale del Fante, 40 - 90146 Palermo, Italia.

FAUNA ITTICA ASSOCIATA AD UN IMPIANTO DI ACQUACOLTURA OFF-SHORE NEL GOLFO DI CASTELLAMMARE (SICILIA NO)

FISH FAUNA ASSOCIATED TO AN OFF-SHORE AQUACULTURE SYSTEM IN THE GULF OF CASTELLAMMARE (NW SICILY)

Abstract

The fish assemblage associated to an aquaculture system was studied by the visual census method. 26 species were found seven months after cages deployment, while only one species recorded before. Cages attract large amounts of fishes probably as a result of both attraction (FAD) and available dispersed food from the farm. Species are distributed into the water body according with their ecological characteristics. Boops boops *and* Caranx crysos *are the dominant species near the surface, while* Serranus cabrilla*,* Diplodus vulgaris *and* Sparus aurata *dominated the fish assemblage on the bottom. Bottom species decreased dramatically across time, possibly due to organic matter enrichment.*

Key-words: *aquaculture system, fish, NW Sicily.*

Introduzione

La maricoltura con gabbie in mare aperto può influenzare le comunità ittiche e bentoniche vicine all'impianto (Iwama, 1991). Mentre numerosi studi hanno mostrato gli effetti della maricoltura sul benthos (Gowen *et al.*, 1990), le conoscenze sulla risposta della fauna ittica all'arricchimento organico e all'attrazione esercitata dalle parti solide dei sistemi di maricoltura (gabbie ed ancoraggi) sono scarse (Carss, 1990).

Questo lavoro riporta i risultati di uno studio avviato per conoscere la composizione e la consistenza della fauna ittica associata ad un impianto di acquacoltura off-shore, per l'allevamento di spigole (*Dicentrarchus labrax*) e orate (*S. aurata*), nel Golfo di Castellammare.

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato nella parte centrale del Golfo di Castellammare, dove a giugno del 2000 è stato installato un sistema di 6 gabbie galleggianti su di un fondale sabbioso-fangoso alla profondità di circa 27 m. L'area occupata dall'impianto è stata idealmente suddivisa a scopo di studio in due strati: superficiale (SU, di 37.500 m^3), comprendente la colonna d'acqua tra 0 e –10 m e profonda (PR, di 7.500 m^3), corrispondente al fondale sottostante le gabbie e da una fascia d' acqua sovrastante alta 2 m. I dati sono stati raccolti con la tecnica del censimento visivo in immersione. Il riconoscimento di specie difficilmente identificabili in immersione (come *Mugil cephalus* o *Trachurus trachurus*) è stato effettuato su esemplari pescati nell' area di studio. Sono state utilizzate conte casuali compensate nel tempo per censire la fauna ittica attorno alle gabbie e transetti fissi lineari per il fondo (Bortone *et al.*, 1989). Nel

mese di maggio, prima dell'installazione delle gabbie, sono stati effettuati 6 censimenti visivi per ciascuno strato. Tra gennaio e ottobre 2001, sono state effettuate undici conte indipendenti su ciascuno dei due strati, nelle date 19/1, 20/2, 21/3, 4/4, 5/4, 8/5, 14/5, 21/5, 24/5, 25/6 e 20/10. Su questi dati è stata calcolata la frequenza percentuale di rinvenimento (F), il numero totale (Nt) di individui, la biomassa totale in grammi (Bt) e le corrispondenti densità (N/m^3 e B/m^3) per ciascuna specie. I dati raccolti sono stati quindi raggruppati in una matrice di presenza/assenza ed è stata utilizzata la routine SIMPER di PRIMER (Clarke e Warwick, 1994) per valutare il contributo delle singole specie alla similitudine/dissimilitudine all'interno degli strati e tra gli strati.

Su base stagionale sono stati calcolati valori medi di ricchezza specifica (S) e abbondanza (N). La biomassa in grammi (B) è stata calcolata a partire dai dati di lunghezza totale, utilizzando relazioni taglia-peso note per le singole specie.

Risultati

I censimenti visivi effettuati nell'area prima del posizionamento delle gabbie hanno portato al rinvenimento di una sola specie, *Gobius geniporus*, nello strato PR con bassissimi valori di abbondanza media (N=2±4,9) ed una frequenza di rinvenimento pari al 50%. Dopo l'immissione delle gabbie sono state censite 26 specie, 17 in SU e 13 in PR. Le specie più frequenti ed abbondanti sono risultate *B. boops*, *C. crysos* e *T. trachurus* in SU; e *S. cabrilla*, *D. vulgaris*, *S. aurata* e *Mullus surmuletus* in PR (Tab. 1).

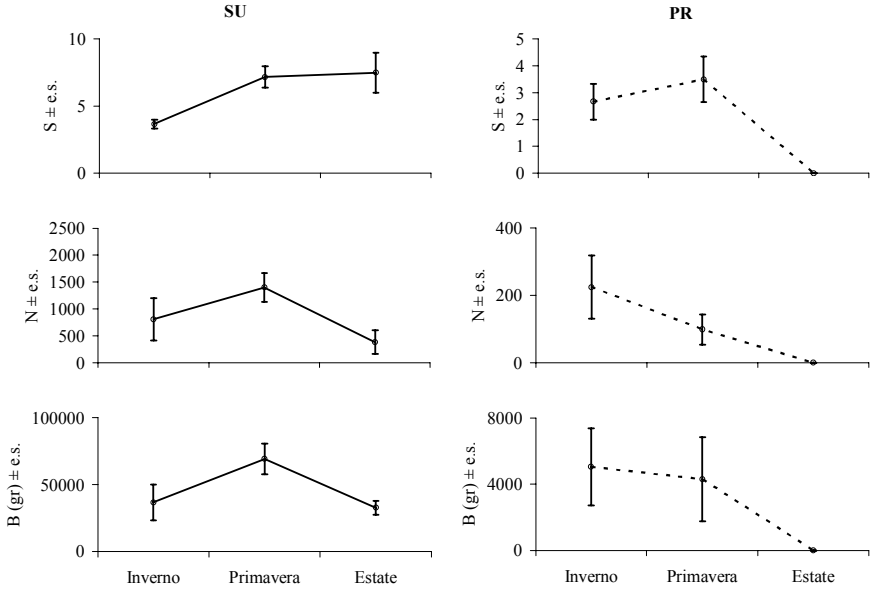


Fig. 1 – Andamento stagionale del valore medio di ricchezza specifica (S), abbondanza (N) e biomassa in grammi (B) nello strato superficiale (SU, linea continua) e nello strato profondo (PR, linea tratteggiata). e.s.=errore standard.

Seasonal trend of the mean value for species richness (S), abundance (N) and biomass in grams (B) in the shallow (SU, continuous line), and deep (PR, dotted line), strata. e.s.=standard error.

Tab. 1 - Frequenza di rinvenimento percentuale (F), densità (N/m^3 e B/m^3), abbondanza totale (Nt) e biomassa totale (Bt) delle specie censite nello strato superficiale (SU) ed in quello profondo (PR).
Frequency percentage of occurrence (F), density (N/m^3 and B/m^3), total abundance (Nt) and total biomass (Bt) for species recorded in the deep (PR) and shallow (SU) strata.

Species	F_{SU}	N_{SU}/m^3 ± d.s.	B_{SU}/m^3 ± d.s.	Nt_{SU} ± d.s.	Bt_{SU} ± d.s.	F_{PR}	N_{PR}/m^3 ± d.s.	B_{PR}/m^3 ± d.s.	Nt_{PR} ± d.s.	Bt_{PR} ± d.s.
Balistes carolinensis	36	$1.27*10^{-3}$ $\pm 2.34*10^{-3}$	$4.48*10^{-2}$ $\pm 10.1*10^{-2}$	$7.27*10^{-1}$ $\pm 11*10^{-1}$	$2.30*10^{1}$ $\pm 4.17*10^{1}$					
Belone belone	9	$2.31*10^{-4}$ $\pm 7.65*10^{-4}$	$1.5*10^{-4}$ $\pm 4.97*10^{-4}$	$9.09*10^{-2}$ $\pm 30.2*10^{-2}$	$5.91*10^{-2}$ $\pm 19.6*10^{-2}$					
Boops boops	100	$8.91*10^{-1}$ $\pm 12.5*10^{-1}$	$1.3*10^{-1}$ $\pm 1.78*10^{-1}$	$5.87*10^{2}$ $\pm 3.52*10^{2}$	$3.07*10^{4}$ $\pm 2.28*10^{4}$					
Caranx crysos	91	$1.02*10^{-1}$ $\pm 1.76*10^{-1}$	$7.89*10^{-2}$ $\pm 9.03*10^{-2}$	$8.15*10^{1}$ $\pm 7.33*10^{1}$	$5.19*10^{3}$ $\pm 4.65*10^{3}$					
Chelon labrosus	36	$2.96*10^{-2}$ $\pm 3.59*10^{-2}$	$5.3*10^{-1}$ $\pm 7.51*10^{-1}$	$1.35*101$ $\pm 2.38*10^{1}$	$1.52*10^{3}$ $\pm 2.89*10^{3}$					
Dicentrarchus labrax	9	$2.31*10^{-4}$ $\pm 7.65*10^{-4}$	$2.18*10^{-2}$ $\pm 7.22*10^{-2}$	$9.09*10^{-2}$ $\pm 30.2*10^{-2}$	$8.59*10^{0}$ $\pm 28.5*10^{0}$					
Diplodus annularis						18	$5.87*10^{-3}$ $\pm 19.5*10^{-3}$	$1.30*10^{-1}$ $\pm 4.31*10^{-1}$	$6.55*10^{0}$ $\pm 15.5*10^{0}$	$2.15*10^{2}$ $\pm 5.5*10^{2}$
Diplodus vulgaris	36	$1.62*10^{-2}$ $\pm 4.57*10^{-2}$	$5.46*10^{-2}$ $\pm 12.2*10^{-2}$	$6.09*10^{0}$ $\pm 11.5*10^{0}$	$2.88*10^{2}$ $\pm 5.26*10^{2}$	45	$3.95*10^{-2}$ $\pm 6.36*10^{-2}$	$8.56*10^{-1}$ $\pm 15.4*10^{-1}$	$3.6*10^{1}$ $\pm 6.98*10^{1}$	$1.26*10^{3}$ $\pm 2.23*10^{3}$
Gobius geniporus						9	$1.47*10^{-3}$ $\pm 4.86*10^{-3}$	$1.83*10^{-3}$ $\pm 6.08*10^{-3}$	$1.09*10^{0}$ $\pm 3.62*10^{0}$	$1.36*10^{0}$ $\pm 4.52*10^{0}$
Lithognathus mormyrus						9	$1.34*10^{-3}$ $\pm 4.45*10^{-3}$	$1.13*10^{-2}$ $\pm 3.74*10^{-2}$	$7.27*10^{-1}$ $\pm 24.1*10^{-1}$	$4.89*10^{1}$ $\pm 16.2*10^{1}$
Mugil cephalus	82	$1.23*10^{-3}$ $\pm 2.6*10^{-3}$	$6.78*10^{-1}$ $\pm 13.9*10^{-1}$	$1.35*10^{1}$ $\pm 1.43*10^{1}$	$4.51*10^{3}$ $\pm 4.28*10^{3}$	9	$6.64*10^{-4}$ $\pm 22*10^{-4}$	$1.51*10^{-1}$ $\pm 5.01*10^{-1}$	$9.09*10^{-2}$ $\pm 30.2*10^{-2}$	$2.07*10^{1}$ $\pm 6.86*10^{1}$
Mullus surmuletus						27	$2.3*10^{-3}$ $\pm 5.09*10^{-3}$	$4.84*10^{-2}$ $\pm 10.4*10^{-2}$	$1.69*10^{1}$ $\pm 2.9*10^{1}$	$3.6*10^{2}$ $\pm 6.23*10^{2}$
Pagellus acarne	9	$5.76*10^{-3}$ $\pm 19.1*10^{-3}$	$3.9*10^{-4}$ $\pm 12.9*10^{-4}$	$4.55*10^{1}$ $\pm 15.1*10^{1}$	$1.54*10^{3}$ $\pm 5.11*10^{3}$					
Pagellus erythrinus						18	$4.13*10^{-1}$ $\pm 13.6*10^{-1}$	$1.11*10^{-1}$ $\pm 2.55*10^{-1}$	$1.3*10^{1}$ $\pm 4.28*10^{1}$	$1.98*10^{2}$ $\pm 6.41*10^{2}$
Pagrus pagrus						9	$1.47*10^{-3}$ $\pm 4.86*10^{-3}$	$1.22*10^{-1}$ $\pm 4.05*10^{-1}$	$5.64*10^{0}$ $\pm 18.7*10^{0}$	$4.7*10^{2}$ $\pm 15.6*10^{2}$
Sardina pilchardus	9	$1.15*10^{-4}$ $\pm 3.82*10^{-4}$	$3.55*10^{-3}$ $\pm 11.8*10^{-3}$	$9.09*10^{-2}$ $\pm 30.2*10^{-2}$	$2.8*10^{0}$ $\pm 9.3*10^{0}$					
Sardinella aurita	27	$4.09*10^{-1}$ $\pm 12.7*10^{-1}$	$2.57*10^{-2}$ $\pm 5.84*10^{-2}$	$1.1*10^{2}$ $\pm 2.99*10^{2}$	$2.52*10^{3}$ $\pm 6.76*10^{3}$					
Seriola dumerili	9	$4.15*10^{-3}$ $\pm 13.8*10^{-3}$	$8.66*10^{-2}$ $\pm 28.7*10^{-2}$	$3.27*10^{0}$ $\pm 10.9*10^{0}$	$1.23*10^{3}$ $\pm 4.08*10^{3}$					
Serranus cabrilla						55	$2.31*10^{-2}$ $\pm 4.17*10^{-2}$	$1.26*10^{0}$ $\pm 2.54*10^{0}$	$1.2*10^{1}$ $\pm 1.42*10^{1}$	$5.11*10^{2}$ $\pm 6.93*10^{2}$
Sparus aurata	45	$7.06*10^{-3}$ $\pm 9.79*10^{-3}$	$1.25*10^{-1}$ $\pm 2.31*10^{-1}$	$4.45*10^{0}$ $\pm 6.17*10^{0}$	$1.44*10^{2}$ $\pm 1.92*10^{2}$	36	$5.48*10^{-2}$ $\pm 11.7*10^{-2}$	$1.72*10^{-1}$ $\pm 2.83*10^{-1}$	$3.82*10^{0}$ $\pm 7.12*10^{0}$	$1.52*10^{2}$ $\pm 3.03*10^{2}$
Spicara flexuosa						9	$1.17*10^{-2}$ $\pm 3.89*10^{-2}$	$2.91*10^{-2}$ $\pm 9.64*10^{-2}$	$7.27*10^{-1}$ $\pm 24.1*10^{-1}$	$1.44*10^{1}$ $\pm 4.78*10^{1}$
Spicara smaris	9	$1.15*10^{-5}$ $\pm 3.82*10^{-5}$	$2.15*10^{-4}$ $\pm 7.13*10^{-4}$	$9.09*10^{-2}$ $\pm 30.2*10^{-2}$	$1.69*10^{0}$ $\pm 5.62*10^{0}$					
Spondyliosoma cantharus						9	$1.47*10^{-3}$ $\pm 4.86*10^{-3}$	$8.5*10^{-2}$ $\pm 28.2*10^{-2}$	$5.64*10^{0}$ $\pm 18.7*10^{0}$	$3.27*10^{2}$ $\pm 10.8*10^{2}$
Trachinotus ovatus	18	$3*10^{-3}$ $\pm 7.24*10^{-3}$	$4.74*10^{-2}$ $\pm 13.4*10^{-2}$	$1.55*10^{0}$ $\pm 3.45*10^{0}$	$1.08*10^{2}$ $\pm 2.47*10^{2}$					
Trachurus trachurus	91	$1.64*10^{-1}$ $\pm 4.46*10^{-1}$	$6.87*10^{-2}$ $\pm 9.58*10^{-2}$	$1.85*10^{2}$ $\pm 3.18*10^{2}$	$5.94*10^{3}$ $\pm 9.96*10^{3}$	9	$9.42*10^{-2}$ $\pm 31.3*10^{-2}$	$7.38*10^{-3}$ $\pm 24.5*10^{-3}$	$1.29*10^{1}$ $\pm 4.28*10^{1}$	$1.44*10^{2}$ $\pm 4.76*10^{2}$
Tripterygion delaisi	9	$1.15*10^{-4}$ $\pm 3.82*10^{-4}$	$7.38*10^{-5}$ $\pm 24.5*10^{-5}$	$3.64*10^{-1}$ $\pm 12.1*10^{-1}$	$2.33*10^{-1}$ $\pm 7.72*10^{-1}$					

Tab. 2 - Contributo percentuale delle specie alla similitudine (Sim.) all'interno dei due strati (SU e PR) e della dissimilitudine (Diss.) tra i due strati. SU = strato superficiale; PR = strato profondo.
Percentage contribution of species to similarity (Sim.) within the two strata (SU and PR) and dissimilarity (Diss.) between the two strata. SU = shallow stratum; PR = deep stratum.

STRATO	**SU**	**PR**	**SU vs PR**
Contributo per specie	**Sim. (%)**	**Sim. (%)**	**Diss. (%)**
Boops boops	27,13		14,02
Caranx crysos	22,22		12,80
Trachurus trachurus	20,78		11,25
Mugil cephalus	17,80		10,84
Serranus cabrilla		45,83	6,64
Diplodus vulgaris		24,90	6,19
Sparus aurata	3,84	13,70	6,12
Balistes carolinensis			3,88
Chelon labrosus			3,66
Mullus surmuletus		10,08	3,46
Sardinella aurita			3,18
Pagellus erythrinus			2,32
Trachinotus ovatus			2,10
Diplodus annularis			2,07
Gobius geniporus			1,30
Seriola dumerili			1,22
Media	**62,33**	**18,38**	**90,98**

Alcuni degli individui di *S. aurata* e *D. labrax* potrebbero essere fuorusciti dalle gabbie giacché sono state osservate diverse fughe di pesci allevati. La similitudine media all'interno degli strati SU e PR è risultata rispettivamente del 62,33% e 18,38%, mentre la dissimilitudine tra i due strati è pari al 90,98%. Le specie che maggiormente contribuiscono alla similitudine ed alla dissimilitudine sono riportate in Tab. 2. In SU, S aumenta gradualmente nel tempo, mentre le medie di N e B mostrano un picco in primavera (Fig. 1). I valori di queste tre variabili in PR sono più bassi rispetto ad SU e decrescono nel tempo fino a giungere a zero in estate (Fig. 1).

Conclusioni

Il sistema di maricoltura studiato ha influenzato il popolamento ittico preesistente concentrando un certo numero di specie attorno e al di sotto delle gabbie. La netta separazione tra i due strati, superficiale e profondo, è attribuibile alla presenza di specie esclusive di ciascuno strato, distribuite secondo le loro caratteristiche ecologiche. Il grande potere di attrazione delle gabbie (effetto FAD) ed il surplus di cibo disponibile influenzano in modo diverso il comportamento delle singole specie. L'effetto FAD è probabilmente il principale fattore responsabile dell'incremento della ricchezza specifica nel tempo dello strato superficiale. Tra la primavera e l'estate infatti i giovanili di *Balistes carolinensis*, *Seriola dumerili* e *C. crysos* si aggregano anche ai FADs

professionali e sperimentali (D'Anna *et al*., 1999). Diversa è la situazione nello strato profondo, dove il progressivo accumulo di materiale organico nel tempo potrebbe avere determinato il crollo dei valori delle diverse variabili registrato in estate.

Bibliografia

D'ANNA G., BADALAMENTI F., RIGGIO S. (1999) - Traditional and experimental floating fish aggregating devices in the Gulf of Castellammare (NW Sicily): results from catches and visual observations. *Scientia Marina*, **63** (3-4): 209-218.

BORTONE S.A., KIMMEL J.J., BUNDRICK C.M. (1989) - A comparison of three methods for visually assessing reef fish communities: Time and area compensated. *Northeast Gulf Science*, **10** (2): 85-96.

CARSS D.N. (1990) - Concentrations of wild and escaped fishes immediately adjacent to fish farm cages. *Aquaculture*, **90** (1): 29-40.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth: 144 pp.

GOWEN R.J., ROSENTHAL H., MAKINEN T., EZZI I. (1990) - Environmental impact of aquaculture activities. In: De Paul N., Billard R. (ed), A*quaculture Europe '89. Business join science*. European Aquaculture Society Special Publication No. 12, Bredene.

IWAMA G.K. (1991) - Interactions between aquaculture and the environment. *Critical Reviews in Environmental Control*, **21** (2): 177-216.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 760-763

S. Vizzini, G. Sarà, A. Savona, A. Mazzola

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo,
Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.

ANALISI DEGLI ISOTOPI STABILI DI CARBONIO ED AZOTO ($\delta^{13}C$ E $\delta^{15}N$) IN ALCUNE SPECIE DI MUGILIDI DELLO STAGNO DI SANTA GIUSTA (SARDEGNA OCCIDENTALE): EVIDENZE SUL FENOMENO DELLA RIPARTIZIONE DELLE RISORSE TROFICHE

ANALYSIS OF CARBON AND NITROGEN STABLE ISOTOPES ($\delta^{13}C$ AND $\delta^{15}N$) IN SOME MUGILIDAE SPECIES FROM THE STAGNO DI SANTA GIUSTA (WESTERN SARDINIA): EVIDENCE FOR TROPHIC RESOURCE PARTITIONING

Abstract

Isotopic analyses ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$) were performed on organic matter sources and the Mugilidae Chelon labrosus *(Risso),* Liza ramada *(Risso) and* Mugil cephalus *(Linnaeus) (Pisces, Osteichthyes) from the Stagno di Santa Giusta (western Sardinia). Mugilidae seem to exploit $\delta^{13}C$ enriched food sources and showed significant differences in their isotopic composition suggesting the likely occurrence of resources partitioning.*

Key-words: *stable isotope, food web, Mugilidae, resource partitioning, Mediterranean.*

Introduzione

La famiglia dei Mugilidi (Pisces: Osteichthyes) è presente in Mediterraneo con specie euriterme ed eurialine tipiche delle acque costiere (Tortonese, 1975). I giovanili, generalmente, penetrano negli ambienti lagunari e vi risiedono per un periodo di tempo variabile durante il quale si accrescono andando a costituire, tra l'altro, un'importante risorsa economica (Tortonese, 1975). Gli adulti, al contrario dei giovanili tipicamente zooplanctivori, sono considerati onnivori in quanto si alimentano di alghe, detrito e piccoli invertebrati (Almeida *et al*., 1993). È stato già suggerito che la competizione interspecifica tra gli adulti di specie simpatriche di Mugilidi (Blaber, 1976), come anche tra le specie oggetto di questa ricerca (Mariani *et al*., 1987), viene ridotta dalla selezione di substrato a diversa granulometria. Dal momento che sono state messe in evidenza variazioni spaziali nell'uso delle risorse da parte dei Mugilidi e nella loro ripartizione (Blaber, 1977), scopo del presente lavoro è stato quello di indagare il ruolo delle fonti di materia organica e l'eventuale presenza di fenomeni di ripartizione delle sorgenti energetiche nelle specie *Chelon labrosus* Risso, *Liza ramada* Risso e *Mugil cephalus* Linnaeus dello Stagno di Santa Giusta (Sardegna occidentale). La metodologia impiegata consiste nell'analisi del rapporto degli isotopi stabili di carbonio ($^{13}C/^{12}C$) ed azoto ($^{15}N/^{14}N$) che risulta un utile strumento di indagine per individuare il contributo trofico dei produttori primari e per stabilire i livelli trofici di appartenenza dei consumatori (Michener e Schell, 1994).

Materiali e metodi

Lo Stagno di Santa Giusta è un bacino costiero salmastro (salinità 25‰) della costa occidentale della Sardegna (superficie 839 ha; profondità media 1 m; valori medi annuali di clorofilla-a >15 μg l^{-1}).

I campionamenti, effettuati nella zona orientale del bacino nel febbraio 2001, sono consistiti nel prelievo delle principali fonti di materia organica e nella cattura di esemplari appartenenti alle specie *C. labrosus*, *L. ramada* e *M. cephalus*. Per le specie ittiche è stato analizzato il muscolo della regione dorsale di esemplari con una lunghezza standard compresa tra 20 e 30 cm. In laboratorio i vari campioni sono stati preparati per le analisi isotopiche (acidificazione con HCl 2N, trattamento in stufa a 60 °C per 24-72 h e riduzione in polvere) che sono state realizzate attraverso uno spettrometro di massa.

L'analisi della varianza ad 1 via è stata eseguita per testare l'ipotesi che le tre specie di Mugilidi presentino differenze significative nella composizione isotopica ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$). L'omogeneità delle varianze è stata verificata con il test di Cochran.

Risultati

Le fonti di materia organica alla base della rete trofica hanno presentato valori di $\delta^{13}C$ compresi tra –14.9±0.7‰ di *Ruppia* sp. e –20.5±0.4‰ della materia organica sedimentaria e valori di $\delta^{15}N$ tra 6.0±0.9‰ di *Gracilaria* sp. e 9.9±0.3‰ di *Ulva* sp. (Fig. 1).

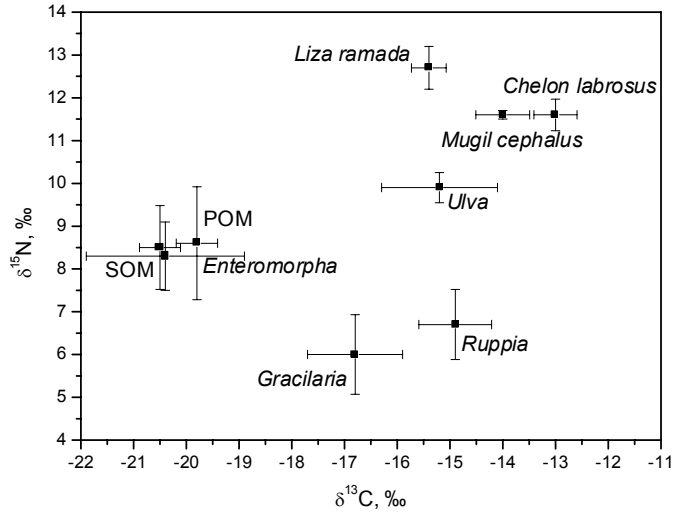


Fig. 1 - Valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ (±d.s.) nelle fonti di materia organica e nelle specie ittiche dello Stagno di Santa Giusta. SOM: materia organica sedimentaria; POM: materia organica particellata.
Mean $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values (±s.d.) of main organic matter sources, and fish from the Stagno di Santa Giusta. SOM: sedimentary organic matter, POM: particulate organic matter.

Le specie ittiche hanno mostrato valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ arricchiti, se paragonati a quelli delle fonti di materia organica (Fig. 1). Nel confronto tra le specie di Mugilidi sono state riscontrate differenze significative per i valori di $\delta^{13}C$ ($P<0.001$) e $\delta^{15}N$ ($P<0.001$).

Tab. 1 - Risultati dell'analisi della varianza ad 1-via eseguita per verificare la presenza di differenze nella composizione isotopica ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) delle tre specie di Mugilidi. [*= $P \leq 0.05$; **= $P \leq 0.01$; ***= $P \leq 0.001$; Ns = differenza non significativa ($P \geq 0.05$)].

Results of the analysis of variance performed in order to verify differences between species in the isotopic composition ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$). [= $P \leq 0.05$; **= $P \leq 0.01$; ***= $P \leq 0.001$; Ns = non-significant difference ($P \geq 0.05$)].*

	Sorgente di variazione	df	MS	*F*	*P*
$\delta^{13}C$	Specie	2	16.66	91.95	***
	Residui	33	0.18		
	C Cochran				Ns
$\delta^{15}N$	Specie	2	4.77	35.64	***
	Residui	33	0.13		
	C Cochran				Ns

Conclusioni

I valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ per le specie di Mugilidi indicano che alla base della rete trofica sono presenti sorgenti di materia organica arricchite in ^{13}C ed impoverite in ^{15}N, probabilmente derivate da *Ruppia* sp. e *Gracilaria* sp. L'analisi dei valori di $\delta^{15}N$ non esclude un diretto utilizzo della materia organica sedimentaria da parte dei Mugilidi, concordemente a quanto riportato da Almeida *et al*. (1993). Il disaccoppiamento nell'uso delle fonti di carbonio ed azoto, già messo in evidenza in altri ambienti per altri consumatori (Couch, 1989; Vizzini *et al*., 2002), potrebbe spiegare tale risultato.

Sebbene la composizione isotopica di *C. labrosus*, *L. ramada* e *M. cephalus* sia compresa in un intervallo di ~2.5‰ per il carbonio e di ~1‰ per l'azoto e suggerisca una dieta basata su materia organica bentonica, i risultati dell'analisi della varianza hanno messo in luce che le differenze nella composizione isotopica delle tre specie risultano altamente significative. Per cui considerando un aumento di ~1‰ per il $\delta^{13}C$ e ~3.5‰ per il $\delta^{15}N$ ad ogni incremento di livello trofico, si deduce che le tre specie di Mugilidi, pur appartenendo sempre allo stesso livello trofico, gravano su risorse differenti evidenziando, pertanto, la presenza di fenomeni di ripartizione. I risultati di questo lavoro sono in accordo con dati di letteratura ottenuti principalmente attraverso metodiche classiche quali l'analisi dei contenuti stomacali (Blaber, 1976; Blaber, 1977; Mariani *et al*., 1987). Ulteriori ricerche potrebbero permettere di individuare con maggior dettaglio il ruolo trofico svolto dalle singole risorse trofiche.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Prof. A. Castelli (Università di Pisa) e l'International Marine Center (OR) per il supporto logistico fornito durante la fase di campo, e il Dott. B. Savona per l'assistenza offerta sul campo ed in laboratorio.

Bibliografia

ALMEIDA R.R., MOREIRA F.M., COSTA J.L., ASSIS C.A., COSTA M.J. (1993) – The feeding strategies of *Liza ramada* (Risso, 1826) in fresh and brackish water in the river Tagus, Portugal. *J. Fish Biol*., **42**: 95-107.

BLABER S.J.M. (1976) – The food and feeding ecology of Mugilidae in the St. Lucia lake system. *Biol. J. Linn. Soc*., **8**: 267-277.

BLABER S.J.M. (1977) – The feeding ecology and relative abundance of mullet (Mugilidae) in Natal and Pondoland estuaries. *Biol. J. Linn. Soc*., **9**: 259-275.

COUCH C.A. (1989) - Carbon and nitrogen stable isotopes of meiobenthos and their food resources. *Estuar. Coast. Shelf Sci*., **28**: 433-441.

MARIANI A., PANELLA S., MONACO G., CATAUDELLA S. (1987) – Size analysis of inorganic particles in the alimentary tracts of Mediterranean mullet species suitable for aquaculture. *Aquaculture*, **62**: 123-129.

MICHENER R.H., SCHELL D.M. (1994) - Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K., Michener R.H. (eds), *Stable isotopes in ecology and environmental sciences*, Blackwell Scientific Publications, Oxford: 138-157.

TORTONESE E. (1975) – *Fauna d'Italia, Osteichthyes*. Ed. Calderini, Bologna: 636 pp.

VIZZINI S., SARÀ G., MICHENER R.H., MAZZOLA A. (2002) - The role and contribution of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile organic matter for secondary consumers as revealed by carbon and nitrogen stable isotope analysis. *Acta Oecol.*, **23**: 277-285.

Lavoro effettuato con fondi MIUR, MIPAF e Università di Palermo.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 764-766

S. Vizzini, A. Savona, A. Mazzola

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.

ANALISI DELLA RETE TROFICA NEL LAGO FUSARO (TIRRENO MERIDIONALE) ATTRAVERSO LA TECNICA DEGLI ISOTOPI STABILI DI CARBONIO ED AZOTO ($\delta^{13}C$ E $\delta^{15}N$)

ANALYSIS OF THE FOOD WEB IN THE LAKE FUSARO (SOUTHERN TYRRHENIAN) AS REVEALED BY STABLE CARBON AND NITROGEN ISOTOPE TECHNIQUE ($\delta^{13}C$ AND $\delta^{15}N$)

Abstract

The $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ of various organic matter sources, invertebrates and fish were measured in a Mediterranean coastal lagoon (Lake Fusaro, Naples) to define the main carbon and nitrogen sources for consumers. Our results suggest that consumers mainly depend on particulate organic matter and some macroalgae, while other organic sources seem to play a negligible trophic role.

Key-words: *food web, stable isotope, lagoon, Mediterranean.*

Introduzione

Lo studio della struttura trofica degli ambienti lagunari è di difficile discernimento a causa dell'importanza del detrito, del comportamento alimentare opportunista e generalista della maggior parte delle specie e del grande numero di potenziali fonti di materia organica (Vizzini, 2001). L'analisi degli isotopi stabili di carbonio ed azoto ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) è una metodica di indagine che permette di ottenere informazioni interessanti sulle reti trofiche di ambienti naturali complessi quali le lagune costiere (Vizzini, 2001). Tale tecnica si basa sul prevedibile frazionamento isotopico che si verifica nel passaggio da un livello trofico al successivo (Michener e Schell, 1994). Il $\delta^{13}C$ di un consumatore, infatti, è arricchito di circa 1‰ e il $\delta^{15}N$ di circa 3.5‰ rispetto alla dieta (Michener e Schell, 1994).

Lo scopo di questo lavoro è stato di identificare, attraverso l'analisi di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, le principali fonti di materia organica utilizzate dai consumatori in una laguna costiera del basso Tirreno (Lago Fusaro, Napoli).

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati nel marzo 1999 nella zona occidentale del Lago Fusaro (superficie 8 km^2, profondità media 3 m, salinità media annuale 36‰). Il Lago Fusaro è un ambiente eutrofico con imponenti fioriture fitoplanctoniche estive ed abbondanza di detrito organico (Russo e Ferro, 1980; Carrada *et al*., 1991).

Campioni di acqua sono stati prelevati mediante bottiglia Niskin. I sedimenti sono stati campionati con carotatori manuali in materiale plastico del diametro di 4 cm per 25 cm di altezza. Macroalghe e alofite sono state raccolte manualmente. Gli invertebrati bentonici sono stati catturati mediante un retino manovrato manualmente (maglia 400 μm), mentre lo zooplancton è stato campionato attraverso un retino (maglia 125

µm, apertura di bocca 40 cm di diametro) trainato da un natante a motore per un periodo di circa 10 minuti. Le specie ittiche sono state catturate attraverso una tratta manovrata manualmente (larghezza 5 m, maglia 3 mm) e bertovelli. Gli esemplari di *Atherina boyeri* e *Liza ramada* sono stati raggruppati in classi di taglia in base alle dimensioni (lunghezza standard) ed analizzati separatamente. In laboratorio ciascuna componente è stata isolata, acidificata (HCl, 2N), riposta in stufa (60 °C, 24-72 h) e ridotta in polvere mediante mortaio e pestello. Le analisi isotopiche sono state effettuate attraverso uno spettrometro di massa ed espresse in riferimento a standard internazionali in unità δ (‰) (Michener e Schell, 1994).

Risultati

In generale è stato possibile individuare la presenza di un progressivo arricchimento negli isotopi pesanti (^{13}C e ^{15}N) dalle fonti di materia organica, agli invertebrati, fino alle specie ittiche (Tab. 1).

Tab. 1 - Medie (± d.s.) dei valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ (‰) delle fonti di materia organica, invertebrati e specie ittiche nel Lago Fusaro. n: numero di campioni analizzati; N: numero di individui per campione; L.S. lunghezza standard (mm).

Mean values (± s.d.) of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (‰) of organic matter sources, invertebrates and fish collected in the Lake Fusaro. n: number of samples analysed; N: number of pooled individuals; L.S.: standard length (mm).

	n	N	L.S.	$\delta^{13}C$ ± d.s.	$\delta^{15}N$ ± d.s.
Fonti di materia organica					
Cladophora rupestris	2	-	-	-19.7 ± 0.1	9.6 ± 0.1
Enteromorpha sp.	2	-	-	-14.2 ± 0.5	7.2 ± 0.1
Gracilaria longa	2	-	-	-11.1 ± 0.0	7.3 ± 0.1
Ulva laetevirens	2	-	-	-10.2 ± 1.3	7.7 ± 0.6
Alofite	2	-	-	-27.6 ± 0.2	7.1 ± 0.0
Materia Organica Sedimentaria	3	-	-	-13.4 ± 0.5	3.2 ± 0.5
Materia Organica Particellata	3	-	-	-19.9 ± 0.7	5.3 ± 0.2
Invertebrati					
Amphipoda	2	>100	-	-17.0 ± 0.3	7.1 ± 0.4
Calanoida	2	>100	-	-18.8 ± 0.0	10.8 ± 0.5
Decapoda (larve)	2	>100	-	-18.4 ± 0.3	9.5 ± 0.4
Harpacticoida	2	>100	-	-19.9 ± 0.3	7.8 ± 0.2
Nematoda	2	>100	-	-18.4 ± 0.4	10.4 ± 0.2
Specie ittiche					
Aphanius fasciatus	3	11	30-50	-15.6 ± 0.2	12.2 ± 0.0
Atherina boyeri 1	3	15	20-50	-18.9 ± 0.4	9.6 ± 0.1
Atherina boyeri 2	3	15	50-80	-15.6 ± 0.2	12.4 ± 0.7
Liza ramada 1	3	20	<20	-20.1 ± 0.4	8.6 ± 0.0
Liza ramada 2	3	12	20-40	-18.4 ± 0.2	10.5 ± 0.2
Liza ramada 3	3	10	40-60	-17.3 ± 0.4	11.5 ± 0.1
Syngnathus abaster	3	15	70-130	-15.6 ± 1.0	11.0 ± 0.2

I valori di $\delta^{13}C$ sono compresi tra –27.6±0.2‰ (alofite) e –10.2±1.3‰ (*Ulva laetevirens*) nelle fonti di materia organica, tra –19.9±0.3‰ (Harpacticoida) e –17.0±0.3‰ (Amphipoda) negli invertebrati e tra –20.1±0.4‰ (*Liza ramada* 1) e –15.6±1.0‰ (*Syngnathus abaster*) nelle specie ittiche (Tab. 1).

Per quanto riguarda il $\delta^{15}N$, esso ha presentato valori tra 3.2±0.5‰ (materia organica sedimentaria) e 9.6±0.1‰ (*Cladophora rupestris*) nelle fonti di materia organica, tra 7.1±0.4‰ (Amphipoda) e 10.8±0.5‰ (Calanoida) negli invertebrati e tra 9.6±0.4‰ (*Atherina boyeri* 1) e 12.4±0.7 (*A. boyeri* 2) nelle specie ittiche.

Conclusioni

I valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ delle fonti di materia organica hanno permesso di seguire il loro flusso all'interno della rete trofica. Il particellato e la macroalga *Cladophora rupestris* sembrano essere le fonti principalmente utilizzate dai consumatori nel Lago Fusaro, mentre le altre macroalghe (valori molto arricchiti in ^{13}C) e le alofite (valori molto impoveriti in ^{13}C) non sembrano svolgere un importante ruolo trofico. Considerando un incremento ad ogni passaggio di livello trofico di circa 1‰ per il $\delta^{13}C$ e di circa 3.5‰ per il $\delta^{15}N$ (Michener e Schell, 1994) è possibile individuare la dieta dei consumatori. In questo modo si ricava che gli invertebrati (in media $\delta^{13}C$ = –18.5±1.0‰ e $\delta^{15}N$=9.1±1.6‰) utilizzano come principale sorgente trofica la materia organica particellata ($\delta^{13}C$=–19.9±0.7‰ e $\delta^{15}N$=5.3±0.2‰). Proseguendo lungo la rete trofica, *Aphanius fasciatus*, *A. boyeri* 2 e *S. abaster* (in media $\delta^{13}C$=–15.6±0.0‰ e $\delta^{15}N$=11.9±0.8‰) hanno presentato valori arricchiti sia in $\delta^{13}C$ che in $\delta^{15}N$, mentre *A. boyeri* 1, *Liza ramada* 1, *L. ramada* 2 e *L. ramada* 3 ($\delta^{13}C$=–18.7±1.2‰ e $\delta^{15}N$=10.1±1.2‰) hanno mostrato valori più impoveriti. Tale risultato suggerisce la ripartizione delle risorse trofiche all'interno della comunità ittica.

In conclusione, sebbene questo studio si riferisca a dei campionamenti effettuati in un solo periodo dell'anno, l'indagine isotopica ha fornito interessanti informazioni sulla rete trofica del Lago Fusaro. In particolare, l'analisi di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ ha evidenziato l'importanza del ruolo trofico del particellato. Tale risultato può essere spiegato dalle condizioni di elevato trofismo che caratterizzano il bacino (Carrada *et al*., 1991).

Ringraziamenti

Si ringrazia la Dott.ssa Marina Campolmi per il prezioso aiuto prestato nel corso dei campionamenti.

Bibliografia

CARRADA G.C., CASOTTI R., MODIGH M., SAGGIOMO V. (1991) - Presence of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) in a coastal Mediterranean lagoon. *J. Plank. Res*., **13**: 229-238.

MICHENER R.H., SCHELL D.M. (1994) - Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K., Michener R.H. (eds), *Stable isotopes in ecology and environmental sciences*, Blackwell Scientific Publications, Oxford: 138-157.

RUSSO G.F., FERRO R. (1980) - Le biocenosi bentoniche del Lago Fusaro. I. Osservazioni faunistiche. *Boll. Soc. Natur. Napoli*, **89**: 1-13.

VIZZINI S. (2001) – *Studio comparato di reti trofiche costiere attraverso l'analisi degli isotopi stabili di carbonio ed azoto.* Tesi dottorale (XIII ciclo), Università di Palermo.

Lavoro effettuato con fondi MIUR, MIPAF e Università di Palermo.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 767-768

M. Arculeo, S. Lo Brutto, M. Sirna, T. Maggio, L. Cannizzaro*, N. Parrinello

Dipartimento Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
*IRMA-CNR, Via L. Vaccaro, 61 - Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

VARIABILITA' GENETICA INTRASPECIFICA E FLUSSO GENICO IN DUE SPECIE DI SPARIDI NEL MAR MEDITERRANEO

INTRASPECIFIC GENETIC VARIATIONS AND GENE EXCHANGE OF TWO SPARIDAE SPECIES IN THE MEDITERRANEAN SEA

Abstract

Intraspecific genetic variations in Diplodus vulgaris *and* Lithognathus mormyrus *from eight localities in the Mediterranean Sea were examined, using allozyme electrophoresis. The significant intraspecific genetic substructure, found in* D. vulgaris*, contrasted with the unique gene pool of* L. mormyrus.

Key-words: *allozymes,* Diplodus vulgaris, Lithognathus mormyrus*, stock identification.*

Introduzione

La famiglia Sparidae è rappresentata nel Mar Mediterraneo da 10 generi e 22 specie che usualmente abitano aree costiere e hanno uova e larve pelagiche. *Diplodus vulgaris* (sarago fasciato) e *Lithognathus mormyrus* (mormora), entrambi appartenenti a questa famiglia, sono specie demersali che vengono catturate ad una profondità compresa tra 3 e 100 metri. *Diplodus vulgaris* è distribuito lungo le coste del Mediterraneo, dell'Oceano Atlantico e dal Golfo di Guascogna al Senegal, e vive su fondali sabbiosi, rocciosi e in prossimità di praterie di *Posidonia*; in alcuni casi si può trovare anche nelle lagune. *Lithognathus mormyrus* è la sola specie di questo genere appartenente a questa famiglia ed è presente sui fondali sabbiosi del Mar Mediterraneo, dell'Oceano Atlantico, dell'Oceano Indiano orientale e del Mar Rosso.

L'obiettivo del lavoro è stato quello di valutare, attraverso l'analisi degli alloenzimi, il grado di variazione genetica dei due sparidi e di identificare, all'interno del bacino Mediterraneo, l'eventuale presenza di differenti unità gestionali.

Materiali e metodi

Sono stati pescati, mediante tramaglio, 400 individui di *Diplodus vulgaris* e 470 di *Lithognathus mormyrus* in diverse aree del Mar Mediterraneo: Mar Ligure (Livorno e Castellammare del Golfo), Canale di Sicilia (Selinunte), Mar Ionio (Siracusa), Mar Adriatico (Ancona e Trieste) e Mar Egeo (Kavala I e II). Di ciascuno individuo, sono stati prelevati fegato, tessuto muscolare scheletrico e occhi da utilizzare per l'elettroforesi in gel di poliacrilamide. Sono state evidenziate 14 attività enzimatiche: alcool deidrogenasi (ADH), aspartato amminotrasferasi (AAT), esterasi (EST), fumarasi (FUM), glucosio deidrogenasi (GLDH), glucosio-6-P deidrogenasi (G6PD), lattato deidrogenasi (LDH), malato deidrogenasi (MDH), peptidasi (PEP), fosfoglucoisomerasi (PGI), fosfoglucomutasi (PGM), sorbitolo deidrogenasi (SDH), superossidodismutasi (SOD) e ipoxhantina deidrogenasi (XDH). E' stata calcolata l'eterozigosità osservata ed attesa su tutti i loci, utilizzando il software BYOSIS 1.7 (Swofford and Selander, 1989). La deviazione dall'equilibrio di Hardy-Weinberg è stata calcolata utilizzando il χ^2 e il livello di probabilità del test è stato ridotto applicando la procedura di Bonferroni (Lessions, 1992). La variazione delle frequenze alleliche per locus veniva quantificata

utilizzando gli indici di Weir e Cockerham (1984), e la corrispondente significatività è stata calcolata attraverso il test di permutazione, tramite il programma FSTAT (Goudet, 1995). L'eterogeneità genetica a coppie veniva calcolata utilizzando il test esatto di Fisher, elaborato dal software GENEPOP (Raymond e Rousset, 1995).

Risultati e conclusioni

In *Diplodus vulgaris* sono stati identificati 21 loci, dei quali 14 sono monomorfici (*AAT*-1, FUM*-1,2, G6PD*-1,2, LDH*-1,2, MDH*-1,2,3, PEPA*-1,2, PGI*-1* e *SOD**) e 7 polimorfici (*AAT*-2, EST*-1, GLDH*, PEPB*-2, PGI*-2, PGM** e *SDH*);* tra questi alcuni (*EST*-1, GLDH** e *SDH**) sono risultati altamente variabili rispettivamente con 13, 7 e 8 alleli. In *Lithognathus mormyrus* sono stati identificati 21 loci, di cui 15 monomorfici (*AAT*-1, EST*-2,3, FUM*, LDH*-1,2 MDH*-1, PEPA*-1,2, PEPB*-1,2, PGI*-1, SDH*, SOD** e *XDH**) e 6 polimorfici *(AAT*-2, EST*-1, GLDH*, MDH*-2, PGI*-2* e *PGM**).

Nella mormora l'eterozigosità media osservata ed attesa su tutti i loci è risultata rispettivamente pari a 0.069 e a 0.072. Solo i loci *AAT-2** ed *EST-1** hanno mostrato un basso deficit di eterozigoti in due stazioni (Castellammare del Golfo e Kavala II). La distribuzione genotipica e le frequenze alleliche sono risultate omogenee, come mostrato dagli indici di Weir e Cockerham (1984) (f=0.059*, F=0.060*, θ=0.001; * p<0.05).

Nel sarago fasciato l'eterozigosità media osservata (0.082) risultava più bassa di quella attesa (0.093). I loci *AAT-2*, EST*, GLDH*, PEPB-2** e *SDH** deviavano dall'equilibrio di Hardy-Weinberg anche dopo l'applicazione di Bonferroni (solo il 16% dei campioni) mostrando un deficit di eterozigotà. Gli indici di Weir e Cockerham hanno evidenziato un'eterogeneità genetica dei campioni significativa nei loci *EST*, GLDH*, PGI-2** e *SDH**, (f=0.122**, F=0.134**, θ=0.013**, ** p<0.005). Un'eterogeneità significativa è stata riscontrata, comunque, in tutti i confronti a coppie (*pairwise Fisher's exact test*), supportando, così, la presenza di una substruttura intraspecifica. Le frequenze genotipiche del sarago fasciato hanno mostrato un significativo deficit di eterozigosità in molti dei loci analizzati determinato probabilmente dall'effetto Wahlund, ovvero la presenza di stock geneticamente differenti in un singolo campione.

L'analisi dei loci enzimatici tra le popolazioni Mediterranee nei due sparidi ha mostrato che *D. vulgaris* e *L. mormyrus* hanno un differente pattern di distribuzione di variazione genetica. In particolare la mormora è rappresentata da un unico pool genico, mentre nel sarago fasciato è stata identificata una suddivisione genetica in subpopolazioni.

Bibliografia

GOUDET J. (1995) - FSTAT version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered*., **86**: 485-486.

LESSIONS H.A. (1992) - Testing electrophoretic data for agreement with Hardy-Weinberg expectations. *Marine Biology*, **112**: 517-523.

RAYMOND M., ROUSSET F. (1995) - GENEPOP (version 1.2): population genetic software for exact tests and ecumenism. *J. Hered*., **86**: 248-249.

SWOFFORD D.L., SELANDER R.K. (1989) - BIOSYS-1.7: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and sistematics. University of Illinois, Illinois.

WEIR B.S., COCKERHAM C.C. (1984) - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

Questo lavoro è stato finanziato con i fondi ex-60% (MIUR) di uno degli autori e con fondi MURST 60% e della EC (DG XIV, progetto n.96/054).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 769-773

G.D. Ardizzone, A. Belluscio, P. Carpentieri, F. Colloca

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza",
Viale dell'Università, 32 - 00185 Roma, Italia.

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE CENTRAL TYRRHENIAN SEA

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) DEL MAR TIRRENO CENTRALE

Abstract

Data from sixteen years of experimental trawl surveys and one year of observations on the commercial "rapido" beam trawl fishing activity along the Latium coasts (Central Tyrrhenian Sea) were analysed to study the presence and distributions of Rajidae (Pisces, Batoidea) in the area. Among the 5 species of Rajidae present in the area only Raja (Raja) asterias *gave yields of commercial interest. Trawl surveys evidenced the substitution* of R. clavata *with* R. (Raja) asterias *in the captures of the latest years.*

Key-words: *skates, trawl surveys, rapido beam trawl, Central Tyrrhenian Sea.*

Introduction

The fishing of skates along the Latium coast is of ancient tradition, and these species have been known and appreciated since ancient roman times. In the Central Tyrrhenian Sea, Rajiformes represent both a by-catch of trawl fishing and the objective of seasonal fishing activity by rapido beam-trawls. Two particular species, the thornback *Raja (Raja) clavata* and the starry skate *Raja (Raja) asterias* have some commercial interest on the local market. Skates however represent an important part of Selachian fauna in the Mediterranean sea and play an important role in the biodiversity of this sea.

Materials and methods

In this paper an annotated check list of skates (*Rajidae*) in the Central Tyrrhenian sea is presented. Data were collected during different fishing surveys. The trawl fishing data were collected in the frameworks of GRUND (national program for the assessment of demersal resources, O.U. n° 4) and MEDITS (MEDIterranean Trawl Survey) international program. The GRUND trawl surveys were carried out in the area between the mouth of the Garigliano river and the Giannutri island (14.000 km^2 of trawlable area) from 1985 to 2001. A total of 574 hauls during 24 surveys in spring, summer and autumn were carried out by a traditional Italian trawl net. The MEDITS surveys were carried out in the same area during the June-July period from 1994 to 2001 (368 hauls during 8 surveys). In both the trawl surveys, the sampling design was random stratified, with five defined bathymetric strata (10-50 m, 51-100 m, 101-200 m, 201-500 m, 501-800 m) and standardized protocols were adopted (Ardizzone *et al*., 1994; Relini, 1996; Bertrand *et al*., 2000). Catches data were standardized to abundance indices (kg/km^2 and n/km^2) and referred to the 10-200 m bathymetric stratum (7.413 km^2 of trawlable area), where the captures of the more important species were concentrated. Monthly, from December 2000 to March 2002, data on board of a professional fishing boat working in the area near Fiumicino were collected. The fishing

activities were generally carried out from 01.00 a.m. to 06.00 p.m., ranging within 13-85 m depth, with an average of 7 tows of 2-3 hours each. All the captured Rajiformes were determined, measured and divided according to sex and sexual maturity on board. The nomenclature and identification of species is referred to the FNAM keys (Stehmann & Burkel, 1984; Hamlett, 1999).

Results

In the studied area skates represent a by-catch of trawl fishing, although they are very appreciated on the local market. Commercial fishing of skates is performed in the area mainly by "rapido" beam trawls.

During the trawl surveys, only 5 of the 16 species reported in the Mediterranean sea (Relini *et al*., 2000) were caught: *Raja (Raja) asterias* Delaroche, 1809, *R. (Raja) clavata* Linnaeus, 1758, *R. (Raja) miraletus* Linnaeus, 1758, *R. (Raja) montagui* Fowler, 1910, *R. (Dipturus) oxyrinchus* Linnaeus, 1758.

R. clavata was caught between 36 and 180 m depth, *R. asterias* mainly between 20 and 210 m. The others species were caught at depths ranging from 20 to 200 m (*R. montagui*) and from 10 to 150 m (*R. miraletus*). *R. oxyrinchus* was the deepest living species and it was collected between 300 and 600 m (Fig. 1).

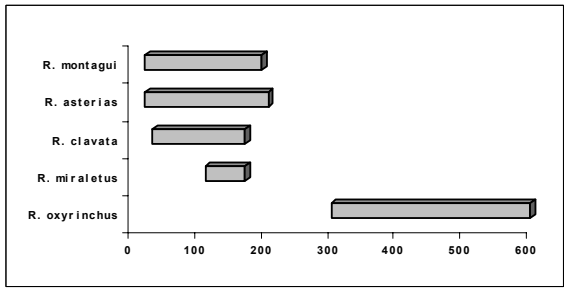


Fig. 1 – Bathymetric distribution of the 5 species of Rajidae in the Central Tyrrhenian Sea.
Distribuzione batimetrica delle 5 specie di Rajidae catturate nel Tirreno centrale.

The bathymetric distribution of the various species in the area seems more restricted then that reported in other areas. For example, along the northern coast of Tyrrhenian Sea (Tuscany), *R. clavata* was found between 150 and 350 m, *R. asterias* between 12 and 358 m, *R. miraletus* between 23 and 380 m, *R. montagui* between 40 and 319 m, *R. oxyrinchus* between 158 and 716 m (Viva *et al.*, 2003).

Skates yields from trawl surveys during the whole period (1985-2001) were very low: among the commercially valuable species, *R. asterias* and *R. clavata* were relatively abundant. Among the scarcely commercial or non commercial species, were caught *R. montagui* (41 individuals, from a minimum individual weight of 10 g to a maximum of 0,5 Kg), *R. oxyrinchus* (5 individuals, from a minimum individual weight of 10 g to a maximum of 0,36 kg) and *R. miraletus* (4 individuals, from a minimum individual weight of 30 g to a maximum of 0,65 kg).

Catches of the two main species fluctuated considerably during the analyzed period (Fig. 2). *R. clavata* was relatively abundant in the 1985-1993 period, with yields rea-

ching 10,7 kg/km^2 in the summer of 1986, then progressively diminishing in the following period, with a maximum of 2,39 kg/km^2 in the winter of 1996. The species was absent in the 2000-2001 catches and again appeared in the autumn of 2001, with low yields (0,79 kg/km^2). *R. asterias* showed a different trend: it was practically absent in the catches of the 1985-1993 period (maximum of 0,82 kg/km^2 in the summer of 1985), and then it become the dominant species in the autumn of 2001 (3,69 kg/km^2), with an increasing trend from summer 2000.

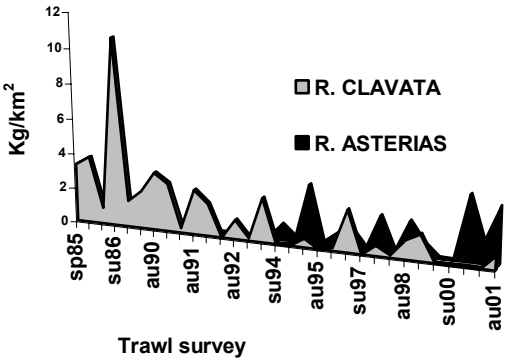


Fig. 2 – Trend of catches of *Raja clavata* and *R. asterias* by trawl surveys in the 1985-2001 period (sp: spring, su: summer, au: autumn).
Andamento delle catture di Raja clavata *e* R. asterias *effettuate dai trawl survey nel periodo 1985 – 2001.*

R. clavata was caught in a size distribution length ranging from 12,5 to 70,0 cm TL while *R. asterias* ranging from 35,0 and 58,0 cm TL. A cumulative length frequency distribution for all the individuals caught during the whole period is presented for these species (Fig. 3).

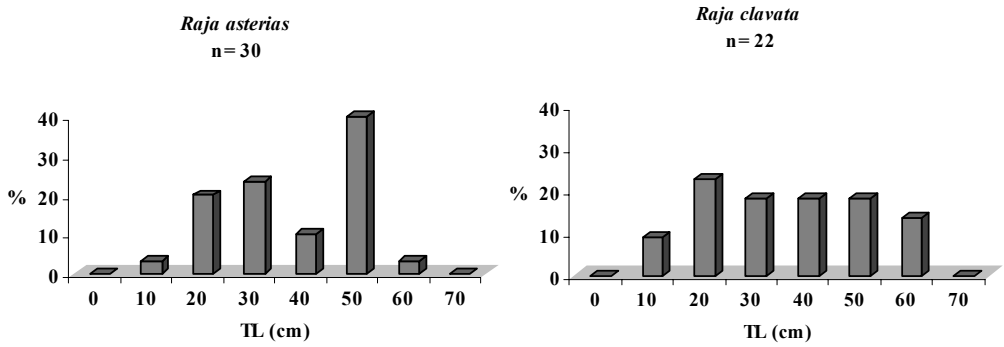


Fig. 3 – Cumulative length frequency distribution of catches by trawl surveys in the 1985 – 2001 period for *Raja asterias* and *R. clavata*.
Distribuzione cumulativa delle frequenze di lunghezza nelle catture dei trawl surveys nel periodo l985 - 2001 per Raja asterias *e* R. clavata.

The "rapido" beam trawl fishing activity worked on a narrow bathymetric range (15-90 m depth) of coastal bottoms. The fishing activity was thus concentrated on *R. asterias*, especially during summer-autumn (Fig. 4). The daily catches of this species fluctuated from an average of 8,5 kg during the month of February to 58 kg during the month of October.

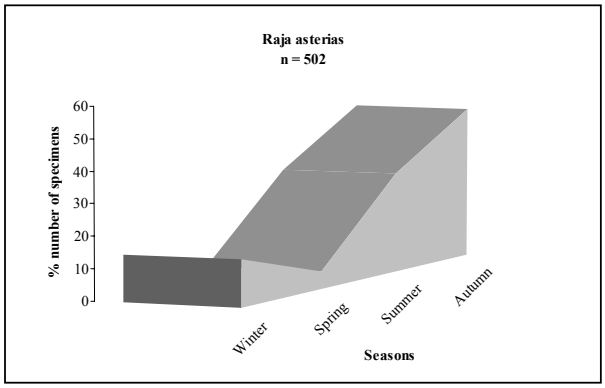


Fig. 4 – Percentage of number of individuals caught by "rapido" beam trawl during the year.
Percentuale del numero di individui di Raja asterias *catturati dai rapidi nel corso dell'anno.*

The length frequency distribution of *R. asterias* from "rapido" beam trawl was similar to the one observed by trawl fishing, ranging between 20 and 60 cm TL, with a 50 cm TL peak. The number of specimens ranging between 10 and 30 cm TL caught by traditional trawl fishing was higher than by rapido beam trawl (Fig. 5).

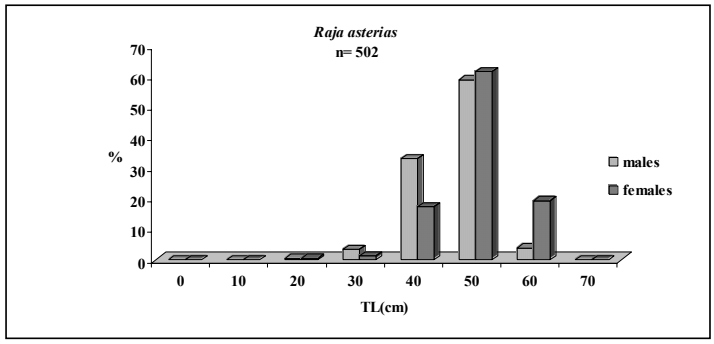


Fig. 5 – Cumulative length frequency distribution of *Raja asterias* caught by "rapido" beam trawl in the 12/2000–3/2002 period.
Distribuzione cumulativa della frequenza delle lunghezze di Raja asterias *catturate con i "rapidi" nel periodo 12/2000 – 3/2002.*

The sex ratio was in favour of males among animals whose size was inferior to 45 cm TL, while it was in favour of females among larger animals.

"Rapido" beam trawls surveys performed in 1982 (Minervini *et al*., 1985) report a period with the highest skates catches between January and June, with a peak in March-May, and, secondarily in December-January respect to the September-November period evidenced from this study. The difference is probably due to a variation in the fishing strategy. Fishermen actually tend to concentrate their activity on more rewarding coastal species, as sole and cuttle-fish and fish on skates for short periods.

Yields from the 1982 "rapido" beam trawl surveys seem to be higher than those observed today, though the different methods of study make difficult to compare the data. The Authors report in fact up to 44 individuals captured during the month of May, or 26,4 kg in April, in 4 hauls of 1 hour each. Converting this data to an actual commercial day, it corresponds more or less to 80 kg a day.

Conclusions

The limited number of species catches in the area, their current low yields and the narrow bathymetric range among which they were found, seem to be symptoms of an overexploitation status of *Rajidae* along the Latium coast. It is interesting to notice the substitution, made visible by the trawl surveys, of *R. clavata* with R. asterias in the captures of the last 12-13 years. The reproductive strategies of *R. asterias*, with benthonic eggs layed in very coastal regions and the young found at 5 m depth, in areas where fishing activity is reduced (Minervini *et al*., 1985), probably constitutes an advantage over *R. clavata*.

References

ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., SCHINTU P. (1994) – Considerazioni sullo stato di sfruttamento delle risorse demersali (isola di Giannutri – foce del Garigliano). *Biol. Mar. Medit*., **1** (2): 43-46.

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., COUPLET A. (2002) - The general specifications of the MEDITS surveys. *Sci. Mar*., **66** (Suppl. 2): 9-17.

HAMLETT W.C. (1999) – *Sharks, Skates and Rays. The Biology of the Elasmobranch Fishes*. The Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore and London: 516 pp.

MINERVINI R., GIANNOTTA M., BIANCHINI M.L., (1985) – Observations on the fishery of Rajformes in Central Tyrrhenian Sea. *Oebalia*, **11** (2), N.S.: 583-591.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (1998) - Valutazione delle risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G. (2000) – I Selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 347-384.

STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) – Rajdae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *FNAM. Fishes of the north – eastern Atlantic and the Mediteranean*. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

VIVA C., REALE B., SBRANA M. (2003) – Lista commentata delle razze (Chondrichthyes, Rajidae) del Mar Tirreno settentrionale. *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 958-965.

This study has been possible thanks to the scientific trawl surveys financed by the Italian "Ministero delle Politiche Agricole e Forestali" and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 774-776

T. Bottari, D. Giordano, B. Busalacchi, F. Perdichizzi

Istituto Sperimentale Talassografico - CNR, Spianata San Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.

RELAZIONE TAGLIA-PESO DELLO SGOMBRO (*SCOMBER SCOMBRUS*, LINNEO 1758) NEL MAR ADRIATICO IN FUNZIONE DELLA MATURITA' SESSUALE

*LENGTH - WEIGHT RELATIONSHIP OF ATLANTIC MACKEREL (*SCOMBER SCOMBRUS*, LINNEO 1758) OF ADRIATIC SEA IN RELATION TO SEXUAL MATURATION*

Abstract

*This paper refers to the weight – length relationship of the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus *– Scombridae), caught in Adriatic Sea. A total of 781 specimens were analysed from November 2000 to October 2001. On the overall, the values of the regression coefficient resulted less than 3 without differences among males and females. Evident changes of b in relation to the reproduction period were observed.*

Key-words: *weight-length relationship, Teleostei,* Scomber scombrus*, Adriatic Sea.*

Introduzione

Lo sgombro (*Scomber scombrus*) è distribuito in tutto il Mediterraneo e il Mar Nero, nell'Atlantico orientale e settentrionale, incluso il Mar Baltico, e nell'Atlantico occidentale, dalla penisola di Labrador fino al nord Carolina. E' una specie pelagica che in primavera si raduna in grossi branchi per migrare verso la costa in cerca di nutrimento. Le sue carni sono molto delicate ed è per questo che la specie è molto sfruttata nell'industria della pesca; secondo i rapporti FAO è tra le più attivamente pescate dalla flotta spagnola, italiana, greca e turca (Collette e Nauen, 1983). E' normalmente presente sui mercati italiani ed è tra le 10 specie di pesce fresco più acquistate dai consumatori dell'Italia meridionale (Cataudella, 2000). A livello ecosistemico lo sgombro occupa una parte centrale nella catena trofica mediterranea, essendo un elemento essenziale nella dieta dei grandi pelagici e dei mammiferi marini e nel contempo, predando grosse quantità di Clupeidi e crostacei pelagici.

Il seguente lavoro ha lo scopo di studiare la relazione taglia-peso in una popolazione di *Scomber scombrus* del Mar Adriatico*,* in relazione al sesso e al periodo riproduttivo.

Materiali e metodi

I dati utilizzati provengono da sbarcati commerciali della pesca professionale con rete a circuizione del porto di Bari. Nel periodo compreso tra novembre 2000 e ottobre 2001, sono stati complessivamente campionati, con metodo random, 828 esemplari: 461 femmine e 367 maschi. Per ogni esemplare sono stati rilevati la lunghezza alla forca (LF; 0.5 cm), il peso totale (PT; 0.1 g), il peso eviscerato (PE; 0.1 g) ed il sesso. Lo stadio di maturità è stato assegnato mediante osservazione macroscopica delle gonadi in base alla scala a 6 stadi di Nikolsky (Nikolsky, 1963).

I dati sono stati accorpati in tre periodi: dicembre-marzo, maggio-luglio e agosto-novembre; la quasi totalità degli individui risulta infatti matura (stadi III, IV e V) nel

periodo compreso tra dicembre e marzo. L'indice gonadosomatico è stato calcolato in entrambi i sessi secondo la formula IGS = Peso gonadi*100/Peso eviscerato.

I parametri della relazione sono stati quindi calcolati per ciascun sesso sia in relazione a questi tre periodi sia annualmente, utilizzando la formula $P = a*LF^b$ e i valori di a e di b sono stati stimati mediante regressione lineare predittiva con il metodo dei minimi quadrati dopo trasformazione logaritmica (base 10).

Il test t di Student, ($p < 0.05$), ha permesso di valutare l'eventuale isometria ($b = 3$) e di comparare il coefficiente di regressione nei due sessi e nei tre periodi.

Risultati

Gli esemplari campionati presentavano LF compresa tra 19,5 e 38 cm, PE e PT compresi tra 50,7 e 501,5 g e tra 54,4 e 595,3 g rispettivamente. I valori dell'IGS (Tab. 1) per entrambi i sessi mostrano massimi valori nel periodo invernale (dic–mar).

Tale periodo corrisponde infatti al picco maturativo per questa specie (Autori vari,

Tab. 1 - Relazione taglia-peso di *Scomber scombrus* (n = numero di esemplari; LF range = lunghezza alla forca minima e massima; r = coefficiente di correlazione; a = intercetta, b = esponente; ES = errore standard; IC_{95} = intervallo di confidenza).

Length-weight relationship of Scomber scombrus *(n = number of specimens; LF range = Fork length range; r = correlation coefficient; a = intercept, b = exponent; ES = standard error; IC = confidence limits).*

				PESO EVISCERATO (g)					PESO TOTALE (g)				
Periodo	Sesso	n	LF range	a	b	ES (b)	r	$IC_{95\%}$	a	b	ES (b)	r	$IC_{95\%}$
Dic - Mar	F	178	20-37,5	0,214	2,64	0,051	0,97	0,101	0,202	2,724	0,057	0,96	0,112
	M	148	20,5-38	0,179	2,77	0,049	0,98	0,096	0,202	2,719	0,062	0,96	0,123
Mag - Lug	F	164	25-31,5	0,064	3,52	0,176	0,84	0,348	0,06	3,589	0,192	0,83	0,378
	M	117	24,5-31	0,069	3,46	0,148	0,91	0,294	0,076	3,429	0,179	0,87	0,354
Ago - Nov	F	119	19,5-31,5	0,076	3,36	0,082	0,97	0,162	0,072	3,412	0,121	0,94	0,239
	M	102	19,5-31,5	0,082	3,31	0,076	0,97	0,151	0,085	3,296	0,073	0,98	0,146
Annuale	F	461	19,5-37,5	0,173	2,8	0,051	0,93	0,099	0,15	2,93	0,057	0,92	0,112
	M	367	19,5-38	0,159	2,85	0,046	0,96	0,091	0,147	2,938	0,055	0,94	0,109

2002). I valori annuali del coefficiente di regressione b della relazione taglia-peso eviscerato risultano significativamente inferiori a 3. L'andamento del coefficiente b nel corso delle stagioni mostra un valore minimo in corrispondenza del periodo riproduttivo (Tab. 2) e valori più elevati (significativamente superiori a 3) nelle stagioni successive.

Tab. 2 - Andamento dell'indice gonadosomatico per sesso.

Trend of the gonadosomatic index by sex.

Periodo	Sex	N°	IGS
DIC-MAR	F	178	8,462
	M	148	9,097
MAG-LUG	F	164	0,500
	M	117	0,433
AGO-NOV	F	119	0,783
	M	102	0,393

Relativamente alla relazione taglia-peso totale il coefficiente di regressione annuale mostra un andamento stagionale simile a quello riscontrato nella relazione taglia – peso eviscerato. Confrontando i valori di b nei due sessi non sono state evidenziate differenze significative.

Conclusioni

L'analisi delle relazioni taglia peso per stagione mostra evidenti variazioni di b durante l'arco dell'anno. I risultati ottenuti evidenziano, relativamente alla relazione taglia-peso eviscerato, una crescita allometrica negativa. Al contrario, nella relazione taglia-peso totale la crescita risulta isometrica. Si ritiene che ciò sia dovuto all'influenza del periodo riproduttivo (le gonadi non crescono in maniera proporzionale al corpo) e all'alimentazione (disponibilità di alimento).

Un simile andamento dei parametri di crescita è stato osservato per questa specie sia in Atlantico (Moores, 1975; Dorel, 1985) sia nel Mediterraneo (Campillo, 1992), sebbene in zone limitrofe all'area in esame (Petrakis, 1995; Sinovcic, 1995, 2001) e in ulteriori studi di popolazioni atlantiche (Dorel, 1985; Coull et al, 1989) l'allometria sia risultata positiva.

Bibliografia

AUTORI VARI (2002) - Fisheries and population structure of *Scomber* spp. in the Mediterranean and S. Iberian Atlantic waters. Rapporto Finale UE Bruxelles.

CAMPILLO A. (1992) - Les pecheries francaises de Méditerranée: synthèse des connaisances. *Institut Francais de Recherche pour L'Exploitation de la Mer*: 206 pp.

CATAUDELLA S. (2000) - *Un mare di risorse*. UNIPROM.

PETRAKIS G., STERGIOU K.I. (1995) - Weight-length relationships for 33 fish species in Greek waters. *Fisheries Research*: 465-469.

COLLETTE B.B., NAUEN C.E. (1983) - FAO species catalogue. Scombrids of the world. An annotaded and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. FAO Fish. Synop., **125**: 58-59.

COULL K.A., JERMIN A.S.,. NEWTON A.W, HENDERSON G.I., HALL W. (1989) - Length-weight relationship for 88 species of fish encountered in the North Atlantic Scottish *Fish. Res. Rep*., **43**: 80 pp.

DOREL D. (1985) - Poissons de l'Atlantique nord-est relations taille-poids. *Institut Francais de Recherche pour L'Exploitation de la Mer.*

MOORES J. (1975) - Migrations and biological characteristics of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) occurring in Newfoundland waters. *J. Fish. Res. Board Can*., **32** (8): 1347-1357.

NIKOLSKY G.V. (1963) - *The Ecology of Fishes*. Academic press, London & New York: 252 pp.

SINOVCIC G. (1995) - First data on some aspects of biology and population dynamics of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus* L. in the Adriatic. *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.,* **34**: 285 pp.

SINOVCIC G. (2001) – Population structure, reproduction, age and growth of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus* L. in the Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, **42** (2): 85-92.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 777-780

D. Campo, M.G. Finoia*, M. Sinopoli, P. Vivona

I.C.R.A.M. Sts Palermo, Via E. Amari, 124 - 90139 Palermo, Italia.
*I.C.R.A.M, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

STRATEGIE ALIMENTARI DEL PESCE BALESTRA (*BALISTES CAROLINENSIS* GMELIN, 1789) NELLA FASE PELAGICA DEL SUO CICLO VITALE

*FEEDING STRATEGY OF GREY TRIGGERFISH (*BALISTES CAROLINENSIS *GMELIN, 1789) IN THE PELAGIC STAGE OF ITS LIFE CYCLE*

Abstract

A survey was carried out from August to December in the Southern Tyrrhenian sea in order to study the feeding strategy of juveniles of the grey triggerfish Balistes carolinensis *(Osteichthyes, Balistidae). Stomach content analysis showed three different phases of predation during this period, depending on the size variation of the specimens. Juvenile grey triggerfish showed a generalized feeding strategy, although the niche width (B) decreased with the increasing of the predator size.*

Key-words: *grey triggerfish, Tyrrhenian sea, feeding strategy, optimal foraging theory.*

Introduzione

Il pesce balestra, *Balistes carolinensis* Gmelin 1789, è il solo balistidae mediterraneo. La specie ha un ciclo vitale complesso caratterizzato da abitudini pelagiche nel primo anno di vita, per divenire demersale da adulto (Johnson e Saloman, 1984). Durante il periodo di vita pelagica il pesce balestra si ritrova frequentemente associato a corpi galleggianti sicché costituisce spesso "by catch" della pesca con i FADs (fishing attracting devices) (Massutí e Reñones, 1994). Un programma di ricerca condotto sui FADs nel tratto di mare antistante la città di Capo d'Orlando (Sicilia Nord-Orientale) ha permesso di approfondire le conoscenze sulle abitudini e strategie alimentari del pesce balestra durante la fase planctofaga (Deudero e Morales-Nin, 2001) del suo ciclo vitale.

Materiali e metodi

I pesci sono stati catturati mensilmente da agosto a dicembre di ambedue gli anni 2000 e 2001, nel periodo del giorno compreso tra le 8:00 e le 16:00. Le pescate sono state effettuate per mezzo di una piccola rete da circuizione appositamente modificata (64 m di lunghezza e 14 m di altezza, con maglia del sacco di 2 mm) circondando il FAD per catturare i pesci che stazionavano al di sotto di esso. Di ciascun esemplare è stata misurata la lunghezza totale (LT) per mezzo di un calibro. Per lo studio dei contenuti gastrici i pesci sono stati eviscerati immediatamente dopo la cattura ed il tratto alimentare è stato conservato in una soluzione al 5% di formaldeide ed acqua di mare. In laboratorio si è proceduto alla determinazione ed al conteggio delle prede. Al fine di evidenziare l'eventuale variazione nella dieta dei giovanili di *B. carolinensis* al variare della loro lunghezza è stata condotta l'analisi dei "cluster" sulla matrice quantitativa dei dati. E' stato utilizzato il coefficiente di similarità di Bray-Curtis (Bray e Curtis, 1957) e i risultati sono stati utilizzati per costruire un dendrogramma usando la tecnica gerarchica agglomerativa e il metodo della media di gruppo (Clarke e Warwick, 1994).

L'analisi delle corrispondenze (CA) è stata utilizzata per determinare il gradiente ontogenetico e il ruolo giocato dalle differenti prede all'interno delle differenti classi di taglia dei giovanili di *B. carolinensis*. Per comprendere un aspetto centrale della strategia alimentare della specie, la dicotomia generalista–specialista, è stato utilizzato il metodo dell'analisi grafica proposto da Amundsen *et al*. (1996), e l'indice (B) descritto da Levins (1968) è stato usato come misura dell'ampiezza di nicchia.

Risultati e conclusioni

Dei 135 individui catturati, con LT compresa tra 40 e 200 mm, 104 sono stati trovati con prede nello stomaco. Il dendrogramma ha mostrato, al valore del 60%, tre distinte classi di taglia: classe I da 40 a 75 mm, classe II da 81 a 129 mm, classe III da 131 a 200 mm (Fig. 1).

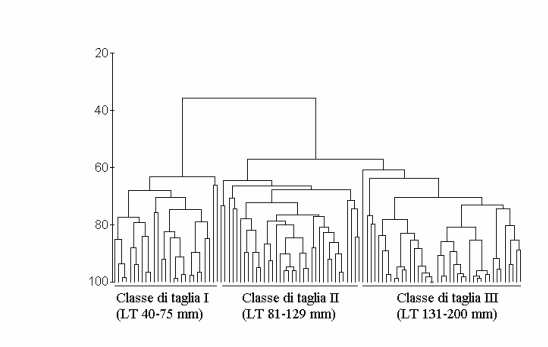


Fig. 1 – Analisi dei "Cluster" condotta sui dati di densità delle prede contenute negli stomaci.
Cluster analysis of dietary similarity of the density data.

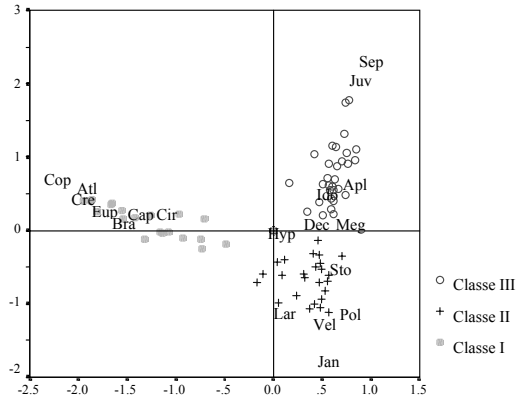


Fig. 2 – CA. Le prede sono etichettate come segue: Sep=Sepiolidae; Juv=Osteichthyes (giovanili); Apl=Aplisiomorpha; Ido=*Idotea metallica*; Dec=Decapoda Natantia; Meg=Brachyura (megalopa); Hyp=Hyperiidea; Sto=Stomatopoda (larve); Lar=Osteichthyes (larve);

Pol = Polychaeta; Vel = *Velella velella*; Jan = *Janthina sp*; Cop = Copepoda; Atl = Atlantidae; Cre = *Creseis sp*; Eup = Euphausiacea; Bra = Brachyura (zoea); Cap = Caprellidea; Cir = Cirripedia.

CA. Prey items are labelled as follows: Sep = Sepiolidae; Juv = Osteichthyes (giovanili); Apl = Aplisiomorpha; Ido = Idotea metallica; Dec = Decapoda Natantia; Meg = Brachyura (megalopa); Hyp = Hyperiidea; Sto = Stomatopoda (larve); Lar = Osteichthyes (larve); Pol = Polychaeta; Vel = Velella velella; Jan = Janthina sp; Cop = Copepoda; Atl = Atlantidae; Cre = Creseis sp; Eup = Euphausiacea; Bra = Brachyura (zoea); Cap = Caprellidea; Cir = Cirripedia.

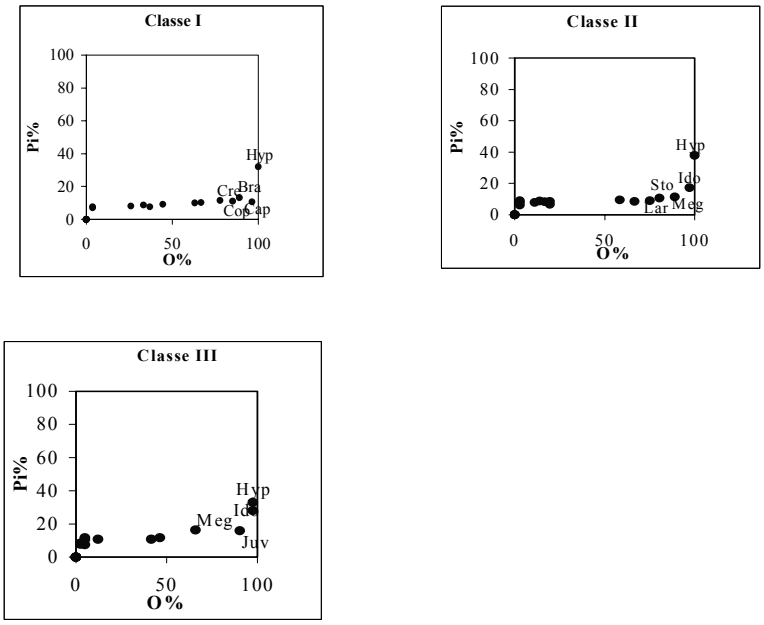


Fig. 3 – Analisi grafica delle strategie alimentari condotta separatamente per le tre classi di taglia.
Graphical analysis of the feeding strategy.

L'analisi delle corrispondenze ha messo in evidenza come i giovanili di *B. carolinensis* diversifichino la loro dieta in base alla taglia da loro raggiunta (Fig. 2). Quelli di dimensioni minori si cibano prevalentemente di copepodi, cirripedi, caprellidi, larve di brachiuri allo stadio di zoea, piccoli gasteropodi planctonici. Nello stomaco dei balestra di taglia intermedia prevalgono larve di stomatopodi e di pesci, mentre gli individui più grandi predano frequentemente crostacei di dimensioni maggiori, quali l'anfipode *Idotea metallica*, e giovanili di pesci e cefalopodi. L'analisi grafica delle strategie alimentari ha mostrato un comportamento generalista della specie in tutte e tre le classi di taglia (Fig. 3), sebbene si osservi la graduale riduzione dell'indice di nicchia trofica all'aumentare della taglia del predatore: B = 6,31 nella classe I; B = 4,92 nella classe II; B = 4,54 nella classe III. I risultati ottenuti mostrano che i giovanili di *B. carolinensis*

sono attivi predatori sin dai primi stadi di vita e che essi modificano le loro abitudini alimentari almeno tre volte, prima di acquisire abitudini demersali. Durante la fase planctofaga del pesce balestra, prede di dimensioni maggiori diventano sempre più frequenti all'aumentare della taglia del predatore, probabilmente al fine di ottimizzare il guadagno energetico netto, in accordo con la "optimal foraging theory" (Gerking, 1994). Inoltre, come messo in evidenza dal metodo dell'analisi grafica e dall'indice di Levins, si osserva la tendenza alla diminuzione del numero di taxa predati più frequentemente a mano a mano che il predatore aumenta di taglia, interpretabile come una graduale preferenza, durante la crescita del pesce balestra, verso un più ristretto "range" di prede che meglio possano soddisfare le accresciute esigenze energetiche.

Bibliografia

AMUNDSEN P.A., GABLER H.M., STALDVIK F.J. (1996) – A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data-modification of the Costello (1990) method. *J. Fish. Biol.,* **48**: 607-614.

BRAY J.R., CURTIS J.T. (1957) – An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monogr.*, **27**: 325-349.

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) – *Change in Marine Communities: an Approach to Statistical Analysis and Interpretation*. Playmouth: Natural Enviromental Research Council.

DEUDERO S., MORALES-NIN B. (2001) – Prey selectivity in plankivorous juvenile fishes associated with floating object in the Western Mediterranean. *Aquac. Res*., **32**: 1-12.

GERKING S.D. (1994) – *Feeding Ecology of Fish.* Academic Press, Incorporated.

JOHNSON A.G., SALOMAN C.H. (1984) – Age, growth, and mortality of gray triggerfish, *Balistes capriscus*, from the northeastern gulf of Mexico. *Fish. Bull.*, **82** (3): 485-492.

LEVINS R. (1968) – *Evolution in Changing Environments*. Princeton, NJ. Princeton University Press.

MASSUTI E.Y., REÑONES O. (1994) – Observaciones sobre la comunidad de peces pelagicos asociados a objetos flotantes en aguas oceanicas de Mallorca. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, **10** (1): 81-93.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 781-784

R. Carlucci, M. Panza, G. Costantino, G. D'Onghia

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.

OSSERVAZIONI SULLO SBARCATO DEI GAMBERI ROSSI (*ARISTEUS ANTENNATUS* ED *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA*) NELLA MARINERIA DI GALLIPOLI (MAR IONIO)

*OBSERVATIONS ON THE LANDINGS OF THE RED SHRIMPS (*ARISTEUS ANTENNATUS *AND* ARISTAEOMORPHA FOLIACEA*) IN THE GALLIPOLI FISHERY (IONIAN SEA)*

Abstract

Observations on the effort and landings of the red shrimps, Aristeus antennatus *and* Aristaeomorpha foliacea, *(Crustacea: Decapoda) were collected from September 1998 to October 1999 in the Gallipoli fishery (Ionian Sea). Sea-weather conditions permitting, the fishing on the red shrimps was carried out by 45.8% of the Gallipoli trawlers. On average, the contribution of red shrimps made up 58.6% in weight and 66.1% in economic value of the total catch.*

Key-words: *landings, effort, red shrimps, Ionian Sea.*

Introduzione

Nonostante i progressi ottenuti sulla conoscenza della bio-ecologia di *Aristeus antennatus* (gambero viola) e *Aristaeomorpha foliacea* (gambero rosso), la gestione finalizzata al prelievo ottimale di queste due specie di ambiente batiale risulta ancora lontana dal suo optimum. Negli ultimi anni, in molte marinerie italiane sono state osservate fluttuazioni considerevoli dell'abbondanza di entrambe le specie ed in generale una riduzione complessiva delle quantità pescate. La prima esperienza di rilevamento delle catture per sforzo di pesca e di biometria dei gamberi rossi nel Mar Ionio risale a circa dieci anni fa ed è relativa a due marinerie della costa Calabra (Vacchi *et al.*, 1994). In questa nota si riportano alcune informazioni riguardanti le catture e lo sforzo di pesca esercitato sui gamberi rossi della marineria di Gallipoli dove le suddette specie rappresentano importanti risorse demersali.

Materiali e metodi

Nel periodo compreso tra settembre 1998 ed ottobre 1999, nel contesto del progetto COCTEL finanziato dalla E.U., sono state raccolte informazioni sullo sbarcato, sullo sforzo di pesca e sul valore economico dei gamberi rossi nella marineria di Gallipoli (LE). In particolare, durante l'intero periodo, è stato rilevato settimanalmente il numero delle barche attive in termini di stazza lorda e potenza motore e la tipologia delle bordate (durata, area di pesca, batimetria e durata delle cale). Inoltre, intervistando con cadenza settimanale un campione di cinque imbarcazioni rappresentative della marineria, sono stati raccolti dati di cattura (kg/barca/giorno) relativi sia al pescato commerciale totale sia a quello dovuto ai gamberi rossi (*A. antennatus* ed *A. foliacea*). Registrando al mercato il prezzo d'asta dei gamberi rossi, sono stati calcolati i ricavi

economici relativi alla vendita. Infine, è stata registrata, per quattro rilevamenti stagionali, la lunghezza del carapace (LC; mm) degli esemplari di *A. antennatus* e *A. foliacea* catturati durante una giornata di campionamento a bordo.

Risultati

La marineria di Gallipoli è costituita da 73 motopescherecci a strascico, prevalentemente di piccole dimensioni (stazza lorda <10 t; potenza motore 100-150 kW). L'attività di pesca si svolge dal lunedì al venerdì con bordate giornaliere realizzate dall'alba al tramonto e cale della durata di circa tre ore.

Durante l'intero periodo di indagine sono stati registrati nella marineria 161 giorni di attività di pesca. La percentuale delle barche attive per la pesca a strascico oscillava tra il 38.4 ed il 100% (in media 79.1%). La percentuale delle barche dedite alla pesca dei gamberi rossi era compresa tra il 25.4 ed il 65.8% (in media il 45.8%).

I valori di cattura totale registrati oscillavano tra 14.7 e 58.3 kg/barca/giorno con un valore medio di 31.02±12.39 kg/barca/giorno. La cattura dei gamberi rossi risultava compresa tra 5.0 e 48.0 kg/barca/giorno, rappresentando tra il 21.7 ed il 100% della cattura totale (58.6% in media). La cattura totale risultava significativamente correlata con la cattura dei gamberi rossi ($y=0.75x+18.40$; $r^2=0.32$) (Fig. 1) mentre quest'ultima era inversamente correlata alla cattura totale senza gamberi rossi (Fig. 2).

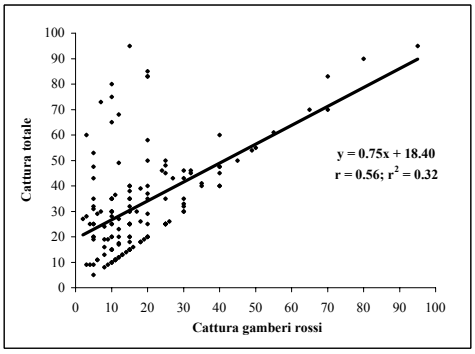


Fig. 1 - Correlazione tra le catture totali (kg/barca/giorno) e le catture dei gamberi rossi (kg/barca/giorno) registrate nella marineria di Gallipoli da settembre 1998 ad ottobre 1999.

Trends of total catch (kg/vessel/day) and red shrimps catch (kg/vessel/day) recorded in the Gallipoli fishery from September 1998 to October 1999.

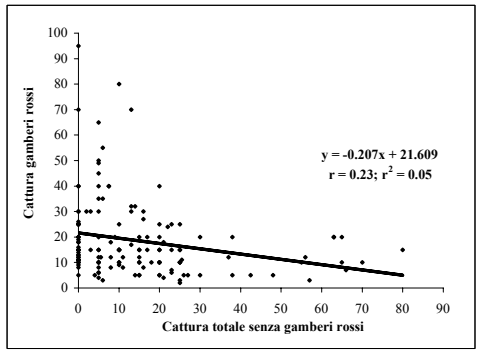


Fig. 2 - Correlazione tra la cattura dei gamberi rossi (kg/barca/giorno) e la cattura totale senza gamberi rossi (kg/barca/giorno) registrate nella marineria di Gallipoli da settembre 1998 ad ottobre 1999.

Trends of red shrimps catch (kg/vessel/day) and total catch without red shrimps (kg/vessel/day) recorded in the Gallipoli fishery from September 1998 to October 1999.

Non è stata osservata alcuna correlazione significativa tra il numero di barche attive per la pesca dei gamberi rossi e la resa per barca (Fig. 3).

Il gambero viola nelle catture risultava notevolmente più abbondante del gambero rosso e, sebbene durante i quattro rilevamenti stagionali la taglia rilevata per *A. antennatus* oscillasse tra 16 e 64 mm LC, la cattura risultava prevalentemente costituita da taglie piccole (LC < 35 mm). Le taglie minime e massime osservate per *A. foliacea* erano rispettivamente di 26 e 53 mm LC. Le classi di lunghezza più rappresentate nella cattura erano comprese tra 30 e 38 mm LC.

Poiché le due specie raggiungono lo stesso valore all'asta, esse sono vendute insieme nella categoria "gamberoni" o "gamberi rossi". Inoltre i gamberi rossi vengono suddivisi in tre categorie commerciali in relazione alla taglia degli esemplari (III scelta < 30 mm LC; II scelta > 30 mm e < 40 mm LC; I scelta > 40 mm LC). Le tre categorie commerciali raggiungevano in media un prezzo d'asta di 7.7 Euro/kg per la III scelta, 12.9 Euro/kg per la II scelta e 18.1 Euro/kg per la I scelta. Il prezzo all'asta risultava compreso tra 5.5 e 41.3 Euro/kg (12.9 Euro/kg in media) ed oscillava ampiamente in relazione alla categoria commerciale, alla richiesta ed alla disponibilità del mercato.

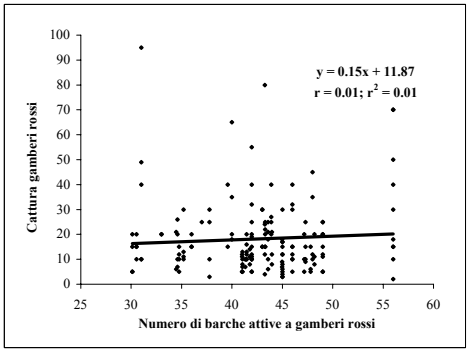


Fig. 3 - Correlazione tra le catture dei gamberi rossi (kg/barca/giorno) e numero di barche attive registrato nella marineria di Gallipoli da settembre 1998 ad ottobre 1999.

Trends of red shrimps catch (kg/vessel/day) and the number of active trawlers recorded in the Gallipoli fishery from September 1998 to October 1999.

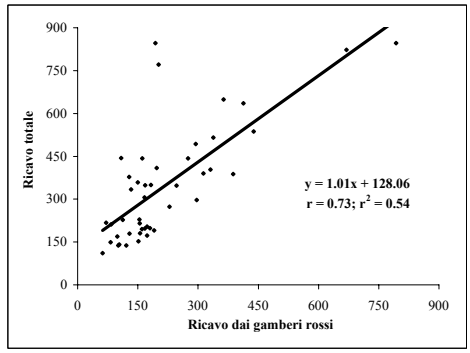


Fig. 4 - Correlazione tra ricavo totale (Euro/barca/giorno) e ricavo relativo alla cattura dei gamberi rossi (Euro/barca/giorno) registrato nella marineria di Gallipoli da settembre 1998 ad ottobre 1999.

Trends of the total revenue (Euro/vessel/day) and red shrimps revenue (Euro/vessel/day) recorded in the Gallipoli fishery from September 1998 to October 1999.

Il ricavo giornaliero totale registrato da ciascuna barca aumentava significativamente con quello ottenuto dalla vendita dei gamberi rossi ($y = 1.01x + 128.06$; $r^2 = 0.54$) (Fig. 4). In particolare, considerando l'intero periodo d'indagine, il contributo in termini economici fornito dai due gamberi rossi ha rappresentato tra il 24.4 ed il 100% del profitto totale (66.1% in media).

Conclusioni

A. antennatus ed *A. foliacea* rappresentano importanti risorse della marineria di Gallipoli (D'Onghia *et al.*, 1998). Pur presentando forti oscillazioni d'abbondanza nel corso dell'anno, i gamberi rossi possono rappresentare fino al 100% in peso della cattura totale e contribuire in maniera preponderante al valore economico del pescato. L'incremento della resa di altre specie nella cattura sembra determinare una riduzione della resa dei gamberi rossi. In relazione alla disponibilità delle risorse e alle condizioni meteomarine, oltre il 65% delle imbarcazioni di Gallipoli pesca sui fondi di scarpata. Ad un incremento del numero di barche dirette alla cattura dei gamberi rossi, osservato nel breve periodo d'indagine, non è corrisposto un incremento della loro resa. Considerando che le catture risultano prevalentemente costituite da individui di piccola taglia, il valore unitario risulta notevolmente ridotto seppure rilevante sulla cattura totale.

Le analisi fin qui condotte indicano per *A. antennatus* ed *A. foliacea* la necessità dell'adozione di misure miranti alla razionalizzazione dell'attività di prelievo, tra le quali soprattutto la regolamentazione della dimensione della maglia della rete nel sacco, al fine di evitare la cattura di individui di piccole dimensioni che non si sono ancora riprodotti (Carlucci *et al*., presente volume). D'altro canto, le valutazioni condotte da Ragonese *et al.* (2001) indicano che le perdite economiche immediate attribuibili alla mancata cattura degli esemplari di piccola taglia sono trascurabili rispetto agli effetti positivi riscontrabili nel lungo periodo.

Bibliografia

CARLUCCI R., MAIORANO P., CAPEZZUTO F., IMPERATRICE M. (2003) - Osservazioni sulla riproduzione di *Aristeus antennatus* e *Aristaeomorpha foliacea* (Crustacea, Decapoda) nel compartimento marittimo di Gallipoli (Mar Ionio). *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 291-295.

D'ONGHIA G., TURSI A., MAIORANO P., PANZA M. (1998) - Caratterizzazione geografica dello stock di *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Crustacea, Decapoda) nel Mar Ionio settentrionale. *Biol. Mar. Medit.,* **5** (2): 239-251.

RAGONESE S., ZAGRA M., DI STEFANO L., BIANCHINI M.L. (2001) - Effect of codend mesh size on the performance of the deep-water bottom trawl used in the red shrimp fishery in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Hydrobiologia,* **449**: 279-291.

SPARRE P., VENEMA S.C. (1998) - Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1.- Manual. *FAO Fish.Tech. Pap.,* 306.1 (Rev. 2): 407 pp.

VACCHI M., ROMANELLI M., TUNESI L. (1994) – Survey on the red shrimp *Aristeus antennatus* (Risso) fishery in the calabrian sector of the Ionian Sea (Central Mediterranean). *Oebalia*, **20**: 61-69.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 785-788

P. Carpentieri, F. Colloca, L. Nicoletti, G.D. Ardizzone

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo
Università di Roma "La Sapienza", Viale dell'Università, 32 - 00185 Roma, Italia.

DOES THE COMPOSITION OF DEMERSAL ASSEMBLAGES CHANGE DURING A 24-H PERIOD?

LE ASSOCIAZIONI ITTICHE DEMERSALI CAMBIANO NELL'ARCO DELLE 24 ORE?

Abstract

The diel composition of demersal and macro-epibenthic assemblage was investigated in an area located along the central Tyrrhenian shelf edge. The main temporal variation was observed between morning-afternoon and night hours. Macroramphosus scolopax*,* Capros aper*,* Serranus hepatus *and* Lepidotrigla cavillone *were the most abundant species during day. Argentinidae* and *cave-dwelling fish (*Gnatophis mistax*,* Chlopsis bicolor*) dominated night assemblages.*

Key-words: *demersal assemblages*, *diel variation*, *trawlable bottoms*, *Tyrrhenian sea.*

Introduction

The aim of this study was to analyze the diel variation in the structure of fish demersal assemblages on the shelf-edge (160-170 m) of Central Tyrrhenian Sea, as sampled by bottom-trawl net.

Knowledge of the spatio-temporal assemblages distribution and the energetic requirements (feeding ecology and daily ration) of the demersal communities is of paramount importance in order to understand the dynamics of populations, communities and ecosystems.

Materials and methods

Data were obtained during a trawl survey conducted in July 2000: eight hauls, each of 30 minutes, were performed every three hours throughout the 24 h period in an area located on the upper slope edge at a depth of 160-170 m. The hauls were carried out following different routes, in order to avoid the attractive effect on demersal fauna due to the passage of the net on the sea bottom. The study area is characterised by muddy-detritic sediments and high concentration of *Leptometra phalangium* (Echinodermata, Crinoidea).

All demersal species (teleostean fish, crustaceans, cephalopods) and the macro-epibenthic organisms were identified and counted. The number of individuals per hour of each species was used as abundance index. Non-metric multidimensional scaling (MDS), based on Bray-Curtis similarity, was used for ordination of hauls (Clarcke & Warwick, 1994).

Results

Significant changes in the abundance of the main demersal species were observed during the trawl survey (Fig. 1). MDS analysis identified two groups (night and day) separated along a 24-h temporal scale (Fig. 2).

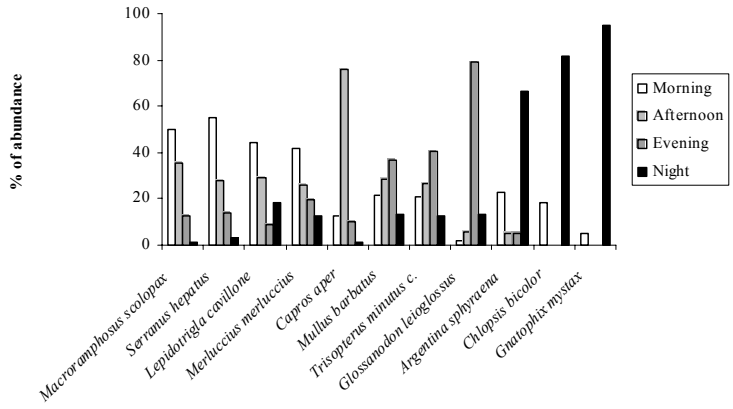


Fig. 1 – Percentage of the most abundant fish species observed along the Latium shelf edge during the 24-h trawl survey.

Specie ittiche più abbondanti (%) presenti durante le 24 ore lungo il bordo della piattaforma laziale.

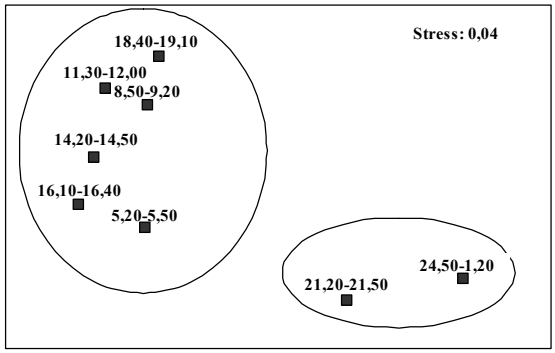


Fig. 2 – MDS ordination plot of abundance data obtained from the eight summer hauls. The time of the hauls is reported in the graph.

Ordinamento delle 8 cale effettuate secondo l'analisi effettuata con la MDS. In figura è riportato l'orario della giornata in cui le diverse cale sono state effettuate.

Macroramphosus scolopax (40%), *Capros aper* (11%), *Serranus hepatus* (9%) and *Lepidotrigla cavillone* (6%), showed highest abundance during the light hours. During the night these species were substituted by *Glossanodon leioglossus* (36%) and *Argentina sphyraena* (11%) together with some species of Anguilliformes (13%). Among these latter the most abundant species were the congridae *Gnathophis mystax* (8%), followed by *Chlopsis bicolor* (3%) and *Nettastoma melanurum* (2%).

Macro-epibenthic assemblage was dominated by the crinoid *Leptometra phalangium* that can reach abundance up to 15 ind./m^2 and by the echinoderms *Astropecten irregularis pentacanthus*, *Mesothuria intestinalis* and *Cidaris cidaris* (Fig. 3). Cepha-

lopods and crustaceans showed opposite trends during the day: while the first (*Illex coindetii*, *Todaropsis eblanae* and *Scaergus unicirrhus*) disappeared at night, the latter (*Medorippe lanata*, *Parapenaeus longirostris* and *Solenocera membranacea*) reached the high density during night and early morning.

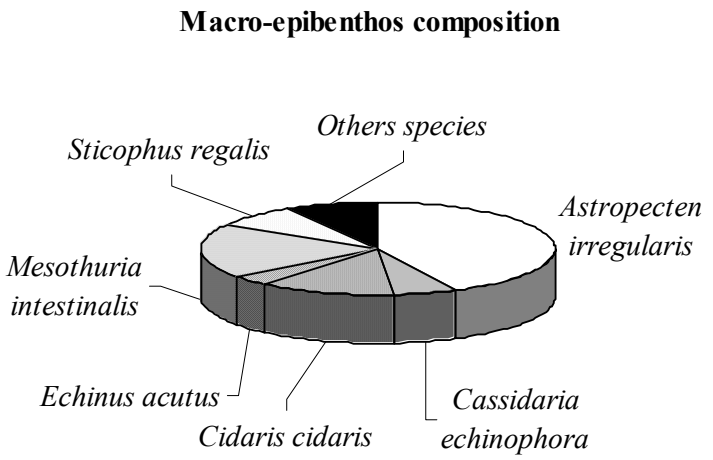


Fig. 3 – Species composition of macro-epibenthos (*L. phalangium* excluded) collected during the 24-h trawl survey.
Composizione del macro-epibenthos (esclusa la L. phalangium*) raccolto durante il campionamento giornaliero.*

Conclusions

The main temporal variation observed in demersal community along the slope edge was observed between morning-afternoon and night hours. At night the typical assemblage structure of *L. phalangium* bottoms, represented during light hours by species like *M. scolopax*, *L. cavillone*, *C. aper*, and *S. hepatus* (Colloca *et al.,* 2002), showed a drastic change. In fact the night assemblage was dominated by cave dwelling fish together with small nectobenthic species (*A. sphyraena* and *G. leioglossus*). The occurrence of cave dwelling fish constitutes an important result of this study because most of these species (i.e. *C. bicolor*) were generally considered scarcely abundant or rare within the Mediterranean demersal assemblages.

The burrowing behaviour of such species during daylight hide them to the towed gear used by commercial trawlers. Fluctuations in species abundances observed during the day showed that demersal species accomplished also daily migrations along the water column. However the sampling time can affect the observed structure of assemblage and this aspect should be carefully considered in further studies on distribution and abundance of Mediterranean demersal species.

References

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Environment Research Council, UK*: 144 pp.

COLLOCA F., CARDINALE M., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. (2003) - Structure and diversity of demersal assemblages in the central Mediterranean Sea. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, **56**: 469-480.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 789-791

B. Catalano, C. Mancusi, S. Clò, M. Dalù, F. Serena*, M. Vacchi

ICRAM, Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
*ARPAT Livorno, Italia.

MARCATURA E RILASCIO DI ESEMPLARI GIOVANILI DI RAZZA STELLATA *RAJA ASTERIAS* NELLE ACQUE TOSCANE: RISULTATI PRELIMINARI E PROSPETTIVE DI LAVORO

"TAG AND RELEASE" OF RAJA ASTERIAS *JUVENILES IN TUSCANY WATERS: PRELIMINARY RESULTS AND FUTURE PERSPECTIVES*

Abstract

In order to contribute to the knowledge of biology and distribution of Raja asterias *(Condrichthyes, Rajidae), a tag and release survey on juveniles of this species has been carried out in the Southern Ligurian Sea, in front of Viareggio harbour (Tuscany, Italy). Two tagging campaigns were performed in July and August 2001, using a small trawler in shallow waters to collect specimens. A total of 851 specimens were tagged out of 1042 captured. An information campaign has been conducted among the local fisheries to ensure the maximum number of returns.*

Key-words: Raja asterias*, tagging, South Ligurian Sea, Selachians.*

Introduzione

Le prime esperienze di marcatura su razze risalgono alla fine del XIX secolo (Fulton, 1893) e generalmente si riferiscono a studi condotti nel nord Atlantico. Più recentemente con questa tecnica è stata studiata la crescita di *Raja montagui*, *Raja clavata* e *Raja brachyura* (Holden, 1972) e gli spostamenti di altri Raidi (Templeman, 1984). In alcuni casi (Richards *et al*., 1963) sono stati registrati tassi di ricattura molto bassi (0,7%), mentre Johnson (1979), utilizzando la stessa specie e lavorando nella stessa area geografica, ha ottenuto una percentuale più alta (6,6%).

Nella marineria di Viareggio, la razza stellata *Raja asterias* è specie accessoria nella pesca demersale e compare frequentemente nella pesca mirata a pesci piatti (sogliole e rombi), effettuata prevalentemente con il rapido. Benché soggetta ad uno sfruttamento giornaliero, questa specie è presente costantemente nello sbarcato, mantenendo da anni rendimenti costanti (Serena mimeo). Lo stock sembra quindi apparentemente in equilibrio, assicurato forse dalla presenza di una vicina "nursery area" (Abella *et al*., 1997) che garantisce un naturale rinnovo. Tutto ciò ha indotto ad approfondire gli aspetti biologici e quelli di distribuzione della specie, utilizzando un approccio diretto come quello della marcatura.

Materiali e metodi

L'area di studio si estende dalla foce del Fiume Arno fino all'abitato di Forte dei Marmi, entro 3 miglia dalla costa. Il campionamento degli esemplari di razza stellata è stato effettuato in due successive campagne di pesca scientifica (luglio e agosto 2001). Sono state effettuate 47 cale utilizzando il M/P Santa Lucia (9,89 TSL e 68 HP) armato con una rete a strascico con maglie al sacco di 40 mm di apertura. Le cale sono state

allocate tenendo conto di una griglia composta da unità elementari di un miglio di lato. Gli esemplari catturati sono stati marcati impiegando uno "spaghetto" del tipo "anchor tag", della lunghezza di 38 mm e con un terminale a T in monofilamento dello spessore di 0.5 mm (Floy Tag modello FF-94). La marca è stata applicata sempre sul lato destro del dorso dell'animale, tramite una pistola con ago di inserimento a punta fine (∅=1,3 mm) e 9,4 mm di massima penetrazione. Una volta identificato il sesso, ogni singolo pesce è stato misurato in base alla lunghezza totale (LT), alla larghezza del disco quindi marcato e rilasciato trascrivendo il numero progressivo riportato sul tag, le coordinate e la profondità di rilascio. Solo gli animali vitali sono stati marcati, mentre si è preferito comunque non procedere alla marcatura per quegli individui di taglia compresa tra 9 e 13 cm di LT.

Parallelamente allo svolgimento della campagna di marcatura, è stata condotta una capillare campagna di informazione, anche attraverso la divulgazione di un volantino (che ha visto coinvolte le Capitanerie di porto, le Associazioni dei pescatori, i veterinari ASL ed i mercati ittici), circa le modalità e le finalità del progetto e le modalità di riconsegna degli esemplari marcati ricatturati.

Risultati e conclusioni

Sono state marcate 851 razze stellate (394 femmine e 457 maschi) su un totale di 1042 individui catturati in un intervallo di profondità compreso tra 6 e 18 metri. Tale intervallo è stato successivamente suddiviso in 5 fasce batimetriche (Tab. 1). Il maggior numero di catture hanno interessato forme giovanili di *R. asterias* con valori di LT che si distribuiscono intorno ad una moda di 17,5 cm in luglio e 19,5 cm in agosto (Fig. 1).

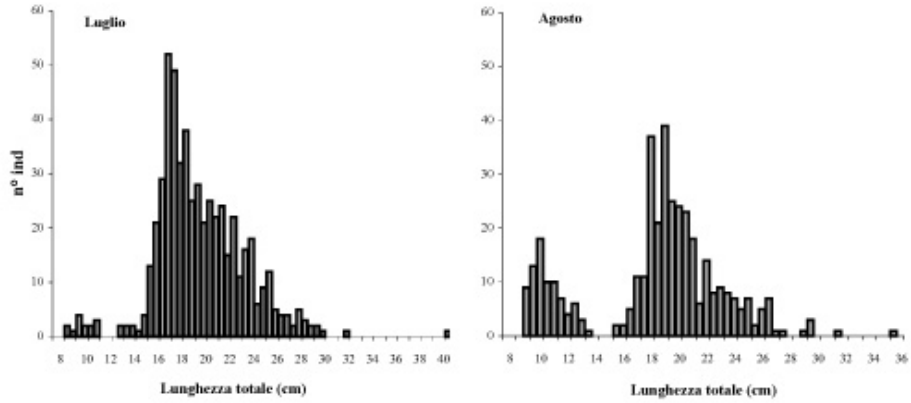


Fig. 1 - Distribuzione di frequenze di lunghezza di *R. asterias* catturati nei due mesi di campionamento.
Lenght frequency distribution of R. asterias *captured in the two sampling months.*

Esse per lo più si sono verificate tra i 10 e 12 m di profondità (Tab. 1). La *sex ratio* di tutti gli individui catturati (nF/nTOT) è risultata pari a 0,48.

Tab. 1 – Numero di individui catturati di *R. asterias* per sesso e numero di cale nei due periodi di campionamento.
Numbers of R. asterias *per sex and tows captured in the two campaigns.*

	Fascia A (<8 m)			Fascia B (8-10 m)				Fascia C (10-12 m)			Fascia D (12-14 m)			Fascia E (>14 m)			*Totale*			
	M	F	n° Cale	non id	M	F	n° Cale	M	F	n° Cale	M	F	n° Cale	M	F	n° Cale	non id	M	F	n° Cale
Luglio	12	18	1		82	88	5	149	138	8	32	32	7	27	27	10		303	302	31
Agosto	11	8	1	1	105	77	6	105	96	5	10	14	2	8	2	2	1	239	197	16
Totale	23	26	2	1	187	165	11	254	234	13	42	46	9	35	29	12	1	541	500	47

A tutt'oggi solo l'1,2% (10 individui) dei marcati sono stati ricatturati per lo più con attrezzi da posta. Ciò è avvenuto nei due mesi successivi al campionamento, a poca distanza dalla costa ed a bassa profondità. Solo in un caso è stato registrato un evidente spostamento verso nord. La mancanza di ricatture in questo periodo può essere probabilmente riferita ad un minor sforzo di pesca nel tratto costiero nei mesi invernali.

I risultati sinora raggiunti incoraggiano la prosecuzione del lavoro, suggerendo di procedere con campionamenti a cadenza stagionale. Risulta infine fondamentale continuare la campagna di divulgazione e sensibilizzazione degli operatori di pesca per poter assicurare la segnalazione della ricattura su esemplari marcati.

Ringraziamenti

Si ringraziano i colleghi A. Voliani ed U. Scacco per il prezioso aiuto durante le campagne di marcatura. Un doveroso ringraziamento va anche al Tenente di Vascello T. Santisi, alla Dr.ssa P. Meschini ed al Dr. A. Lenzi per l'aiuto logistico offerto nelle varie fasi del progetto.

Bibliografia

ABELLA A., AUTERI R., BAINO R., LAZZERETTI A., RIGHINI P., SERENA F., SILVESTRI R., VOLIANI A., ZUCCHI A. (1997) - Reclutamento di forme giovanili nella fascia costiera toscana. *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 172-181.

FULTON T.W. (1893) - An experimental investigation of the migration and rate of growth of the food fishes. *XI Ann. Rep., Fishery Board for Scotland*. Pt. III: 176-196.

HOLDEN M.J. (1972) - The growth rates of *Raja brachyura, R. clavata* and *R. montagui* as determined from tagging data. *J. Cons. int. Explor. Mer*., **34**: 161-168.

JOHNSON F.G. (1979) - The biology of the little skate *Raja erinacea* Mitchell 1825 in Block Island Sound. *M.Sc. Thesis, Univ. Rhodes island, Kingston*, RI: 119 pp.

RICHARDS S.H., MERRIMAN D., CALHOUN L.H. (1963) - Studies on the marine resources of southern New England. IX. The biology of the little skate *Raja erinacea* Mitchell. *Bull Bingham Oceanogr. Coll*., **18** (3): 4-67.

TEMPLEMAN W. (1984) - Migration of thorny skate, *Raja radiata*, tagged in the Newfoundland area. *J. Northw. Atl. Fish. Sci*., **5**: 55-63.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 792-794

M. Dalù, I. Consalvo, G. Candi, M. Romanelli

ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
m.dalu@icram.org

UN ESEMPLARE ERMAFRODITA DI *TORPEDO TORPEDO* (CHONDRICHTHYES, TORPEDINIDAE)

A HERMAPHRODITE SPECIMEN OF TORPEDO TORPEDO *(CHONDRICHTHYES, TORPEDINIDAE)*

Abstract

We report the finding of a hermaphrodite specimen of Torpedo torpedo *out of a sample of 550 fish. Externally the animal was an apparent male, while internally had both testicular and ovarian tissues. The morphology of the reproductive tract and the histological analysis suggests it maintains only the male functional reproductivity.*

Key-words: *marine fish*, *hermaphroditism.*

Introduzione

La torpedine ocellata *Torpedo torpedo* (Linnaeus, 1758) è una specie tipicamente costiera, distribuita in acque basse fino a 150 m di profondità. Essa è presente in tutto il Mediterraneo e le coste orientali dell'Atlantico, dove costituisce una cattura accessoria della pesca commerciale dal basso valore economico. Tra i Narcobatoidei, un gruppo a riproduzione vivipara aplacentata, sono soltanto tre, a nostra conoscenza, le segnalazioni esistenti di casi di ermafroditismo: Quignard e Negla (1971) segnalano un individuo ermafrodita di *T. torpedo,* Nair e Soundararajan (1973) di *Narcine timlei*, mentre Capapè (1974) riporta di alcuni esemplari ermafroditi di *Torpedo marmorata*. Il ritrovamento di esemplari ermafroditi tra gli Elasmobranchi è estremamente raro, ed essi appaiono tra i Vertebrati la classe in cui meno frequentemente si registrano anormalità nel sistema riproduttivo (Atz, 1964). L'insorgenza di anomalie nella espressione dei caratteri sessuali secondari può essere correlata alla presenza nell'ambiente di fattori di disturbo endocrini. In tale senso, il monitoraggio della intersessualità per taluni gruppi di pesci viene adottato come indicatore di uno stress ambientale. Vista la rarità con cui si osserva tale fenomeno tra gli Elasmobranchi ed il potenziale interesse che esso riveste negli studi ambientali appare utile riportare il ritrovamento di esemplari ermafroditi nell'ambito di questo gruppo.

Materiali e metodi

T. torpedo è stata collezionata con campionamenti mensili nel corso del 2001, dallo sbarcato della pesca a strascico del porto di Fiumicino, nel Tirreno centrale. Ciascun esemplare è stato misurato per la lunghezza totale (TL, mm), peso totale (PT, g), la lunghezza degli pterigopodi (PL, mm), il peso delle gonadi (0,1 g) ed il diametro massimo delle uova (MOD, 0,1 mm). L'esemplare oggetto dello studio è stato conservato per un breve periodo congelato ad una temperatura di –25 °C. Dopo la dissezione, le gonadi sono state fissate in alcool 70% per l'esame istologico. Di seguito i tessuti sono stati disidratati, inclusi in paraffina e sezionati al microtomo. Le sezioni dello spessore di

4 µm sono state colorate in Emallume-Eosina, successivamente i preparati istologici sono stati analizzati con l'ausilio di un fotomicroscopio a trasmissione Axiophot ZEISS.

Risultati e conclusioni

La torpedine ermafrodita è risultata l'unico esemplare con anomalie al livello dei caratteri sessuali secondari in un campione di studio di 550 esemplari. Tale osservazione conferma l'estrema rarità della intersessualità tra gli Elasmobranchi. La torpedine misurava 338 mm TL e 615,6 g PT ed aveva le caratteristiche morfologiche esterne di un maschio, con pterigopodi semicalcificati (PL=88 mm) che apparivano normalmente sviluppati se confrontati con gli individui della stessa classe di taglia nel campione di

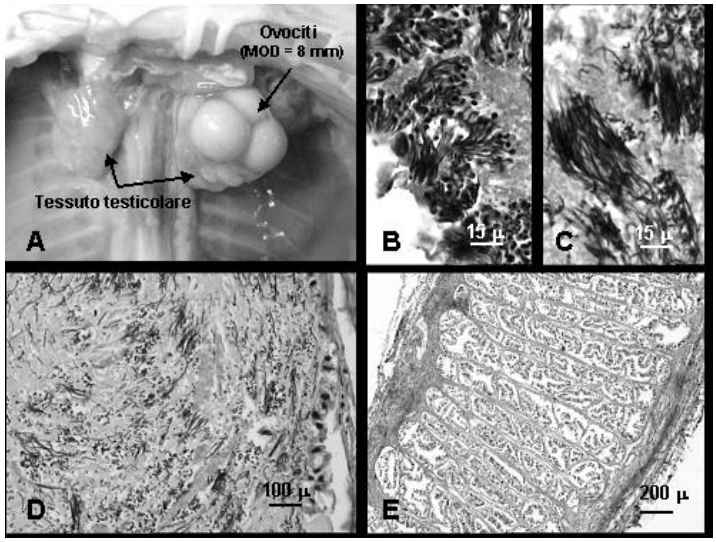


Fig. 1A,B,C,D,E - A, visione macroscopica delle gonadi. Sezioni istologiche mediante fotomicroscopio a trasmissione di: B, spermatidi, C, spermatozoi, D, spermatozoi nei dotti deferenti in una sezione prossima alle gonadi, E, dotti deferenti privi di spermatozoi in una sezione distale dello spermidotto.

A, macroscopic view of the gonads. Histological sections by trasmission photomicroscopy of: B, spermatids, C, spermatozoa, D, spermatozoa in the deferent ducts of a proximal section of the spermiduct, E, absence of spermatozoa in the deferent ducts of a distal section of the spermiduct.

studio.

Internamente, l'animale era caratterizzato da una gonade destra formata di tessuto testicolare, mentre la gonade sinistra presentava sia del tessuto testicolare sia ovarico, con cinque ovociti in avanzato stadio di sviluppo (Fig. 1A). I tratti riproduttivi erano propri di un maschio normale, senza alcuna evidenza della presenza di ghiandole nidamentali. L'assenza di ovidutti esclude, dunque, il mantenimento di una funzione riproduttiva femminile. L'analisi istologica ha evidenziato un'attiva spermatogenesi nelle

regioni testicolari. Come esposto nelle microfotografie si può notare la presenza di spermatidi (Fig. 1B) e spermatozoi (Fig. 1C). Due sezioni trasversali degli spermidutti sono state effettuate in posizione prossimale e distale. Esse hanno rivelato la presenza di spermatozoi nei dotti deferenti, e, tuttavia, limitatamente alla porzione prossima al testicolo (Fig. 1D). La Fig. 1E mostra come gli spermi non siano presenti nella parte distale dei dotti deferenti, i quali appaiono riempiti da cellule dell'epitelio di rivestimento che si sono sfaldate per effetto del congelamento. Tali osservazioni confermerebbero il mantenimento da parte di quest'individuo anomalo di una funzione riproduttiva di tipo esclusivamente maschile.

Bibliografia

ATZ J.W. (1964) - Intersexuality in Fishes. In: C.N. Armstrong e A.J Marshall (eds), *Intersexuality in vertebrates including Man.* Academic Press, Londra: 145-232.

CAPAPE' C. (1974) - Anomalie de l'appareil urogenital chez *Torpedo marmorata* Risso, 1810. *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*: 321-327.

NAIR R.V., SOUNDARARAJAN R. (1973) - On an instance of hermaphroditism in the electric ray, *Narcine timlei* (Bloch and Schneider). *Indian J. Zool.,* **1**: 260-264.

QUIGNARD J.P., NEGLA N. (1971) - Anomalies au niveau du systeme genital chez les Selaciens rajiformes. *Trav. Labo. Biol. Halieutique, Univ. Rennes*, **5**: 121-124.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 795-798

D. Cuccu, P. Addis, F. Damele, G. Manfrin Piccinetti*

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.
*Laboratorio di Biologia Marina e Pesca, Università di Bologna, Fano, Pesaro Urbino, Italia.

PRIMO CENSIMENTO DELLA TEUTOFAUNA DEI MARI CIRCOSTANTI LA SARDEGNA

FIRST CENSUS OF THE TEUTHOFAUNA IN THE SARDINIAN SEAS

Abstract

The list and bathymetric distribution of 36 cephalopod species of the Sardinian Seas are reported. They were collected mostly by means of trawl survey and artisanal gears, even though a pelagic net was employed once. The recorded low frequency of pelagic species is related to the gears used and the opportunity to carry on further investigations focused on the analysis of the pelagic environment is suggested.

Key-words: *Cephalopoda*, *checklist*, *bottom trawl*, *Sardinian Sea, Mediterranean Sea.*

Introduzione

La teutofauna delle acque sarde è ancora scarsamente conosciuta e i dati presenti in letteratura si riferiscono alla costa nord-occidentale (Bonnet, 1965). Nella presente nota si fornisce un primo censimento delle specie presenti nei mari circostanti la Sardegna, con relativa distribuzione batimetrica.

Materiali e metodi

Il materiale oggetto di studio proviene da tredici "bottom trawl surveys" stagionali GRUND (Relini, 1998) e MEDITS (Bertrand *et al*., 2000), effettuati fra il 1995 ed il 2001, e dalle catture di nasse e tremagli operanti nella fascia costiera (anni 1998 – 2001).

Dati aggiuntivi sono stati raccolti nel 1997 in un tratto di mare della costa nord occidentale; in particolare, è stata sperimentata una rete volante pelagica (apertura della bocca ca. 10 m^2), caratterizzata da un sacco interno per trattenere la componente macroscopica ed uno esterno di 2.5 mm di maglia, il tutto integrato dall'uso di retini da plancton (tipo Bongo 60 e FAO).

La lista comprende anche specie rinvenute sulla linea di costa o nei contenuti stomacali di Condroitti e Teleostei. Oltre alla determinazione sistematica delle specie, viene riportata la distribuzione batimetrica di quelle più frequenti e la lunghezza dorsale del mantello (LM) degli esemplari la cui cattura rappresenta un evento eccezionale.

Risultati

Complessivamente sono state censite 36 specie appartenenti a 27 generi, distribuite in 14 famiglie e quattro ordini. Le specie hanno mostrato una distribuzione neritico-batiale, anche se la maggior parte delle catture si è verificata nel livello epi-mesobatiale (Tab. 1).

La maggior parte (>90%) delle specie sono risultate ben rappresentate nelle catture della pesca professionale. Rare ed accidentali, di contro, sono apparse le specie pret-

Tab. 1 – Elenco e relativa distribuzione batimetrica delle specie di molluschi cefalopodi censite nei mari sardi. *Legenda:* CS (contenuti stomacali), PP (pesca professionale), RP (rete pelagica), S (spiaggiamenti), * (raro.), ** (molto raro).

*List and bathymetric distribution of the cephalopods species recorded in the Sardinian Seas. Legenda: CS (stomach contents), PP (commercial fishery), RP (pelagic net), S (strandings), * (rare), ** (very rare).*

Taxon			Profondità (m)
Ordine SEPIIDA Naef, 1916			
Famiglia Sepiidae Leach, 1817			
Sepia elegans Blainville, 1827		PP	34-320
Sepia officinalis Linnaeus, 1758		PP	20-185
Sepia orbignyana Férussac, 1826		PP	70-565
Ordine SEPIOLIDA Fioroni, 1981			
Famiglia Sepiolidae Leach, 1817			
Sottofamiglia Sepiolinae Leach, 1817			
Sepietta oweniana (d'Orbigny, 1841)		PP	53-610
Rondeletiola minor (Naef, 1912)	**	PP	155
Sottofamiglia Heteroteuthinae Appellöf, 1898			
Heteroteuthis dispar (Rüppell, 1844)	*	CS	
Sottofamiglia Rossiinae Appellöf, 1898			
Rossia macrosoma (Delle Chiaje, 1830)		PP	130-660
Neorossia caroli (Joubin, 1902)		PP	230-680
Ordine TEUTHIDA Naef, 1916			
Sottordine MYOPSIDA d'Orbigny, 1840			
Famiglia Loliginidae Lesueur, 1821			
Loligo forbesii Steenstrup, 1856		PP	40-620
Loligo vulgaris Lamarck, 1798		PP	20-270
Alloteuthis media (Linnaeus, 1758)		PP	30-430
Alloteuthis subulata (Lamarck, 1798)		PP	20-145
Famiglia Chtenopterygidae Grimpe, 1922			
Chtenopteryx sicula (Verany, 1851)	**	PP	649
Famiglia Thysanoteuthidae Keferstein, 1866			
Thysanoteuthis rhombus Troschel, 1857	**	PP-S	
Famiglia Brachioteuthidae Pfeffer, 1908			
Brachioteuthis riisei (Steenstrup, 1882)	**	CS–RP	
Famiglia Pyroteuthidae Clarke, 1988			
Pterygioteuthis giardi Fischer, 1895	**	RP	142
Sottordine OEGOPSIDA d'D'Orbigny, 1845			
Famiglia Enoploteuthidae Pfeffer, 1900			
Sottofamiglia Enoploteuthinae Pfeffer, 1900			
Abralia verany (Rüppell, 1844)	**	PP	429-595
Abraliopsis morisii Verany, 1839	**	PP	546
Famiglia Onychoteuthidae Gray, 1847			
Onycoteuthis banksii Leach, 1817	*	PP-RP	209-245
Ancistroteuthis lichtensteinii (Férussac, 1835)	**	PP	546
Famiglia Ommastrephidae Steenstrup, 1857			
Sottofamiglia Illicinae Posselt, 1890			
Illex coindetii (Verany, 1839)		PP	30-660
Todaropsis eblanae (Ball, 1841)		PP	46-660
Sottofamiglia Todarodinae Adam, 1960			
Todarodes sagittatus (Lamarck, 1798)		PP	110-680
Famiglia Histioteuthidae Verrill, 1881			
Histioteuthis bonnellii (Férussac, 1835)		PP	520-680
Histioteuthis reversa (Verrill, 1880)	**	PP-RP	525-663
Famiglia Ancistrocheiridae Clarke, 1988			
Ancistrocheirus lesueurii d'Orbigny, 1842	**	CS–RP	
Ordine OCTOPODA Leach, 1818			
Sottordine INCIRRATA Grimpe, 1916			
Famiglia Octopodidae d'Orbigny, 1840			
Sottofamiglia Octopodinae d'Orbigny, 1840			
Octopus defilippi Verany, 1851	**	PP	236-561
Octopus macropus Risso, 1826		PP	10-100
Octopus salutii Verany, 1839		PP	33-645
Octopus vulgaris Cuvier, 1797		PP	19-196
Scaeurgus unicirrhus (Delle Chiaje, 1841)		PP	33-600
Pteroctopus tetracirrhus (Delle Chiaje, 1830)		PP	52-620
Sottofamiglia Eledoninae Grimpe, 1921			
Eledone cirrhosa (Lamarck, 1798)		PP	33-645
Eledone moschata (Lamarck, 1798)		PP	26-134
Sottofamiglia Bathypolypodinae Robson, 1929			
Bathypolypus sponsalis (P. Fischer & H. Fischer, 1892)		PP	230-600
Famiglia Argonautidae Cantraine, 1841			
Argonauta argo Linnaeus, 1758		PP-S	

tamente pelagiche, che hanno fatto registrare basse frequenze (quasi esclusivamente di forme giovanili) anche nei campionamenti con la rete pelagica. Interessante è la conferma indiretta della presenza di *Brachioteuthis riisei* e *Heteroteuthis dispar* nelle acque sarde, dato il ritrovamento delle loro mandibole nei contenuti gastrici di *Galeus melastomus*.

Eccezionale anche il rinvenimento di *Ancistrocheirus lesueurii* di cui, in aggiunta a due forme giovanili (LM = 11 mm) catturate con la rete pelagica tra i 142 e i 438 metri, è stata reperita, nello stomaco di un esemplare di *Polyprion americanus* (pescato con la rete a strascico), una femmina adulta quasi integra (LM = 200 mm). Unici i ritrovamenti di *Chtenopteryx sicula* (LM = 55 mm) e *Pterygioteuthis giardi* (LM = 25 mm) avvenuti a 649 e a 142 metri di profondità rispettivamente con le reti a strascico e pelagica. Infine, c'è da segnalare la scarsa presenza delle *Sepiolinae;* di questa sottofamiglia, infatti, è stata rinvenuta solo *Sepietta oweniana*.

Conclusioni

Sulla base di questo primo elenco, la teutofauna dei mari sardi è costituita da più del 50% delle specie finora censite nel resto del Mediterraneo (Bello, 1986, 1995). Gli intervalli batimetrici riscontrati per le specie neritiche e batiali, coincidono in linea di massima con quanto noto per il resto del Mediterraneo (Mangold e Boletzky, 1987; Guerra, 1992).

L'uso della rete pelagica in un'area circoscritta e l'inadeguatezza delle reti da pesca professionali per la cattura di specie pelagiche, giustificherebbe la bassa frequenza riscontrata per queste specie, evidenziando la necessità di ulteriori investigazioni mirate alla fauna pelagica. La presenza di molte specie nella dieta dei Condroitti potrebbe indicare per le stesse una frequenza maggiore di quella riscontrata. Ciò suggerisce come l'esame dei contenuti gastrici di predatori teutofagi potrebbe contribuire al rinvenimento di specie finora non segnalate, fornendo una rappresentazione della teutofauna pelagica più reale e completa, così come si è verificato in Adriatico (Bello, 1996).

L'unico rinvenimento di *C. sicula* nelle acque sarde si aggiunge in Mediterraneo alle catture sporadiche dello Stretto di Sicilia (Jereb e Ragonese, 1990) mentre quello di *A. lesueurii*, estende la presenza della specie, già documentata nel Mediterraneo orientale (Bello, 1991; D'Onghia *et al*., 1997; Lefkaditou *et al*., 1999) e nello Stretto di Messina (Bello *et al.*, 1994), anche nel bacino centro-occidentale.

Bibliografia

BELLO G. (1986) - Catalogo dei Molluschi Cefalopodi viventi nel Mediterraneo. *Boll. Malacol.,* **22** (9-12): 197-214.

BELLO G. (1991) - Role of Cephalopods in the diet of the swordfish, *Xiphias gladius*, from the eastern Mediterranean Sea. *Bull. Mar. Sci.*, **49** (1-2): 312-324.

BELLO G. (1995) - Cephalopoda. Checklist delle specie della fauna italiana. In: Minelli A., Ruffo S., La Posta S. (eds), *Calderini*, Bologna, 18.

BELLO G. (1996) - Theuthophagous predators as collectors of oceanic cephalopods: the case of the Adriatic Sea. *Boll. Malacol.,* **32** (1-4): 71-78.

BELLO G., POTOSCHI A., BERDAR A. (1994) – Adult of *Ancistrocheirus lesueurii* caught in the straits of Messina (Cephalopoda: Ancistrocheiridae). *Boll. Malacol.,* **29**: 259-266.

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) - An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. In: Bertrand J.A. and Relini G. (eds), *Demersal resources in the Mediterranean*, Proceedings of the Symposium

held in Pisa, 18-21 march 1998. Actes de colloques, IFREMER, Plouzané, **26**: 76-93.
BONNET M. (1965) - Remarques sur l'écologie des Céphalopodes des côtes de Sardaigne et de Corse capturé par la «Thalassa» en novembre et décembre 1963. *Rapp. Comm. int. Mer. Médit.,* **18** (2): 235-240.
D'ONGHIA G., MAIORANO P., TURSI A. (1997) – Morphometric and biological data on *Ancistrocheirus lesueurii* (Orbigny, 1842) from the middle Eastern Mediterranean Sea. *Sci. Mar*., **61** (2): 389-396.
GUERRA A. (1992) - Mollusca, Cephalopoda. In: Ramos, M.A. *et al.* (eds), Fauna Iberica, *Museo Nacional de Ciencias Naturales*, CSIC, Madrid, **1**: 327 pp.
JEREB P., RAGONESE S. (1990) - Sui Cefalopodi di scarso o nullo interesse commerciale nel Canale di Sicilia. *Oebalia,* **16** (2): 689-692.
LEFKADITOU E., PAPACONSTANTINOU C., ANASTASOPOULOU K. (1999) - Juvenile Cephalopods collected in the midwater macroplankton over a trench in the Aegean Sea (north-eastern Mediterranean). *Israel J. Zool.,* **45**: 395-405.
MANGOLD K., BOLETZKY S.V. (1987) - Céphalopodes. In: Fischer W., Bauchot M.L., Schneider M. (eds), *Fisches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche*. Méditerranée et mer Noire, *FAO*, Roma, **1**: 633-714.
RELINI G. (1998) – Valutazione delle Risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 799-802

M. Dalù, S. Clò, R. Danovaro*, M. Vacchi

ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
m.dalu@icram.org
*Istituto Scienze del Mare, Università di Ancona, Italia.

LO SQUALO DI PROFONDITÀ *CENTROSCYMNUS COELOLEPIS* IN MEDITERRANEO: UNA POPOLAZIONE ISOLATA ?

THE MEDITERRANEAN DEEP-SHARK CENTROSCYMNUS COELOLEPIS*: A SEPARATE POPULATION?*

Abstract

We formulate the hypothesis that Mediterranean specimens of Centroscymnus coelolepis *belong to a segregated population. Based on our data and literature we argue that Mediterranean specimens have a marked lower size and a deeper distribution than Pacific and Atlantic populations. Some biological data on reproduction are given for this deep-shark poorly studied in Mediterranean.*

Key-words: *deep-sea fisheries, population characteristics.*

Introduzione

Lo squalide *Centroscymnus coelolepis* Bocage e Capello, 1864 ("Portuguese dogfish") è una specie di profondità ad ampia distribuzione geografica, generalmente catturata nell'intervallo di profondità 270-3700 m (Compagno, 1984). La specie raggiunge la taglia massima di 122 cm LT (Girard e Du Buit, 1999). La pesca commerciale avviene con reti a strascico e palangaro di profondità. *C. coelolepis* è spesso ritrovato nei mercati dell'Atlantico NE, dove è commercializzato fresco o essiccato per il consumo umano (Fischer *et al*., 1987). Soltanto pochi studi riportano dati per questa specie nel Mediterraneo (Moureau, 1881; Roule, 1912, 1919; Grey, 1956; Torchio e Michelangeli, 1971; Albertelli e Drago, 1991; Carrasson *et al*., 1992). In Mediterraneo, *C. coelolepis* è stato catturato solo a profondità maggiori di 1350 m fino ad una profondità massima di 2863 m (Grey, 1956) mentre la taglia massima riportata è di 65 cm di lunghezza totale (Roule, 1912).

Materiali e metodi

Il campione è stato raccolto nel corso di campagne oceanografiche del progetto ADIOS, in tre stazioni del Mediterraneo occidentale, effettuate nel marzo 2001 (St. 1: 2853 m prof., 39°25'N, 06°04'E; St. 2: 2850 m, 38°14'N, 07°09'E) e nel novembre 2002 (St. 3: 2798 m, 38°18'N, 07°50'E). La cattura è avvenuta mediante un dispositivo di cattura formato da due trappole cilindriche ed una tronco-conica innescate. Una trappola cilindrica, di maggiore dimensione, aveva una lunghezza di 250 cm e 100 cm di diametro con un'apertura di 20 cm, le due trappole minori avevano una lunghezza di 100 cm e 50 cm di diametro con una singola apertura di 10 cm. Il tempo di pesca è variato tra le 36 e le 72 ore. Complessivamente sono stati catturati 46 individui, di cui 36 femmine e 10 maschi. La lunghezza totale (LT, mm) è stata misurata sugli esemplari dissezionati freschi o dopo una breve conservazione a –18 °C. La determinazione della maturità sessuale è stata effettuata sulla base di Girard e Du Buit (1999, adattato da Stehmann, 1987).

Risultati

La lunghezza dei pesci nel nostro campione è compresa tra 320-650 mm LT nelle femmine e 346-560 mm LT nei maschi (Fig. 1). Tale cattura è stata effettuata mediante nasse caratterizzate da differenti dimensioni ed aperture della bocca, al fine di campionare in un ampio intervallo di taglia. L'esemplare di maggiore lunghezza da noi rilevato (LT = 650 mm) eguaglia la massima taglia sinora riportata, a nostra conoscenza, in Mediterraneo per questa specie (Roule, 1912). Analogamente, Carrasson *et al.* (1992), in uno studio effettuato in Mediterraneo fino a 2251 m di profondità mediante reti a strascico, non catturarono esemplari maggiori di 600 mm LT.

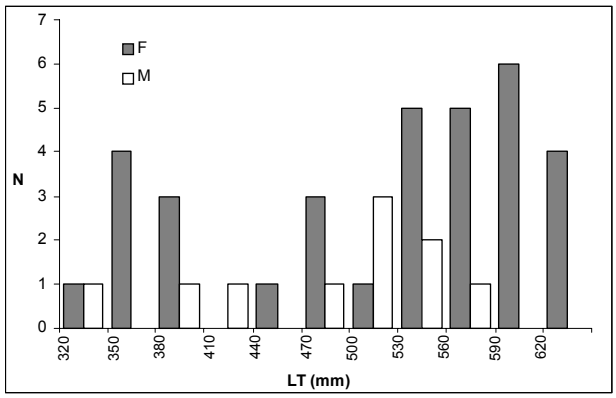


Fig. 1 – Distribuzione di frequenza della lunghezza per sessi.
Frequency distribution of length by sexes.

La taglia massima per il Mediterraneo è sensibilmente inferiore alla taglia massima riportata in letteratura per questa specie (1220 mm LT, Girard e Du Buit, 1999). Osservando le taglie minime in cui è raggiunta la maturità sessuale nel nostro campione, possiamo confermare tale netta distinzione in termini di taglia tra gli esemplari mediterranei e le popolazioni atlantiche e pacifiche. Infatti, come esposto in Fig. 2, la maturità sessuale del nostro campione è raggiunta ad una lunghezza considerevolmente inferiore rispetto a quella stimata per le popolazioni dell'Atlantico NE (Girard e Du Buit, 1999) e del Pacifico NO (Yano e Tanaka, 1988).

Malgrado la maturazione sessuale sia raggiunta ad una taglia molto inferiore, il diametro massimo delle uova mature da noi registrato (47 mm) è di poco inferiore a quello riportato per l'Atlantico NE ed il Pacifico NO dagli stessi autori (50-60 mm). La taglia alla nascita in Mediterraneo deve essere dedotta dalla letteratura. Moureau (1881) misurò embrioni di 100 mm LT, Torchio e Michelangeli (1971) hanno descritto un esemplare neonato di 225 mm LT, Carrasson *et al.* (1992) catturarono individui a partire da 190 mm LT, mentre per l'Atlantico NE la taglia alla nascita è stata stimata a circa 300 mm (Girard e Du Buit, 1999).

La distribuzione batimetrica di *C. coelolepis* in Mediterraneo è poco conosciuta. Soltanto tre lavori riportano dati sulle catture di questa specie (Roule, 1912, 1919; Grey, 1956; Carrasson *et al*., 1992). In essi, *C. coelolepis* è stato catturato soltanto nella

parte inferiore della scarpata continentale, tra 1350-2700 m prof. Le nostre catture sono state effettuate in stazioni poste a circa 2850 m di profondità. Diversamente, in Atlantico e nel Pacifico, *C. coelolepis*, pur catturato fino a 3000 m di profondità, presenta la maggior abbondanza a profondità inferiori rispetto al Mediterraneo (400-1000 m in Pacifico; 900-1400 m in Atlantico). In queste popolazioni le femmine gravide si ritrovano esclusivamente nelle acque meno profonde, le femmine pre-ovulatorie ed i maschi maturi sono predominanti negli strati intermedi dell'intervallo di distribuzione della specie, mentre negli strati più profondi s'incontrano prevalentemente individui immaturi (Yano e Tanaka, 1988; Girard e Du Buit, 1999; Clarke *et al.*, 2001). I pochi dati disponibili in Mediterraneo non permettono di evidenziare una segregazione batimetrica sulla base della taglia, sesso o stadio di maturazione sessuale.

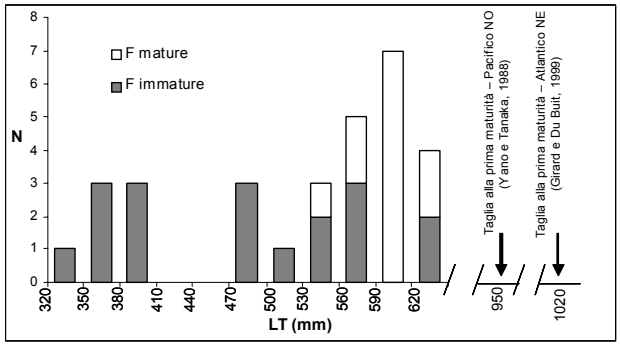


Fig. 2 – Distribuzione di frequenza delle lunghezze per le femmine suddivise in base alla maturità sessuale, ed indicazione della taglia alla prima maturità sessuale stimata per altre popolazioni.
Frequency distribution of lengths for the females by sexual maturity. Length at first sexual maturity estimated for other populations is shown.

Conclusioni

Il nostro lavoro indica per la popolazione mediterranea di *C. coelolepis* che essa possa costituire una popolazione distinta ed apparentemente segregata rispetto alla limitrofa popolazione atlantica. Nei confronti delle popolazioni studiate in Atlantico NE e Pacifico NO, essa è caratterizzata da dimensioni considerevolmente inferiori e da una distribuzione batimetrica più profonda. Nonostante l'importanza di tale tipo d'informazione nella gestione delle popolazioni, questo genere di dati è carente per la maggior parte degli squali di profondità. Gli squaloidi di profondità appaiono caratterizzati da un basso tasso di crescita e da una tardiva maturazione sessuale, con prolungata gestazione e bassa fecondità, in misura maggiore rispetto agli squali di acque superficiali. Tali caratteristiche rendono, in generale, i pesci cartilaginei particolarmente vulnerabili all'impatto della pressione di pesca. Per tale ragione, la conoscenza delle caratteristiche biologiche di base della popolazione e la definizione dell'identità di uno stock costituiscono un'informazione essenziale ai fini di una pratica di gestione volta ad evitare il sovrasfruttamento.

Bibliografia

ALBERTELLI G., DRAGO N. (1991) - Indagini preliminari sulla fauna batiale (Mare di Sardegna). In: Bregant D., Fanzutti G.P. (eds), *Atti dell'8° Congresso AIOL*. Pallanza 1-3 giugno 1988, **8**: 53-58.

CARRASSON M., STEFANESCU C., CARTES J.E. (1992) - Diets and bathymetric distributions of two bathyal sharks of the Catalan deep sea (western Mediterranean). *Mar Ecol Progress Ser*., **82**: 21-30.

CLARKE M.V., CONNOLLY P.L., BRACKEN J.J. (2001) – Aspects of reproduction of the deep water sharks *Centroscymnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus* from west of Ireland and Scotland. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* **81**: 1019-1029.

COMPAGNO L.J.V. (1984) - FAO species catalogue. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date, Part I. *Fisheries Synopsis, FAO*, **125**: 249 pp.

FISCHER W., BAUCHOT M., SCHNEIDER M. (1987) – *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pèche (Rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pèche 3. Vèrtebrès.* Rome FAO, **2**: 761-1530.

GIRARD M., DU BUIT M-H. (1999) - Reproductive biology of two deep-water sharks from the British Isles, *Centroscymnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus* (Chondrichthyes: Squalidae). *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* **79**: 923-931.

GREY M. (1956) - The distribution of fishes found below a depth of 2000 m. *Fieldiana, Zool*., 36 (2): 75-183.

MOUREAU (1881) - *Histoire naturelle des Poissons de la France*. Paris, 1.

ROULE L. (1912) - Notice sur les Selaciens conserves dans les collections du Musee Oceanographique. *Bull. Inst. Oceanogr.,* **243**: 1-36.

ROULE L. (1919) - Poissons provenant des croisieres du yacht "Princesse Alice" (1891-1919) et du yacht "Hiroundelle II" (1914). *Res. Camp. Sci. Monaco,* **52**: 190 pp.

STEHMANN M. (1987) - Quick and dirty tabulation of stomach contents and maturity stages for skates (Rajidae), squaloid and other ovoviviparous and viviparous species of sharks. *AES Newsletter*, **3**: 5-9.

TORCHIO M., MICHELANGELI M. (1971) - Prima segnalazione in acque italiane di uno squalide del genere *Centroscymnus*. *Natura*. Milano, **62** (3): 241-245.

YANO K., TANAKA S. (1988) - Size at maturity, reproduction cycle, fecundity, and depth segregation of the deep sea squaloid sharks *Centroscymnus owstoni* and *Centroscymnus coelolepis* in Suruga Bay, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**: 167-174.

Questo lavoro è stato realizzato nell'ambito del programma ADIOS *Atmospheric Deposition and Impact of Pollution, Key elements and nutrients on the open Mediterranean Sea*. Un progetto di ricerca della Commissione Europea (EVK3-CT-2000-00035), di cui il CoNISMa - ULR Ancona è Partner.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 803-807

M. Deflorio, A. Aprea, N. Santamaria, A. Corriero, D. Zubani, E. Terio, V. Sciscioli, G. De Metrio

Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Università di Bari, Str. Prov. per Casamassima km 3 70010 Valenzano, Bari, Italia.

CATTURE ACCIDENTALI DI TARTARUGHE MARINE NELLA PESCA DEI GRANDI PELAGICI NEL MAR IONIO

MARINE TURTLES AS BY-CATCH OF THE LARGE PELAGIC FISHING IN THE IONIAN SEA

Abstract

Accidental catches of marine turtles during swordfish and albacore drifting long line fishery were monitored by means of observations on board of professional vessels in the northern and southern Ionian Sea during 1999 and 2000. Fishing data, biometrics measures and information about gear/turtle interaction were collected. Tagging operations were also carried out.

Key-words: *marine turtle, large pelagic fishery, long line, by-catch, Ionian Sea.*

Introduzione

Le tartarughe marine sono parte integrante dell'erpetofauna mediterranea (UNEP/IUCN, 1990) ma le notizie riguardanti la loro consistenza numerica derivano soprattutto da avvistamenti, spiaggiamenti e catture accidentali effettuate con gli attrezzi da pesca. De Metrio *et al*. (1982; 1983), infatti, già osservarono la presenza nel Mar Ionio di tartarughe marine, soprattutto quelle appartenenti alla specie *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), nel by-catch della pesca al pesce spada (*Xiphias gladius* Linnaeus, 1758) e all'alalunga (*Thunnus alalunga* Bonnaterre, 1788) effettuata con differenti attrezzi da pesca. Gli attrezzi più coinvolti nelle catture accidentali sono reti e long line derivanti. Le reti derivanti sono spesso causa di morte per annegamento o soffocamento mentre gli ami dei long lines, restando ancorati in diversi tratti dell'apparato digerente, possono causare indirettamente la morte dell'animale per sanguinamento, inedia e/o problemi d'alimentazione (De Metrio *et al*., 1988). Il presente lavoro, realizzato nell'ambito del progetto comunitario N. 98/008/DGXIV/C1, consiste nella collezione di dati di cattura di tartarughe marine e di sforzo di pesca, nel corso della pesca ai grandi pelagici effettuata con il long line nel Mar Ionio negli anni 1999 e 2000.

Materiali e metodi

L'indagine fu condotta nel Mar Ionio settentrionale e meridionale, negli anni 1999 e 2000, mediante osservatori a bordo di barche professionali attrezzate, a seconda del periodo dell'anno, con long lines per pesce spada (SWO-LL) e per alalunga (ALB-LL). Furono seguite complessivamente 434 operazioni di pesca e collezionati dati ed informazioni riguardanti lo sforzo di pesca (E), il numero di tartarughe rinvenute come by-catch per ogni set di pesca, le coordinate geografiche di cattura delle tartarughe e la composizione delle catture per attrezzo. Furono calcolate le catture per unità (1000 ami) di sforzo di pesca (CPUE) in numero di esemplari, dato che non fu sempre possibile ottenere il peso di ogni animale, ed il numero di tartarughe per ogni operazione

di pesca (set). Inoltre, per le tartarughe che furono portate a bordo, fu registrata la lunghezza (cm) della curva standard del carapace (CSCL), misurata lungo il carapace con un nastro millimetrato flessibile dal centro del margine anteriore della piastra nucale alla punta distale della piastra marginale posteriore. Furono anche condotte osservazioni sulla modalità di cattura delle tartarughe e sulla loro vitalità. Inoltre, 164 tartarughe furono marcate con targhette metalliche, applicate agli arti anteriori, prima di essere rilasciate.

Risultati

Durante le stagioni di pesca dei grandi pelagici 1999 e 2000, furono catturate nel Mar Ionio 220 tartarughe marine, di cui 218 *Caretta caretta* e 2 *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758). La distribuzione geografica dei luoghi di cattura di questi individui è riportata in Fig. 1. Il numero di tartarughe catturate e il numero di set osservati a bordo per area, attrezzo e anno, insieme al numero di tartarughe/set, sono riportati nella tabella 1.

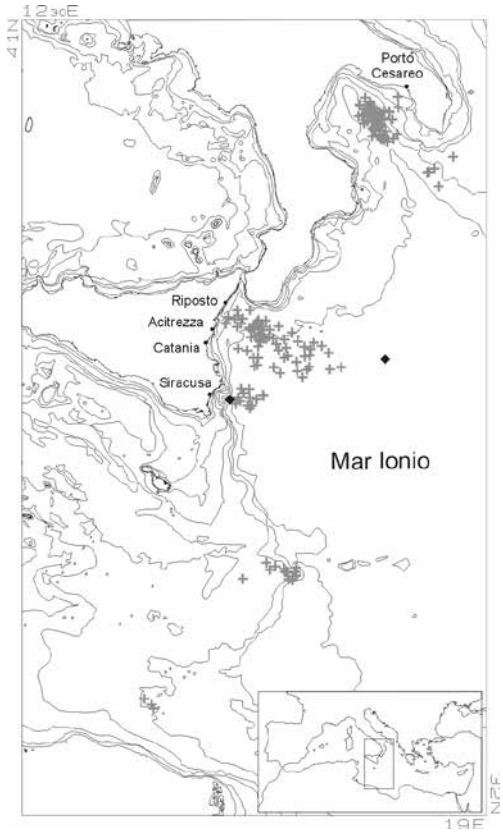


Fig. 1 - Catture di *C. caretta* (+) e di *C. mydas* (◆) nel Mar Ionio registrate durante le osservazioni condotte a bordo negli anni 1999 e 2000.

Catch points of loggerheads (+) and green turtles (◆) caught in the Ionian Sea during on board observations carried out in 1999 and 2000.

Tab. 1 - Numero di tartarughe marine catturate e di sets osservati a bordo, negli anni 1999 e 2000 nel Mar Ionio, e valori di tartarughe/set per attrezzo di pesca.
Number of marine turtles and fishing sets observed during 1999-2000 in the Ionian Sea and turtle/set values.

		SWO-LL		ALB-LL		TOTALE		
		1999	2000	1999	2000	1999	2000	1999+2000
Mar Ionio settentrionale	N° tartarughe marine	11	19	12	45	23	64	87
	n° set	91	55	39	33	130	88	218
	n° tartarughe/set	*0,12*	*0,35*	*0,31*	*1,36*	*0,18*	*0,73*	*0,40*
Mar Ionio meridionale	N° tartarughe marine	54	51	nd	28	54	79	133
	n° set	109	57	nd	50	109	107	216
	n° tartarughe/set	*0,50*	*0,90*	*nd*	*0,56*	*0,50*	*0,74*	*0,62*
Mar Ionio	N° tartarughe marine	65	70	12	73	77	143	220
	n° set	200	112	39	83	239	195	434
	n° tartarughe/set	*0,33*	*0,63*	*0,31*	*0,88*	*0,32*	*0,49*	*0,51*

nd = non disponibile

Nello Ionio settentrionale, i valori di cattura in numero di tartarughe marine per unità di sforzo di pesca per anno e attrezzo furono: 0,08 e 0,13 nel 1999; 0,21 e 0,49 nel 2000, rispettivamente per il long line per pesce spada e per alalunga; mentre nello Ionio meridionale furono: 0,41 per il primo attrezzo nel 1999; 0,71 e 0,20 nel 2000, rispettivamente per il primo ed il secondo attrezzo. In Fig. 2 sono riportati lo sforzo di pesca e le CPUE (N) mensili di tartarughe marine separatamente per attrezzo e area di pesca, nei due anni d'indagine. Le percentuali in numero di tartarughe marine catturate, rispetto al pescato totale, variarono da 0,5% (n° totale: 2588) nel 1999 per lo Ionio settentrionale nel corso della pesca all'alalunga, a 15,7% (n° totale: 325) nel 2000 per lo Ionio meridionale durante la pesca al pesce spada.

Le misure delle lunghezze della curva standard del carapace (CSCL) furono rilevate su 208 *Caretta caretta* e risultarono comprese tra 19,0 cm e 77,5 cm. Nella Fig. 3 sono rappresentate le distribuzioni di frequenza della CSCL delle tartarughe *Caretta caretta* catturate nel Mar Ionio separatamente per attrezzo di pesca. Il valore della taglia media degli esemplari catturati con il long line per alalunga fu di 37,2 cm mentre quello degli esemplari catturati con il long line per pesce spada fu di 44,2 cm.

La differenza della taglia media delle tartarughe catturate con i due attrezzi di pesca, risultò statisticamente significativa ($F=22,2$; $p<0,01$). Le misure dei due individui di *Chelonia mydas* catturati una per anno nello Ionio meridionale furono: a) CSCL=38,0 cm; b) CSCL=36,4 cm. Le diverse modalità con la quali le tartarughe marine erano catturate dall'attrezzo furono osservate su 177 esemplari: la maggior parte di essi furono catturati con l'amo (86%) - e tra questi tutte le tartarughe catturate con il long line per alalunga - mentre gli altri rimasero impigliati alla lenza del long line (14%). La posizione dell'amo fu registrata su un totale di 155 tartarughe: il 50,9% fu catturato con l'amo in diverse parti della bocca, il 42,5% con l'amo in profondità nel tubo digerente ed il 6,6% con l'amo in altre parti del corpo. Il tentativo di rimozione dell'amo prima del rilascio in libertà fu sempre difficoltoso, soprattutto quando si presentava in posizione molto profonda nel cavo orale, e fu eseguito con successo solo su 82 esemplari. Comunque, tutte le tartarughe marine catturate che furono portate a bordo

(n° 208) mostrarono buone condizioni fisiche al momento sia della cattura sia del rilascio in libertà.

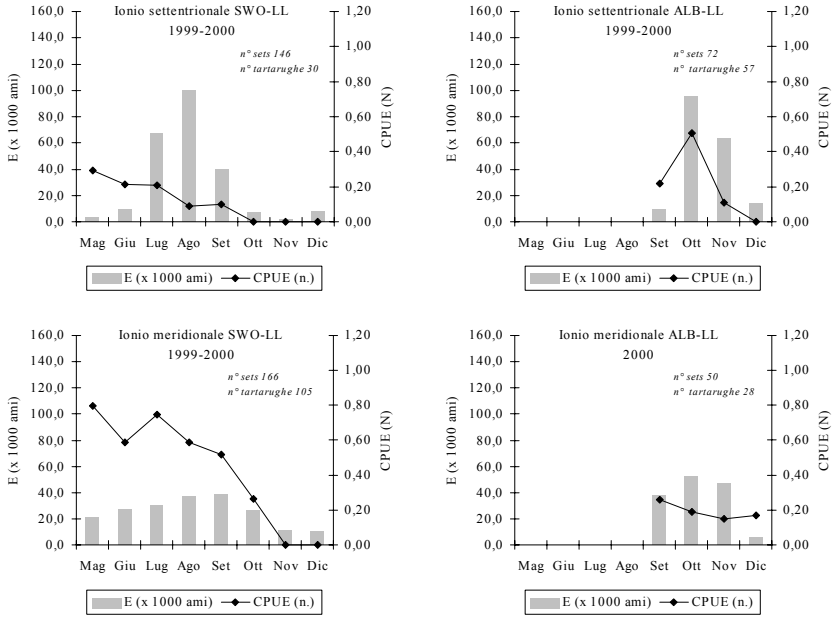


Fig. 2 – Trend mensile dello sforzo di pesca (E) e delle CPUE (N) delle tartarughe marine catturate nello Ionio con il long line per pesce spada e per alalunga negli anni 1999-2000.

Monthly trend of effort (E) and CPUE (N) of marine turtles caught in the Ionian Sea by swordfish and albacore long lines during 1999-2000.

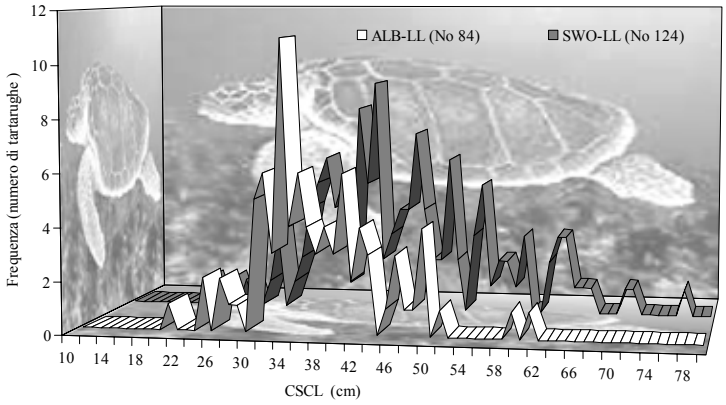


Fig. 3 – Distribuzione di frequenza della lunghezza della curva standard del carapace di *Caretta caretta* catturata nel Mar Ionio con i long lines per pesce spada e per alalunga durante gli anni 1999-2000.

Frequency distribution of curve standard carapace length of Caretta caretta *caught in the Ionian Sea by swordfish and albacore long lines during 1999-2000.*

Conclusioni

Considerando il pescato totale in numero di animali, realizzato nel corso delle osservazioni a bordo condotte negli anni 1999 e 2000, la percentuale di tartarughe marine catturate nel Mar Ionio fu diversa secondo l'area di pesca e l'attrezzo utilizzato. In ogni caso, le tartarughe catturate nello Ionio meridionale furono più numerose di quelle catturate nello Ionio settentrionale. Per quest'ultima area di pesca, inoltre, il confronto dei dati di CPUE (N) di *Caretta caretta* del presente lavoro con quelli riportati da De Metrio *et al.* (1983) per il periodo 1978-1981, non evidenziò importanti differenze. Il valore della taglia media risultò minore per gli esemplari catturati con il long line per alalunga e maggiore per quelli catturati con il long line per pesce spada. Tutte le tartarughe marine furono catturate e rilasciate in buone condizioni di salute. Studi più approfonditi sulla selettività degli attrezzi da pesca, sulla mortalità post-rilascio - soprattutto per le tartarughe a cui non viene rimosso l'amo - sulle migrazioni trofiche e genetiche e su altri aspetti importanti della biologia delle tartarughe sarebbero auspicabili.

Ringraziamenti

Si ringraziano Angelo Di Sabato, Annunziata Marinelli, Enzo Pesola e Martino Cacucci per il loro contributo alla realizzazione del presente lavoro.

Bibliografia

DE METRIO G., PETROSINO G., TURSI A. (1982) - Captures de tortue marines *Caretta caretta* L. et *Dermochelis coriacea* L. dans la Mer Ionienne. *C.I.E.S.M.*: Assemble plenier, Cannes 2/XII.

DE METRIO G., PETROSINO G., MATARRESE A., TURSI A., MONTANARO C. (1983) - Importance of the fishery activities with drift lines on the populations of *Caretta caretta* (L.) and *Dermochelis coriacea* (L.) (Reptilia, Testudines), in the Gulf of Taranto. *Oebalia*, **9**: 42-53.

DE METRIO G., MEGALOFONOU P. (1988) - Mortality of marine turtles (*Caretta caretta* L. and *Dermochelis coriacea* L.) consequent to accidental capture in the Gulf of Taranto. *C.I.E.S.M.,* **31** (2): 284-285.

UNEP/IUCN (1990) - Report of the status of Mediterranean marine turtles. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens.

Il presente lavoro è stato realizzato con il supporto finanziario della Comunità Europea DG XIV - Progetto Comunitario N. 98/008 "Assessing marine turtle by-catch in European drifting long line and trawl fisheries for identifying fishing regulations".

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 808-813

E. Fanelli, A. Belluscio*

I.C.R.A.M., Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare, Via di Casalotti, 300 00166 Roma, Italia.
*Dip. Biol. Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza", V.le dell'Università, 32 00185 Roma, Italia.

SOME ASPECTS OF REPRODUCTIVE BIOLOGY OF PANDALID SHRIMPS OF THE GENUS *PLESIONIKA* (BATE, 1888) (CRUSTACEA, DECAPODA) IN THE CENTRAL THYRRENIAN SEA

ALCUNI ASPETTI DELLA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DEI PANDALIDI DEL GENERE PLESIONIKA *(BATE, 1888) (CRUSTACEA, DECAPODA) NEL MAR TIRRENO CENTRALE*

Abstract

Some aspects of the reproductive biology of pandalid shrimps of the genus Plesionika *(Bate, 1888) (Crustacea, Decapoda) were investigated, based on a total of 12344 specimens collected during five seasonal trawl surveys. Ovigerous females occur throughout the sampled seasons with an high frequency revealed in summer. Minimum size of ovigerous females, seasonal distribution by depth and sex ratio are also studied.*

Key-words: *reproduction, Pandalidae,* Plesionika, *Tyrrhenian sea.*

Introduction

The genus *Plesionika* is represented in the Mediterranean Sea by 6 species very common on muddy bottoms of the continental slope: *Plesionika acanthonotus*, *P. antigai*, *P. edwardsii*, *P. gigliolii*, *P. heterocarpus*, *P. martia* and by *Plesionika narval,* a species inhabiting hard and coastal bottoms (Holthuis, 1987; Froglia, 1995).

These six species are not distributed homogeneously in the study area and an higher concentration is observed between Anzio and Civitavecchia (Fanelli *et al*., 2001).

The aim of this study is to contribute to the knowledge of the reproductive biology of these species both for their important role in the biodiversity of crustacean fauna in the Mediterranean Sea and for management purposes.

Materials and methods

Within two "assessment of demersal resources" projects, called GRUND e MEDITS (Relini, 1998), a total of 12344 specimens were examined. The material was collected during five trawl surveys carried out during October 1997, July 1997 and 1998, July and October 2000 between Giannutri island on the north and the Garigliano river mouth on the south, from 10 to 800 m of depth. The *Plesionika* shrimps were weighted and identified, all specimens were separated with respect to their ovigerous or non-ovigerous condition and counted. The carapace length (CL) was measured (± 0.1 mm) dorsally from the posterior edge of the eye socket to the posterior edge of the carapace using a vernier caliper. The sex of non – ovigerous shrimps was determined only for the specimens of the 2000 surveys, according to the presence/absence of the appendix masculina on the endopod of the second pleopod (King & Moffitt, 1984).

The seasonal distribution of shrimps depth for ovigerous females and non ovigerous

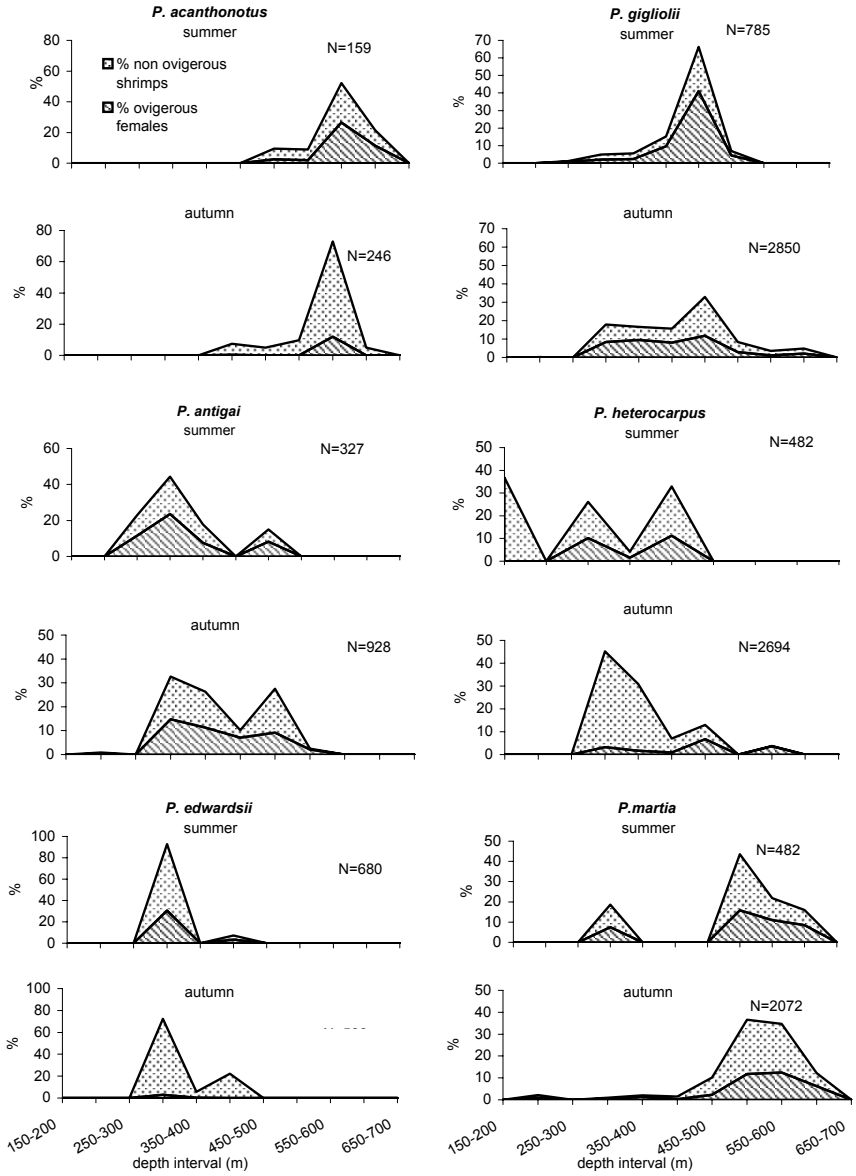


Fig. 1 - Seasonal (summer and autumn) depth distribution of *Plesionika* species. Total shrimps (in %) and ovigerous females presented separately.

Distribuzione stagionale (estate ed autunno) delle specie di Plesionika*. I gamberi totali (in %) e le femmine ovigere sono state presentate separatamente.*

specimens was investigated at 50 m depth intervals. Sex ratios were analysed by size–class. Percentage of abundance of ovigerous females are referred to July and October 2000.

Results

Seasonal bathymetric distribution of total shrimps and ovigerous females is represented in Fig.1. Data from all surveys (1997-2000) were unified and also for 2000 females without eggs and males were classified as "total shrimps". For *Plesionika acanthonotus*, ovigerous females occurred throughout the sampled seasons from 497 m to 620 m of depth. Ovigerous females of *P. antigai* were found in both sampled seasons with an higher abundance (>12% of total caught specimens) between 300 and 350 m, but in summer they were present with a more coastal group (from 165 m of depth) while in autumn also with a more deeper group (up to 550 m of depth). The bulk of ovigerous females of *P. edwardsii* (>30%) occurred in summer between 300 and 350 m, but they were found up to 452 m deep. Ovigerous females of *P. gigliolii* were present between 207 m and 616 m depth, the highest abundance (>40%) was observed in summer between 450 and 500 m depth. For *P. heterocarpus* ovigerous females were found in summer between 165 m and 350 m deep, while in autumn between 372 and 584 m deep. *P. martia* showed in summer ovigerous females over a wide depth range from 207 m to 630 m, with two distinct group: 207–350 m and 450– 630 m depth; in autumn the higher number of ovigerous females was concentrated between 500 and 650 m depth.

Statistical data on the size of the shrimps examined by sex and reproductive group are summarized in table 1. For all the species females mean size was higher than males one. Minimum size of ovigerous females was 8 mm CL for *P. antigai*, 9 mm CL for *P. gigliolii* and *P. martia*, 10 mm CL for *P. heterocarpus* and *P. acanthonotus*, 16 mm CL for *P. edwardsii*.

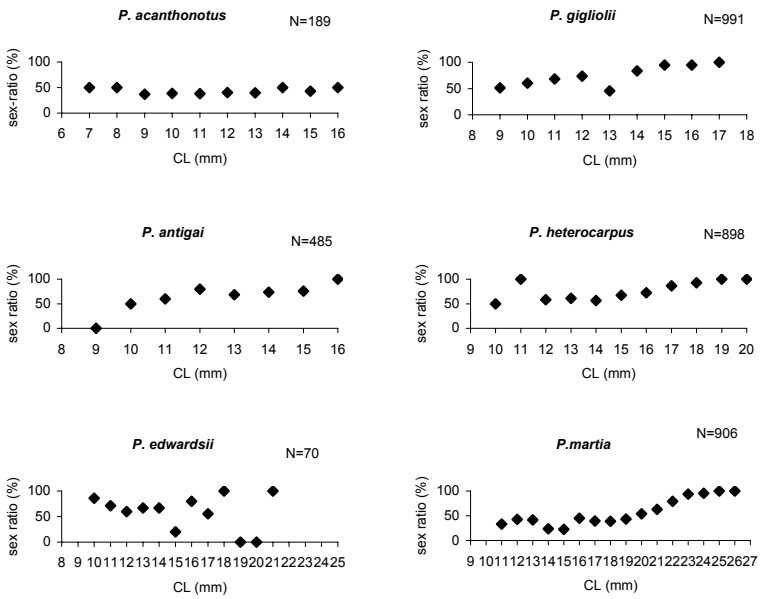


Fig. 2 - Relationship between sex ratio frequency (female ×100/females+males) and size of *Plesionika* species in summer and autumn 2000.

Relazione tra frequenza della sex ratio e taglia nelle specie di Plesionika *in estate e autunno 2000.*

Concerning the sex ratio (based only on July and October samplings), for *P. antigai*, *P. gigliolii*, *P. heterocarpus* and *P. martia*, females dominated the bigger length classes (Fig. 2), whereas for *P. acanthonotus* sexes were equally represented (average value: 43%). Sex ratio of this species was estimated on the base of samples from summer 2000, because in autumn only one ovigerous female was caught. In *P. martia* females dominated the bigger length classes in both the seasons, but in summer the smaller length classes were not possible to attributed to a clear pattern (Fig. 3).

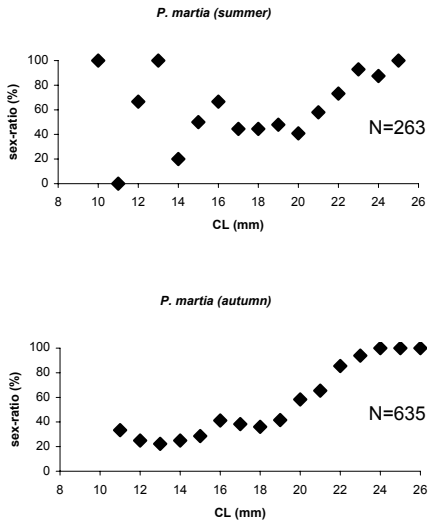


Fig. 3 - Relationship between sex ratio frequency and size of *Plesionika martia* in summer and autumn 2000.

Relazione tra frequenza della sex ratio e taglia di Plesionika martia *in estate e autunno 2000.*

Conclusions

In general, for all the species, ovigerous females occurred throughout the sampled seasons, but an higher abundance was recorded in summer seasons, according to other Mediterranean areas (Company & Sardà, 1997), except for *P. antigai*: for this species Campisi *et al.* (1998*b*) have found the highest values of ovigerous females in November. Some species evidenced a more complex behaviour. Ovigerous females of *P. antigai* occurred in autumn between 300 and 500 m depth, in summer between 150 and 350 m depth (Fig. 1): size distribution of ovigerous females showed smaller specimens in the depth range of 150-200 m. *P. martia* showed an higher abundance of ovigerous females in summer between 207 and 350 m and this group was characterized by smaller specimens (size classes: 9 to 12 mm CL). In autumn *P. gigliolii* showed a lower percentage of ovigerous females, but a wider depth range than in summer. The sex ratio was in favour of females for *P. antigai*, *P. gigliolii*, *P. heterocarpus* and *P. martia*, as shown by other authors for *P. antigai* (Campisi *et al*., 1998b); for *P. acanthonotus* it was 0,43 in favour of males, this is in contrast with what was reported by Company and Sardà (1997) for the Catalan sea, where they observed a slightly increasing of females with depth.

Tab. 1 - Statistical data on the size of the shrimps examined for 1997-98 and for 2000 surveys (depth ranges of ovigerous shrimps are also reported).

Dati statistici sulla taglia dei gamberi esaminati e range batimetrico delle femmine ovigere rilevati nei survey del 1997-98 e del 2000.

	1997-98	
	Non ovigerous shrimps	Ovigerous shrimps
Plesionika acanthonotus		Depth range (m) 497-616
Number of observations	160	45
Mean size (CL, mm)	12.36	13.38
SD	2.43	1.71
Range (mm)	8-19	10-16
Plesionika antigai		Depth range (m) 208-547
Number of observations	478	290
Mean size (CL, mm)	12.27	13.54
SD	3	2.18
Range (mm)	5-20	8-18
Plesionika edwardsii		Depth range (m) 324-425
Number of observations	971	236
Mean size (CL, mm)	19.41	21.58
SD	5.84	3.41
Range (mm)	7-30	16-27
Plesionika gigliolii		Depth range (m) 317-616
Number of observations	1269	1361
Mean size (CL, mm)	11	12
SD	2.62	2.34
Range (mm)	3-17	6-17
Plesionika heterocarpus		Depth range (m) 333-452
Number of observations	1179	887
Mean size (CL, mm)	12.62	14.59
SD	3.48	2.26
Range (mm)	3-19	10-19
Plesionika martia		Depth range (m) 324-622
Number of observations	1059	576
Mean size (CL, mm)	16.14	19.04
SD	3.95	3.72
Range (mm)	6-24	7-25

			2000	
	Males	Females	Non ovigerous shrimps	Ovigerous shrimps
Plesionika acanthonotus				Depth range (m) 389-627
Number of observations	65	79	4	54
Mean size (CL, mm)	12.10	11.97	9.75	12.04
SD	1.70	1.95	3.09	2.22
Range (mm)	9-15	7-16	7-14	8-15
Plesionika antigai				Depth range (m) 287-546
Number of observations	137	57	-	293
Mean size (CL, mm)	12.76	12.82	-	13.44
SD	1.62	1.44	-	1.59
Range (mm)	9-15	10-15	-	10-16
Plesionika edwardsii				Depth range (m) 333
Number of observations	20	45	-	5
Mean size (CL, mm)	13.66	13.44	-	18
SD	2.34	2.29	-	2.16
Range (mm)	10-17	10-17	-	16-21
Plesionika gigliolii				Depth range (m) 286-612
Number of observations	298	337	1	357
Mean size (CL, mm)	12	12	8	13
SD	1.77	2.20	-	2.19
Range (mm)	9-16	8-17	-	9-17
Plesionika heterocarpus				Depth range (m) 286-584
Number of observations	289	124	-	485
Mean size (CL, mm)	14.4	14.30	-	15.04
SD	1.73	1.90	-	2.01
Range (mm)	10-18	10-17	-	11-20
Plesionika martia				Depth range (m) 324-630
Number of observations	396	144	8	366
Mean size (CL, mm)	17.96	18.15	18.2	20.36
SD	3.14	3.35	3.11	2.46
Range (mm)	11-28	10-23	13-21	15-26

For some of these species (*P. martia* and *P. heterocarpus*) minimum size of ovigerous females were lower in comparison with other Mediterranean areas (Campisi *et al*., 1998*a*; Company & Sardà, 1997; Marsan *et al*., 1999): it could be important to assess possible links with the stock exploitation or with environmental factors.

References

CAMPISI S., CUCCU D., MURENU M., FOLLESA M.C., CAU A. (1998a) – Aspetti riproduttivi di *Plesionika martia* (A. Milne Edwards, 1883) nei mari sardi. *Biol. Mar. Medit*., **5** (2): 268-272.

CAMPISI S., MURA M., CAU A. (1998*b*) – Biological aspects of *Plesionika antigai* (Zariquiey Alvarez, 1955) (Crustacea: Decapoda: Pandalidae) in the central-western Mediterranean. *J. Nat. History*, **32**: 1453-1462.

COMPANY J.B., SARDA' F. (1997) – Reproductive patterns and population characteristics in five deep-water pandalid shrimps in the Western Mediterranean along a depth gradient (150-1100 m). *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **148**: 49-58.

FANELLI E., BELLUSCIO A., COLLOCA F., CARPENTIERI P., ARDIZZONE G.D. (2001) – Distribuzione e abbondanza dei pandalidi del genere *Plesionika* (Crustacea, Decapoda) nel mar Tirreno centrale. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 708-711.

FROGLIA C. (1995) – Crustacea Malacostraca III. In: A. Minelli, S. Ruffo, S. La Posta (eds), *Checklist delle specie della fauna italiana.* Ed. Calderini, Bologna.

HOLTUIS L.B. (1980) – FAO Species catalogue. Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. *FAO Fisheries Synopsis*, **125** (1): 271 pp.

HOLTUIS L.B. (1980) – Crevettes. In: Fisher W., Bauchot M.L., Schneider M. (eds), *Fiches FAO d'Identification des Especes pour le Besoins de la Peche. (Revision 1). Mediterranee et Mer Noire. Zone de Peche 37.* Volume 1 FAO/CEE, Rome: 189-291.

KING M.G., MOFFITT R.B. (1984) – The sexuality of tropical deep-water shrimps (Decapoda: Pandalidae). *J. Crustacean Biol*., **4** (4): 567-571.

MARSAN R., UNGARO N., MARANO C.A., MARZANO M.C. (1999) – Remarks on distribution and fishery biology of some *Plesionika* species (Decapoda, Pandalidae) in the southern Adriatic basin (Mediterranean sea). *Proceedings of the 4th international Crustacean congress, Amsterdam, The Netherlands, July 20-24, 1998*.

RELINI G. (1998) - Valutazione delle risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 814-818

F. Fiorentino, S. Gancitano, G.B. Giusto, P. Rizzo

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA–CNR, Via Luigi Vaccara, 61
91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

ASSESSING LONGEVITY OF GADOIDS IN THE STRAIT OF SICILY ON THE BASIS OF OTOLITH READING

STIMA DELLA LONGEVITÀ IN GADIFORMI DELLO STRETTO DI SICILIA SULLA BASE DELLA LETTURA DI OTOLITI

Abstract

On the basis of the reading of thin section otolith, estimates of the maximum age in females of Merluccius merluccius*,* Micromesistius poutassou *and* Phycis blennoides *in the Strait of Sicily were given, resulting 15, 10 and 11 years respectively. The corresponding estimates of the natural mortality rates, according to empirical formulas, varied between 0.29 and 0.32 in* M. merluccius*, 0.44 and 0.48 in* M. poutassou and *0.40 and 0.43 in* P. blennoides*.*

Key-words: *Gadoids, otolith reading, longevity, natural mortality, Strait of Sicily.*

Introduction

Longevity (the age to which a given proportion of a cohort survives in the wild) of fish exploited by fisheries is one of the most critical biological parameters of the stock, being the maximum age a fish can reach strongly related to mortality (Beverton, 1992). This paper contributes to the knowledge of the longevity of three commercial gadoid species of the Strait of Sicily (*Merluccius merluccius, Micromesistius poutassou* and *Phycis blennoides*) on the basis of data provided by otolith microstructures.

Materials and methods

During trawl surveys carried out from 1985 to 2000 in the Strait of Sicily, large samples of *M. merluccius, M. poutassou* and *P. blennoides* (193081, 9662 and 18896 individuals, respectively) were collected. Individuals were measured, sexed and the otoliths were extracted and "dry" stored. The otoliths of the largest females were selected for age assessing. As whole otoliths were thick and opaque, they were mounted in resin and cut transversely through the "focus" with an Isomet low-speed saw. Thin otolith sections (about 0.3-0.5 mm thick) of the three investigated species (37, 22, 34 individuals, respectively) were read in water under reflecting light at 25× magnification by two trained readers. Ages were determined by counting the number of dark zones, assuming that one main hyaline mark was laid per year. The two inner checks, close to the otolith nucleus, were more distinct and less broad than the subsequent hyaline rings and were considered as a transition mark (pelagic and demersal rings), without a yearly meaning (Morales-Nin *et al*., 1998; Casas & Pineiro, 2000; Pinero Alvarez, 2000). Ageing was accepted when the two readers agreed the numerical interpretation of the otolith.

In order to have samples of similar size for the three species and to make comparisons easier, only the results concerning the 22 oldest individuals of each species were considered.

On the basis of the assessed maximum age (T_{max}), an estimation of total mortality rate (*Z)*, considered as proxy of natural mortality rate (*M*), was performed according to the Hoenig (1983) method: $\ln(Z) = 1.44 - 0.984 \ln(T_{max})$.

A further estimate of *M* is given by using the Beverton formula $M = \nu / T_{max}$ where $\nu = 4.75$ was chosen as median value of the range ($4.0 > \nu > 5.5$) proposed by Beverton (1992).

Results

Generally otoliths of *M. merluccius* (Fig. 1) appeared more difficult to read due to the presence of multiple rings, whereas *M. poutassou* (Fig. 2) and *P. blennoides* (Fig. 3) otoliths showed the most easily interpretable patterns.

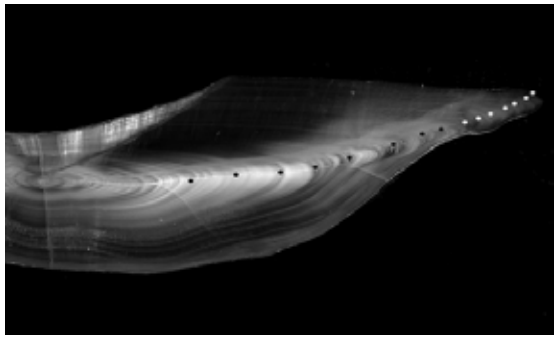


Fig. 1 - Transverse thin section of otolith of 15 years *M. merluccius* female (880 mm TL). The hyaline rings having a yearly meaning are marked.
Sezione sottile trasversale di otolite di femmina di M. merluccius *(880 mm TL) di 15 anni. Sono marcate le bande ialine con significato annuale.*

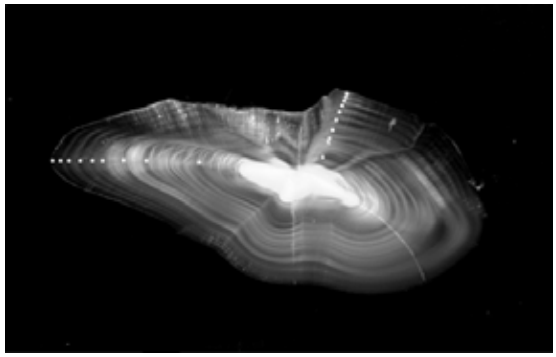


Fig. 2 - Transverse thin section of otolith of 9 years *M. poutassou* female (365 mm TL). The hyaline rings having a yearly meaning are marked.
Sezione sottile trasversale di otolite di femmina di M. poutassou *(365 mm TL) di 9 anni. Sono marcate le bande ialine con significato annuale.*

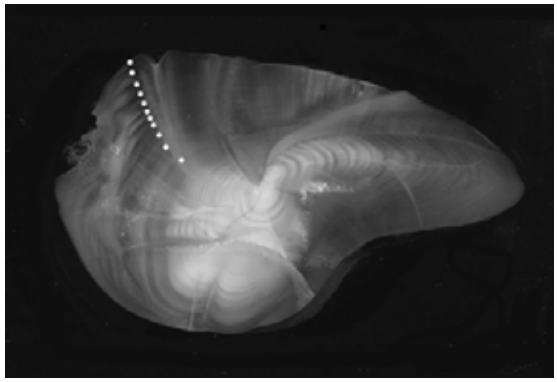


Fig. 3 - Transverse thin section of otolith of 11 years *P. blennoides* female (590 mm TL). The hyaline rings having a yearly meaning are marked.
Sezione sottile trasversale di otolite di femmina di P. blennoides *(590 mm TL) di 11 anni. Sono marcate le bande ialine con significato annuale.*

According to our otolith readings the age distribution of the largest individuals resulted very similar for the three species, most of the specimens belonging to age 7-8. However, *M. merluccius* showed a maximum age (15 years) higher than the other species (10-11 years) when considering the right tail of the age distribution.

Tab. 1 - The main descriptive statistics of the examined fish. The mean or the mode were used as central indicators for TL and age, respectively.
Principali statistiche descrittive dei pesci esaminati. La media o la moda sono impiegati come indicatori della tendenza centrale per la lunghezza (TL) e l'età.

Species	Value	TL (mm)	Age (y)
Merluccius	min	625	7
merluccius	mean/mode	678.9	8
	max	880	15
Micromesistius	min	360	5
poutassou	mean/mode	370.2	8
	max	390	10
Phycis	min	505	6
blennoides	mean/mode	535.2	7
	max	590	11

The Z estimations according to the Hoenig formula were 0.29, 0.44 and 0.40 in *M. merluccius, M. poutassou* and *P. blennoides,* respectively, whereas the corresponding M resulted 0.32, 0.48 and 0.43 when using the Beverton formula.

Discussion and conclusions

Although some Authors have questioned the reliability of annuli counting for assessing age of Hake (Morales-Nin *et al*., 1998), it remains the only method routinely used for ageing large specimens in stock assessment in world-wide hake fisheries. On the basis of otolith readings Cohen *et al.* (1990) reported that all three species reach a maximum age of 20 years in the Atlantic Ocean. Our estimates resulted slightly higher than values available for the Mediterranean stocks. Maximum age ranged between 7 (Ligurian Sea - Orsi Relini & Peirano, 1986) and 9 (Northern Euvoikos Gulf – Papaconstantinou & Petrakis, 1989; West Ionian Sea – Matarrese *et al*., 1998) in *M. poutassou.* In *M. merluccius* the parameter varied between 10 (Patraikos Gulf - Papaconstantinou & Stergiou, 1995) and at least 13 (Ligurian Sea - Orsi Relini *et al.*, 1992), whereas the maximum age of *P. blennoides* was between 7 (Central Aegean Sea – Papaconstantinou *et al*., 1993) and 8 years (Catalan Sea - Gallardo Cabello, 1986).

The direct use of maximum age of the largest specimens in a large size sample of population is an useful approach to estimate mortality without using growth models. The mortality rate estimated in this study for *M. merluccius* can be considered as an actual proxy of natural mortality for the adult females, whereas the values obtained for *M. poutassou* and *P. blennoides* (largest specimens in the area measured 405 and 620 mm TL, respectively, their otoliths were not available) might also include a fraction due to fishing mortality.

The reported estimations of natural mortality in the adult fraction of population are difficult to be used in the current context of the Italian fisheries, and more in general in the Mediterranean, where the demersal fisheries are characterised by a high fishing pressure on few young age classes, which leaves only a reduced fraction of adult population at sea. However our estimates might be useful to conceive new scenarios for a sustainable and more productive exploitation of gadoids in the Mediterranean.

References

BEVERTON R.J.H. (1992) - Patterns of reproductive strategy parameters in some marine teleost fishes. *J. Fish Biol*., **41** (Suppl. B): 137-160.

CASAS J.M., PINEIRO C. (2000) - Growth and age estimation of greater fork beard (*Phycis blennoides*, Brunnich, 1768) in the north and northwest of the Iberian Peninsula (ICES division VIIIc and IXa). *Fish. Res*., **47**: 19–25.

COHEN D.M., INADA T., IWAMOTO T., SCIALABBA N. (1990) - FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. *FAO Fisheries Synopsis* No. 125, vol. 10. Rome. FAO: 442 pp.

GALLARDO-CABELLO M. (1986) - Determinacion de la edad de la Brotola *Phycis blennoides* (Brunnich, 1768) en el Mediterraneo occidental (Pisces:Gadidae). *An. Inst. Cienc del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. Mexico*, **13** (2): 207-222.

HOENIG J.M. (1983) – Empirical use of longevity data to estimate mortality rates. *Fish. Bull*. U.S., **82** (1): 898-902.

MATARRESE A., BASANISI M., MASTROTOTARO F., MARANO C.A. (1998) – Dinamica di popolazione di *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826) nel Mar Ionio Settentrionale. *Biol. Mar. Medit*., **5** (2): 99–106.

MORALES-NIN B., TORRES G.J., LOMBARTE A., RECASENS L. (1998) – Otolith growth and age estimation in the European Hake. *J. Fish Biol*., **53**: 1155 – 1168.

ORSI RELINI L., PEIRANO A. (1986) – Biological notes on the blue whiting, *Micromesistius poutassou* Risso, of the Ligurian Sea. *FAO Fish. Rep*., **336**: 113-117.

ORSI RELINI L., FIORENTINO F., ZAMBONI A. (1992) – Growth of the Mediterranean hake. Experience gained in the Ligurian Sea. In: G. Colombo *et al*. (eds), *Marine Eutrophication and Population Dynamics*. Proceedings of the 25th EMBS. Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark: 307-315.

PAPACONSTANTINOU C., PETRAKIS G. (1989) - Some data on the population Dynamics of Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*) in the Northern Euvoikos Gulf. *FAO Fish. Rep*., **412**: 83–89.

PAPACONSTANTINOU C., CARAGITSOU E., VASSILOPOULOU V., PETRAKIS G., MYTILINEAOU C., FOURTOUNI A., TURSI A., POLITOU C-Y, GIAGNISI ., D'ONGHIA G., SIAPATIS A., MATARRESE A., ECONOMOU A., PAPAGEORGIOU E. (1993) – Investigation of the abundance and distribution of the demersal stocks of primary importance to the Greek fishery in the Northern Aegean (Greece). *NCMR, Athens, Hellas, Technical Report March 1993*: 316 pp.

PAPACONSTANTINOU C., STERGIOU K.I. (1995) - Biology and fisheries of eastern Mediterranean hake (*M. merluccius*). In: Alheit J., Pitcher T. (eds), *Hake: Biology, fisheries and markets*, Chapman & Hall, London: 149–180.

PINERO ALVAREZ C. (2000) – Report on workshop on hake otolith age reading. Vigo 23-27 June, 1997. EFAN Report, **6**: 31 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 819-823

F. Fiorentino, G. Garofalo, M. Gristina, D. Levi

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA-CNR, Via Luigi Vaccara, 61
91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

THE RATIO BETWEEN "BOTTOM DWELLING" AND OVERALL FISH BIOMASS (BOI) AS AN INDICATOR OF TRAWLING IMPACT ON DEMERSAL ASSEMBLAGES

IL RAPPORTO TRA LA BIOMASSA DEI PESCI ASSOCIATI AL FONDO E DI TUTTI I PESCI CATTURATI (BOI) COME INDICATORE DELL'IMPATTO DELLO STRASCICO SULLE ASSOCIAZIONI DEMERSALI

Abstract

On the basis of empirical considerations, the ratio between biomass of bottom dwelling fish out the overall fish, caught in three areas of the Strait of Sicily, suffering different trawling pressures, was calculated. Preliminary analyes carried out on two years data suggest that this simple index could be useful as indicator of the trawling impact on the demersal assemblages.

Key-words: *multi-species fisheries, trawling impact indicator, demersal assemblages, Strait of Sicily.*

Introduction

In the last two decades there has been great concern on trawl fishing activities "affecting" the marine environment at different levels (from populations to ecosystems). Although large efforts were devoted to identify indicators or metrics, directly and exclusively related to the fishing effort, few have been validated (Caddy & Mahon, 1995). According to the knowledge of the fishermen, the bottom dwelling species are the most vulnerable category of the demersal fish assemblages, as they tend to be strongly reduced when the trawling pressure become higher. Starting from these empirical considerations, this paper contributes to the identification of a simple multi-species indicator of the trawling impact on fish assemblages exploited by demersal fisheries.

Materials and methods

Data on fishing effort, recorded since 1995, were taken from the Harbour Office and have been verified from interviews to crews and captains of Mazara del Vallo trawl fisheries (Discard Program in Anonimus, 2000). Three off shore areas in the Strait of Sicily, exploited by Mazara del Vallo trawlers at different fishing intensity, were chosen: area C (Control), not exploited by fisheries; area L (low fishing pressure), exploited in the last years by a limited number of trawlers (<375 hauls per month); area H (high fishing pressure), exploited by many trawlers in the last 20 years (>1250 hauls per month) (Fig. 1).

Data on the demersal assemblages were collected during the 1997 and 1998 trawl surveys (GRUND Program in Levi *et al*., 1998). On the basis of the most recent literature, suggesting that fishes are the most susceptible to fishing impact of the living resources caught by trawling (Gristina *et al*., in press; Jennings & Reynolds, 2000) the

analysis was limited to bony fish and elasmobranches. Among the identified taxa, a set of species was selected which were considered to fit into the definition of "bottom dwelling" fish with restricted mobility. As this definition includes same grade of arbitrariness, a very selective and conservative choice was made. Biomass indices, standardised to 1 Km^2, were computed for each valid haul and each species caught. Only biomass was considered in order to avoid the expected variability of abundance due to recruitment and to emphasize the presence of large size specimens. For each area, to reduce the heterogeneity of the catches, only the hauls carried out at depth between 250 and 350 meters were used in this study. In particular, 11 hauls per year were found in area H while 10 hauls were found in area C and area L respectively. The Bottom dwelling vs. Overall index (BOI) was calculated as: $BOI = \frac{\sum_{i=1}^{n} B_i}{\sum_{i=1}^{n} O_i}$, where B was the biomass index per km^2 of all the "bottom dwelling fish" per each haul i, O the biomass index per km^2 of all fish caught per each haul i and n the hauls carried out per each area.

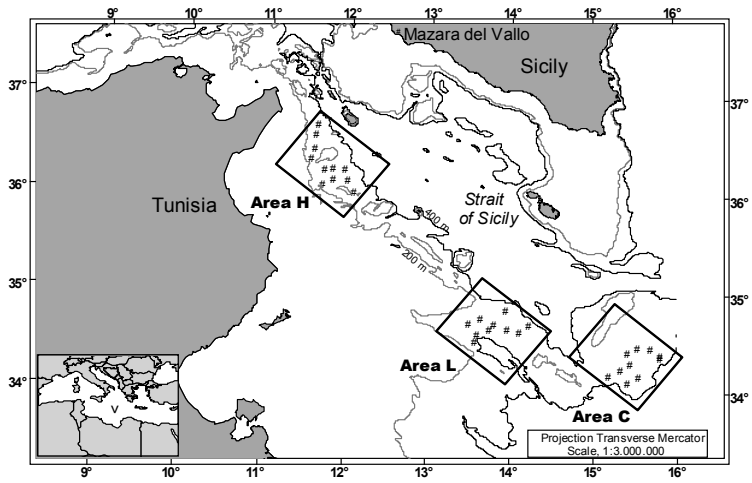


Fig. 1 - Map of the Strait of Sicily showing the location of the hauls in the three investigated areas.
Aree studiate e posizione delle cale esaminate.

Tab. 1 – List of the considered taxa. The bottom dwelling fish (B) and the commercial pecies (*) were distinguished from the others.

Lista dei taxa esaminati. I pesci strettamente associati al fondo (B) e quelli di interesse commerciale (*) sono contrassegnati.

B	*Acantholabrus palloni*		*Lepidopus caudatus*		*Chimaera monstruosa*
	Argentina sphyraena	**B**	*Lepidorhombus bosci* *		*Heptranchias perlo* *
B	*Arnoglossus laterna*	**B**	*Lepidorhombus whiffjagonis* *		*Mustelus asterias* *
B	*Arnoglossus rueppelli*	**B**	*Lepidotrigla cavillone*		*Mustelus mustelus* *
B	*Aspitrigla cuculus* *	**B**	*Lepidotrigla dieuzeidei* *	**B**	*Raja alba* *
B	*Callionymus phaeton*	**B**	*Lophius budegassa* *	**B**	*Raja circularis* *
B	*Callyonimus maculatus*	**B**	*Lophius piscatorius* *	**B**	*Raja clavata* *
	Capros aper		*Macrorhamphosus scolopax*	**B**	*Raja melitensis* *
	Centracanthus cirrus		*Merluccius merluccius* *	**B**	*Raja miraletus* *
	Chlorophthalmus agassizi *		*Micromesistius poutassou*	**B**	*Raja montagui* *
B	*Citharus linguatula* *		*Mullus barbatus* *	**B**	*Raja oxyrhynchus* *
	Coelorhynchus coelorhynchus		*Mullus surmuletus* *	**B**	*Raja polystigma* *
B	*Conger conger* *		*Pagellus erythrinus*	**B**	*Raja spp.**
	Gadiculus argenteus	**B**	*Peristedion cataphractum* *		*Scyliorhinus canicula* *
	Gaidropsaurus mediterraneus		*Phycis blennoides* *		*Squalus blainvillei* *
	Glossanodon leioglossus	**B**	*Scorpaena elongata* *	**B**	*Torpedo mormorata*
B	*Gnatophis mistax*	**B**	*Symphurus nigrescens*	**B**	*Torpedo nobiliana*
B	*Helicolenus dactylopterus* *	**B**	*Trigla lyra* *		
	Hymenocephalus italicus		*Zeus faber* *		

Results

A total of 55 taxa were collected (38 bony fishes and 17 elasmobranches) in the three areas investigated. In table 1 the complete list of all fish caught is shown. Those taxa considered as "bottom dwelling" (B) and having commercial value (*) are marked.

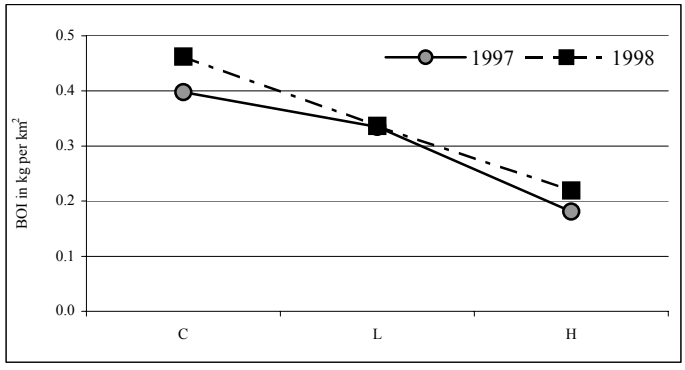


Fig. 2 – BOI values of fish assemblages in 1997 and 1998 in the three investigated areas (C=not exploited area; L=low trawling pressure; H=high trawling pressure).

Valori del BOI ottenuti, nel 1997 e nel 1998, per le associazioni ittiche delle tre aree studiate (C=area non sfruttata; L=bassa pressione di pesca; H=elevata pressione di pesca).

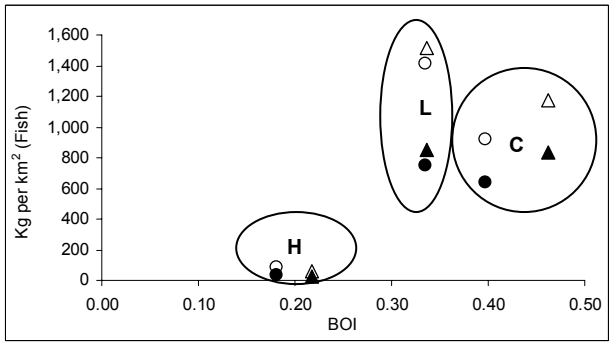


Fig. 3 - The relationship between the mean biomass indices per km^2 in 1997 (circles) and 1998 (triangles), both in terms of overall (empty symbols) and commercial fish (solid symbols), and the BOI. The zone in which the bottom dwelling fraction of fish assemblages were depleted (H) gave lower catch rate than those where the bottom dwelling fish were more abundant (L and C).

Relazioni tra gli indici medi di biomassa per km^2 (1997- cerchi; 1998 - triangoli), in termini di pesci totali (simboli vuoti) e commerciali (simboli pieni) ed il BOI. L' area in cui la frazione di pesci strettamente associati al fondo risulta poco abbondante (H) fornisce i livelli minori di biomassa (L e C).

The BOI values obtained in the unexploited zone (C) resulted to be the highest of the three areas, ranging between 0.40 (1997) and 0.46 (1998), whereas the highly exploited area (H) showed the lowest BOI, varying between 0.18 and 0.22.

The mean biomass indices, both in terms of overall and commercial fish, were taken as a measure of productivity of a given area. The relationship between the mean biomass indices (kg per km^2) and the BOI seemed not linear; the zones in which the bottom dwelling fraction of fish assemblages were depleted gave lower catch rate than those where the bottom dwelling fish were more abundant (Fig.3).

Conclusions

It is well known that fish assemblages tend to react to fishing pressure and other intermediate stresses in certain predictable ways (Welcomme, 1999). Within this conceptual frame, a simple indicator of the trawling impact on demersal assemblages, the ratio between "bottom dwelling and overall fish" biomass index (BOI) was proposed. Preliminary results derived investigating areas under different trawling pressure in two years suggested that the BOI could be useful to measure trawling impact on the demersal fish assemblages. Further investigation using longer series of biomass indices for areas showing an increasing fishing effort in time, coupled with some key environmental parameters, are necessary for a more in deep understanding of the exclusiveness of the trawling effect in evolution of the BOI.

References

ANONIMUS (2000) - *Analysis of trawl's discard operation in central and eastern Mediterranean Sea.* EU Directorate General for Fisheries. Final Report, contract n° 97/0044.

CADDY J.F., MAHON R. (1995) – Reference points for fisheries management. *FAO Fisheries Technical Paper*, **347**: 83 pp.

GRISTINA M., BONO G., FIORENTINO F., GAROFALO G. (2003) – L'impatto della pesca a strascico sulla diversità delle comunità demersali dello Stretto di Sicilia. *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 838-842.

LEVI D., RAGONESE S., ANDREOLI M.G., NORRITO G., RIZZO P., GIUSTO G.B., GANCITANO S., SINACORI G., BONO G., GAROFALO G., CANNIZZARO L. (1998) - Sintesi delle ricerche sulle risorse demersali dello Stretto di Sicilia (Mediterraneo Centrale) negli anni 1985-1997 svolte nell'ambito della legge 41/82. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 130-139.

JENNINGS S.J., REYNOLDS D. (2000) - Impacts of fishing on diversity: from pattern to process. In: Kaiser M.J., de Groot S.J. (eds), *Effects of fishing on non-target species and habitats: biological conservation and socio-economic issues.* Blackwell Science, Oxford: 235-250.

WELCOMME R.L. (1999) – A review of a model for qualitative evaluation of exploitation levels in multi-species fisheries. *Fisheries Management and Ecology*, **6**: 1-19.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 824-827

G. Florio, P. Consoli, F. Perdichizzi, P. Rinelli, S. Greco*

Istituto Sperimentale Talassografico C.N.R., Spianata S.Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.
*I.C.R.A.M. Roma, Italia.

ANNOTATED CHECKLIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE SOUTH-TYRRHENIAN SEA FROM CAPE SUVERO (CALABRIA) TO CAPE S. VITO (SICILY)

CHECKLIST DELLE RAZZE (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) NEL BASSO TIRRENO DA CAPO SUVERO (CALABRIA) A CAPO S. VITO (SICILIA)

Abstract

The object of this work is to provide information on the species and number of Skates caught in an area of the Southern Tyrrhenian Sea to increase knowledge about this family. The collected data come from 16 trawl surveys carried out from 1994 to 2001, for the GRUND and MEDITS projects. The mean biomass (B1=kg/km²) and density (D1=N/km²) indexes were calculated on a total number of catches, for each year, both by shelf and slope.

Key-words: Raja*, trawl survey, South-Tyrrhenian Sea.*

Introduction

Over the last few years, the scientific community has shown an increasing interest in elasmobranchs. Among selachians, the Skate family has an important ecological role, in particular for the trophic habits, in fact this species are located at the top of the food chain. Therefore, it is considered appropriate to provide information on the species and number of Skates caught along the Southern Tyrrhenian coasts and to combine it with what little is known to date about this family (Relini *et al.*,1999; Bertrand *et al.*, 1999; Cannavò *et al.*, 1999).

The trawl surveys carried out for both national and international project (GRUND and MEDITS respectively) have, in fact, enabled numerous data on Skates to be collected.

The results regarding an area situated between Cape Suvero (Calabria) and Cape S. Vito (Sicily) are reported in this paper. In this area, the Skates represent a small fraction of the by-catch, which is generally used directly by the fishers, discarded or only occasionally sold.

Materials and methods

The collected data come from 631 hauls carried out in 16 trawl surveys conducted from 1994 to 2001, in spring (MEDITS=249 hauls) and in autumn (GRUND=382 hauls).

Sampling was carried out randomly, at five bathymetric strata at a depth of 10-800 m. Mean yields, standardized both in number (Density Index: DI=N/km²) and in weight (Biomass Index: BI=kg/km²) were divided into seasons and reported for each year, for the shelf (0-200 m) and for the slope (>200 m). In addition, the deviation standard and the Coefficient of Variation (CV=ds/mean) were calculated.

Results

117 specimens belonging to 8 of the 17 species found in the Mediterranean, for the *Rajidae* family, were collected (Bini, 1967; Fischer *et al*., 1987; Stehman *et al*., 1984; Tortonese, 1956): *Raja (Raja) (Leucoraja) circularis, Raja (Raja) clavata, Raja (Raja) miraletus, Raja (Dipturus) oxyrinchus, Raja (Raja) montagui, Raja (Raja) polystigma, Raja rondeleti*. The complete list of species with the relative bathymetric ranges is reported in Tab. 1. All the species caught show a wide bathymetric distribution, with the exception of *R. circularis* found only at a depth of 50-100 m. In particular, it is possible to point out a greater biodiversity at a depth of 100-400 m, on the contrary, beyond such a depth, the specific diversity is shown to be decidedly poorer.

Tab. 1 - Faunistic list with the relative bathimetric range of the collected species.
Lista faunistica, con relativo range batimetrico, delle specie riscontrate.

Species	**Depth** (m)
Raja asterias	100 - 200
Raja clavata	100 - 400
Raja circularis	50 - 100
Raja miraletus	10 - 400
Raja montagui	100 - 400
Raja oxyrinchus	50 - 400
Raja polystigma	10 - 400
Raja rondeleti	200 - 400

The frequency of occurrence (F.O.) of sampling skates is reported in Fig. 1. The species more frequently caught is *Raja miraletus* with 80% of F.O., followed by *Raja clavata, Raja oxyrinchus* and *Raja polystigma* (40%, 33%, and 27% respectively). The other species were caught only occasionally with F.O. values lower than 20%.

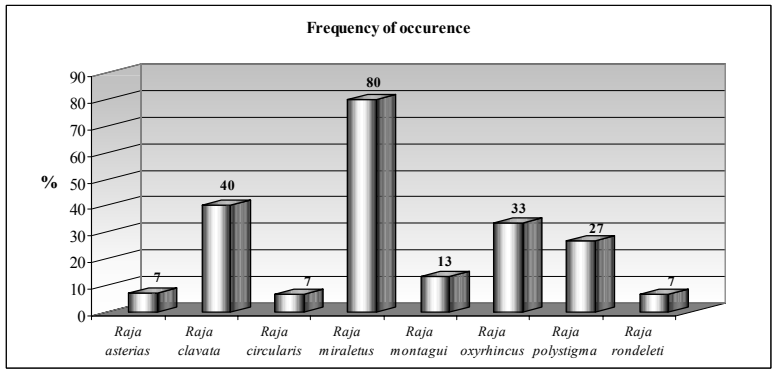


Fig. 1 - Frequency of occurence by species (n° of positive tralw surveys/n° of total tralw surveys) relative to total GRUND and MEDITS surveys (1944-2001).
Frequenza di ritrovamento delle specie (n° campagne positive/n° totale campagne) relative alle campagne GRUND e MEDITS (1944-2001).

In Tabb. 2 and 3, the results for the average yields in weight and number of Skates in total, caught in each year and in Medits and Grund surveys, both for shelf and slope, are reported.

Tab. 2 - Mean Biomass Index (BI=kg/km2) with the relative coefficient of variation (CV%), by shelf and slope, by MEDITS and GRUND trawl surveys (1994 - 2001).

Indici di biomassa media (BI=kg/km2), con i relativi valori del coefficiente di variazione (CV%) per piattaforma e scarpata continentale, relativi ai trawl survey MEDITS e GRUND (1994 - 2001).

	year	1994		1995		1996		1997		1998		1999		2000		2001	
	kg/km²	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND
Shelf	mean	0,00	1,25	0,00	2,76	0,16	3,06	0,31	2,02	0,00	3,18	0,16	-	0,00	1,49	0,44	3,73
	s.d.	0,00	0,19	0,00	0,44	0,03	0,52	0,05	0,40	0,00	0,34	0,03	-	0,00	0,21	0,06	0,54
	C.V. %	0,00	14,92	0,00	15,99	16,57	17,07	17,11	19,92	0,00	10,67	16,76	-	0,00	13,93	14,68	14,52
Slope	mean	1,63	1,79	0,21	4,16	0,00	0,07	0,19	0,00	3,85	0,00	0,00	-	1,60	0,47	0,00	1,27
	s.d.	0,55	0,29	0,05	1,01	0,00	0,02	0,06	0,00	1,34	0,00	0,00	-	0,53	0,12	0,00	0,28
	C.V. %	34,11	15,97	25,42	24,06	0,00	27,57	28,78	0,00	34,74	0,00	0,00	-	33,34	24,91	0,00	21,97

Tab. 3 - Mean Density Index (BI=kg/km2) with the relative coefficient of variation (CV%), by shelf and slope, by MEDITS and GRUND trawl surveys (1994 - 2001).

Indici di densità media (BI=kg/km2), con i relativi valori del coefficiente di variazione (CV%) per piattaforma e scarpata continentale, relativi ai trawl survey MEDITS e GRUND (1994 - 2001).

	year	1994		1995		1996		1997		1998		1999		2000		2001	
	N/km²	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND	MEDITS	GRUND
Shelf	mean	0	3	0	3	6	3	8	4	0	4	3	-	0	7	3	8
	s.d.	0,00	0,48	0,00	0,36	1,07	0,45	1,34	0,77	0,00	0,42	0,53	-	0,00	0,77	0,36	1,29
	C.V. %	0,00	13,7	0,00	13,41	16,57	16,12	17,11	21,44	0,00	9,95	16,76	-	0,00	11,82	11,62	17,07
Slope	mean	5	4	2	7	0	1	5	0	2	0	0	-	4	8	0	8
	s.d.	1,66	0,81	0,58	1,74	0,00	0,2	1,40	0,00	0,80	0	0,00	-	1,09	1,96	0,00	1,27
	C.V. %	34,11	18,60	27,02	24,47	0,00	27,57	27,41	0,00	34,74	0	0,00	-	24,42	24,55	0,00	15,87

In particular, in the continental shelf, the BI values in the autumn survey (GRUND) range between 1.25 kg/km^2 (CV=14.92%) in 1994 to 3.73 kg/km^2 (CV=14.52%) in 2001. With regards to the slope, the biomass indexes are always low (< 2.00 kg/km^2)with the exception of 1995 (4.30 kg/km^2 CV=23.27%). During the spring season (MEDITS), BI values revealed even poorer values to the maximum shown in 2001 (0.44 kg/km^2; CV=14.68%) in the shelf. In the slope, an irregular trend was observed, with a maximum BI value recorded in 1998 (3.85 kg/km^2; CV=34.74%).

From a comparison of yields for weight and numbers in both seasons, an increase of the average size was always observed in the autumn.

Conclusions

Over a seven year survey, about 50% of the species of the Skates known to exist in the Mediterranean were found. The failure to find any of the other species in the area of study could be in part due to the rarity of some species and also to the difficulty to

use morphological criteria for their identification, especially where *R. montagui* and *R. polystigma* are concerned.

During the last ten years an increase in trawl fishing has produced a strong decline in elasmobranchs (Bertrand *et al.,* 2000). Despite this, the yields in weight, recorded in the South-Tyrrhenian Sea, haven't shown an appreciable decrease.

The collection of photographic material and the preparation of better keys for identification is an important priority for a correct census of the biodiversity of this taxon.

References

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPAKONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) - Contribution on the distribution of elasmobranchs in the Mediterranean (from the Medits Surveys). *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 385-399.

BINI G. (1967) – *Atlante dei pesci delle coste italiane. Leptocardi – Ciclostomi – Selaci*. Ed. Mondo sommerso, **1**: 135-172.

CANNAVO' G., ROMEO T., HEMIDA F., D'ANDREA F. (1999) – Note tassonomiche su alcune razze del Mediterraneo centrale. *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 534-536.

FISCHER W., BAUCHOT M.L., SCHNEIDER M. (1987) - Fiches FAO, *D'identification des espèces pour les besoins de la peche. Mediterranée et Mer Noire*. (Rèvision 1. Zone de peche 37), Vertébrés. FAO, **2**: 761-1530.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) – I selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 347-384.

STEHMANN M., D.L. BÜRKEL. 1984 – Rajidae. In: Whitehead P.J.P.,M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (eds), FNAM. *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

TORTONESE E. (1956). *Fauna D'Italia. Leptocardia – Ciclostomata – Selachi*.. Ed. Calderini Bologna: 334 pp.

This study was carried out with data coming from scientific trawl surveys financed by "Ministero delle Politiche Agricole e Forestali" of Italy and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 828-833

M.C. Follesa, P. Addis, M. Murenu, R. Saba, A. Sabatini

Dipartimento Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE SARDINIAN SEAS

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) DEI MARI SARDI

Abstract

This paper presents the list, spatial distribution, and abundance indices of the skates caught in the seas surrounding Sardinia. Data were collected during trawl surveys between 1985 and 2001. Eleven species have been recorded so far. Among these the most abundant have been Raja clavata, R. polystigma, R. oxyrinchus *and* R. miraletus*. The greatest frequency was found at depths between 10 and 200 m.*

Key-words: *Rajidae, check list, Sardinian Sea, bottom trawls, abundance.*

Introduction

Skates have a very important role both for their position at the top of the trophic chain and for their particular reproductive characteristics. In spite of this, the data on the distribution and reproductive biology of this family in the Mediterranean are sporadic and fragmentary, except for a few recently published works on selachians in general (Baino and Serena, 2000; Cannizzaro *et al*., 1995, Relini *et al*., 2000; Serena *et al*., 1988).

The main objective of this paper is to provide a contribution on the species caught in Sardinian seas with particular reference to the historical series of their abundance, distribution, and biology in general.

Materials and methods

The analysed data were collected during bottom trawls survey carried out in the Sardinian seas at depth between 10 and 800 m. According to a random methodology, 1.564 hauls were performed during 24 autumnal campaigns (GRUND) from 1985 to 2001 and 976 hauls were carried out during late spring-summer trawl surveys (MEDITS) since 1994 (Relini, 1998; Bertrand *et al*., 2000).

During each haul the specimens were classified, weighted, counted and measured. For each species we calculated the percentage frequency index (100 × no. of positive hauls/no. of total hauls). For *R. clavata* we measured the total length and analysed sex and gonadic maturity.

For MEDITS and GRUND surveys the Biomass (BI, Kg/km^2) and Density (DI, N/km^2) indices of total skates were estimated by single macro stratum (shelf: 10-200 m and slope: 201-800 m) and presented in a synoptic table together with the corresponding coefficient of variation (CV%).

For both sexes the sexual maturity sizes were calculated using the logistic model (Sparre *et al*., 1989).

Results

In the seas surrounding Sardinia a significant fraction of Rajidae was found: about 70% of the total number of species collected in Italian seas. On the whole, among the 16 quoted skates (Relini *et al*., 2000), 11 were found in Sardinian seas (Tab. 1). The most frequent species were *R. clavata*, *R. miraletus*, *R. oxyrinchus* and *R. polystigma*.

Tab. 1 - List and % frequency of the skates found in the Sardinian seas (*).
Lista e frequenza % delle razze rinvenute nei mari sardi (*).

Rajidae Family	% Frequency index
Raja (Raja) clavata Linnaeus, 1758	43.3
Raja (Raja)asterias Deloroche, 1809	14.5
Raja (Raja) miraletus Linnaeus, 1758	32.9
Raja (Dipturus) oxyrinchus, Linnaeus 1758	30.7
Raja (Raja) montagui Fowler, 1910	12.1
Raja (Leucoraja) circularis Couch, 1837	3.9
Raja (Raja) polystigma Regan, 1923	27.6
Raja (Raja) radula Delaroche, 1809	2.4
Raja (Raja) brachyura Lafont, 1873	5.1
Raja (Leucoraja) naevus, Muller & Henle, 1841	2.2
Raja rondeleti, Bougis 1959	1.5

Most species appear to be typically coastal, while *R. clavata*, *R. oxyrinchus,* and *R. polystigma* present a deeper distribution (Fig. 1).

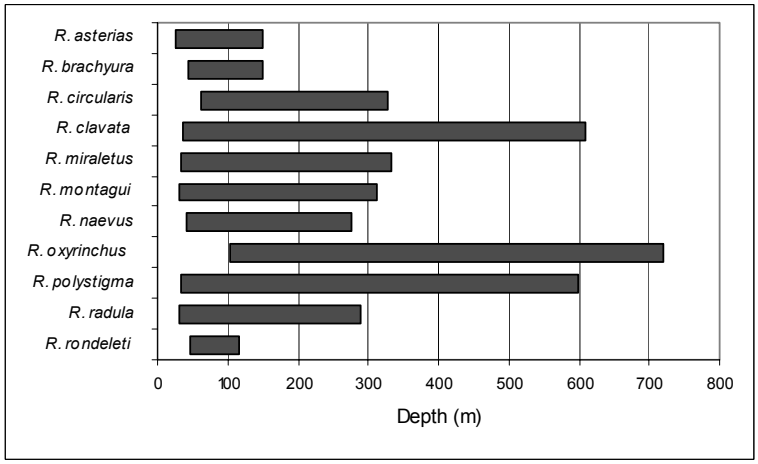


Fig. 1 – Bathymetric distribution of the skates caught in the Sardinian seas.
Distribuzione batimetrica delle razze pescate nei mari sardi.

An analysis of the average density (N/km^2) and biomass (Kg/km^2) indices on the total number of skates showed definitely higher values in the shelf (10-200 m) than in the slope (201-800 m) in the autumn (GRUND) and summer (MEDITS) trawls (Tab. 2). In fact the average value for the shelf was more than double that recorded for the slope.

Tab. 2 – Average density (N/kmq) and biomass (Kg/kmq) and related CV(%) of the Rajidae family in the GRUND and MEDITS trawl survey campaigns.
Indici medi di densità (N/kmq) e biomassa (Kg/kmq) e relativi CV(%) della famiglia Rajidae per le campagne di pesca GRUND e MEDITS.

GRUND

	10-200 m				201-800 m			
	N/ Km^2	CV%	Kg/ Km^2	CV%	N/ Km^2	CV%	Kg/ Km^2	CV%
1994	121	15,72	64,17	18,47	36	34,58	28,28	33,31
1995	145	27,84	53,70	20,20	65	26,02	32,99	24,47
1996	137	15,70	67,83	18,37	114	35,48	43,04	26,93
1997	122	23,53	54,24	18,22	80	31,10	26,98	23,16
1998	173	18,09	65,67	18,42	49	27,42	16,67	17,70
1999	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	161	21,60	57,56	21,05	58	34,76	22,13	23,64
2001	227	16,43	96,13	18,08	42	33,95	25,37	31,23
Average	155	-	65.61	-	63	-	27.92	-

MEDITS

	10-200 m				201-800 m			
	N/ Km^2	CV%	Kg/ Km^2	CV%	N/ Km^2	CV%	Kg/ Km^2	CV%
1994	117	34,52	51,53	28,09	47	28,24	30,71	27,33
1995	135	31,82	66,82	40,26	50	21,88	23,04	23,78
1996	122	18,48	82,24	22,32	57	30,63	28,48	32,18
1997	177	24,65	71,35	24,94	127	30,71	43,26	25,59
1998	190	17,98	66,00	26,19	138	51,09	57,06	35,10
1999	249	19,86	106,73	15,38	125	35,80	54,36	29,59
2000	125	17,25	55,87	20,73	74	29,95	38,43	20,13
2001	386	16,13	169,10	18,72	102	25,89	54,98	17,84
Average	188	-	83.70		79	-	41.29	-

In particular considering *R. clavata*, it may be pointed out that the size frequency distribution was wide for both sexes (Fig. 2). The species reaches relatively large sizes, since specimens of a total length of 90 cm for males and 98 cm for females were caught.

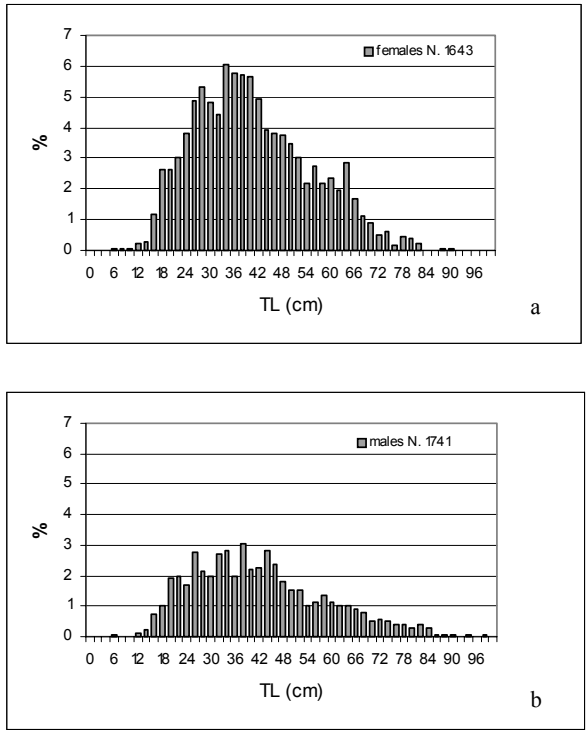


Fig. 2 – Size-frequency distribution for females (a) and males (b) of *Raja clavata*.
Distribuzione taglia-frequenza di Raja clavata.

From the sex ratio (Sr=ff/ff+mm) calculated per size class it can be pointed out that up to a TL of about 66 cm, the value nears 0.5, indicating that the number of individuals in both sexes was practically equal. For larger sizes there seems to be a female prevalence (Sr>0.7). This datum is also confirmed on comparing the two straight regression lines between the size class of the individuals of TL<66 cm and those of TL>66 with related Sr's (Fig. 3). This comparison shows highly significant differences (t=4.33; P<0.005).

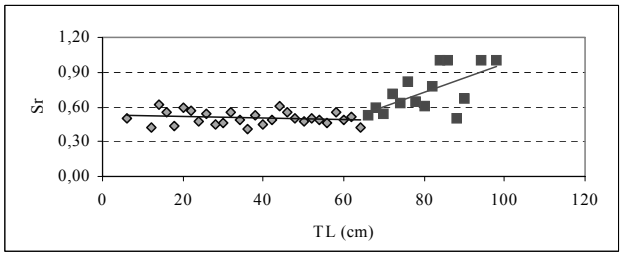


Fig. 3 – Trend of the sex ratio (Sr) for size classes in *Raja clavata.*
Andamento del rapporto sessi (Sr) per classi di taglia in Raja clavata.

The females reach the size of first sexual maturity (SFM) at a TL of about 74-76 cm, while the males reach it at a TL of about 54-56 cm (Fig. 4). It should be noted that the individuals that have reached SFM are a very small portion of the catches, representing 5% of the total number of females and about 20% of the males (cf. Fig. 2).

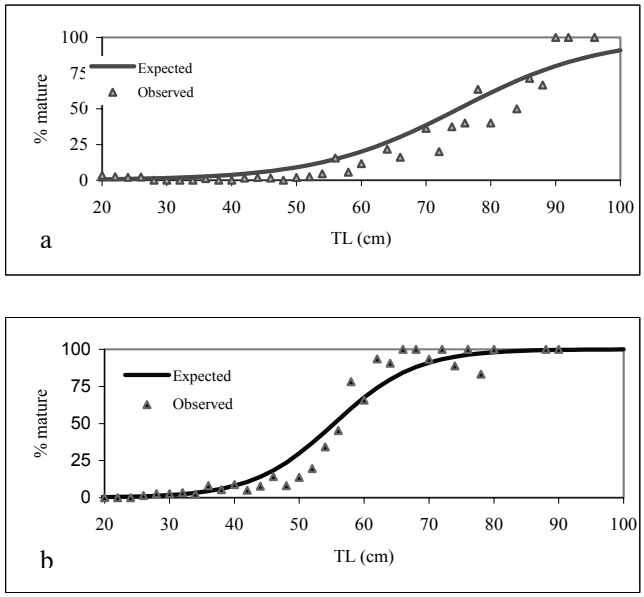


Fig. 4 – Sexual maturity curves for females (a) and males (b) of *Raja clavata.*
Curve di maturità sessuale per femmine (a) e maschi (b) di Raja clavata.

Conclusions

This paper provides a first contribution to the knowledge related to the presence, bathymetric distribution and abundance of Rajidae in the Sardinian seas.

In general the abundance indices of the 11 species recorded in the Sardinian seas are higher in the 10-200 m stratum, where number and weight values doubling those recorded in the 201-800 m stratum range were observed.

A few species, such as *R. naevus*, *R. rondeleti*, *R. brachyura,* and *R. radula*, present low frequency index. This aspect could also be due to a larger dispersion of specimens in the fishing areas during the years and consequently to a lower accessibility to the fishing gear.

In Sardinian sea *R. clavata* specimens reached larger sizes than that caught in Adriatic and Northern Tyrrhenian sea, where female specimens of a TL of 93 and 91 cm respectively and males of a TL of 79 cm have been caught (Relini *et al.,* 1999). The sex ratio indicates an equal presence of males and females up to a TL of about 66 cm. Above this size a prevalence of female specimens is recorded. The specimens that have reached the size of first sexual maturity are generally a very small portion of the catches.

References

BAINO R., SERENA F. (2000) – Valutazione di abbondanza e distribuzione geografica di alcuni Selaci dell'alto Tirreno e Mar Ligure meridionale. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 433-439.

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) – An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. In: Bertrand J.A. and Relini G. (eds), *Demersal resources in the Mediterranean ,* Proceedings of the Symposium held in Pisa, 18-21 march 1998. Actes de Colloques. IFREMER, Plouzané, **26**: 76-93.

CANNIZZARO L., GAROFALO G., LEVI D., RIZZO P., GANCITANO S. (1995) – *Raja clavata* (Linneo, 1758) nel Canale di Sicilia: crescita, distribuzione e abbondanza. *Biol. Mar. Medit.*, **2** (2): 257-262.

RELINI G. (1998) – Valutazione delle Risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit.,* **6** (1): 87-93.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) – I Selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 347-384.

SERENA F., BAINO R., RIGHINI P. (1988) - Geographical and depth distribution of rays in Northern Tyrrhenian sea. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit.*, **31** (2): 277.

SPARRE P., URSIN E., VENEMA S.C. (1989) – Introduction to tropical fish stock and assessment. FAO Fisheries Technical Paper N° 306.1. Rome, FAO: 337 pp.

STEHMANN M. , BURKEL D.L. (1984) – Rajidae. In: Whitehead P.J. P. Bauchot M.L, Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), FNAM *Fishes of north-eastern Atlantic and the Mediterranean.* UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

This study was carried out thanks to financial support of the Ministry of Agricultural Policy and the European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 834-837

B. Francesconi, M. Sbrana*, S. De Ranieri*

APLYSIA p.s.c.r.l., Via delle Viole, 1 - 57124 Livorno, Italia.
*Centro Interuniversitario di Biologia Marina - Livorno, Italia.

FISHERY WITH TRAMMEL NET TARGETING RED MULLETS IN THE LIVORNO ARTISANAL FLEET: CHARACTERISATION OF *MULLUS BARBATUS* AND *MULLUS SURMULETUS* CATCHES

LA PESCA CON IL TRAMAGLIO A TRIGLIE NELLA MARINERIA ARTIGIANALE LIVORNESE: CARATTERIZZAZIONE DELLE CATTURE DI MULLUS BARBATUS *E* MULLUS SURMULETUS

Abstract

Artisanal fishing fleet of Livorno employs a trammel net with small mesh size to catch Mullus barbatus *and* Mullus surmuletus*. Percentage of discarded biomass, modality of discard, demographic structure of commercialised and discarded fraction, as well as sex ratio of the catches of the two species were analysed. The use of this gear seems to be adequate to a sustainable exploitation of these resources.*

Key-words: *artisanal fishery, set nets, red mullet fisheries, demographic structure, Eastern Ligurian Sea.*

Introduction

The Livorno artisanal fleet employs set nets, mostly some versions of trammel net, gears traditionally considered with high selectivity and low discard. A trammel net with small mesh size of the inner panel (about 40 mm) is widely used by this fleet to catch *Mullus barbatus* and *Mullus surmuletus*, from spring to the end of summer. The study was carried out to characterise the catch composition of these two important demersal resources obtained with this type of trammel net. Gathered data allowed to evaluate the impact of the gear according to some important biological aspects of the two species.

Materials and methods

Over a two year period, from January 1999 to December 2000, a monthly sampling at the landing points of Livorno (eastern Ligurian Sea) was carried out in order to evaluate the quali-quantitative composition of catch and the fishing yields (Fabi *et al.*, 2002). Trips of researchers on board of commercial boats and biological samples analysed in laboratory allowed to collect detailed information on *M. barbatus* and *M. surmuletus* catch composition: percentage of discarded biomass, modality of discard, demographic structure of commercialised and discarded fraction, sex ratio and percentage of mature individuals.

The ratio between number of males and females was also analysed in order to evaluate the composition of the catch of each species. Differences in sex ratio from the expected value of 1 were tested with χ^2 test at a probability level greater than 95% ($p < 0.05$).

Results

The seasonal trend of landing per unit effort (LPUE, kg/5000 m/h) for *M. barbatus* well fit with total landing, with maximum values in summer and minimum in winter

in both sampled years (Fig. 1). In *M. surmuletus* trends of LPUE and total landing were different, being the catch principally influenced by fishing effort more than the abundance of the species at sea. Commercialised biomass of both species represented a high percentage of the total catch *M. barbatus* was totally commercialised in spring and autumn, while in winter and summer a low discard was observed (respectively 7% and 6% of the total catch). *M. surmuletus* was entirely commercialised in spring, while in the other seasons discard ranged between 4% in autumn and 14% in winter of the total catch. The criterion of discard did not show a relation with the size of the specimens, being the discarded fraction exclusively composed by damaged individuals.

Size range of *M. barbatus* catch was comprised between 11.0 and 23.5 cm of total length (TL). Except in autumn, in all the seasons the demographic structure was unimodal (Fig. 2), with modes at 16.0 cm TL in winter and spring, and at 17.0 cm TL in summer. In autumn demographic structure was characterised by two modal peaks at 15.0 and 18.0 cm TL, due to the recruitment to the gear of juveniles and to the growth of adults.

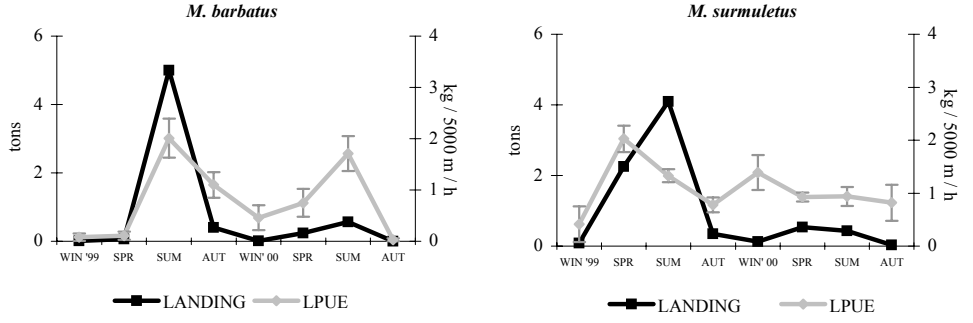


Fig. 1 - Seasonal trends of total landing and LPUE values (± standard error) for *M. barbatus* and *M. surmuletus*.

Andamenti stagionali dello sbarcato totale e delle LPUS (± errore standard) di M. barbatus *e* M. surmuletus.

In *M. surmuletus*, the size range of the catch was comprised between 12.0 and 28.0 cm TL (Fig. 2). The size distributions of this species were similar in all seasons: the shape was unimodal with mode at 17.0 cm TL in summer and at 16.0 cm TL in the other seasons.

Sex ratio of the total catch was in favour of females ($p < 0.05$) in both species in all seasons, except in winter for *M. surmuletus*, when the value was not statistically different from 1. The comparison between total landing and percentage of mature individuals showed that highest catches of the two species were obtained in summer, in the period subsequent to the reproductive activity; *M surmuletus* was caught abundantly also in spring, during its reproductive period (Fig. 3).

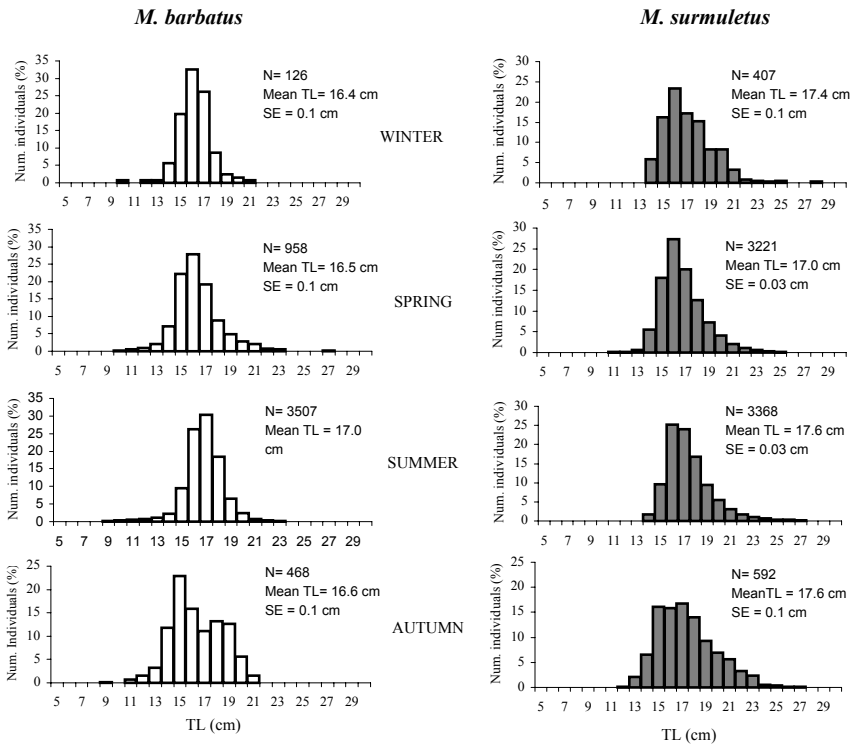


Fig. 2 - Length frequency distributions of *M. barbatus* and *M. surmuletus* catches.
Distribuzioni di frequenza di taglia degli individui catturati di M. barbatus *e* M. surmuletus.

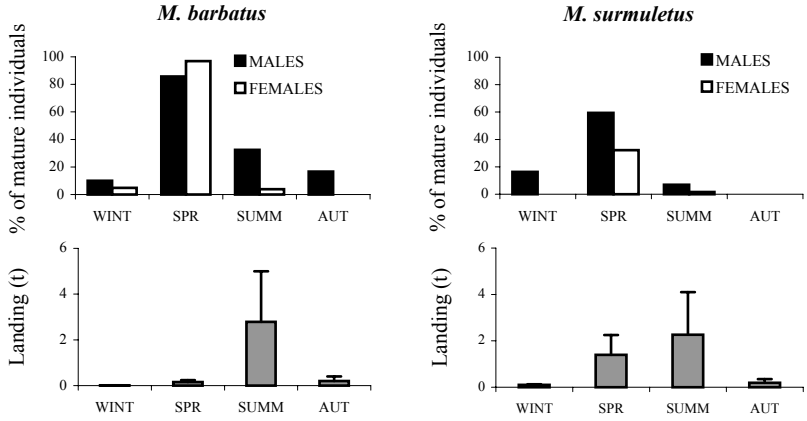


Fig. 3 - Comparison between the percentage of mature individuals and the landing of the two species.
Confronto tra la percentuale di individui maturi e lo sbarcato delle due specie.

Conclusions

The use of this type of trammel net seems to be adequate for the exploitation of these resources, in consideration of the low percentage of discard and of the reduced overlap between the period of highest fishing pressure from the artisanal fleet and the reproductive activity of the two species (De Ranieri, 1979; Andaloro, 1982). In both species, the specimens caught with this gear showed size greater than the minimum legal landing size (TL=11.0 cm, EC Reg.1626/94) and than the size at first maturity (11-12 cm LT for *M. barbatus* females and 13.9 cm LT for *M. surmuletus* females; De Ranieri, 1979, Sanchez *et al*., 1995).

References

ANDALORO F. (1982) – Résumé des paramètres biologiques sur *Mullus surmuletus* de la mer Tyrrhénienne méridionale et de la mer Ionienne septentrionale. *FAO Fish. Rep*., **266**: 87-88.

DE RANIERI S. (1979) - La maturità sessuale nelle femmine di *Mullus barbatus* L. nell'alto Tirreno. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem. ser. B*, **86** (Suppl.): 378-382.

FABI G., GRATI F., SBRANA M. (2002) - Attrezzi della piccola pesca utilizzati in funzione della successione stagionale e dell'eco-etologia delle specie ittiche in due aree costiere (Mar Ligure orientale e Medio Adriatico). Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, Final report: 159 pp.

SANCHEZ P., ALVAREZ F., DE RANIERI S. (1995) - Evaluation and analysis of the interaction of fishing gears in the demersal fisheries of western Mediterranean. European Union, Contract MED92/009, Final report: 333 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 838-842

M. Gristina, G. Bono, F. Fiorentino, G. Garofalo

Istituto Risorse Marine ed Ambiente, IRMA-CNR, Via Luigi Vaccara, 61
91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

L'IMPATTO DELLA PESCA A STRASCICO SULLA DIVERSITA' DELLE COMUNITA' DEMERSALI DELLO STRETTO DI SICILIA

THE TRAWL FISHING IMPACT ON THE DIVERSITY OF THE DEMERSAL COMMUNITIES OF THE STRAIT OF SICILY

Abstract

The effects of the commercial trawl fishing on the diversity of the demersal community in three zones of the Strait of Sicily under different fishing pressure, were analysed. Data were available from a total of 62 hauls, carried out annually in autumn 1997 and 1998, between 250 and 350 meter. The results indicate that different levels of fishing pressure on the three investigated areas , influence the structure of the demersal assemblages and in the diversity indices. The diversity indices calculated only on bony fishes seem a good metric to evaluate the fishing impact.

Key-words: *trawl fishing, demersal community, diversity, Strait of Sicily.*

Introduzione

Nelle ultime due decadi gli effetti della pesca a strascico commerciale sulle comunità demersali multispecifiche sono stati oggetto di numerosi studi mirati ad individuare "misure" e/o "indici" che consentissero di descrivere le comunità e di evidenziare i cambiamenti determinati dall'impatto della pesca (Dayton *et al*., 1995; Hall, 1999). Uno degli approcci più comunemente usati per descrivere la struttura e la composizione delle comunità multispecifiche utilizza gli indici di diversità convenzionali e la loro più recente evoluzione (Warwick e Clarke, 1998), ma i risultati ottenuti hanno spesso fornito interpretazioni ambigue ed equivoche. Nel presente lavoro il confronto, effettuato su due anni di dati, fra un'area mai sfruttata dalla pesca commerciale (C) e due aree sottoposte rispettivamente a moderata (L) ed intensa pressione di pesca (H) (Fig. 1), ha consentito di valutare il comportamento degli indici di diversità nell'individuare, su scala spaziale, le differenze nelle comunità demersali multispecifiche dovuti all'azione della pesca a strascico.

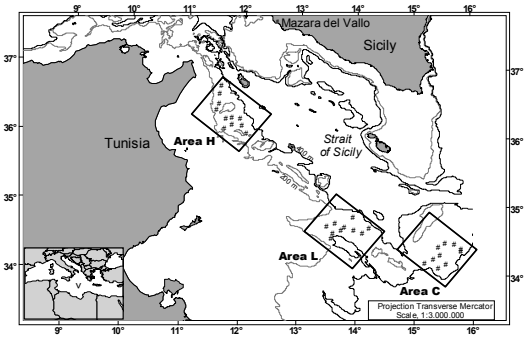


Fig. 1 - Mappa dello stretto di Sicilia ed ubicazione delle tre aree di indagine.
Map of the Strait of Sicily showing the location of the three investigated areas.

Materiali e metodi

I dati sulle comunità demersali sono stati ottenuti tramite due trawl surveys (autunno '97 ed autunno '98) condotti nello Stretto di Sicilia nell'ambito del Programma GRUND (Levi *et al*., 1998). Le cale effettuate nel 1997 sono state ripetute nel 1998. Sulla base dei dati forniti dal progetto DISCARD (Anonimo, 2000) sono state individuate tre aree sottoposte a differente pressione di pesca: area C (Controllo), mai sfruttata dalla pesca commerciale; area L (bassa pressione di pesca), sfruttata negli ultimi anni da un limitato numero di imbarcazioni (<375 cale al mese); area H (alta pressione di pesca), che è stata sfruttata per circa 20 anni da un elevato numero di imbarcazioni (>1250 cale al mese). Per il presente lavoro, al fine di ridurre l'eterogeneità delle catture ed il numero dei "demersal assemblages" compresi in un ampio intervallo batimetrico (Biagi *et al*., 2002), sono state analizzate solamente le cale (62) comprese tra i 250 ed i 350 metri. Le catture in numero di individui per ogni specie catturata di Cefalopodi, Crostacei, Selaci e Pesci ossei presenti almeno nel 10% delle cale esaminate, sono stati standardizzati ad 1 km^2. L'ordinamento dei dati (MDS), il calcolo degli indici di diversità (Shannon-Wiener, Simpson, Taxonomic Diversity e Taxonomic Distinctness) ed il test di similarità (ANOSIM), calcolato sulle differenze degli indici di diversità tra le aree, sono stati applicati con l'ausilio del pacchetto di statistica PRIMER (Clarke, 1993).

Risultati

La MDS (Fig. 2) plottata usando gli indici di abbondanza di tutti gli organismi censiti (Tab. 1) mostra tre differenti clusters spaziali ed una chiara sovrapposizione temporale delle tre aree investigate. La composizione percentuale media delle catture (Fig. 3), in accordo con l'analisi precedente, mostra evidenti differenze nella struttura della comunità demersale in funzione della pressione di pesca. Crostacei e Cefalopodi presenti in percentuali minime nell'Area di controllo (C), aumentano moderatamente nell'area sottoposta ad una contenuta pressione di pesca (L) per divenire una frazione importante della cattura nell'area H. La situazione risulta invertita per i Selaci che, discretamente presenti nelle aree C ed L, risultano praticamente assenti nell'area H. Gli indici di diversità calcolati sull'insieme dei 4 gruppi considerati mostrano significativi incrementi ($p<0.001$) all'aumentare della pressione di pesca (Tab. 2). L'analisi degli indici di diversità effettuata sui singoli gruppi mostra risultati contrastanti; in particolare, mentre all'aumentare della pressione di pesca la diversità dei pesci ossei diminuisce sensibilmente ($p<0.001$), la diversità dei crostacei presenta un progressivo incremento.

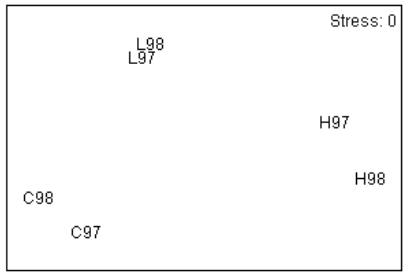


Fig. 2 – MDS per peso medio nelle tre aree e nelle due campagne.
MDS ordination for mean catch weight in the three areas and in the two sampling periods considered.

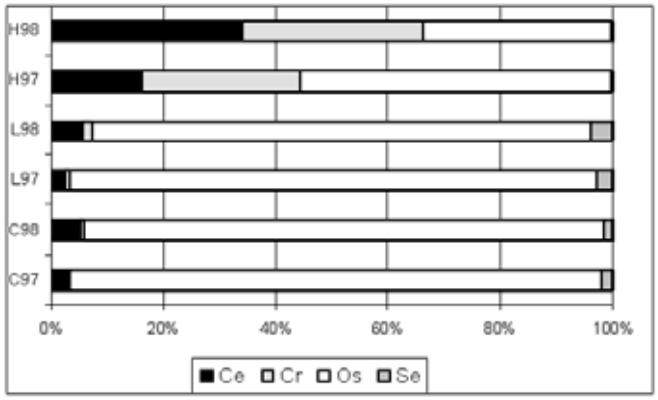


Fig. 3 – Composizione percentuale media delle catture.
Mean percentual composition of the catch.

Tab. 1 – Lista delle specie raccolte durante i trawl surveys condotti nel periodo 1997-1998.
List of the species collected during the trawl surveys carried out in the period 1997-1998.

CEFALOPODI	**OSTEITTI**		**CONDROITTI**
Alloteuthis media	*Acantholabrus palloni*	*Lepidotrigla cavillone*	*Zeus faber*
Eledone cirrosa	*Argentina sphyraena*	*Lepidotrigla dieuzeidei*	*Chimaera monstruosa*
Illex coindetii	*Arnoglossus laterna*	*Lophius budegassa*	*Heptranchias perlo*
Neorossia caroli	*Arnoglossus rueppelli*	*Lophius piscatorius*	*Mustelus asterias*
Octopus saluzzi	*Aspitrigla cuculus*	*Macrorhamphosus scolopax*	*Mustelus mustelus*
Pteroctopus tetracirrhus	*Callionymus phaeton*	*Merluccius merluccius*	*Raja alba*
Rossia macrosoma	*Callyonimus maculatus*	*Micromesistius poutassou*	*Raja circularis*
Scaeurgus unicirrhus	*Capros aper*	*Mullus barbatus*	*Raja clavata*
Sepia elegans	*Centracanthus cirrus*	*Mullus surmuletus*	*Raja melitensis*
Sepia orbignyana	*Chlorophthalmus agassizi*	*Pagellus erythrinus*	*Raja miraletus*
Todaropsis eblanae	*Citharus linguatula*	*Peristedion cataphractum*	*Raja montagui*
	Coelorhynchus coelorhynchus	*Phycis blennoides*	*Raja oxyrhynchus*
CROSTACEI	*Conger conger*	*Scorpaena elongata*	*Raja polystigma*
Alpheus glaber	*Gadiculus argenteus*	*Symphurus nigrescens*	*Raja* spp.
Chlorotocus crassicornis	*Gaidropsaurus mediterraneus*	*Trigla lyra*	*Scyliorhinus canicula*
Liocarcinus depurator	*Glossanodon leioglossus*		*Squalus blainvillei*
Munida intermedia	*Gnatophis mistax*		*Torpedo marmorata*
Nephrops norvegicus	*Helicolenus dactylopterus*		*Torpedo nobiliana*
Parapenaeus longirostris	*Hymenocephalus italicus*		
Plesionika heterocarpus	*Lepidopus caudatus*		
Plesionika martia	*Lepidorhombus bosci*		
Solenocera membranacea	*Lepidorhombus whiffjagonis*		

		H	λ	T. div.	T. dist.
Cefalopodi	C97	1.60	0.24	41.11	54.02
	L97	1.74	0.20	45.70	57.22
	H97	1.25	0.37	30.68	49.14
	C98	1.39	0.34	35.67	53.92
	L98	1.49	0.28	38.85	54.23
	H98	0.91	0.51	24.63	50.13
Crostacei	C97	0.48	0.76	12.55	50.00
	L97	1.16	0.33	33.36	50.00
	H97	1.50	0.26	36.92	49.65
	C98	0.81	0.50	25.06	50
	L98	1.08	0.37	31.19	49.80
	H98	1.55	0.26	35.59	48.29
Pesci Ossei	C97	1.82	0.23	50.62	65.34
	L97	1.59	0.25	50.00	66.47
	H97	1.46	0.44	31.66	56.49
	C98	1.91	0.19	53.52	65.94
	L98	1.68	0.25	50.07	66.35
	H98	1.46	0.44	32.60	58.59
Selaci	C97	1.62	0.28	44.15	61.30
	L97	1.20	0.41	37.05	63.05
	H97	1.44	0.28	30.04	41.92
	C98	1.62	0.28	42.70	59.07
	L98	1.24	0.42	35.81	61.42
	H98	1.46	0.26	38.76	52.17
Totale	C97	2.02	0.20	55.37	69.05
	L97	1.88	0.22	55.12	70.48
	H97	2.43	0.16	72.34	86.46
	C98	2.19	0.16	59.27	70.82
	L98	2.10	0.19	59.20	73.54
	H98	2.42	0.14	77.00	89.12

Tab. 2 – Indici di diversità per area per anno. H = Shannon-Wiener; λ = Simpson; T. div = T. Diversity; T. dist = T. Distinctness.
Diversity indices per area and year.

Conclusioni

In generale è noto che la pesca a strascico tende a ridurre la diversità delle comunità demersali (Dayton *et al*., 1995). Tuttavia, nei principali lavori effettuati su tale argomento, date le ampie scale spaziali e temporali d'indagine, risulta particolarmente difficile separare gli effetti diretti della pesca dagli effetti ambientali e biogeografici (Jennings e Reynolds, 2000). Il presente lavoro, riferito ad una limitata scala spaziale e temporale, suggerisce le seguenti conclusioni:

- La pesca a strascico sembra influenzare, in maniera determinante, la struttura delle comunità demersali;
- I Pesci ossei ed i Selaci, dominanti nell'area "selvatica" di controllo, vengono progressivamente sostituiti da Crostacei e Cefalopodi generalmente caratterizzati da strategie vitali opportunistiche (strategia "r").
- Tale evoluzione della comunità suggerisce grande cautela nell'interpretazione degli indici di diversità; infatti, l'aumento della diversità al crescere della pressione di pesca appare determinato dalla riduzione di specie dominanti nelle zone poco o nulla sfruttate, sostituite da specie opportunistiche meno vulnerabili.
- La diversità dei pesci ossei, tra quelle esaminate, risulta la misura più attendibile e diretta degli effetti della pesca a strascico sulle comunità demersali.

♦ L'impiego degli indici di diversità, come parametro univoco e confrontabile, per valutare gli effetti della pesca sulle comunità demersali necessita di verifiche più approfondite. Campagne di campionamento "ad hoc" e l'integrazione con altri strumenti di analisi (size spectra, biomass spectra) insieme ad un approfondimento delle strategie vitali degli organismi demersali sarebbe auspicabile.

Bibliografia

ANONIMO (2000) - *Analysis of trawl's discard operation in central and eastern Mediterranean Sea*. EU Directorate General for Fisheries. Final Report, contract n° 97/0044.

BIAGI F., SARTOR P., ARDIZZONE G.D., BELCARI P., BELLUSCIO A., FERENA P. (2002) – Analysis af demersal assemblages off the Tuscany and Latium coast (north-western Mediterranean). *Scientia Marina*, **66** (Suppl. 2): 233 – 242.

CLARKE K.R. (1993) - Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol*., **18**: 117-143.

DAYTON P.K., TRUSH S.F., AGARDY M.T., HOFMAN R.J. (1995) - Environmental effects of marine fishing. Acquatic conservation. *Marine and Freshwater Ecosystem*, 5: 205–232.

HALL S.J. (1999) – *The effects of fishing on marine ecosystems and communities*. Blackwell Science, Oxford: 274 pp.

JENNINGS S.J., REYNOLDS D. (2000) - Impacts of fishing on diversity: from pattern to process. In: Kaiser M.J., de Groot S.J. (eds), *Effects of fishing on non-target species and habitats: biological conservation and socio-economic issues*. Blackwell Science, Oxford: 235-250.

LEVI D., RAGONESE S., ANDREOLI M.G., NORRITO G., RIZZO P., GIUSTO G.B., GANCITANO S., SINACORI G., BONO G., GAROFALO G., CANNIZZARO L. (1998) - Sintesi delle ricerche sulle risorse demersali dello Stretto di Sicilia (Mediterraneo Centrale) negli anni 1985-97 svolte nell'ambito della legge 41/82. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 130-139.

WARWICK R.M., CLARKE K.R. (1998) – Taxonomic distinctness and environmental assessment. *Journal of Applied Ecology*, **35**: 532-543.

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 843-847

M. Imperatrice, R. Carlucci*, L. Sion*, G. D'Onghia*

CIRSPE, Via De'Gigli d'Oro, 21 – 00186 Roma, Italia.
*Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.

ESPERIMENTI DI SELETTIVITA' DELLA RETE A STRASCICO RELATIVI ALLA PESCA DI *ARISTEUS ANTENNATUS* ED *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA* NELLA MARINERIA DI GALLIPOLI (MAR IONIO)

SELECTIVITY EXPERIMENTS OF THE BOTTOM TRAWL NET USED IN THE FISHERY OF ARISTEUS ANTENNATUS *AND* ARISTAEOMORPHA FOLIACEA *IN THE GALLIPOLI AREA (IONIAN SEA)*

Abstract

An experimental survey on the selectivity of the bottom trawl net used in the fishing of Aristeus antennatus *and* Aristaeomorpha foliacea (*Crustacea: Decapoda*) *was carried out during June-July 2000 and 2001 in the Ionian Sea. The selectivity of the 40, 50 and 60 mm mesh size (stretched) codend was tested using the "covered codend" method. The 40 mm mesh was not selective for the sampled population. The size of first capture (L_{50}) for the 50 mm mesh was 19.4 mm and 16.2 mm for* A. antennatus *and* A. foliacea, *respectively. The L_{50} for the 60 mm mesh was 23.6 mm for the former and 21.2 mm for the latter.*

Key-words: *selectivity, bottom trawl, red shrimps, Ionian Sea.*

Introduzione

Aristeus antennatus e *Aristaeomorpha foliacea* rappresentano importanti risorse della pesca a strascico sui fondi di scarpata del Mediterraneo. Uno strumento per la gestione di tali risorse consiste nell'adozione di un'appropriata maglia della rete nel sacco, tale da evitare la cattura di individui di piccole dimensioni che, oltre a non essersi ancora riprodotti, hanno un basso valore commerciale.

Sebbene la stima della selettività della rete a strascico rappresenti un aspetto fondamentale nella gestione delle risorse demersali, le esperienze realizzate nei mari italiani riguardanti i crostacei decapodi batiali sono ancora piuttosto limitate (D'Onghia *et al*., 1998 a; Ragonese *et al*., 2001, 2002). Nel presente lavoro si riportano i risultati sulla valutazione della selettività della rete a strascico nella pesca di *A. antennatus* e *A. foliacea* nel Compartimento Marittimo di Gallipoli (Ionio Settentrionale).

Materiali e metodi

Nei periodi di giugno-luglio 2000 e giugno-luglio 2001 sono state realizzate, nella marineria di Gallipoli, 36 cale di pesca a strascico durante le quali è stata sperimentata la selettività di una rete con maglie al sacco di differenti dimensioni (maglia stirata al sacco di 40, 50 e 60 mm).

E' stato utilizzato un motopeschereccio tipico della marineria, di stazza lorda 9,9 t e potenza motore 162 kW, con cui sono state realizzate, dall'alba al tramonto, cale di pesca commerciale della durata di 3 ore. In particolare, sono state realizzate 8 cale con la maglia stirata al sacco di 40 mm (misura prevista dalla vigente normativa), 14 cale con la maglia di 50 mm e 14 cale quella di 60 mm. Tutte le cale sono state realizzate sui fondi di scarpata tra 400 e 700 m.

Le informazioni sulla selettività della rete a strascico sono state acquisite attraverso il metodo del "covered-codend" (Sparre e Venema, 1998) utilizzando un idoneo coprisacco, con maglia stirata di 20 mm.

La cattura di *A. antennatus* e *A. foliacea* realizzata nel sacco e nel coprisacco, è stata analizzata per ciascuna maglia in termini di peso (kg/h), numero di individui (N/h) e taglia. Per il confronto dei dati di cattura è stato utilizzato il test non parametrico di Mann-Whitney. E' stata misurata la lunghezza del carapace (LC) in mm e sono state elaborate le distribuzioni di taglia.

Per la stima dei parametri di selettività, range di selezione (L_{75}–L_{25}), taglia di prima cattura (L_{50}) e fattore di selezione (FS) è stato utilizzato il modello logistico riportato in Sparre e Venema (1998) e il modello asimmetrico proposto in Sardà *et al.* (1996), applicati entrambi ai dati complessivamente raccolti durante l'intero periodo della ricerca.

Risultati

Aristeus antennatus

I rendimenti orari del gambero viola registrati con la maglia da 40 mm oscillavano tra 0,12 e 1,67 kg/h (0,79±0,50 kg/h in media) e tra 7 e 105 N/h (41±31 N/h in media). Il sacco con la maglia da 50 mm ha fornito valori compresi tra 0,07 e 1,87 kg/h (0,74±0,58 kg/h in media) e tra 2 e 61 N/h (27±21 N/h in media). I rendimenti registrati con la maglia da 60 mm erano compresi tra 0,02 e 2,33 kg/h (0,77±0,58 kg/h in media) e tra 1 e 75 N/h (24±18 N/h in media). Le differenze osservate nei dati di cattura, sia in peso sia in numero, non sono risultate statisticamente significative ($p > 0,05$).

In generale, le distribuzioni di taglia elaborate con tutti gli esemplari catturati e per le tre maglie sono risultate sovrapponibili in un intervallo compreso tra 12 e 62 mm LC (Fig. 1).

La maglia da 40 mm è risultata non selettiva per la popolazione campionata nell'area di studio. Soltanto alcuni esemplari (3% del totale) sono stati rinvenuti nel cover montato sul sacco con maglia di 50 mm. La rete con maglia da 60 mm è risultata più selettiva, consentendo, infatti, il passaggio nel cover di 363 esemplari (18% del totale).

La lunghezza di prima cattura stimata per la rete da 50 mm è stata 19,4 mm LC, con un range di selezione di 3,6 mm ed un FS pari a 0,39. Considerando la rete di 60 mm, la L_{50} è risultata pari a 23,6 mm LC con un range di selezione di 9,7 mm ed un FS ancora di 0,39. Applicando il modello asimmetrico la lunghezza di prima cattura è risultata 16,5 e 21,8 mm LC rispettivamente per la maglia da 50 e 60 mm.

Aristaeomorpha foliacea

I rendimenti orari del gambero rosso osservati nel sacco con maglia da 40 mm oscillavano tra 0,02 e 2,93 kg/h (1,11±0,93 kg/h in media) e tra 2 e 387 N/h (119±122 N/h in media). Il sacco con la maglia da 50 mm ha fornito valori compresi tra 0,17 e 1,67 kg/h (0,77±0,42 kg/h in media) e tra 12 e 144 N/h (58±42 N/h in media). I rendimenti registrati con la maglia da 60 mm erano compresi tra 0,17 e 2,00 kg/h (0,75±0,42 kg/h in media) e tra 6 e 231 N/h (65±53 N/h in media). Le differenze osservate nei dati di cattura ottenuti con le tre maglie non sono risultate statisticamente significative ($p > 0,05$).

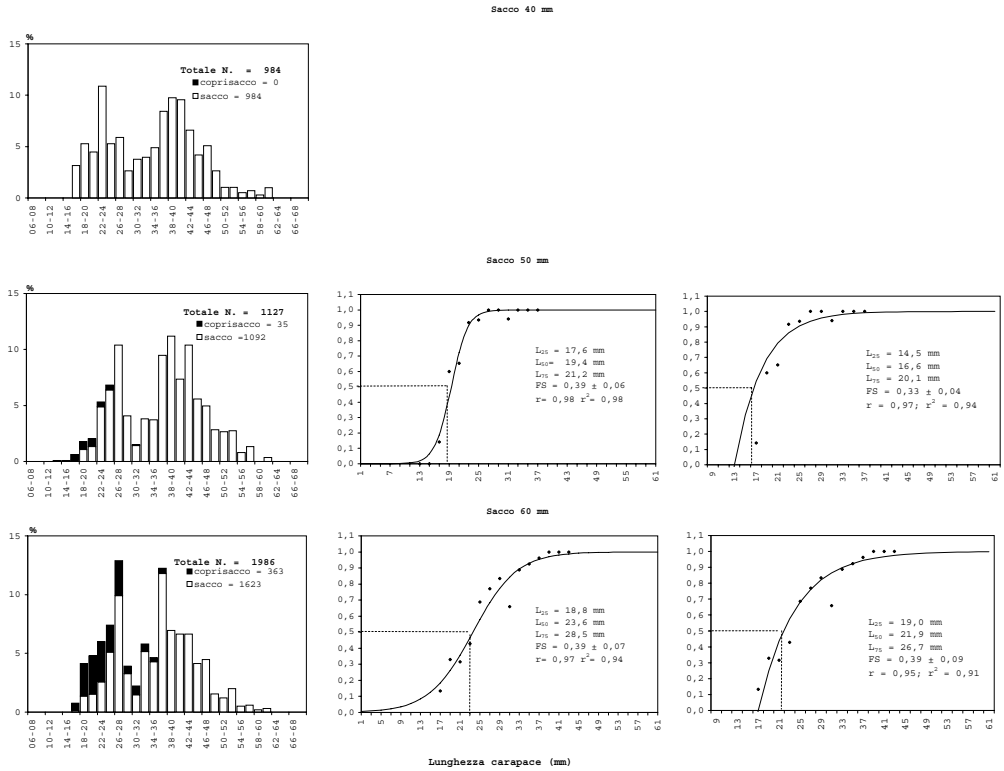


Fig. 1 - Distribuzioni lunghezza-frequenza degli esemplari di *Aristeus antennatus* catturati nel sacco e nel coprisacco, con la maglia stirata al sacco di 40, 50 e 60 mm e curve di selettività.
Length-frequency distributions in the codend and cover, of Aristeus antennatus *specimens caught with 40, 50 and 60 mm stretched mesh size and selectivity curves.*

Nella popolazione campionata, le taglie erano comprese tra 12 e 60 mm LC (Fig. 2). La rete con maglia al sacco di 40 mm ha consentito il passaggio nel cover soltanto a 16 individui molto piccoli (<28 mm LC). Con la maglia da 50 mm si è osservato un lieve incremento del numero di esemplari nel cover (3,4% del totale). La configurazione della rete con la maglia stirata al sacco di 60 mm è risultata evidentemente più selettiva, consentendo, infatti, a 1562 esemplari (27,5% del totale) di passare nel cover.

Il modello logistico applicato agli esemplari catturati con la rete di 50 mm ha fornito un valore di L_{50} pari a 16,2 mm LC con un range di selezione di 6,3 mm ed un FS pari a 0,32. La taglia di prima cattura calcolata per la rete di 60 mm, è risultata invece pari a 21,2 mm LC con un range di selezione di 10,7 mm ed un FS di 0,35. La taglia di prima cattura calcolata applicando il modello asimmetrico è risultata pari a 15,2 e 20,5 mm LC per la maglia da 50 e 60 mm, rispettivamente.

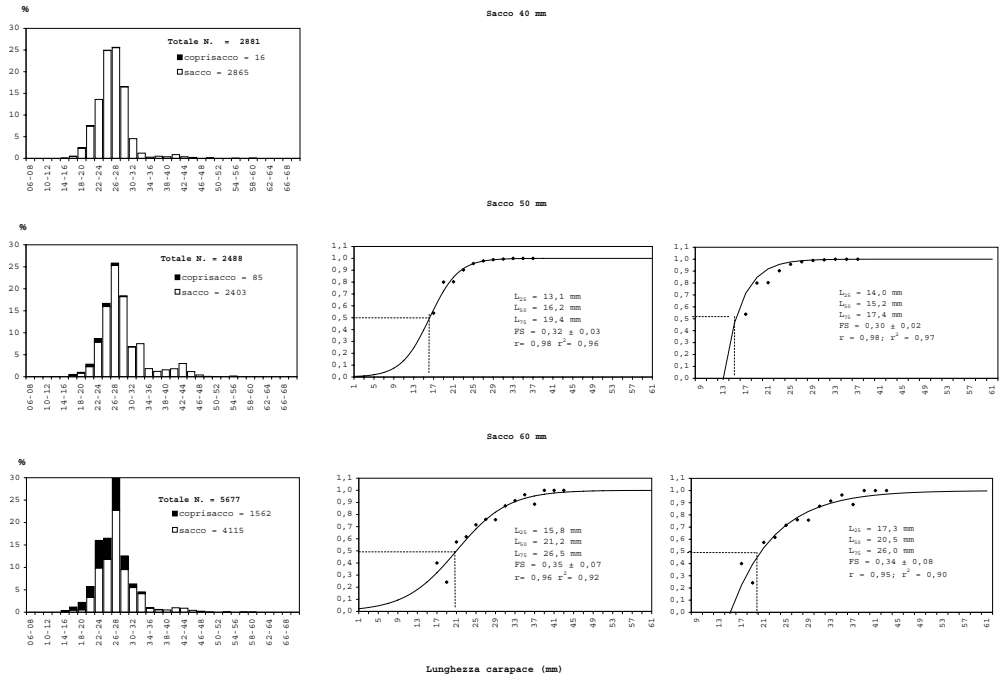


Fig. 2 - Distribuzioni lunghezza-frequenza degli esemplari di *Aristaeomorpha foliacea* catturati nel sacco e nel coprisacco, con la maglia stirata al sacco di 40, 50 e 60 mm e curve di selettività.
Length-frequency distributions in the codend and cover, of Aristaeomorpha foliacea *specimens caught with 40, 50 and 60 mm stretched mesh size and selectivity curves.*

Conclusioni

I risultati ottenuti in questa ricerca concordano con quanto riportato in studi analoghi condotti in altri distretti marittimi. In particolare, come già osservato nel Canale di Sicilia (Ragonese *et al*., 2002) e nello Ionio lungo le coste calabre (D'Onghia *et al*., 1998a), la rete con maglia di 40 mm, sebbene regolamentare, non è selettiva per i gamberi rossi. Per entrambe le specie è stato osservato un reclutamento di tipo discreto che inizierebbe in primavera (D'Onghia *et al*., 1997, 1998b). Anche se gli individui molto piccoli sono stati catturati in quantità trascurabili, i valori di L_{50} ottenuti con le maglie di 50 e 60 mm nella marineria di Gallipoli, sono comparabili con quelli riscontrati lungo le coste calabre (D'Onghia *et al*., 1998a) e nel Canale di Sicilia (Ragonese *et al*., 2002).

Per entrambe le specie il modello sigmoide, applicato alla maglia da 50 e 60 mm, fornisce valori di L_{50} superiori rispetto a quello asimmetrico e una migliore interpolazione dei dati.

A. foliacea viene catturata con taglie più piccole di *A. antennatus* e per entrambe le specie la taglia di prima cattura risulta sempre inferiore alla taglia di prima maturità sessuale (Carlucci *et al.,* 2003a). Tale differenza risulta più elevata in *A. foliacea* che in *A. antennatus*, indicando un maggiore potenziale impatto della rete a strascico sullo stock del gambero rosso rispetto a quello del gambero viola, soprattutto perché la frazione parentale dello stock del primo risulta essere piuttosto esigua. Considerando che nella marineria di Gallipoli i due gamberi possono rappresentare fino al 100% in peso della cattura totale e contribuire in maniera preponderante al valore economico del pescato (Carlucci *et al.,* 2003b), appare evidente la necessità dell'adozione di misure miranti alla razionalizzazione dell'attività di prelievo, tra le quali soprattutto la regolamentazione della dimensione della maglia della rete nel sacco, al fine di evitare la cattura di individui di piccole dimensioni che non si sono ancora riprodotti.

Bibliografia

CARLUCCI R., MAIORANO P., CAPEZZUTO F., IMPERATRICE M. (2003a) - Osservazioni sulla riproduzione di *Aristeus antennatus* e *Aristaeomorpha foliacea* (Crustacea, Decapoda) nel compartimento marittimo di Gallipoli (Mar Ionio). *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 291-295.

CARLUCCI R., PANZA M., COSTANTINO G., D'ONGHIA G. (2003b) - Osservazioni sullo sbarcato dei gamberi rossi (*Aristeus antennatus* ed *Aristaeomorpha foliacea*) nella marineria di Gallipoli (Mar Ionio). *Biol. Mar. Medit.,* **10** (2): 781-784.

D'ONGHIA G., MAIORANO P., MATARRESE A., TURSI A. (1998b) - Distribution, biology and population dynamics of *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (Crustacea, Decapoda) from the north-western Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Crustaceana,* **71**, 5: 518-544.

D'ONGHIA G., MASTROTOTARO F., MAIORANO P., BASANISI M. (1998a) - Selettività della rete a strascico utilizzata sui fondi di scarpata (250-750 m) dello Ionio (Mediterraneo Centrale). *Biol. Mar. Medit.,* **5** (2): 437-448.

D'ONGHIA G., MATARRESE P., MAIORANO P., PANZA M. (1997) - Recruitment pattern of *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Decapoda: *Aristaeidae*) from the North-Western Ionian Sea. *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 244-253.

RAGONESE S., BIANCHINI M., DI STEFANO L. (2002) - Trawl cod-end selectivity for deepwater red shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*, Risso, 1827) in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Fish. Res.,* **57** (2): 131-144.

RAGONESE S., ZAGRA M., DI STEFANO L., BIANCHINI M.L. (2001) - Effect of codend mesh size on the performance of the deep-water bottom trawl used in the red shrimp fishery in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Hydrobiolgia,* **449**: 279-291.

SARDA' F., CONAN G.Y., FUSTE' X. (1993) - Selectivity of Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.) in the northwestern Mediterranean. *Sci. Mar*., **57** (2-3): 167-174.

SPARRE P., VENEMA S.C. (1998) - Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1. - Manual. *FAO Fish. Tech. Pap.,* 306.1 (Rev. 2): 407 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 848-852

G. Lauriano[1,2], C.M. Fortuna[1], G. Moltedo[1], P. Mackelworth[1,3],
G. Notarbartolo di Sciara[1]

[1]Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.
[2]TRI - Milano, Italia.
[3]UCL – London, UK.

PRESENZA E DISTRIBUZIONE DEI CETACEI NELLE AREE LIMITROFE AL PARCO NAZIONALE DELL'ASINARA (SARDEGNA NORD-OCCIDENTALE)

PRESENCE AND DISTRIBUTION OF CETACEANS IN THE ADJACENT AREA OF ASINARA NATIONAL PARK (N-W SARDINIA)

Abstract

A dedicated survey on presence and distribution of cetaceans off north-western Sardinia was held between '94 and '96 summer periods. A total of 120 sightings of five cetaceans species has been recorded. Fin whale was the most abundant species. Both Striped and Bottlenose dolphin were regularly sighted on the study area. The waters around the Asinara Island National Park showed an interesting cetacean fauna and could be an useful area for study and regulated whale-watching activity.

Key-words: *cetaceans, Asinara National Park, population distribution.*

Introduzione

Nonostante i dati su presenza e distribuzione dei cetacei siano disponibili nell'area del Santuario (Zanardelli *et al*., 1992; Notarbartolo di Sciara *et al*., 1993; Forcada *et al*., 1995), poche informazioni si hanno per l'area dell'Asinara (Ferreccio *et al*., 1992; Lauriano e Notarbartolo di Sciara, 1995). Al fine di indagare con maggiore dettaglio quest'area, tra il 1994 e il 1996, nelle zone limitrofe al Parco Nazionale dell'Asinara, sono state condotte tre campagne di ricerca mirate allo studio della presenza e della distribuzione dei cetacei. L'area, compresa nel Santuario pelagico internazionale, si è rivelata, per la frequenza di avvistamento e per la distribuzione delle specie, un punto strategico. Sono state avvistate cinque specie di cetacei, tra cui la Balenottera comune, *Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758).

Materiali e metodi

L'aria di studio di 10.000 Km^2 (Fig. 1A) è stata percorsa con imbarcazioni a vela secondo rotte casuali. Per le cartine di distribuzione e per la statistica descrittiva delle dimensioni del gruppo, della profondità e della distanza dalla costa del punto di avvistamento sono stati utilizzati tutti i dati delle campagne di studio effettuate nel periodo 1994-1996. Per la frequenza di avvistamento invece, sono state considerate solo le osservazioni effettuate con condizioni positive (forza del vento ≤ 3 Beaufort, velocità 6 nodi, 2 osservatori). Le coordinate dei punti di avvistamento sono state trattate in un sistema G.I.S. Gli esemplari di balenottera sono stati fotografati e identificati individualmente secondo il criterio *North Atlantic Fin Whale Catalogue* (Agler *et al.,* 1990).

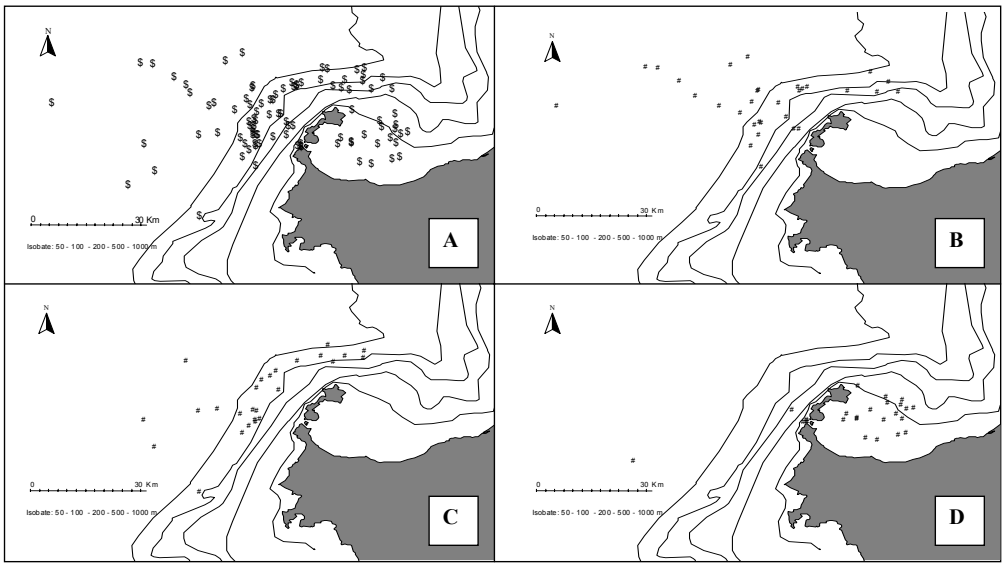


Fig. 1 – Distribuzione degli avvistamenti delle cinque specie di Cetacei (in alto), solo di *B. physalus* (A), solo di *S. coeruleoalba* (B), solo di *T. truncatus* (C), nell'area di studio.
Sightings distribution of five species of cetaceans (A), only of B. physalus *(B), only of* S. coeruleoalba *(C), only of* T. truncatus *(D), in the study area.*

Risultati

In 107 giorni di ricerca (35 nel '94, 41 nel '95, 31 nel '96), sono stati registrati 120 avvistamenti delle cinque specie elencate in ordine decrescente di abbondanza: *Balaenoptera physalus* (29%), *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) (27%), *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) (27%), *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758) (6%) e *Grampus griseus* (G. Cuvier, 1812) (3%). Nell'8% dei casi non è stato possibile identificare la specie di Delfinide incontrata e l'avvistamento è riportato come NI (Non Identificato). La distribuzione degli avvistamenti attorno all'Isola dell'Asinara è mostrata in Fig. 1. La dimensione media del gruppo, la distanza media dalla costa e la profondità media del punto di avvistamento sono riportate in Fig. 2. In condizioni positive sono stati percorsi 3.256 Km; le frequenze di avvistamento (N totale = 94), sono in Tab. 1. In totale sono stati identificati 32 esemplari di balenottera; un esemplare è stato riavvistato, all'interno dell'area di studio, a distanza di 4 giorni (0,5 miglia tra i due punti). Due esemplari identificati nel Mar Ligure (Zanardelli *et al*., 1992) nel '91 e nel '92, sono stati riavvistati nel '95 e nel '96; uno dei due è stato riavvistato anche nel '94.

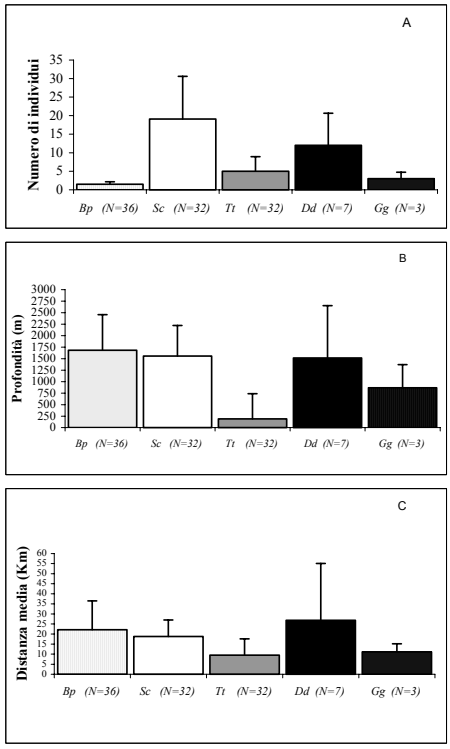


Fig. 2 - Dimensioni medie dei gruppi (A), profondità media (B), distanza media dalla costa (C) delle specie di cetacei avvistati. Bp=*B. physalus*; Sc=*S. coeruleoalba*; Tt=*T. truncatus*; Dd=*D. delphis*; Gg=*G. griseus*.

Average group size (A), average depth (B), average distance from the cost (C) of sighted cetacean species. Bp=B. physalus*; Sc*=S. coeruleoalba*; Tt*=T. truncatus*; Dd*=D. delphis*; Gg*=G. griseus.

Tab. 1 – Frequenze di avvistamento solo in condizioni positive (N=94).

Sighting frequencies with positive conditions, only (N=94).

Specie	**Frequenza di avvistamento (N avv./Km x 100)**
B. physalus	0,9826753
S. coeruleoalba	0,7984237
T. truncatus	0,6755893
D. delphis	0,1228344
G. griseus	0,0921258
NI (non identificata)	0,2149602
Totale	2,8866087

Conclusioni

La distribuzione delle specie di cetacei osservate, note per le loro marcate differenze nelle abitudini ecologiche (Fabbri *et al*., 1992; Notarbartolo di Sciara e Demma, 1994; Woodley e Gaskin, 1996; Orsi Relini *et al*., 1998; Gordon *et al.* 2000), sembra essere anche qui in relazione alle caratteristiche morfobatimetriche dell'area. Infatti, specie con abitudini maggiormente pelagiche, come la Balenottera comune, la Stenella, il Delfino comune e il Grampo, sono distribuite a occidente e a settentrione dell'Isola. Qui i fondali, caratterizzati da ripide scarpate e *canyon*, potrebbero facilitare l'*upwelling* e di conseguenza alte concentrazioni di prede gradite ai cetacei. In particolare, le osservazioni di balenottera comune sembrano rispecchiare le conoscenze sul suo legame con la distribuzione dell'Eufasiaceo *Meganyctiphanes norvegica*, in altre aree nella zona del Santuario (Orsi Relini *et al*., 1998). Solo il Tursiope è regolarmente segnalato a oriente dell'isola, nel Golfo dell'Asinara, dove si ha ampio sviluppo della piattaforma continentale e ove sono noti degli elevati rendimenti estivi di cattura di *Mullus barbatus* (Ardizzone e Corsi, 1997), una delle probabili prede del *Tursiops truncatus* (Silvani *et al*., 1992).

Le aree circostanti l'Isola dell'Asinara risultano, per la diversità di specie presenti e per la loro frequenza di osservazione, di elevato interesse. Le economie locali che insistono nell'area potrebbero quindi, in linea con le indicazioni dettate dall'istituzione del Santuario Pelagico Internazionale, ottenere un vantaggio nello sfruttamento benigno di una megafauna carismatica, come i cetacei. Ad esempio, la loro osservazione commerciale (*Whale-watching*), opportunamente controllata e regolamentata, potrebbe essere uno strumento economico alternativo, in linea con le esigenze di conservazione del Parco.

Bibliografia

AGLER B.A., BEARD J.A., BOWMAN R.S., CORBETT H.D., FROHOCK S.W., HAWVERMALE M.P., KATONA S.K., SADOVE S.S., SEIPT I.E. (1990) - Fin Whale (*Balaenoptera physalus*) Photographic -Identification: Methodology and Preliminary Results from the Western North Atlantic. In: Hammond P.S., Mizroch S.A., Donovan G.P. (eds), *Individual Recognition of Cetaceans: Use of Photo-Identification and Others Techniques to Estimate Population Parameters.* Rep. Int. Whal. Comm., Special Issue - 12, Cambridge: 349-356.

ARDIZZONE G.D., CORSI F. (1997) - Atlante delle Risorse Ittiche Demersali Italiane. Atlas of Italian Demersal Fishery Resources: Trawl surveys 1985-1987. *Biol. Mar. Medit.*, **4** (2), Special Issue: 1-479.

FABBRI F., GIORDANO A., LAURIANO G. (1992) - A preliminary investigation into the relationship between the distribution of Risso's dolphin and depth. In: Evans P.G.H. (ed), *European Research on Cetaceans - 6,* European Cetacean Society, Cambridge: 146-151.

FERRECCIO P., MILELLA I., PEDDE M., SABA S., SOLINAS P.L., DI NATALE A. (1992) - Contribution to knowledge of geographical distribution of bottle-nosed dolphins, *Tursiops truncatus*, off the Coasts of northwestern Sardinia. In: Evans P.G.H. (ed), *European Research on Cetaceans - 6*, European Cetacean Society, Cambridge: 121-126.

FORCADA J., NOTARBARTOLO DI SCIARA G., FABBRI F. (1995) – Abundance of fin whales and striped dolphins summering in the Corso-Ligurian Basin. *Mammalia,* t. 59, **1**: 127-140.

GORDON J.C.D., MATTHEWS J.N., PANIGADA S., GANNIER A., BORSANI J.F., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2000) - Distribution and relative abundance of striped dolphins, and distribution of sperm whales in the Ligurian Sea cetacean sanctuary: results from a collaboration using acoustic monitoring techniques. *J. Cetacean Res. Manage*., **2** (1): 27-36.

LAURIANO G., NOTARBATOLO DI SCIARA G. (1995) – The distribution of cetaceans off northwestern Sardinia. In: Evans P.G.H., Nice H. (eds), *European Research on Cetaceans - 9*, European Cetacean Society, Kiel: 104-106.

NOTARBARTOLO DI SCIARA G., VENTURINO M.C., ZANARDELLI M., BEARZI G., BORSANI J.F., CAVALLONI B. (1993) – Cetaceans in the central Mediterranean Sea: distribution and sighting frequencies. *Boll. Zool.*, **60**: 131-138.

NOTARBARTOLO DI SCIARA G., DEMMA M. (1994) - *Guida ai mammiferi marini del Mediterraneo*. Franco Muzzio Editore, Padova: 262 pp.

ORSI RELINI L., RELINI G., PALANDRI G., RELINI M., GARIBALDI F., CIMA C., TORCHIA G., COSTA C. (1998) - Notes on ecology of the Mediterranean krill, a mirror of the behaviour of Mediterranean fin whales. In: Evans P.G.H., Parsons E.C.M. (eds), *European Research on Cetaceans - 12*, European Cetacean Society, Valencia: 119 pp.

SILVANI L., RAICH J., AGUILAR A. (1992) - Bottle-nosed dolphins, *Tursiops truncatus*, interacting with local fisheries in the Balearic Islands, Spain. In: Evans P.G.H. (ed), *European Research on Cetaceans - 6*, European Cetacean Society, Cambridge: 32-34.

WOODLEY T.H., GASKIN D.E. (1996) - Environmental characteristics of North Atlantic right and fin whale habitat in lower Bay of Fundy, Canada. *Can. J. Zool.*, **74**: 75-84.

ZANARDELLI M., NOTARBARTOLO DI SCIARA G., JAHODA M. (1992) - Photo-identification and behavioural observations of fin whales summering in the Ligurian Sea. In: Evans P.G.H. (ed), *European Research on Cetaceans - 6*, European Cetacean Society, Cambridge: 86-89.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 853-855

A. Ligas, P. Belcari*, D. Bertolini*, C. Viva*

Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata, Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
*Dip. di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Pisa, Italia.

GROWTH OF *JUVENILES* OF EUROPEAN HAKE, *MERLUCCIUS MERLUCCIUS* (L., 1758), IN THE NORTHERN TYRRHENIAN SEA

ACCRESCIMENTO DI JUVENILES *DI* MERLUCCIUS MERLUCCIUS *(L., 1758) NEL MAR TIRRENO SETTENTRIONALE*

Abstract

Growth of juveniles *of* Merluccius merluccius *(L., 1758) (Pisces; Osteichthyes) was studied by ageing method based on otolith daily increments interpretation. Left* sagittae*, from specimens between 3.5 and 20.0 cm TL, were ground and then observed under light microscope. Age and length data were used to fit a growth curve. Age estimations were used to back-calculate hatch dates as well. The monthly growth rates ranged between 1.14 and 2.81 cm/month during the first year of life. No growth differences were detected between sexes.*

Key-words: *age determination, growth,* Merluccius merluccius*, otolith, Tyrrhenian Sea.*

Introduction

European hake, *Merluccius merluccius* (L., 1758), represents an important component of the demersal ecosystem and a resource of great economic value. Data on growth are still debatable, despite the fact that growth represents one of the population increment factors, providing a measure of the resource renewal ability. In particular, study on growth during early life is helpful in order to understand the recruitment process: this is important for an intensively exploited species, such as European hake. The present study tackles the aspects of European hake *juveniles* growth, through the application of otolith daily increment analysis (Pannella, 1971).

Materials and methods

Specimens of hake *juveniles* were caught during a trawl survey carried out in April 1999 in the northern Tyrrhenian Sea. Hauls were performed at depths ranging from 50 to 350 m, according to a stratified random sampling. Specimen total length (TL) was measured to the nearest 0.5 cm below; sex of specimens above 11.0 cm TL was determined by a macroscopic observation of the gonads. A sub-sample of otoliths (*sagittae*) belonging to individuals between 3.5 and 20.0 cm TL was used (Belcari *et al.*, in press). Left *sagittae* were ground and mounted on slides, using a two components epoxy resin (Araldite AW106; Hardener HV953U), and then observed under a compound light-polarising microscope with an attached image software (Optimas 6.2). The first daily increment was considered to be deposited at hatching time. Otoliths were read twice: from the nucleus to the dorsal edge and then back to the nucleus. The mean of the two readings was considered the age of the fish. A third reading was performed if the first two differed more than 10% (Arneri & Morales-Nin, 2000). Different growth curves (Exponential, Gompertz, von Bertalanffy) were fitted from age estimations and length data. The three growth curves gave similar results, but the best fitted equation was the Exponential curve. Due to the narrow size range examined, growth of males

and females was described by regression analysis as well; growth differences between sexes were investigated by means of a parallelism test. The hatching date distribution was determined by subtracting ages from sampling dates.

Results

A total of 32269 specimens of hake was caught; a bimodal distribution, with modal length of 9 and 13 cm TL, was showed. 191 otoliths of the 213 prepared for age reading resulted interpretable. The equation of the Exponential growth curve (Fig. 1) was:

$$L_t = 2.90\ t^{0.41} - 13.62 \quad (r^2=0.95;\ n=191)$$

In accord to this curve, a mean length of 18.80 cm was reached at the end of the first year of life. Monthly growth rates ranged from 2.81 cm/month, in the third month, to 1.14, at the end of the year, with a mean growth rate of 1.56 cm/month for the first year.

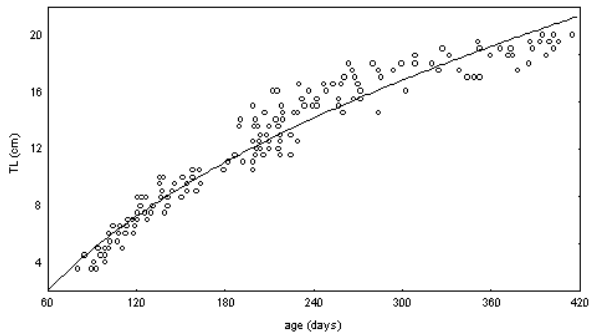


Fig. 1 – European hake *juveniles* growth curve based on the Exponential model.
Curva di accrescimento di juveniles *di nasello basata sul modello Esponenziale.*

The back-calculation of the hatching dates showed a sharp peak in September ’98 (Fig. 2).

Test of parallelism was not significant ($F_{1,110}=0.059$; $p>>0.01$), indicating that males and females grow at the same rate.

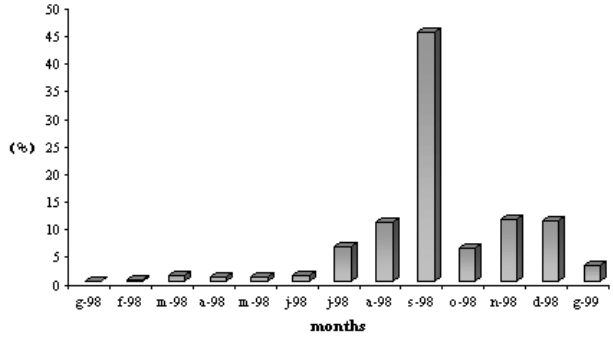


Fig. 2 – Back-calculated hatching date distribution.
Distribuzione delle date di nascita.

Conclusions

In the northern Tyrrhenian sea, a mean size of about 19 cm was estimated for *Merluccius merluccius* at the end of the first year of life. The mean growth rate resulted of about 1.50 cm/month. Males and females didn't present any difference in growth rate, as the change occurs when the maturation process starts (Aldebert & Recasens, 1995). The back-calculation of hatching dates showed a peak in late summer, mainly represented by the modal class of 13 cm TL; as a matter of fact, this is one of the peaks singled out by previous studies conducted on hake reproductive biology in the northern Tyrrhenian Sea (Biagi *et al.*, 1995; Nannini *et al.*, 2001).

Investigations based on otolith microstructure analysis yielded an estimation of the mean size at the end of the first year of life of about 16 cm for European hake *juveniles*, both in the Gulf of Lions (Aldebert & Morales-Nin, 1997) and in the Adriatic Sea (Arneri & Morales-Nin, 2000). Studies based on annual ring analysis and on modal progression analysis gave estimations of the mean size at age 1 of 12 cm in the Ligurian Sea, with growth rates of 0.7-1.2 cm/month (Orsi-Relini *et al.*, 1989), and of 19 cm in the Balearic Sea, with growth rates of 1.8 cm/month (Alemany & Oliver, 1995). Seasonal growth variations in European hake *juveniles* were detected in the Catalan Sea (Lleonart, 2001); thus, it could be hypothesised the existence of cohorts with different growth rates depending on the hatching period, as described for the closely related species *Merluccius hubbsi* in the Pacific (Norbis *et al.*, 1999).

References

ALDEBERT Y., RECASENS L. (1995) – Estimation de la croissance du merlu dans le Golfe du Lion par l'analyse de frequences de tailles. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **34**: 236 pp.

ALEMANY F., OLIVER P. (1995) – Growth of female hake in the Balearic Sea: a proposal of a new growth model with higher growth rates. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **34**: 236 pp.

ARNERI E., MORALES-NIN B. (2000) – Aspects of early life history of European hake from the central Adriatic. *Journal of Fish Biology*, **56**: 1368-1380.

BELCARI P., BERTOLINI D., VIVA C. (2002) – Otolith study of juveniles of hake (*Merluccius merluccius* L., 1758) in the northern Tyrrhenian Sea: allometric relationships and preliminary results of imaging analysis. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 722-725.

BIAGI F., CESARINI A., SBRANA M., VIVA C. (1995) – Reproductive biology and fecundity of *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) in the northern Tyrrhenian Sea. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **34**: 237 pp.

LLEONART J. (Co-ordinator) (2001) – *Impact of fishery and environment on hake recruitment in Northwestern Mediterranean.* EU Contract FAIR CT-97-3522 (1998-2000). Final report: 680 pp.

MORALES-NIN B., ALDEBERT Y. (1997) – Growth of juvenile *Merluccius merluccius* in the Gulf of Lions (NW Mediterranean) based on otolith microstructure and length-frequency analysis. *Fisheries Research*, **30**: 77-85.

NANNINI N., PINNA D., CHIERICONI V., BIAGI F., BELCARI P. (2001) – Ciclo ovarico di *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) nel Mar Tirreno Settentrionale. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 745-748.

NORBIS W., LORENZO M.I., TORRES G.J. (1999) – Intra-annual variations of young-of-the-year hake (*Merluccius hubbsi*) of the Uruguayan continental shelf based on otolith analysis. *Fisheries Research*, **44**: 129-137.

ORSI-RELINI L., CAPPANERA M., FIORENTINO F. (1989) – Spatial-temporal distribution and growth of *Merluccius merluccius* recruits in the Ligurian Sea. Observation of the 0 group. *Cybium*, **13**: 263-270.

PANNELLA M. (1971) – Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science*, **173**: 1124-1127.

This study was partially supported by the European Community (contract FAIR CT-97-3522).

Biol. Mar. Medit. (2002), 10 (2): 856-862

C.A. Marano, G. Manfrin Piccinetti[1], P. Pasolini[1-2], F. Tinti[2], N. Ungaro

Laboratorio Prov. di Biologia Marina, Molo Pizzoli (Porto) - 70123 Bari, Italia.
[1] Laboratorio di Biologia Marina e Pesca, Fano, Italia.
[2]Lab. Genetica Molecolare, Sc. Ambient. Marine, Univ. Bologna, Italia.

ANNOTATED CHECKLIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE ADRIATIC SEA

CHECKLIST COMMENTATA DELLE RAZZE DEL MAR ADRIATICO

Abstract

Information on the presence and distribution of Raja *species (Pisces, Selachii) in the Adriatic Sea is reported. Ten species have been recorded from 1982 up to 2001. Abundance trend appeared to be decreased in the period, mostly referring to* R. clavata*. Moreover, first data on inter-species genetic diversity are reported.*

Key-words: Raja *spp., species diversity, genetics, Adriatic Sea.*

Introduction

The skates represent key species of marine ecosystems, as well as all the elasmobranchs. The skates are positioned at the highest levels of trophic web but the species resilience is very low with respect to human impacts (pollution and fishery) (Holden, 1974; Walker & Hislop, 1998). The high vulnerability of skates is due to the biological features, mostly the large sizes at first maturity and the low fecundity (Holden, 1974; Dulvy & Reynolds, 2002).

In the Mediterranean and in the Italian Seas sixteen *Raja* species have been classified as reported by Stehmann and Burkel (1984). Some of them are widely distributed; others are present in restricted areas or result now very rare.

Some information on the presence and distribution of skates in the western Adriatic Sea are reported in the present paper. Raw data came from trawl surveys carried out in the Adriatic basin during the last twenty years.

Materials and methods

Information on the presence and distribution of skates in the western Adriatic came from trawl surveys carried out in the basin. The sampling projects were targeted to the assessment of demersal resources and they were supported by National (Gru.N.D. Projects, Relini and Piccinetti, 1996) and International Institutions (MEDITS Projects, Bertrand *et al*., 1997). The surveys began in 1982 and 1985 for Northern/Central Adriatic and Southern Adriatic respectively.

Data analysis was carried out on the basis of the Geographical sub-areas as defined by the GFCM for the Adriatic Sea; the Northern/Central Adriatic was coded with the number 17 (G.sa. 17), while the Southern Adriatic with the number 18 (G.sa. 18). Only the western areas, Italian waters and International ones, were considered.

Bathymetric ranges, percentages of occurrence per survey (n° of positive hauls/n° total hauls*100) and fishery yields (kg/trawling hour) are reported for skate species. Data were processed separately for the Gru.N.D. surveys and MEDITS ones. Only the autumn surveys were considered for the first Project (Gru.N.D.).

Occurrence percentages and fishery yields have been computed for the whole investigated depth range (10-700 m). Moreover, some information on size distribution of *Raja (Raja) clavata* L. specimens from MEDITS Project is also reported.

Ninety-two *Raja* samples were analysed by means of genetic techniques. Total genomic DNA was extracted from white muscle tissue (0.2-0.4 g) of specimens. DNAs were amplified and sequenced; the utilised molecular marker come from a highly variable fragment of the gene 16S rDNA (mitochondrial DNA) (Parker & Kornfield 1996). Genetic distances between haplotypes were calculated according to the Kimura-two-parameter model (Kimura, 1980). Phylogenetic analyses were performed using neighbour-joining (NJ), maximum parsimony (MP) and maximum likelihood (ML) methods implemented in the PHYLIP 3.57c program (Felsenstein, 1995). The robustness of internal branches was assessed by bootstrapping (Felsenstein, 1985) with 1000 (NJ, MP) and 100 (ML) replicates.

Results

Ten species of skates have been collected in the Adriatic Sea during the trawl-surveys (nine species and eight species respectively in the G.sa. 17 and G.sa. 18). The recorded species are reported in Tab. 1, together with information on finding areas, bathymetric ranges, and research projects.

Tab. 1 – Bathymetric ranges of the collected *Raja* species. Results per geographic sub-area.
Intervallo batimetrico delle specie di Raja *raccolte per sub-area geografica nelle diverse campagne.*

	BATHYMETRIC RANGE (m)			
	G.sa. 17		**G.sa. 18**	
	Adr. Centr./North.(western)		**Adr. South.(western)**	
	Gru.N.D.	***MEDITS***	***Gru.N.D.***	***MEDITS***
Raja (Rostroraja) alba Lacepède. 1803	24-190	-	511-655	39
Raja (Raja) asterias Delaroche, 1809	17-213	13-225	20-350	46-530
Raja (Dipturus) batis Linnaeus, 1758	250*	-	-	-
Raja (Leucaraja) circularis Couch, 1838	-	-	230-655	318-546
Raja (Raja) clavata Linnaeus, 1758	31-374	10-245	45-350	122-239
Raja (Raja) miraletus Linnaeus, 1758	23-192	37-115	45-265	219-530
Raja (Raja) montagui Fowler, 1910	28-213	118	150-285	530
Raja (Dipturus) oxyrinchus Linnaeus, 1758	230	-	550	-
Raja (Raja) polystigma Regan, 1923	180	18	165-221	-
Raja (Raja) radula Delaroche, 1809	180	54	-	-

* collected only once, during the first survey (1982)

Species' occurrence was quite different and two skates, *R. clavata* and *R. miraletus,* were the most frequent in the samples. However, the comparison between the first years and the last ones from Gru.N.D. surveys in the G.sa. 17 underlined a decrease in the thornback skate occurrence (Tab. 2).

Tab. 2 – Species occurrence (%) per geographic sub-area and survey.
Frequenza percentuale delle specie per campagna e sub-area geografica.

Central and Northern Adriatic. Species occurrence (%) in the surveys GRU.N.D.

	1982	1984	1985	1987	1988	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	2000	2001
Raja (Rostroraja) alba	0	2,1	1,1	0	1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raja (Raja) asterias	0	0	2,3	2,2	0	2,7	6,4	8,3	1,5	2,9	1,3	3,8	0,7	0	3,7	2,5
Raja (Raja) clavata	13,2	4,1	13,6	12	11,8	9,5	2,6	11,7	5,9	1	5	2,5	2,7	0	1,2	3,7
Raja (Raja) miraletus	2,8	5,2	5,7	5,4	4,7	6,8	3,8	8,3	4,4	2,9	5	5,7	4,7	6,1	4,9	4,9
Raja (Raja) montagui	0,9	0	0	0	0	0	1,3	0	1,5	0	0	0,6	0	0	0,6	0
Raja (Dipturus) oxyrinchus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Raja (Raja) polystigma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6
Raja (Raja) radula	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Central and Northern Adriatic. Species occurrence (%) in the surveys MEDITS.

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Raja (Raja) asterias	1,2	3,5	0	2,4	3,8	3,5	3,6	0
Raja (Raja) clavata	0	1,2	0	2,4	3,8	2,3	2,4	1,2
Raja (Raja) miraletus	0	0	2,4	3,6	2,5	2,3	4,8	3,5
Raja (Raja) montagui	0	0	0	0	0	1,2	0	0
Raja (Raja) polystigma	0	0	0	0	0	1,2	0	0
Raja (Raja) radula	1,2	0	0	0	0	0	0	0

Southern Adriatic. Species occurrence (%) in the surveys GRU.N.D.

	1985	1986	1990	1991	1992	1994	1995	1996	1997	1998	2000	2001
Raja (Rostroraja) alba	0	0	0	0	0	0	2,6	0	1,3	0	0	1,3
Raja (Raja) asterias	0	0	0	4,0	0	13,2	7,9	2,6	2,6	2,6	2,6	1,3
Raja (Leucaraja) circularis	2,6	0	12,0	0	0	2,6	2,6	1,3	0,0	0	2,6	0
Raja (Raja) clavata	0	0	0	16,0	16,0	0	5,3	1,3	0,0	1,3	2,6	1,3
Raja (Raja) miraletus	0	0	0	0	0	7,9	0	2,6	2,6	2,6	3,9	0
Raja (Raja) montagui	0	0	4,0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,3
Raja (Dipturus) oxyrinchus	0	0	0	0	0	0	2,6	0	0	0	0	0
Raja (Raja) polystigma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,3

Southern Adriatic. Species occurrence (%) in the surveys MEDITS.

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Raja (Rostroraja) alba	0	0	0	0	1,4	1,4	0	0
Raja (Raja) asterias	1,4	0	1,4	0	2,8	0	4,2	0
Raja (Leucaraja) circularis	1,4	1,4	0	1,4	0	1,4	2,8	0
Raja (Raja) clavata	1,4	0	2,8	2,8	1,4	2,8	2,8	0
Raja (Raja) miraletus	0	5,6	4,2	2,8	1,4	2,8	2,8	2,8
Raja (Raja) montagui	0	2,8	0	0	0	0	1,4	0

Total catch yields trend (*Raja* spp.) per G.sa. and research project is reported in Fig. 1. Yields were very low as a rule, and a notable decreasing trend was detected in the geographical sub-area 17 (Northern/Central Adriatic) referring to the Gru.N.D. project. In the same area the most abundant species *R. clavata* and *R. miraletus* highlighted different trends, decreasing the first and quite constant the other one (Fig. 2).

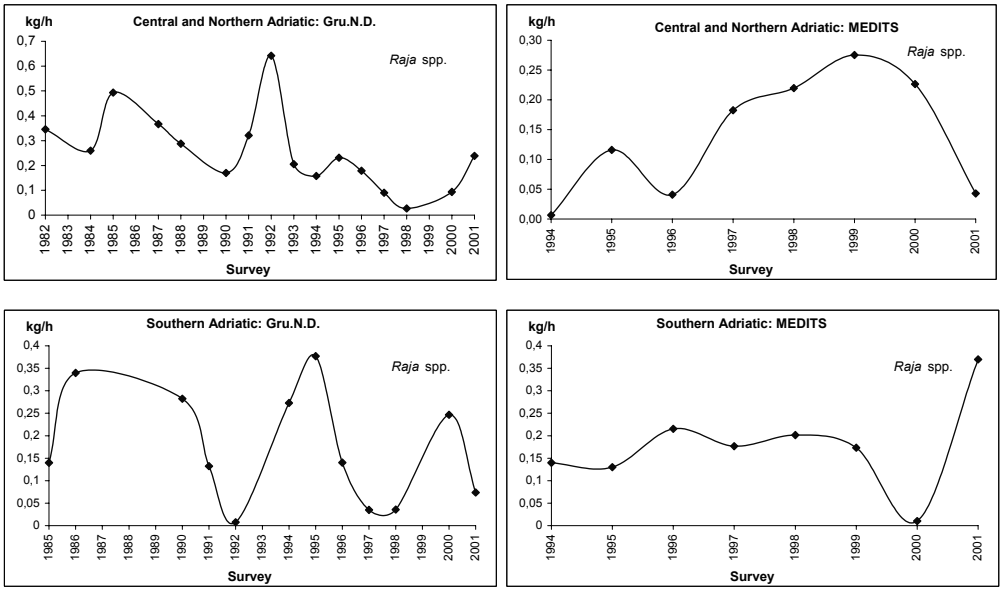


Fig. 1 – *Raja* spp.: catch yield per geographic sub-area and survey.
Raja *spp.: rese di cattura per sub-area geografica nelle diverse campagne.*

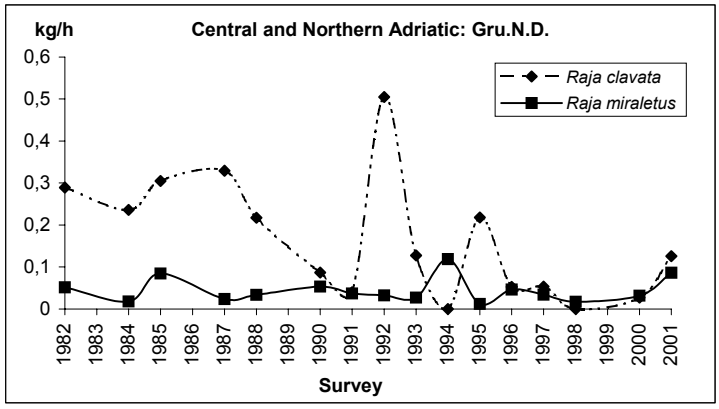


Fig. 2 – Catch yields trends of *R. clavata* and *R. miraletus* in the Central and Norhern Adriatic.
Andamenti delle rese di cattura per R. clavata *e* R. miraletus *nell'Adriatico Centrale e Settentrionale.*

R. clavata specimens collected during the MEDITS surveys have been measured by sex (TL, total length, cm). Few individuals have been caught (n=42); thus length frequency distribution picture is not reported. Females ranged from 11 to 78 cm TL,

while males ranged from 17 to 98 cm TL. Sex ratio was 1:1 (21 females and 21 males) and no variations by length was underlined although the low number of specimens.

Molecular analysis of samples (n=92) highlight the strong genetic links between the samples of *R. asterias* and *R. clavata,* and between *R. polystigma / R. montagui*, while *R. oxyrinchus* and *R. miraletus* resulted much more differentiated (Fig. 3).

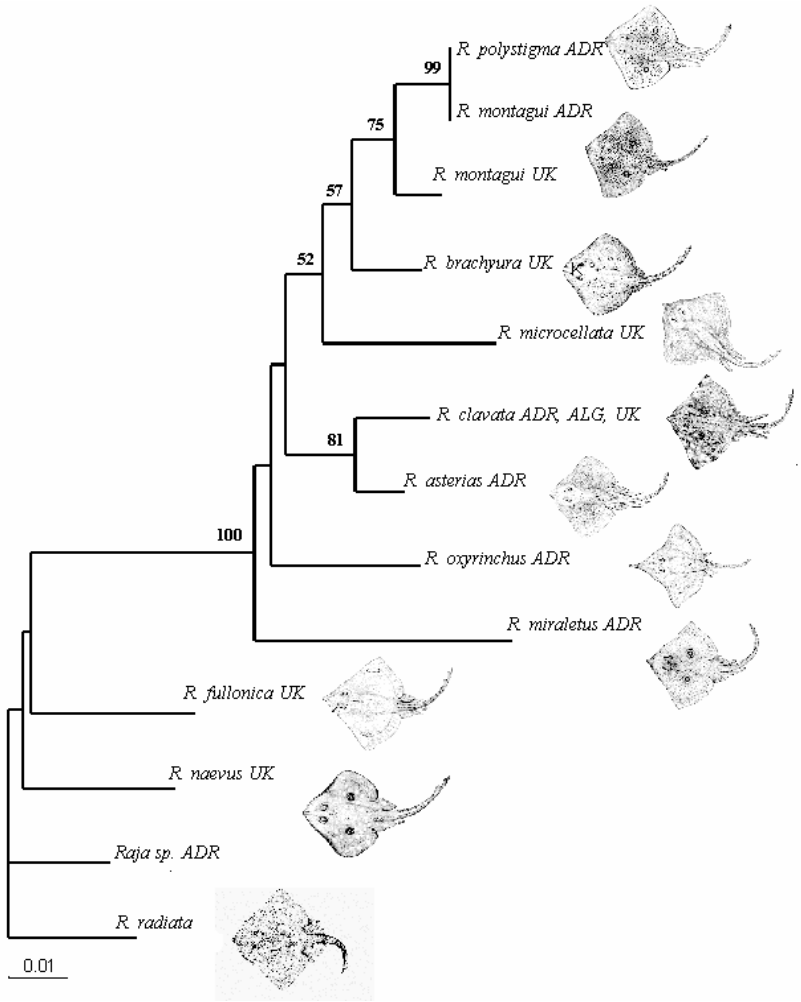


Fig. 3 - Phylogenetic tree "Neighbor Joining" of the rays species. Results from the analysis of molecular marker 16S rDNA. The numbers near the nodal points show the bootstrap values. The codes ADR, UK and ALG are referred to the Adriatic, Great Britain and Algeria samples respectively.

Albero filogenetico Neighbor Joining delle specie di razze analizzate per il marcatore molecolare di sequenza 16S rDNA. I numeri vicino ai nodi del dendrogramma indicano il supporto statistico ai bracci (valori di bootstrap). Le sigle ADR, UK e ALG si riferiscono rispettivamente a campioni adriatici, britannici ed algerini.

Low genetic distances that have been estimated between *R. asterias* - *R. clavata* genotypes and between *R. polystigma* - *R. montagui* genotypes confirm the low inter-species morphologic and meristic differentiation. In fact, sometimes and mostly for young individuals, it could be difficult to distinguish the species on the basis of the morphological characters reported in the referenced bibliography (Bini, 1967; Tortonese, 1956; Soljan, 1975; Stehmann & Burkel, 1984; Notarbartolo Di Sciara & Bianchi, 1998).

Conclusions

New data are reported for the Adriatic basin, in addition to referenced information (Ungaro *et al*., 1996; Relini *et al*., 2000).

Biodiversity and abundance of *Raja* species resulted quite low in the investigated area during the period from the 80th up to now, as it was shown by the comparison with previous data (Jukic *et al*., 2001). The lean catches of skates could be due both to the sampling design/methods and the fishery effort. The last factor (fishery) could affect the presence and distribution of such species characterised by large sizes at maturity and low fecundity (Jukic *et al*., 2001; Dulvy & Reynolds, 2002). The different resilience of *Raja* species with respect to the fishery was highlighted by two examples. *R. miraletus* showed stable catch yields during the analysed time period, while R. *clavata* appeared to decrease; the first species has a much smaller maturity sizes with respect to the other one (Notarbartolo di Sciara & Bianchi, 1998; Ungaro, 2001).

Moreover, the reported results on the genetic pattern of *Raja* species suggest the improvement of taxonomic studies, in order to compare the skates biodiversity in the Mediterranean. Molecular techniques could also contribute to reach this aim.

References

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACOSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (1997) - An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. *ICES Ann. Sci. Conf. Baltimore* C.M. 1997: Y/03.

BINI G. (1967) - *Atlante dei pesci delle coste italiane*. Mondo Sommerso ed., **1**: 206 pp.

DULVY N.K., REYNOLDS J.D. (2002) – Predicting extinction vulnerability in skates. *Conservat. Biol*., **16**: 440-450.

FELSENSTEIN J. (1985) - Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**: 783-791.

FELSENSTEIN J. (1995) - PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.57c. *http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html*

HOLDEN M.J. (1974) - *Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions*. In: F.R. Harden Jones (ed), *Sea fisheries research*. Halsted Press, J. Wiley & Sons, New York: 117-137.

JUKIC-PELADIC S., VRGOC N., KRSTULOVIC-SIFNER S., PICCINETTI C., PICCINETTI-MANFRIN G., MARANO G., UNGARO N. (2001) – Long-term changes in demersal resources of the Adriatic Sea: comparison between trawl surveys carried out in 1948 and 1998. *Fisheries Research,* **53**: 95-104.

KIMURA M. (1980) - A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol*., **16**: 111-120.

NOTARBARTOLO DI SCIARA G., BIANCHI I. (1998) - *Guida degli squali e delle razze del Mediterraneo*. Muzzio Ed., Padova: 388 pp.

PARKER A., KORNFIELD I. (1996) - An improved amplification and sequencing strategy for phylogenetic studies using the mitochondrial large subunit rRNA gene. *Genome,* **39**: 793-797.

RELINI G., PICCINETTI C. (1996) - Ten years of trawl surveys in Italian seas (1985-1995). *FAO Fish. Rep*., **533** (Suppl.): 21-41.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) - I selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 347-384.

ŠOLJAN T. (1975) - *I pesci dell'Adriatico*. Mondadori Ed., Verona: 523 pp.

STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) – *Rajidae*. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *FNAM. Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*. Unesco, Paris, **1**: 163-196.

TORTONESE E. (1956) - *Fauna d'Italia. Leptocardia, Ciclostomata Selachii*. Ed. Calderini Bologna: 327 pp.

UNGARO N., MARANO G., RIZZI E., MARZANO M.C. (1996) - Demersal Squaliformes and Rajiformes in the South-Western Adriatic Sea: trawl-surveys 1985-1994. *FAO Fish. Rep.,* **533** (Suppl.): 87-96.

UNGARO N. (2001) – Some information on the biology of the brown ray (*Raja miraletus* L., 1758) in the southern adriatic basin. *4° EEA Meeting, Kiel, 2001*.

WALKER P.A., HISLOP J.R.G. (1998) - Sensitive skates or resilient rays? Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and present day. *ICES Journal of Marine Science*, **55**: 392-402.

Raw data came from research projects funded by Italian Government (MiPAF) and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 863-865

A. Mauro, T. Maggio, F. Hemida[1], F. Andaloro[2], M. Arculeo, N. Parrinello

Dipartimento di Biologia Animale, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
[1]Laboratoire Halieutique BP 32 El. Alia - 16111 Babezzouar, Algerie.
[2]ICRAM sts Via E. Amari, 124 - 90139 Palermo, Italia

CYTOCHROME B GENE VARIATION IN THE MEDITERRANEAN SPECIES OF *EPINEPHELUS*

VARIAZIONE DEL GENE CITOCROMO B NEL GENERE EPINEPHELUS *IN MAR MEDITERRANEO*

Abstract

The aim of this work is the study of a portion of 349 bp of the mitochondrial gene codifying for the cytochrome b in five species of the Epinephelus *genus present in the Mediterranean Sea.*

Key-words: Epinephelus*, groupers, mtDNA sequences, Cyt b.*

Introduction

The genus *Epinephelus* includes about one hundred species commonly known as groupers; they inhabit tropical and sub tropical reefs to a depth of 150 meters. Their wide distribution and colour variation make difficult the species identification. Moreover many species lack of morphological specializations typically used to recognise the species in the field (Craig *et al*., 2001). To date the few phylogenetic studies on the genus *Epinephelus* focused on Western Atlantic and Indopacific species (Baldwin & Johson, 1993; Lopes-Lemus, 1988). In the Mediterranean Sea seven species are known: *Epinephelus aeneus, E. caninus, E. costae, E. haifensis, E. marginatus, E. malabaricus* and *E. tauvina*. These species are distributed in Atlantic and Mediterranean sea except for *E. malabaricus* and *E. tauvina* which have an Indopacific distribution and they came from Suez channel in the Mediterranean Sea (Ben-Tuvia & Lourie, 1969; Parenti & Bressi, 2000).

The main goal of this work is to investigate the cytochrome b gene variation among five species of genus *Epinephelus* (*Epinephelus aeneus, E. caninus, E. costae, E. haifensis, E. marginatus*). The genetic structure analysis of the *Epinephelus* genus is important not only to solve taxonomic issues but also for species biodiversity conservation, because the taxonomic distinction in species, sub species and population determines the units of protection.

Materials and methods

Sampling

The specimens were collected in different areas of Mediterranean Sea. *Epinephelus aeneus* were collected in the northern coast of Sicily (Castellamare del Golfo); *Epinephelus caninus* and *E. haifensis* were collected near Lampedusa Island; *Epinephelus costae* were sampled near Algerian coast (Annaba) and *Epinephelus marginatus* were collected near Ustica Island.

DNA extraction and PCR reaction

DNA was isolated from a small pieces of caudal fin (2 cm^2) from individual fish

using Qiagen extraction kit. A 439 bp region of the cytochrome b genewas amplified using primer 28 For (5'-CGAACGTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3') and 34Rev (5'-AAACTGCAG CCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3', Gilles *et al*., 2000). The polymerase chain reactions (PCRs) was carried out in a Perkin Elmer Cetus Thermal cycler in 100 µl solution containing 1 ng genomic DNA, 0.2 µM dNTPs, 0.1 µM each primer, Buffer 10× containing $MgCl_2$ 1.5 mM and 2.5 U Perkin Elmer Taq polymerase. The PCR products were separated in 2% agarose gel stained with ethidium bromide, purified and sequenced on ABI Prism automated sequencer.

Sequence Analysis

Sequences from 10 specimens for each species were aligned using the alignment program ClustalW with default settings (Thompson *et al*., 1994). In order to facilitate the sequence comparison we introduced in the analysis homologous sequences of *Mycteroperca rubra* and *Dicentrarchus labrax* (Accession Number X81566) as outgroups. Phylogenetic analyses were conducted using the software MEGA 2.1 (Kumar *et al*., 2001).

Results and conclusions

The mitochondrial cytochrome b gene was partially sequenced for all individuals examined. Of the 439 aligned base pairs, 286 were conserved, 153 were variable which of 118 were parsimony informative. The nucleotide divergence for all the pairwise comparisons were measured separately for first, second and third codon position using Kimura 2-parameter model; the Tab. 1 shows that the nucleotide divergence ranged from 0.198 between *Epinephelus aeneus* and *E. marginatus* and 0.077 between *E. caninus* and *E. costae*.

Tab. 1 - Nucleotide divergence (Kimura 2-parameter) of the 439 bp of cyt b gene among five *Epinephelus* species.
Divergenza nucleotidica (Kimura 2-parameter) della porzione di 439 bp del gene del cyt b tra le cinque specie di Epinephelus.

	E. aeneus	*E. caninus*	*E. costae*	*E. haifensis*	*E. marginatus*
E. aeneus					
E. caninus	0.185				
E. costae	0.176	0.077			
E. haifensis	0.156	0.115	0.135		
E. marginatus	0.195	0.119	0.133	0.164	

The Tab. 2 shows the sequence variability in the 439 bp portion of cyt b gene of five *Epinephelus* species. *E. caninus* showed the highest value of polimorphic sites (37) and the highest number of haplotipes (7) and the highest value of nucleotide diversity π (2.42%). High haplotypic diversity was observed for *E. caninus* and *E. costae* that is 0.964 and 0.905, respectively.

High value of sequence variability was found in *E. caninus* and *E. marginatus* while *E. aeneus* and *E. costae* showed lower value of sequence variability.

These preliminary data will be useful to investigate phylogenetic relationships among five species of *Epinephelus* in the Mediterranean Sea.

Tab. 2 - Sequence variability in the 439 bp portion of cyt b gene of five *Epinephelus* species; h = haplotypic diversity and π = is nucleotide diversity.
Variabilità della sequenza di 439 bp del cyt b nelle cinque specie di Epinephelus*; h = diversità aplotipica e π = diversità nucleotidica.*

	No individuals	No haplotypes	h	No variable sites	π
E. aeneus	10	3	0.600	3	0.23
E. caninus	10	7	0.964	37	2.42
E. costae	10	5	0.905	3	0.30
E. haifensis	10	4	0.643	4	0.23
E. marginatus	11	6	0.800	11	0.52

References

BALDWIN C.C., JOHSON G.D. (1993) - Phylogeny of the Epinephelinae (Teleostei: Serranidae). *Bull. Mar. Sci.,* **2**: 240-283.

BEN-TUVIA A., LOURIE A. (1969) - A Red sea grouper *E. tauvina* caught on the mediterranean coast of Israel. *Israel J. Zool*., **18**: 245-247.

CRAIG M.T., PONDELLA D.J., FRANK J.P.C., HAFNERT J.C. (2001) - On the status of the Serranid fish genus Epinephelus: evidence for paraphyly based upon 16S rDNA sequence. *Mol. Phylogenet. Evol.,* **19** (1): 121-130.

GILLES A., MIQUELIS A., QUIGNARD J.P., FAURE E. (2000) - Molecular phylogeography of western Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus*. *C.R. Acad. Sci. Paris, Science de la vie,* **300**: 195-205.

KUMAR S., TAMURA K., JACOBSEN I.B., NEI M. (2001) - MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

LOPES-LEMUS L.G. (1988) - Biochemical systematic analysis of evolutionary relationships of groupers from the Gulf of California. *Biochem. Syst. Ecol.,* **16**: 79-87.

PARENTI P., BRESSI N. (2000) - First record of the orange spotted grouper *E. coioides* (Perciformes, Serranidae) in northern Adriatic sea. *Cybium,* **25**: 281-284.

THOMPSON J.D., HIGGINS D.G., GIBSON T.J. (1994) - CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Res.,* **22**: 4673-4680.

This work was supported by grants from MURST (60%).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 866-869

M. Mura, A. Cau

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.

SULLA PRESENZA DI *GAIDROPSARUS GRANTI* (REGAN, 1903) (OSTEICHTHYES, GADIDAE) NEL MEDITERRANEO CENTRO-OCCIDENTALE

OCCURRENCE OF GAIDROPSARUS GRANTI *(REGAN, 1903) (OSTEICHTHYES: GADIDAE) IN THE MIDDLE-WEST MEDITERRANEAN SEA*

Abstract

This paper reports the capture of a specimen of Gaidropsarus granti *(Regan, 1903) (Osteichthyes, Gadidae) from the Middle-West Mediterranean Sea. The specimen was caught at depth of 120-136 m in the Gulf of Cagliari. Biometric and meristic characteristics are presented.*

Key-words: *Pisces,* Gaidropsarus granti*, new record, Middle-West Mediterranean Sea*.

Introduzione

Il Gadide *Gaidropsarus granti* (Regan, 1903) è una specie demersale che è stata ritrovata sporadicamente nelle acque atlantiche delle Canarie e delle Azzorre (Cohen *et al*., 1990). Per il Mediterraneo risulta una sola segnalazione sulla base di un individuo pescato, nel novembre del 1995, nel mare Egeo tra 360 e 400 m di profondità (Zachariou-Mamalinga, 1999) ma altri rinvenimenti della specie sono avvenuti in Mar Ligure (Orsi-Relini, com. pers.) e in Adriatico meridionale (Bello, com. pers.). In questa nota viene segnalato il primo ritrovamento della specie nel Mediterraneo centro-occidentale.

Materiali e metodi

Un esemplare di *Gaidropsarus granti* è stato catturato nel Golfo di Cagliari il 5 giugno 2000 nel corso di una pescata sperimentale effettuata su un fondo strascicabile a profondità comprese tra 120 e 136 m, utilizzando una rete a strascico di tipo italiano fornita di coprisacco e maglie di 20 mm d'apertura. L'esemplare è stato confrontato con individui della stessa specie di provenienza atlantica della collezione dell'Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (IPMAR) di Lisbona. Sono stati rilevati i principali caratteri biometrici e meristici; il numero di vertebre è stato determinato per mezzo di un esame radiografico. L'esemplare è attualmente conservato presso il museo del Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia di Cagliari.

Risultati

L'area del rinvenimento è situata a 12 miglia dalla costa su un banco, "Su Banghittu-Ichnusa", dalla morfologia quasi piatta e limitato da margini leggermente degradanti, che si estende da 115 m a 145-150 m di profondità. Il banco è un rilievo di scarpata, separato dal resto della piattaforma continentale nella parte meridionale

del Bacino di Cagliari, isolato dall'apporto terrigeno e caratterizzato dalla presenza di sabbia grossolana di origine carbonatica (Lecca *et al.*, 1998).

Il corpo dell'esemplare di *Gaidropsarus granti* esaminato è subcilindrico anteriormente e compresso posteriormente. Il capo è largo e depresso, il mascellare si estende di poco oltre l'orlo posteriore dell'occhio mentre la prima pinna dorsale, lunga quasi quanto lo spazio postorbitale, ha origine all'altezza dell'apertura branchiale. La seconda pinna dorsale termina alla stessa altezza della pinna anale. Il peduncolo caudale è corto con lunghezza inferiore all'altezza.

Tab. 1 - Dati biometrici e meristici rilevati nell'esemplare di *Gaidropsarus granti* catturato nel Mediterraneo centro-occidentale.

Biometric and meristic data of the specimen of Gaidropsarus granti *collected in the Middle-West Mediterranean Sea.*

lunghezza totale	245 mm
lunghezza standard	220 mm
lunghezza capo	56 mm
massima altezza	36 mm
lunghezza pinna pre-dorsale	46,5 mm
lunghezza pinna anale	102 mm
spazio preorbitale	14 mm
lunghezza peduncolo caudale	5,7 mm
altezza minima del peduncolo caudale	15 mm
diametro oculare	9,1 mm
distanza interorbitale	9 mm
lunghezza dei raggi della prima dorsale	7,1 mm
numero raggi della seconda dorsale	55
numero raggi pinna anale	47
numero raggi pinna pettorale	20
numero raggi pinna ventrale	7
lunghezza mascella superiore	29 mm
lunghezza pinna pettorale	32 mm
numero di vertebre	47
altezza massima corpo/ lunghezza standard	0,16
altezza minima corpo/ altezza massima corpo	0,42
lunghezza capo/ lunghezza standard	0,25
altezza capo/ lunghezza capo	0,39
larghezza capo/ lunghezza capo	0,72
diametro dell'occhio/ lunghezza capo	0,16
diametro dell'occhio/ spazio preorbitale	0,65
diametro dell'occhio/ spazio postorbitale	0,24
diametro dell'occhio/ distanza interorbitale	1,01
lunghezza seconda pinna dorsale/ lunghezza standard	0,69
lunghezza peduncolo caudale/altezza peduncolo caudale	0,4

Colore- Parte superiore del corpo marrone con strisce sinuose bianco-crema estese nel capo e sul dorso fino all'inizio della seconda dorsale. Una fascia ondulata color bianco-crema si estende sulla parte superiore del fianco dall'altezza delle pinne pettorali alla fine della seconda dorsale. Una fascia simile ma più sottile, si estende anche lungo la parte superiore di questa pinna. Parti inferiori del capo e del corpo color crema con macchie marron-arancio. Pinne pettorali, ventrali, anale e caudale color crema con macchie marron di differenti dimensioni e con zona marginale e orlo rosso-arancio. La parte inferiore del mascellare, dell'opercolo, la base delle pinne pettorali e la parte inferiore del tronco e della coda rosso-arancio.

I dati biometrici e meristici rilevati sono riportati in Tab. 1.

Conclusioni

La distanza interorbitale ridotta, 15% della lunghezza del capo, fianchi del corpo scuri con una larga e sinuosa banda più chiara, 44 vertebre e 20-22 raggi nelle pinne pettorali sono i principali caratteri meristici che contraddistinguono *Gaidropsarus granti* (Svetovidov, 1986). I caratteri rilevati nell'esemplare del Golfo di Cagliari si discostano leggermente da quanto riportato in letteratura e solo il maggior numero di vertebre riscontrato è sostanzialmente in disaccordo.

Una costante variabilità nel numero di vertebre viene riportata tuttavia per le altre tre specie del genere *Gaidropsarus* Rafinesque, 1810, o, più in generale, per quelle appartenenti alla sottofamiglia Lotinae presenti in Atlantico orientale e in Mediterraneo (Svetovidov, 1986).

E' possibile, pertanto, che l'assenza di variabilità relativa a questo carattere descritta in *G. granti* sia dovuta al basso numero di esemplari esaminati.

Di questa specie viene riferita, come probabile, la distribuzione su fondi accidentati tra 20 e 50 m di profondità in aree circostanti le Canarie e le Azzorre (Svetovidov, 1986) ma i ritrovamenti mediterranei sembrano indicare per *G. granti* una notevole euribaticità.

Proprio l'inaccessibilità dell'habitat di questo Gadide agli attrezzi comunemente usati nella pesca commerciale e la mancanza in letteratura di notizie sulla riproduzione e sugli stadi giovanili, rendono problematico stabilire se esista una popolazione stabile in Mediterraneo. D'altra parte alcune caratteristiche comuni a tutti gli appartenenti al genere *Gaidropsarus* come le piccole uova pelagiche, munite di goccia oleosa, o i giovani pelagici (Tortonese, 1970) potrebbero favorire un diffusione di *G. granti* in alcune aree del Mediterraneo attraverso lo stretto di Gibilterra (Zachariou-Mamalinga, 1999).

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano i dott. Rafael Duarte, Rogélia Martins e Antonina dos Santos dell' IPIMAR di Lisbona per la loro preziosa collaborazione.

Bibliografia

COHEN D.M., INADA T., IWAMOTO T., SCIALABBA N. (1990) - FAO species catalogue. Gadiform Fishes of the world (Order Gadiformes). *FAO Fisheries Synopsis,* **125** (10): 442 pp.

LECCA L., PANIZZA V., PISANO S. (1998) - The sedimentary framework of Cagliari basin: a plio-quaternary underfed rift basin in the southern Sardinia margin. *Italian Journal of Quaternary Sciences,* **11** (2): 301-318.

SVETOVIDOV A.N. (1986) - Gadidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau H.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO Paris, Printed in U.K., **2**: 699-701.

TORTONESE E. (1970) - Osteichthyes-Pesci ossei. *Fauna d'Italia,* **10**: 545 pp.

ZACHARIOU-MAMALINGA H. (1999) - The occurrence of the Atlantic fish *Gaidropsarus granti* in the Mediterranean Sea (South-Eastern Aegean Sea, Dodecanese, Greece, Eastern Mediterranean). *Ann. Musei Goulandris,* **10**: 261-266.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 870-873

A. Pais, J.M. Mafuca*

Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari, Via E. De Nicola, 9 - 07100 Sassari, Italia.
*Instituto de Investigação Pesqueira, Maputo, Mozambique.

INDAGINI PRELIMINARI SULLE ATTIVITÀ DI PESCA ARTIGIANALE NELLA LAGUNA DI BILENE (MOZAMBICO)

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON ARTISANAL FISHERIES IN BILENE LAGOON (MOZAMBIQUE)

Abstract

In the framework of a cooperation programme granted by the Regione Autonoma Sardegna, a preliminary survey on artisanal fisheries in Bilene lagoon (southern Mozambique) was carried out in february 2002. Several species of fish were collected with traditional techniques and fishing effort of a tipical familiar nucleus of Mahungo area was estimated. The lagoon shows a good potential for fisheries purposes, although the methods still used by local population are very ancient.

Key-words: *artisanal fisheries, coastal lagoons, Mozambique.*

Introduzione

La laguna di Bilene, situata nella provincia di Gaza (Mozambico del Sud), è un vasto specchio d'acqua salmastra di superficie pari a circa 32 km^2 che, seppure in maniera incostante, comunica con l'Oceano Indiano attraverso un ampio canale situato nella sua parte più meridionale (Fig. 1).

Fig. 1 - Mappa della laguna di Bilene.
The Bilene lagoon map.

Nell'ambito di un progetto di cooperazione internazionale, finanziato dalla Regione Autonoma della Sardegna, sono state valutate le tradizionali attività alieutiche che vi si svolgono, al fine di incrementarne la redditività ed organizzare il lavoro di una cooperativa di pescatori nell'area rurale di Mahungo. La popolazione autoctona è dedita principalmente a pratiche di pesca artigianale esercitate da piccoli gruppi familiari che, tuttavia, per mancanza di validi mezzi sia di prelievo che di distribuzione e conservazione del prodotto, risultano assai poco remunerative.

Materiali e metodi

Nel febbraio 2002, avvalendosi di un'imbarcazione in vetroresina della lunghezza di 6 metri acquistata dalla R.A.S. per la comunità di Mahungo, sono state effettuate alcune pescate mirate alla compilazione di una lista preliminare delle specie ittiche presenti nella laguna. I prelievi sono stati eseguiti con una rete di nylon monofilo con maglia di 25 mm di lato (lunghezza circa 400 m, altezza 2,5 m) armata convenzionalmente. L'equipaggio, composto da un nucleo familiare di 4 persone (2 ai remi e 2 alla rete), ha sempre utilizzato una tecnica di pesca tipica della zona, che consiste nel calare la rete formando una sorta di cerchio le cui estremità, pur sovrapponendosi, non vengono fatte combaciare. Nel corso dei circa 20 minuti in cui l'attrezzo opera, i pescatori tentano di indurre i pesci racchiusi all'interno del cerchio di rete ad ammagliarsi mediante il ripetuto lancio nell'acqua di un pesante oggetto metallico. Le battute di pesca, della durata di circa 4 ore ciascuna, sono state effettuate nella parte centrale della laguna (caratterizzata dalla presenza di un fondale sabbioso con una prateria a *Zostera capensis*) durante le prime ore del mattino e con la marea in uscita. Alcune osservazioni sono state inoltre compiute sulle specie comunemente pescate nella parte più interna del corpo idrico, in cui il substrato risulta prevalentemente fangoso.

Per la determinazione delle specie ittiche sono stati consultati Sousa e Dias (1981) e Fisher *et al.* (1990).

Risultati

Durante questa fase della ricerca sono stati complessivamente identificati 19 Teleostei appartenenti a 16 famiglie, tra cui spiccano numerose specie marine di pregio (Tab. 1). La famiglia maggiormente rappresentata è stata quella degli Sparidi con 3 specie, tra cui *Crenidens crenidens* è stata quella pescata più frequentemente. In termini di biomassa ha invece prevalso *Pomadasys commersonnii*, soprattutto per la presenza di esemplari di taglia considerevole. È stata catturata una media di circa 16 kg di pesce per campionamento (4 kg persona^{-1}), unitamente a rilevanti quantità di granchi Portunidi di apprezzabile valore commerciale (*Scylla serrata* e *Portunus pelagicus*). Ciò a dimostrazione di una buona vivificazione della laguna indotta dai frequenti scambi idrici con l'oceano, quantunque nella sua parte più settentrionale, laddove gli apporti di acqua marina sono meno abbondanti e l'azione di marea risulta meno intensa, prevalgano le catture di specie ittiche tipicamente dulciacquicole di scarso valore economico (soprattutto *Oreochromis mossambicus*).

Tab. 1 - Specie ittiche identificate.
Identified fish species.

Famiglia	Specie	Nome locale	Valore
Cichlidae	*Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852)	Tilapia	scarso
Paralichthyidae	*Pseudorhombus arsius* (Hamilton, 1822)	Areeiro dentuço	scarso
Carangidae	*Caranx sexfasciatus* Quoy & Gaimard, 1825	Xaréu voraz	buono
Clupeidae	*Herklotsichthys quadrimaculatus* (Rüppell, 1837)	Sardinha banda azul	scarso
Elopidae	*Elops machnata* (Forsskål, 1775)	Fateixa	scarso
Haemulidae	*Pomadasys commersonnii* (Lacepède, 1801)	Roncador	buono
Lutjanidae	*Lutjanus ehrenbergii* (Peters, 1869)	Pargo carpa	medio
Mugilidae	*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758	Tainha cabeça achatada	buono
	Valamugil seheli (Forsskål, 1775)	Tainha mancha azul	buono
Platycephalidae	*Platycephalus indicus* (Linnaeus, 1758)	Sapateiro do índico	scarso
Scaridae	*Scarus ghobban* Forsskål, 1775	Papagaio	scarso
Sciaenidae	*Argyrosomus japonicus* (Temminck & Schlegel, 1843)	Corvina real	buono
Serranidae	*Epinephelus coeruleopunctatus* (Bloch, 1790)	Garoupa manchas brancas	buono
Siganidae	*Siganus sutor* (Valenciennes, 1835)	Coelho sapateiro	scarso
Sparidae	*Acanthopagrus berda* (Forsskål, 1775)	Sargo picnic	buono
	Crenidens crenidens (Forsskål, 1775)	Esparo	medio
	Rhabdosargus sarba (Forsskål, 1775)	Dourada comun	buono
Sphyraenidae	*Sphyraena flavicauda* Rüppell, 1838	Barracuda de rabo amarelo	medio
Tetraodontidae	*Arothron immaculatus* (Bloch & Schneider, 1801)	Peixe-bola	nessuno

Conclusioni

La laguna di Bilene mostra buone potenzialità produttive sia in termini di composizione specifica, sia per quanto concerne le biomasse pescabili. Le rese da noi ottenute, infatti, se confrontate con quelle riportate da De Boer *et al.* (2001) per un ambiente simile nella zona di Inhaca Island con attrezzi da pesca analoghi (<2 kg persona^{-1}), appaiono di tutto rispetto.

I pescatori locali, tuttavia, sebbene utilizzino tecniche di cattura indubbiamente efficienti (soprattutto reti da posta e sciabiche da spiaggia), a causa della scarsità di attrezzi, di imbarcazioni idonee e dell'assoluta penuria di motori, non sono ancora in grado di sfruttare le considerevoli risorse ittiche presenti. La commercializzazione del pescato, inoltre, risente della mancanza di un centro di smistamento del prodotto, che ne determina la destinazione d'uso al mercato turistico di Bilene o a quello di Maputo e, comunque, a prezzi tali da renderlo inaccessibile alla popolazione del luogo.

Ringraziamenti

Si ringrazia la Cooperativa Pescatori di Mahungo (Bilene) per la preziosa collaborazione. Un ringraziamento particolare va al Prof. Mauro Colombo dell'Università "La Sapienza" di Roma ed alla Sig. Lucia Muburula della Pro.Li.De. (Maputo) per il supporto-logistico organizzativo fornito a Bilene.

Bibliografia

DE BOER W.F., VAN SCHIE A.M.P., JOCENE D.F., MABOTE A.B.P., GUISSAMULO A. (2001) - The impact of artisanal fishery on a tropical intertidal benthic fish community. *Env. Biol. Fishes*, **61**: 213-229.

FISCHER W., SOUSA I., SILVA C., DE FREITAS A., POUTIERS J.M., SCHNEIDER W., BORGES T.C., FÉRAL J.P., MASSINGA A. (1990) - Guía de campo das espécies comerciais marinhas e de águas salobras de Moçambique. *Fichas FAO de identificação de espécies para actividades de pesca*. Roma, FAO: 424 pp.

SOUSA M.I., DIAS M. (1981) - *Catálogo de peixes de Moçambique - Zona Sul.* Instituto de Desenvolvimento Pesqueiro, Maputo: 121 pp.

Lavoro eseguito con contributo della Regione Autonoma della Sardegna (L.R. 19/96).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 874-881

S. Ragonese, F. Cigala Fulgosi[1], M.L. Bianchini[2], G. Norrito, G. Sinacori

Ist. Risorse Marine ed Ambiente, CNR, Via L. Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.
[1]Università di Parma, Italia.
[2]CNR e Soc. Porto Romano, Roma, Italia.

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE STRAIT OF SICILY (CENTRAL MEDITERRANEAN)

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE DELLO STRETTO DI SICILIA (MEDITERRANEO CENTRALE)

Abstract

A list of skates of the Strait of Sicily was prepared on the basis of the literature and data collected in 15 years (1985-2001) of scientific bottom trawl surveys. Of the 16 skate species known for the Mediterranean Sea, 14 were positively identified in the area and their bathymetric range extended. Missing is Raja rondeleti*, while the identification of a specimen of* R. naevus *is doubtful. Some species (e.g.,* R. miraletus*,* R. clavata*) are still very common in spite of the high level of exploitation, whereas others were rare (*R. fullonica *and* R. undulata*) or have been strongly reduced.*

Key-words: *skates,* Raja *sp., bottom trawl, Strait of Sicily, Mediterranean Sea.*

Introduction

In the Mediterranean Sea, skates (*sensu* Hamlett, 1999) are traditionally and frequently taken with long lines, trolling lines, bottom set net and obviously bottom trawls; they normally represent, as a whole, a low valued by-catch of the present demersal fisheries (Ragonese *et al*., 2000). Many species are edible and the most valuable species is the thornback skate *Raja clavata*, which is locally very appreciated (Minervini *et al*., 1985). Skates, however are generally discarded or eaten by the crew in the Sicilian long-range fisheries. The current abundance of skates on the trawlable bottoms may be an indicator of biocenotic and environment stress; in fact, the lower growth rates and fecundity and the high age and length at maturity make the skates very sensible to fishing pressure (Walker, 1996). Examples of population reduction have been piled up in the last decade both outside and inside the Mediterranean Sea (Stevens *et al*., 2000; Vacchi and Notarbartolo di Sciara, 2000). Given the difficulties in distinguishing and correctly classifying species (Bini, 1967), the aim of this note is to make a review of the status of knowledge about local skates starting with the few data published (Relini *et al*., 2000).

Materials and methods

Historical reports and data collected during 15 years (1985-2001) of scientific trawls, carried out by IRMA/CNR in the Strait of Sicily (Fig. 1) in the 10-800 m depth range, representing over 1000 1-hour hauls from 23 trawl surveys, have been examined. The principal characteristics of the GRUND and MEDITS sampling procedures are reported in Relini (1995), Relini *et al*. (1999) and Bertrand *et al*. (2000). The skate specimens have been classified by various experts, on board and in the laboratory, using the keys of Tortonese (1956), Stehmann and Burkel (1984) and Bauchot (in Fischer *et al*., 1987). The systematics of the Rajidae is under revision: the most recent nomenclature (F. Serena, pers. comm.) is reported in Tab. 1, while shorter names are

used in the text. Yields have been expressed as fishable abundance and biomass indexes (N/km^2; kg/km^2) for the whole skate category (*Raja* sp.).

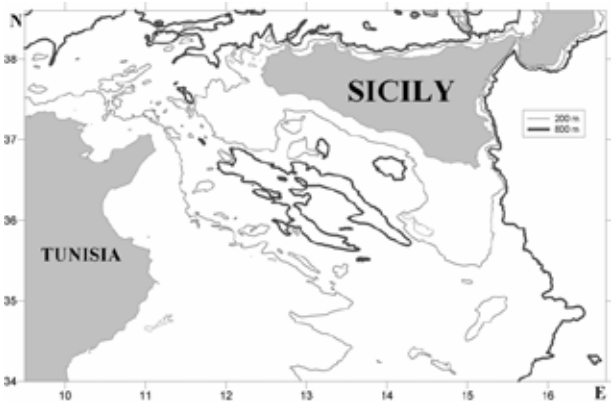


Fig. 1 – The Strait of Sicily with evidenced the limits of both shelf (200 m) and explored (800 m) area.
Lo Stretto di Sicilia con evidenziata la piattaforma (<200 m) ed il limite inferiore dell'area esplorata (800 m).

Tab. 1 - List of the skates reported or collected by scientific trawls in the Strait of Sicily. Frequency in % over 23 trawl surveys. Species already reported by: * Ragonese *et al*., 2000; ^ Cannavò *et al*., 1999; " Relini, 1995; # Pipitone *et al*., 1992. ° denotes endemic species; a unique specimen reported as *Raja africana* was not accounted for, since the species is now considered as "not valid" (F. Serena, pers. comm.).

Elenco delle specie di razze riportate o catturate nelle campagne scientifiche nello Stretto di Sicilia. Frequenza in % su 23 campagne di strascico. Specie già riportate da: * *Ragonese* et al.*, 2000;* ^ *Cannavò* et al.*, 1999;* " *Relini, 1995;* # *Pipitone* et al., *1992. indica le specie endemiche; un unico esemplare, classificato come* Raja africana*, non è stato considerato poiché la specie non è più ritenuta valida (F. Serena., com. pers.).*

Taxon	literature	freq. %	depth range (m) overall	depth range (m) surveys	size range total length, mm	similarity with other skates, basic features, remarks
Rajidae						
Raja (Dipturus) batis L. 1758	"	61	30-600	31-714	145-1280	*R. oxyrinchus*; black belly
Raja (Dipturus) oxyrinchus L. 1758	* ^ " #	83	90-900	30-773	105-1150	*R. batis* - *R. alba*
Raja (Leucoraja) circularis Couch 1838	^ " #	52	70-275	31-702	180-910	well distinct
Raja (Leucoraja) fullonica L. 1758	*	4	30-600	-398-	610-800	*R. rondeleti*
Raja (Leucoraja) melitensis° Clark 1926	* ^ " #	87	60-800	31-817	90-420	*R. naevus*
Raja (Leucoraja) naevus Muller & Henle 1841	#	**0**	20-250	-	-	*R. melitensis* - *R. miraletus* – *R. polystigma* - *R. radula*; reported in Pipitone *et al*. (1992), likely as misclassification of *R. melitensis*
Raja rondeleti° Bougis 1959		**0**	10-100	-	-	*R. fullonica*; boucles of spines numerous and regular
Raja (Raja) asterias Delaroche 1809	^ "	78	10-300	12-580	90-565	*R. brachyura*- *R. montagui*; black and white (not on margin) points; one specimen reported at 721 m.
Raja (Raja) brachyura Lafont 1873	^ "	21	10-100	73-364	185-990	*R. clavata* - *R. montagui*; white spots with black points around
Raja (Raja) clavata L. 1758	* ^ " #	96	10-300	31-763	85-1100	*R. brachyura* - *R. montagui* - *R. polystigma*
Raja (Raja) miraletus L. 1758	^ " #	100	10-300	20-634	75-625	*R. clavata* - *R. naevus*; generally small
Raja (Raja) montagui Fowler 1910	^ " #	87	10-100	31-725	105-615	*R. brachyura* - *R. polystigma*
Raja (Raja) polystigma° Regan 1923	^ "	22	90-400	66-525	225-500	*R. montagui* - *R. radula*
Raja (Raja) radula Delaroche 1809	^ "	22	10-300	30-557	185-500	*R. polystigma*
Raja undulata Lacépède 1802		4	10-200	-56-	n.a.	Also as *R. ondulata*; unmistakable; very rare, and never reported before for the area
Raja (Rostroraja) alba Lacépède 1803	* "	78	40-500	31-672	165-1550	*R. oxyrinchus*

Results

Of the 17 species of skates recorded for the Mediterranean Sea, *R. africana* (Capapé 1977) is now considered a "non-valid species" (F. Serena, pers. comm.), and 14 were positively identified at least once in the trawl surveys catches. Only *R. rondeleti*, a skate with boucles of regular spines which is a Mediterranean endemism (but might just be a variety of *R. fullonica*), was never found or reported. Pipitone *et al*. (1992) quoted an individual of *R. naevus*, but their identification is probably a misclassification (*R melitensis*?). The annotated list of the valid species reported is presented in Tab 1; the distribution of the catches inside the Strait of Sicily is reported in Tab 2; peculiar remarks for some species follow.

Tab. 2 – Major locations of the positive hauls for skates (*Raja* sp.) in the Strait of Sicily.
*Principali localizzazioni delle cale positive per le razze (*Raja *sp.) nello Stretto di Sicilia.*

Taxon	Major locations
Raja (Dipturus) batis L. 1758	sparse, mainly E of Malta, absent around Pantelleria (never caught with the MEDITS gear)
Raja (Dipturus) oxyrinchus L. 1758	ubiquitarian
Raja (Leucoraja) circularis Couch 1838	sparse, mainly SE of Malta (never caught with the MEDITS gear)
Raja (Leucoraja) fullonica L. 1758	only two locations, S and far of Malta and near Linosa
Raja (Leucoraja) melitensis° Clark 1926	ubiquitarian
Raja (Leucoraja) naevus Muller & Henle 1841	absent
Raja rondeleti° Bougis 1959	absent
Raja (Raja) asterias Delaroche 1809	sparse, but highly concentrated in the southern coast of Sicily
Raja (Raja) brachyura Lafont 1873	few hauls S of Egadi and one SE of Malta (never caught with the MEDITS gear)
Raja (Raja) clavata L. 1758	ubiquitarian
Raja (Raja) miraletus L. 1758	concentrated E of Malta, S of Lampedusa and between Egadi and Pantelleria
Raja (Raja) montagui Fowler 1910	ubiquitarian, with concentrations S and E of Malta and between Egadi and Pantelleria
Raja (Raja) polystigma° Regan 1923	sparse, mainly S of Malta
Raja (Raja) radula Delaroche 1809	sparse, with concentration S of Lampedusa
Raja undulata Lacépède 1802	only one location, S and close of Lampedusa
Raja (Rostroraja) alba Lacépède 1803	sparse S of Malta and Lampedusa, and concentrated between Egadi and Pantelleria

The most common (% of scientific trawls) Rajidae are *R. miraletus* (100%), *R. clavata* (96%), *R. oxyrinchus* (83%), *R. montagui* (87%), *R. melitensis* (87%); this last species, together with *R. polystigma*, are the other two Mediterranean endemisms. Of the rarest species, only one specimen of *R. undulata*, and three of *R. fullonica* have been collected.

Some specimens of the longnosed skate, *R. oxyrinchus*, caught between 500-700 m, showed a snout lenght/interorbital length ratio shorter than the expected (2.9-4.6 vs. 5.5-7, according to Whitehead *et al*., 1986), but all the other characteristics did correspond to those expected.

The shagreen skate, *R. fullonica*, was not included in the checklists available for the Strait of Sicily. It must be pointed out that the characterization of this species, considered as a transient species between short- and long-snout skates, (Bini, 1967) was and still is debated; it may be confused with *R. rondeleti*. Three specimens were assigned to this species; two skates were collected together in 2001, south and far of Malta at around 400 m of depth; the third one, a small individual (650 g), with some diagnostic

differences concerning the shape of the disc margins and the lacking of spines on the shoulders (characters, however, already considered highly variable with age and size), was caught in 1993, during a trawl survey aiming at selectivity studies (Ragonese *et al*., 2000), NW of Linosa at 608 m.

The Maltese skate, *R. melitensis*, is a small species occurring over sandy and sandy-muddy bottoms from few meters down to 800 m and more. It resembles superficially *R. naevus*, but the eye spots are less distinct and the median row of spinules stops at the hindermost portion of the tail. Endemic in the area, it is occasionally found in the Sicilian markets (Cannavò *et al*., 1999).

The thornback skate, *R. clavata*, is frequently caught in the trawl surveys carried on in the Strait of Sicily, but almost always catches are composed by few specimens, as already historically reported (Arena and Li Greci, 1973). This is the only skate for which some local demographic parameters were estimated (females: $L_{\infty}=126$ cm, K/year = 0.098 and $t_{0,\ year}=-0.512$; males: 116.7, 0.106 and –0.412; Cannizzaro *et al*., 1995); its female sex-ratio is 44.3%. The length-frequency distribution by sex, from data collected during the MEDITS surveys (1994-2001), is shown in Fig. 3; on average, at least for this sample, the Sicilian thornback skates individuals are larger (40-70 cm) than the Tyrrhenian ones (30-42 cm; page 91 of Relini *et al*., 1999).

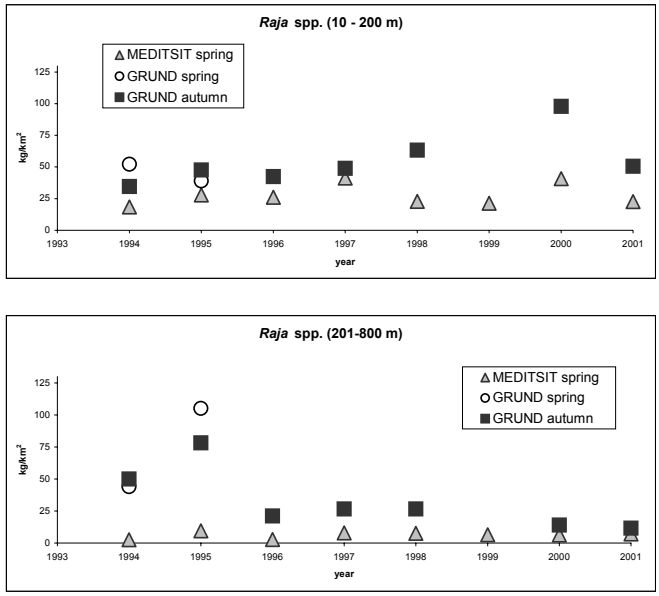


Fig. 2 – Evolution (1994-2001), according the MEDITS and GRUND cruises, of the mean indexes of fishable biomass (kg/km^2) for the whole skate group (*Raja* sp.) in the Italian side of the Strait of Sicily, by depth strata (shelf, 10-200 m; slope, 201-800 m).

*Andamento degli indici medi di biomassa (kg/km^2) pescabile delle razze (*Raja *sp.) del versante italiano dello Stretto di Sicilia catturate nei programmi MEDITS e GRUND, divisi per piattaforma (10-200 m) e scarpata (201-800 m), dal 1994 al 2001.*

The spotted skate, *R. montagui*, and the Mediterranean endemic speckled skate, *R. polystigma*, are frequently confused because of the high variability and similarity of their characters (Quignard and Capapé, 1971); these medium-sized skates are frequently marketed.

R. undulata, of unmistakable coloration, was collected only in autumn 1985. It was a single specimen of 600 g, caught in the southern fishing ground near Lampedusa at 56 m of depth, after a difficult and irregular tow. This is the first time this very rare species (Bini, 1967) is reported for the Strait of Sicily.

The white skate, *R. alba*, is a large, "long nose" species, distinguishable for the white ventral coloration (except on the disc margins) without black marked mucous pores. While quite common (78% of the surveys), *R. alba* was not reported in the list compiled by Bombace and Sarà (1972) and Arena and Li Greci (1973) for the Strait of Sicily.

One of the results of these scientific cruises has been the enlargement (Tab. 1) of the conventional bathymetric range (Fisher *et al*., 1987) of various skate species; in particular, *R. brachyura* and *R. montagui*, generally considered as shallow-shelf dwellers (up to 100 m), were also captured on the upper-slope bottoms.

Referring to the whole Rajidae resources, Tab. 3 shows the fishable abundance and biomass indexes by surveys (1994-2001), divided by depth strata (shelf, 10-200 m; slope, 201-800 m); data indicate a relative stability on the shelf, and apparent decreasing trends on the slopes (Fig. 2). It must be noted that the MEDITS gear is different from the trawl net used in the GRUND surveys, and is less efficient for the capture of benthonic species, particularly on the deeper slope grounds.

Tab. 3 – Mean indexes of fishable abundance (N/km^2) and biomass (kg/km^2) for the whole skate group (*Raja* sp.) in the Italian side of the Strait of Sicily, by depth strata (shelf, 10-200 m; slope, 201-800 m); data from MEDITS (spring) and GRUND (spring and autumn), 1994-2001. CV% is the coefficient of variation (s.e./mean*100).

*Indici medi di abbondanza in numero (N/km^2) e peso (kg/km^2) per la pesca riferiti all'insieme delle razze (*Raja *sp.) nel versante italiano dello Stretto di Sicilia, sulla base delle campagne scientifiche (1994-2001) realizzate nell'ambito dei programmi MEDITS (primavera) e GRUND (primavera ed autunno); i valori si riferiscono alla piattaforma (10-200 m) e alla scarpata (201-800 m). CV(%) è il coefficiente di variazione (s.e./media*100).*

			10-200 m		201-800 m		10-200 m		201-800 m	
year	**survey**	**season**	**N/km^2**	**CV (%)**	**N/km^2**	**CV (%)**	**kg/km$_2$**	**CV (%)**	**kg/km$_2$**	**CV (%)**
1994	MEDITS	spring	51	38.9	3	37.7	18.5	39.7	2.6	33.2
1994	GRUND	spring	193	25.4	87	36.8	52.2	21.6	44.0	31.9
1994	GRUND	autumn	130	26.7	56	27.8	34.6	21.4	50.0	18.0
1995	MEDITS	spring	132	40.1	7	47.9	27.8	29.0	9.5	64.7
1995	GRUND	spring	142	20.8	247	49.8	38.9	18.4	105.1	31.5
1995	GRUND	autumn	189	27.8	120	27.0	47.7	21.5	78.3	27.7
1996	MEDITS	spring	126	35.8	2	28.0	26.0	31.8	2.8	42.9
1996	GRUND	autumn	225	29.7	40	35.4	42.4	27.3	21.1	24.8
1997	MEDITS	spring	229	41.9	8	29.0	41.3	31.0	7.9	42.5
1997	GRUND	autumn	129	25.9	50	59.1	48.9	22.6	26.6	28.5
1998	MEDITS	spring	93	45.1	13	40.6	22.8	52.9	7.6	36.3
1998	GRUND	autumn	230	41.0	41	22.7	63.3	33.6	26.6	22.0
1999	MEDITS	spring	55	39.2	11	57.1	21.3	29.0	6.4	64.7
2000	MEDITS	spring	166	67.5	13	65.3	40.8	51.4	6.2	40.3
2000	GRUND	autumn	293	38.6	12	39.3	97.9	39.1	14.0	37.4
2001	MEDITS	spring	64	37.4	11	42.5	22.7	31.5	7.2	37.2
2001	GRUND	autumn	106	27.7	12	29.2	50.6	30.8	11.6	44.0

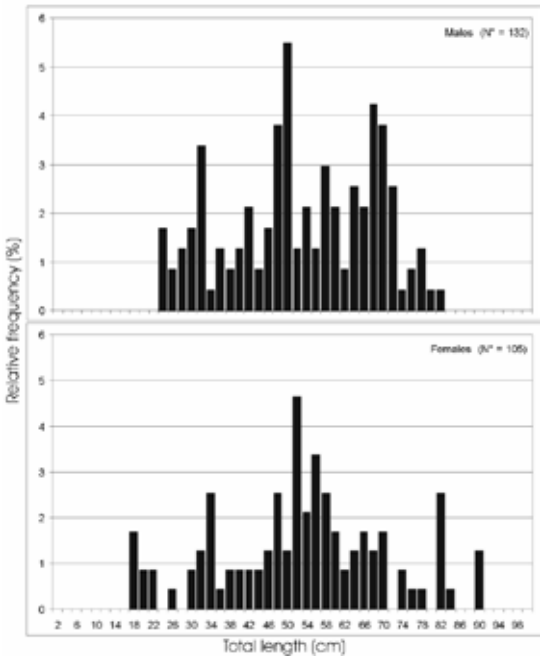


Fig. 3 – Length-frequency distribution (TL; cm) by sex of *Raja clavata* from data collected in the Italian side of the Strait of Sicily during the MEDITS surveys (1994-2001).

Distribuzioni di frequenza di lunghezza (TL; cm) di Raja clavata*, divise per sesso, per il versante italiano dello Stretto di Sicilia; dati raccolti durante le campagne MEDITS (1994-2001).*

Conclusions

Given the high individual polymorphism observed in this group, as already evidenced by many ichthyologists (Tortonese, 1956; Bini, 1967), the classification has not been always easy. In fact, neither the phyletic relationships nor the general life cycle of skates are well understood, and discrepancies, ambiguities and contrasts were encountered in using the different available keys. As a matter of fact, beside the natural variability (i.e. anomalies cannot be excluded), the distinctive features mainly used, such as the number and distribution pattern of thorns and thornlets, the presence of dots and eye-spots on the disc, can show differences in the same species according to the age and sex; even the eye-spots, considered distinctive characteristics of a species, can be absent.

In conclusion, the species occurring in the Strait of Sicily at the present state of knowledge result to be: *Raja miraletus*, *R. clavata*, *R. melitensis*, *R. montagui*, *R. oxyrinchus*, *R. asterias* and *R. alba*, very common; *R. batis* and *R. circularis*, common; *R. brachyura*, *R. polystigma* and *R. radula*, seldom captured; *R. fullonica* and *R. undulata*, rare.

Present results confirm the great adaptability of skates to depth variations and warn of the overall decline of many species.

Referring to the still relatively high numerical consistency of some skate species on heavily exploited grounds, one explanation of their persistence could be the increase

in food availability as a consequence of discards; a more frequent scavenger behaviour and a reduction in size and age of maturity might partially compensate the negative effects of the high fishing pressure. Another explanation could be the existence of strongholds where skates cannot be fished; in fact, the presence of such natural sanctuaries may be the major reason which have precluded the full collapse of these stocks.

Given the low commercial value of skate and the full retention in the cod-end of the currently used gears, that remain unchanged up to unproposeable (for the Mediterranean fisheries) mesh size (>60 mm opening; Ragonese *et al*., 2001), the only management measure aimed at their sustainable use may be to define the suitable not-trawlable areas and enlarge these "closed" spots, in order to protect a fraction of the population and likely the eggs (all Rajidae are oviparous, laying down large horny rectangular egg-cases, often found in the trawl cod-end).

References

ARENA P., LI GRECI F. (1973) - Indagine sulle condizioni faunistiche e sui rendimenti di pesca dei fondali batiali della Sicilia occidentale e della bordura settentrionale dei banchi della soglia siculo-tunisina. *Quad. Lab. Tecnologia Pesca*, **1** (5): 157-201.

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPAKOSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) - Contribution on the distribution of elasmobranchs in the Mediterranean (from the MEDIT surveys). *Biol. Mar. Medit.,* **7** (1): 1-15.

BINI G. (1967) - *Atlante dei pesci delle coste italiane: Leptocardi, Ciclostomi, Selaci*. Mondo Sommerso Ed., **1**: 206 pp.

BOMBACE G., SARÀ R. (1972) - La pesca a strascico sui fondali da -500 a -700 metri nel settore a Sud-Est di Pantelleria. *Mem. Min. Mar. Merc*., **33**: 77 pp.

CANNAVÒ G., D'ANDREA F., GIORDANO D., HERMIDA F., ROMEO T. (1999) - Alcune osservazioni sulle razze nel Mediterraneo Centrale. *Biol. Mar. Medit*., **6** (1): 534-536.

CANNIZZARO L., GAROFALO G., LEVI D., RIZZO P., GANCITANO S. (1995) - *Raja clavata* (Linneo, 1758) nel Canale di Sicilia: crescita, distribuzione e abbondanza. *Biol. Mar. Medit*., **2** (2): 257-262.

FISCHER W., BAUCHOT M.-L., SCHENEIDER M. (1987) - *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (rev.1): Méditerranée et Mer Noire*. Rome, FAO: 1530 pp.

HAMLETT W.C. (1999) - *Sharks, Skates, and Rays. The Biology of the Elasmobranch Fishes*. The John Hopkins Univ. Press, Baltimore and London: 516 pp.

MINERVINI R., GIANNOTTA M., BIANCHINI M.L. (1985) - Observations on the fishery of Rajformes in Central Tyrrhenian Sea. *Oebalia*, **11** (2): 583-591.

PIPITONE C., BADALAMENTI F., BARBERA G., D'ANNA G., GRISTINA M. (1992) - Fish fauna of the trawlable mesobathyal grounds in the Sicilian Channel. *Oebalia*, **17** (Suppl.): 151-153.

QUIGNARD J.P., CAPAPÉ C. (1971) - Liste commentée des Sélaciens de Tunisie. *Bull. Inst. Océanogr. Pêche Salammbô*, **2** (2): 131-141.

RAGONESE S., DI STEFANO L., BIANCHINI M.L. (2000) - Catture e selettività di pesci cartilaginei nella pesca dei gamberi rossi nello Stretto di Sicilia. *Biol. Mar. Medit*., 7 (1): 400-411.

RAGONESE S., ZAGRA M., DI STEFANO L., BIANCHINI M.L. (2001) - Effect of codend mesh size on the performance of the deep-water bottom trawl used in the red shrimp fishery of the Strait of Sicily (Mediterranean Sea). *Hydrobiologia*, **449**: 279-291.

RELINI G. (1995) - La fauna ittica batiale del Mediterraneo con particolare riferimento ai campionamenti dello strascico. *Biol. Mar. Medit*., **2** (2): 177-183.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) - Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (Suppl. 1): 58-98.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C, PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) - I selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 347-384.

STEHMANN M., BÜRKEL D.L. (1984) - Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

STEVENS J.D., BONFIL R., DULVY N.K., WALKER P.A. (2000) - The effect of fishing on sharks, rays and chimeras (chondrichthyans), and the implication for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, **57**: 476-494.

TORTONESE E. (1956) - *Fauna d'Italia: Leptocardia, Cyclostomata, Selachii*. Ed. Calderini Bologna, **2**: 334 pp.

VACCHI M., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2000) - I pesci cartilaginei nei mari italiani, una risorsa che richiede urgenti misure di tutela. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 296-311.

WALKER P.A. (1996) - Sensitive skates or resilient rays? *Annu. Rep. Neth. Inst. Sea. Res.*: 60-61.

WHITEHEAD P.J.P., BAUCHOT M.L., HUREAU J.C., NIELSEN J., TORTONESE E. (1986) - *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, 1-2-3: 1473 pp.

Research conducted in the framework of the GRUND and MEDITS programs with the economic support by Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MiPAF; Italy) and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 882-885

G. Relini, A. Mannini, T. Piano

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale, Dip.Te.Ris, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università di Genova, Viale Benedetto XV, 3 - 16132 Genova, Italia.

ANNOTATED CHECKLIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE NORTHERN LIGURIAN SEA

LE RAZZE (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) DEL MAR LIGURE SETTENTRIONALE

Abstract

The aim of this paper is to report the data available for the Rajidae family caught during 17-year period from 1985 to 2001, based on national and international trawl surveys carried out in the Northern Ligurian Sea. Number of species caught, bathymetric range, mean biomass (kg/km^2) and density (n/km^2) indexes and length frequency distribution are given.

Key-words: *Rajidae, trawl survey, Ligurian Sea.*

Introduction

Skates are by-catch for a bottom trawlers and play an important role not only in the structure of the demersal community but also in fishery management. On account of their low fecundity and high age/length of first maturity, Skates are very vulnerable to an increase in fishing mortality, and changes in biomass indexes may reflect high fishing pressure.

Since very little data are available for the rajidae in the Italian seas, the scientists involved in the national (GRUND) and international (MEDITS) trawl surveys to evaluate the state of the demersal resources (Relini, 1998; Bertrand *et al.*, 2000) have decided to present the information collected during the last 15 years of research. Bathymetric range, density and biomass indexes and length-frequency distribution are given and supplemented with data available in literature (Bini, 1967; Tortonese, 1956).

Materials and methods

From 1985 to 2001, 29 national (632 hauls) and 8 international trawl surveys (192 hauls) were carried out in the area stretching from Ventimiglia (IM) to Punta Bianca (SP). The sampling scheme was largely random stratified.

Mean density (DI=n/km^2) and biomass (BI=kg/km^2) indexes, relative values of Standard Deviation (St.Dev.) and Coefficient of Variation (CV) are reported for the Skates "in toto" (*Raja* spp.) both for shelf (0-200 m depth) and slope (200-800 m depth).

The total length (TL) was reported as length-frequency distribution for species with a step of 2 cm and a 0-100 cm range.

Results and conclusions

Throughout the 15 years of trawl surveys carried out in the Northern Ligurian Sea only 4 of the 12 species reported for the area were caught: *Raja (Raja) asterias*,

Raja (Raja) clavata, *Raja (Raja) miraletus* and *Raja (Dipturus) oxyrinchus* (Tab. 1). *R. aste*rias and *R. clavata* formed the 98.9% of the catch in terms of numbers (66.1% and 26.8% respectively).

Tab. 1 – List of Rajidae known for the Italian Seas. Indicates the species present in the area, ** those caught during the trawl survey campaigns and *** those not yet reported in the Northern Ligurian Sea.

*Lista delle specie di Rajidae note per i mari italiani. Con * sono indicate le specie segnalate nell'area, con ** quelle catturate durante le campagne a strascico sperimentali ed infine con *** quelle non ancora segnalate nel Mar Ligure Settentrionale.*

	DEPTH (m)	
Species	MIN	MAX
Raja (Dipturus) batis Linnaeus, 1758*		500
Raja (Dipturus) oxyrinchus Linnaeus, 1758**	354	354
Raja (Leucoraja) fullonica Linnaeus, 1758*		600
Raja (Leucoraja) melitensis Clark, 1926***	-	-
Raja (Leucoraja) naevus Müller & Henle, 1841*		100
Raja (Leucoraja) circularis Couch,1838*		300
Raja (Raja) asterias Delaroche, 1809**	24	350
Raja (Raja) brachyura Lafont, 1873*		200
Raja (Raja) clavata Linnaeus, 1758**	354	633
Raja (Raja) miraletus Linnaeus, 1758**	26	354
Raja (Raja) montagui Fowler, 1910*		200
Raja (Raja) polystigma Regan, 1923*	150	300
Raja (Raja) radula Delaroche, 1809***	-	-
Raja (Rostroraja) alba Lacépède, 1803*		300
Raja rondeleti Bougis, 1959***	-	-
Raja undulata Lacépède, 1802***	-	-

R. asterias and *R. miraletus* were caught mostly on the shelf bottoms, while *R. clavata* preferred slope bottoms. *R. oxyrinchus* was caught only once in a haul at a depth of 354 m.

The catches were very variable and generally very low in both the national and international trawl surveys (Tab. 2). The biomass indexes for the former ranged between 0.01 to 5.71 kg/km^2, with a peak of 10.58 kg/km^2 in the autumn of 1994 due to the catch of a female of *R. asterias* of 94 cm TL and 5.7 kg in weight. The density indexes ranged from 1 to 14 n/km^2 in the summer of 1987.

On the MEDITS surveys the BI ranged between 0.05 to 9.90 kg/km^2 and DI from 1 to 8 n/km^2. Both maximums were obtained in the 1996.

With regard to length-frequency distribution (Tab. 3), 36 of 58 specimens measured were *R. asterias*, 21 *R. clavata* and 1 *R. miraletus*. Total length ranged between 14 cm to 94 cm.

The very scarce catches (a total of 112, including 58 measured and 33 sexed) made further processing impossible, especially with relation to the maturity stage and sex-ratio.

Tab. 2 - Mean biomass (kg/km^2) and density (n/km^2) indexes, Standard Deviation (St.Dev) and Coefficient of Variation (CV) calculated for both the continental shelf and the slope (Winter = Win, Summer = Sum, Spring = Spr. and Autumn = Aut.).

Indici medi di biomassa (kg/km^2) e densità (n/km^2) e relativi valori di deviazione standard (St.Dev.) e coefficiente di variazione (CV) calcolati per la piattaforma continentale e la scarpata (Inverno = Win, Estate = Sum, Primavera = Spr. e Autunno = Aut.).

GRUND	BIOMASS			DENSITY		
SHELF	Mean	St.Dev.	CV	Mean	St.Dev.	CV
1985Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1985Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1986Spr	0,02	0,06	316	2,03	6,41	316
1986Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1987Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1987Sum	1,16	3,29	283	13,98	36,89	264
1990Sum	0,08	0,25	316	2,89	9,15	316
1990Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1991Win	0,00	0,00		0,00	0,00	
1991Spr	0,30	0,90	300	3,00	9,01	300
1991Sum	1,80	5,41	300	3,61	10,82	300
1991Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Win	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Win	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Spr	0,55	1,55	283	2,75	7,77	283
1993Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1994Spr	1,31	3,71	283	0,01	0,02	283
1994Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1995Spr	0,06	0,19	300	0,00	0,01	300
1995Aut	0,34	1,02	300	0,00	0,01	300
1996Aut	0,10	0,34	361	0,00	0,01	361
1997Aut	1,56	4,76	306	0,01	0,02	278
1998Aut	1,72	6,21	361	0,00	0,01	361
2000Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
2001Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	

GRUND	BIOMASS			DENSITY		
SLOPE	Mean	St.Dev.	CV	Mean	St.Dev.	CV
1985Spr	1,21	5,14	424	1,01	4,29	424
1985Sum	5,71	16,60	291	3,20	7,37	230
1986Spr	0,01	0,03	424	1,10	4,65	424
1986Sum	1,82	4,41	242	5,48	11,33	207
1987Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1987Sum	3,40	13,93	410	3,29	10,15	309
1990Sum	0,18	0,52	292	1,84	4,06	221
1990Aut	0,03	0,09	316	0,58	1,85	316
1991Win	0,00	0,00		0,00	0,00	
1991Spr	1,69	5,35	316	0,55	1,73	316
1991Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1991Aut	0,03	0,08	265	1,53	4,05	265
1992Win	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1992Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Win	1,68	5,31	316	1,12	3,54	316
1993Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Sum	0,00	0,00		0,00	0,00	
1993Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
1994Spr	0,09	0,27	299	0,02	0,07	332
1994Aut	10,58	33,56	317	0,00	0,01	244
1995Spr	2,78	8,22	295	0,01	0,01	201
1995Aut	0,13	0,45	361	0,01	0,02	361
1996Aut	5,12	20,81	407	0,01	0,02	395
1997Aut	0,02	0,08	520	0,00	0,00	520
1998Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	
2000Aut	0,01	0,06	520	0,00	0,00	520
2001Aut	0,00	0,00		0,00	0,00	

MEDITS	BIOMASS			DENSITY		
SHELF	Mean	St.Dev.	CV	Mean	St.Dev.	CV
1994Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1995Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1996Spr	9,93	28,07	283	8,05	22,76	283
1997Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1998Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	
1999Spr	4,03	11,41	283	2,69	7,60	283
2000Spr	0,98	2,77	283	2,65	7,49	283
2001Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	

MEDITS	BIOMASS			DENSITY		
SLOPE	Mean	St.Dev.	CV	Mean	St.Dev.	CV
1994Spr	2,76	7,57	274	1,79	4,97	278
1995Spr	2,30	7,42	323	3,96	10,83	273
1996Spr	3,85	10,60	275	5,13	8,99	175
1997Spr	0,05	0,17	331	1,25	3,42	273
1998Spr	0,88	3,30	373	3,41	9,35	274
1999Spr	6,01	16,00	266	4,64	14,31	309
2000Spr	0,25	1,01	400	0,63	2,52	400
2001Spr	0,00	0,00		0,00	0,00	

Tab. 3 - Length frequency distribution (overall of the 37 trawl surveys) of the Rajidae.
Distribuzioni lunghezza frequenza (complessive di tutte le 37 campagne di pesca svolte) dei Rajidae.

TL (cm)	*R. asterias*	*R. clavata*	*R. miraletus*	TL (cm)	*R. asterias*	*R. clavata*	*R. miraletus*
2	0	0	0	**52**	1	1	0
4	0	0	0	**54**	1	1	0
6	0	0	0	**56**	0	2	0
8	0	0	0	**58**	1	2	0
10	0	0	0	**60**	1	0	0
12	0	0	0	**62**	1	0	0
14	4	1	0	**64**	0	0	0
16	3	1	0	**66**	0	0	0
18	1	0	1	**68**	0	0	0
20	4	0	0	**70**	1	0	0
22	2	2	0	**72**	0	0	0
24	0	2	0	**74**	0	1	0
26	2	1	0	**76**	0	0	0
28	1	1	0	**78**	0	0	0
30	2	0	0	**80**	0	0	0
32	1	0	0	**82**	0	0	0
34	0	0	0	**84**	0	0	0
36	3	1	0	**86**	0	0	0
38	1	1	0	**88**	0	0	0
40	2	0	0	**90**	0	1	0
42	1	1	0	**92**	1	0	0
44	0	0	0	**94**	1	0	0
46	0	1	0	**96**	0	0	0
48	1	1	0	**98**	0	0	0
50	0	0	0	**100**	0	0	0
					36	**21**	**1**

Aknowledgement

Study carried out with data coming from scientific trawl surveys financed by Ministero delle Politiche Agricole e Forestali of Italy and European Union (D.G. XIV).

References

BERTRAND J.S., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) - An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS Programme. In: Bertrand and Relini (eds), *Demersal resources in the Mediterranean. Proceedings of the Symposium Assessment of demersal resources by direct methods in the Mediterranean and adjacent seas*. Pisa (Italy), 18-21 marzo 1998. IFREMER, *Actes de Colloques*, **26**: 76-93.

BINI G. (1967) - Atlante dei pesci delle coste italiane. Leptocardi, Ciclostomi, Selaci. Ed. Mondo Sommerso Roma, **1**: 206 pp.

RELINI G. (1998) - Valutazione delle Risorse Demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

TORTONESE E. (1956) - Fauna d'Italia. *Leptocardia, Ciclostomata, Selachii*. Ed. Calderini, Bologna: 334 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 886-890

P. Rizzo, S. Gancitano, G. Norrito, G.B. Giusto, S. Ragonese

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA/CNR, Via L. Vaccara, 61
91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

LONGEVITY OF THE SLENDER ROCKFISH, *SCORPAENA ELONGATA* CADENAT, 1943 (PISCES–SCORPAENIDAE), IN THE STRAIT OF SICILY (MEDITERRANEAN SEA)

LONGEVITÀ DI SCORPAENA ELONGATA *CADENAT, 1943, NELLO STRETTO DI SICILIA (MARE MEDITERRANEO)*

Abstract

Longevity, as maximum age, of Scorpaena elongata *(Pisces-Scorpaenidae), from the Strait of Sicily (Mediterranean Sea), was estimated using otoliths collected in 1985 and 1987. Growth-zones were counted in thin sections. The assigned ages ranged between 12 and 30 years resulting in longevity estimations of 29 and 30 years for males and females, respectively.*

Key-words: *Scorpaenidae,* Scorpaena elongata*, longevity, Mediterranean Sea.*

Introduction

Scorpaena elongata is a large rockfish (up to 59 cm total length; Duclerc, 1970) present in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea on soft bottoms close to rough areas and rocky outcrops (Eschmeyer & Dempster, 1990; Relini *et al*., 1999). This species was reported as common in the trawlable deep bottoms of the Mediterranean (GFCM, 1970); nowadays, there are evidences of reduction in its abundance (Relini *et al*., 1999).

As for all rockfish in general (Nedreaas, 1990), *S. elongata*, the Slender rockfish, is considered a sedentary species with slow growth rate and a relatively long life span. Information about these characteristics, however, is limited to an asymptotic size (according the von Bertalanffy growth formula) of 52 cm and a length at sexual maturity of 25 cm (Froese & Pauly, 2001), both expressed as total length.

Long living species are more susceptible to exploitation given the trade-offs among the longevity and the other life cycle traits (Beverton, 1992). Aim of the present note was the estimation the maximum age of the slender rockfish population of the Strait of Sicily.

Materials and methods

Otoliths were taken from individuals of *Scorpaena elongata* caught in the Strait of Sicily between 1985 and 1987 (see Levi *et al*., 1998, for details on the research program). In particular, 85 couples of *sagittae*, were taken, weighed (OW; mg) and measured (from the anterior tip to the posterior projection; OL; 0.01 mm). The sex and size (TL; cm) of the corresponding fish were also retrieved from the Institute database. The OL-OW and TL-OW relationships were analyzed to check any discontinuity (Nedreaas, 1990).

The regression coefficients were estimated according the $\log_e$-linear allometric model:

$$\log_e W_{(i)} = \log_e a + b * \log_e L_{(i)}$$

The left *sagitta* of 16 specimens ranging between 41 and 56 cm was selected; each otolith was embedded in Implex resin and a thin transverse section (0.5 mm) was cut through the core. Sections were mounted on glass slides and examined with reflected light under a dissecting microscope (25×). Rings counting was performed independently by two of the authors. The putative age (year) was estimated by computing the number of translucent rings, preferably on the proximal side and along an axis next to the acoustic groove. In case of divergent interpretation, the same section was read again and the two counts compared.

No validation of periodicity of band deposition was carried out given the low number of available otoliths. On the base of an analogous study (*Helicolenus d. dactylopterus*; Morales-Nin, 2001), we assumed the formation of one band each year.

In fishery science, no univocal definition exists for "longevity", which should be considered a relative term (Leaman & Beamish, 1984). Herein, we use the maximum age (T_{max}) estimated in our sample of fish (Hoenig, 1983) as the longevity of the investigated population.

Results

The OL-OW and TL-OW plots (Figg. 1, 2) resulted in negative allometric ($b<3$) relationships and evidenced clear discontinuities. The corresponding coefficients were $\log_e a=-1.737$, $b=2.584$, $r^2=0.964$ and $\log_e a=-1.490$, $b=1.837$ and $r^2=0.955$ for OL-OW and TL-OW, respectively.

Otoliths showed a thickening-instead of lengthening pattern in rockfish larger than 40 cm.

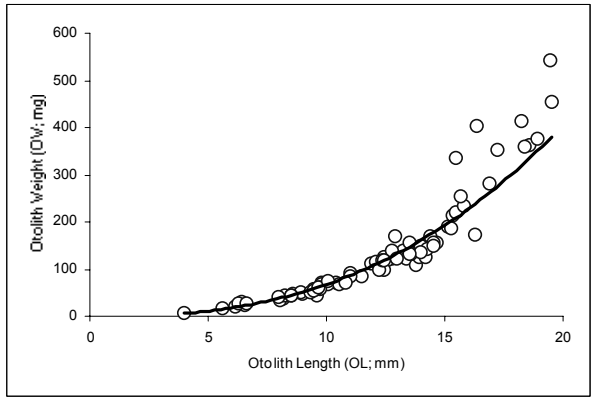


Fig. 1 – Length-Weight relationship in the otoliths of *Scorpaena elongata* from the Strait of Sicily. ($n=83$; $\log_e a=-1.737$; $b=2.584$; $r^2=0.964$).
Relazione fra la lunghezza ed il peso degli otoliti di Scorpaena elongata.

An example of the otolith microstructure, with the year bands evidenced, is presented in Fig. 3. Although counting was hampered by "false" checks and rings stacked at the outermost edge, the two readers reached a general agreement in all cases.

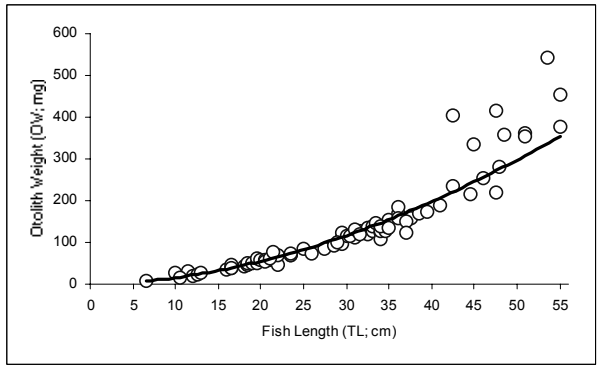


Fig. 2 – Fish length-Otolith weight relationship in *Scorpaena elongata* from the Strait of Sicily. (n=83; $\log_e a = -1.490$; b=1.837; $r^2 = 0.955$).
Relazione fra la lunghezza del pesce ed il peso degli otoliti di Scorpaena elongata.

The basic measures and the resultant age determinations of the 16 selected fish are presented in Tab. 1. It is worth noting that the presence of both sexes (although few specimens and not balanced; 3:1) supports the hypothesis that the discontinuity does not reflect a sex-effect. The maximum age estimated was 29 and 30 year (y) for a male (55 cm; 3380 g) and a female (55 cm; 2412 g) respectively.

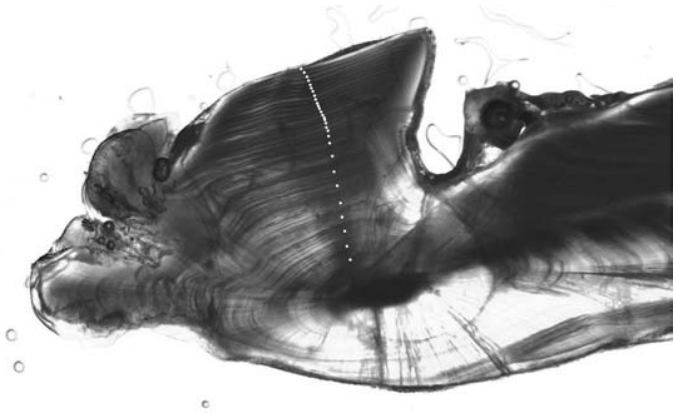


Fig. 3 – Otolith thin section of a male of *Scorpaena elongata* from the Strait of Sicily (TL=55 cm), aged 29 years.
Sezione sottile di otolite di un maschio di Scorpaena elongata *di 29 anni d'età.*

Tab. 1 – Basic characteristics of the specimens of *Scorpaena elongata* used to estimate the longevity of the Strait of Sicily population.
Caratteristiche degli esemplari di Scorpaena elongata *utilizzati per la stima della longevità.*

Season/year	TL(cm)	BW(g)	OW(mg)	OL(mm)	Sex	Age(t;year)
Spring 1985	41.0	1355	189.6	15.15	F	12
Spring 1985	47.5	1561	219.7	15.48	F	13
Spring 1985	44.5	1550	215.2	15.33	F	14
Spring 1985	46.0	1572	252.8	15.70	M	14
Spring 1985	45.0	1602	336.5	15.45	F	15
Winter 1986	42.5	1244	234.8	15.83	F	15
Summer 1985	51.0	2782	362.1	18.60	F	18
Spring 1986	47.5	1848	414.4	18.25	F	18
Spring 1985	48.5	2072	na	na	F	20
Autumn 1986	48.5	1802	357.9	18.35	F	20
Winter 1987	48.0	1960	281.3	16.93	F	20
Summer 1985	51.0	2688	352.1	17.23	M	21
Winter 1987	42.5	1368	403.0	16.38	M	21
Spring 1985	53.5	2330	542.5	19.48	F	27
Summer 1985	55.0	3380	377.2	18.95	M	29
Spring 1985	55.0	2412	454.5	19.53	F	30

Conclusions

Longevity is a critical parameter in fishery science, often confused with other parameters such as the mean life span (Leaman & Beamish, 1984) or the maximum exploitable age (T_λ). Strictly speaking, longevity must be estimated from samples gathered from pristine stocks (Beverton, 1992), since even a moderate exploitation rate can reduce the maximum age achievable in wild (Cailliet *et al*., 2001).

In spite of the scarcity of data from pristine populations, fish are considered among the most long living vertebrata. For deepwater rockfish, in particular, longevity up to 100 y and more have been estimated by section reading and validated by radiometric age determination (Cailliet *et al*., 2001).

Rockfish have robust otoliths especially in old specimens in which additional material is deposited in the internal surface of the otoliths (Nedreaas, 1990). It is worth noting that the same author has detected analogous discontinuities at the same size of *Scorpaena elongata* (40 cm) in *Sebastes mentella*.

No data exist on the longevity of the Slender rockfish, but maximum ages from 7 up to 30 y were found for *H. d. dactylopterus* (Morales-Nin, 2001).

Considering that the maximum size (TL) ever reported for the Slender rockfish is 59 cm (East Tunisian and Libya; Duclerc, 1970), and that in fish larger than 50 cm the

asymptotic size tends to be lower than the maximum size (Mathews & Samuel, 1990), it is likely that an age of 30 years does reflect the longevity in wild of *Scorpaena elongata* in the Strait of Sicily.

Although nobody knows in reality why deep-water rockfish exhibit so long life spans, theoretical considerations support the hypothesis that the most potential benefit of longevity is a long reproductive phase of life which reduces the risk of poor recruitments as consequence of unfavorable environmental conditions (Leaman & Beamish, 1984). The removal of large and very old specimens by fishing, consequently, may compromise the long time stability of these populations.

Acknowledgements

We wish to thank our friend Franco Andaloro (ICRAM, Rome), who stored the otoliths even though the Slender rockfish was not included among the target species of the program.

Bibliography

BEVERTON R.J.H. (1992) - Patterns of reproductive strategy parameters in some marine teleost fishes. *Journal of Fish Biology*, **41** (Suppl. B): 137-160.

CAILLIET G.M., ANDREWS A.H., BURTON E.J., WATTERS D.L., KLINE D.E., FERRY-GRAHAM L.A. (2001) – Age determination and validation studies of marine fishes: do deep-dwellers live longer? *Experimental Gerontology*, **36**: 739-764.

DUCLERC J. (1970) - Les Scorpaenidés de l'Est Tunisien et de Libye. *Journée ichthyol., Rome, CIESM*: 73-74.

ESCHMEYER W.N., DEMPSTER L.J. (1990) - Scorpaenidae. In: Quero J.C., Hureau J.C., Karrer C., Post A., Saldanha L. (eds), *Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA)*. JNICT, Lisbon; SEI and UNESCO, Paris, **2**: 665-679.

FROESE R., PAULY D. (eds) (2001) - *FishBase*. World Wide Web electronic publication.

GFCM (1970) - Living deep-water resources of the Western Mediterranean and their exploitation. *Stud. Rev. Gen. Fish. Coun. Mediterr.*, **44**: 38 pp.

HOENIG J.M. (1983) – Empirical use of longevity data to estimate mortality rates. *Fish. Bull. U.S.*, **82** (1): 898-902.

LEAMAN B.M., BEAMISH R.J. (1984) – Ecological and management implications of longevity in some northeast pacific groundfishes. *Bull. Int. North Pac. Comm.*, **42**: 85-230.

LEVI D., RAGONESE S., ANDREOLI M.G., NORRITO G., RIZZO P., GIUSTO G.B., GANCITANO S., SINACORI G., BONO G., GAROFALO G., CANNIZZARO L. (1998) - Sintesi delle ricerche sulle risorse demersali dello Stretto di Sicilia (Mediterraneo Centrale) negli anni 1985-1997 svolte nell'ambito della legge 41/82. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (3): 130-139.

MATHEWS C.P., SAMUEL M. (1990) - The relationship between maximum and asymptotic length in fishes. *Fishbyte*, **8** (2): 14-16.

MORALES-NIN B. (2001) – Mediterranean deep-water fish age determination and age validation: the state of art. *Fish. Res.*, **51**: 377-383.

NEDREAAS K. (1990) – Age determination of Northeast Atlantic *Sebastes* species. *J. Cons. int. Explor. Mer.*, **47**: 208-230.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) – Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in central mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Medit.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 891-894

T. Romeo, S. Ancora[1], P. Consoli[2], A. Ausili[3], M.C. Fossi[4], F. Andaloro[3]

Dipartimento Scienze Ambientali, Via delle Cerchia, 3 - 53100 Siena, Italia.
[1]Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Pisa, Italia.
[2]Istituto Sperimentale Talassografico, Messina, Italia.
[3]ICRAM, Roma, Italia.
[4]Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Messina, Italia.

APPROCCIO SPERIMENTALE AL CALCOLO DELLO SFORZO DI PESCA E DELLE CATTURE PER UNITA' DI SFORZO (CPUE) DELLA PESCA AL PESCESPADA CON L'ARPONE

EXPERIMENTAL APPROACH TO THE STUDY OF EFFORT AND CATCH PER UNIT EFFORT OF THE SWORDFISH FISHING BY HARPOON

Abstract

This study was carried out during the fishing season of swordfish Xiphias gladius *Linnaeus 1758 (Osteichthyes, Xiphidae,) by harpoon in the Strait of Messina from 1999 to 2001. Census of fisheries and landing of swordfish were recorded. An approach to the study of effort (sighting time in hours) and catch per unit of effort (CPUE) was carried out. The highest values of CPUE (kg/h) have been observed during the season 2001 in June (4.47) and July (3.31).*

Key-words: Xiphias gladius*, fishing effort, harpoon*, *Mediterranean Sea.*

Introduzione

La pesca al pescespada (*Xiphias gladius*, Linnaeus 1758) costituisce da sempre una delle principali attività delle marinerie della Sicilia. Nello Stretto di Messina, in particolare, è ancora in uso il più antico e tradizionale sistema di pesca al pescespada: l'arpone (o arpione), noto sin dal XVII secolo a.C.. In passato, benché questo attrezzo fosse ampiamente diffuso sia in Atlantico che in Pacifico, era utilizzato in Mediterraneo solo dai pescatori siciliani e calabresi (Sisci, 1984).

L'avvento di altri attrezzi più competitivi ha determinato una forte riduzione di quest'attività, che rimane praticata, da maggio ad agosto, solamente da poche unità ("passerelle") nello Stretto di Messina e nella costa calabra (Cavaliere, 1962; Cavallaro e Lo Duca, 1996; Di Natale *et al*., 1996; Romeo *et al*., 2001). Il presente lavoro nasce dall'esigenza di identificare un'appropriata unità di sforzo (E), che considerando anche quanto già esistente in bibliografia (Di Natale *et al.,* 1987), possa esprimere in modo più diretto l'andamento di quest'insolita tipologia di pesca.

Materiali e metodi

L'indagine è stata condotta nello Stretto di Messina e nelle aree limitrofe (Isole Eolie, Calabria ionica), dal 1999 al 2001. In quest'area, operano 13 unità, 8 nella costa siciliana e 5 in quella calabra. Il censimento della flotta peschereccia è stato effettuato, tuttavia, esclusivamente per la marineria siciliana dedita a quest'attività. Presso le Capitanerie di Porto di Messina, sono stati registrati, per ogni unità, i dati di tonnellaggio di stazza lorda (TSL), lunghezza fuori tutto (LFT; m), potenza motore (Hp) ed anno di costruzione. Su tutte le imbarcazioni della costa siciliana, sono state effettuate

rilevazioni, sia a bordo sia a terra, per registrare la cattura giornaliera di pescespada. Data l'insolita tipologia di pesca, l'unità di sforzo (E) è stata identificata con le ore di avvistamento (h) trascorse in mare, registrate per singola barca. Sono state calcolate, quindi, le catture giornaliere per unità di sforzo (CPUE), in termini sia ponderali (kg/h) sia numerici (N/h), aggregando i dati, successivamente, su base mensile.

Risultati

Le caratteristiche delle otto imbarcazioni censite in Sicilia sono riportate in Tab. 1, mentre i dati di cattura e sforzo sono presentati in Tab. 2.

Tab. 1 - Caratteristiche delle otto imbarcazioni presenti nella costa siciliana dedite alla pesca al pescespada con arpone.
Characteristics of the eight boats in the Sicilian coast which catch the swordfish by harpoon.

TSL	LFT (m)	Hp	Anno di costruzione
9,9	15,0	150	1966
9,4	15,1	230	1961
9,9	14,1	230	1963
10,0	14,5	230	1968
9,9	14,9	269	1963
10,0	15,1	298	1965
17,6	11,5	320	1971
17,0	14,7	440	1966

Tab. 2 - Sforzo di pesca (E; h: ore di avvistamento), catture mensili (in peso, kg, e numero, n) e corrispondenti catture per unità di sforzo (CPUE) delle otto unità dedite alla pesca con arpone del pescespada (1999-2001).
Effort (E; h: sighting hours), monthly yield (kg) and catch (n), and corresponding CPUE of the eight boats which catch swordfish by harpoon (1999-2001).

	1999					2000					2001				
Mesi	E(h)	kg	CPUE	n	CPUE	E(h)	kg	CPUE	n	CPUE	E(h)	kg	CPUE	n	CPUE
Aprile	-	-	-			59	180	3,05	10	0,17	-	-	-		
Maggio	991	3131	3,16	130	0,13	1154	3075	2,66	122	0,11	895	1645	1,84	68	0,08
Giugno	2374	6745	2,84	213	0,09	2441	8603	3,52	226	0,09	1642	7349	4,48	230	0,14
Luglio	2563	5879	2,29	142	0,06	2639	6646	2,52	162	0,06	2761	9141	3,31	219	0,08
Agosto	1306	851	0,65	31	0,02	1284	1385	1,08	54	0,04	1629	3555	2,18	126	0,08
TOT.	7234	16606	2,30	516	0,07	7577	19889	2,62	574	0,08	6927	21690	3,13	643	0,09

Nei tre anni considerati, il pescato totale (in kg) di pescespada ha seguito un andamento crescente, passando da 16.606 (nel 1999) a 21.690 (nel 2001). I valori totali delle CPUE in peso (kg/h), registrati nell'arco delle tre stagioni di pesca, hanno

evidenziato un incremento costante, che va da 2.29, nel 1999, a 3.13, nel 2001. In particolare, i valori più alti sono stati registrati in giugno (4.47) e luglio (3.31) del 2001 (Fig. 1). Lo stesso andamento si è osservato nelle CPUE in numero (N/h), con valori che vanno da 0.07, nell'anno 1999, a 0.09 nel 2002. (Tab. 2). Lo sforzo di pesca mostra un andamento consistente nelle diverse stagioni, con picchi in giugno e luglio (Fig. 1); di particolare interesse è il valore di E del mese di agosto del 2001, superiore a quello degli anni precedenti.

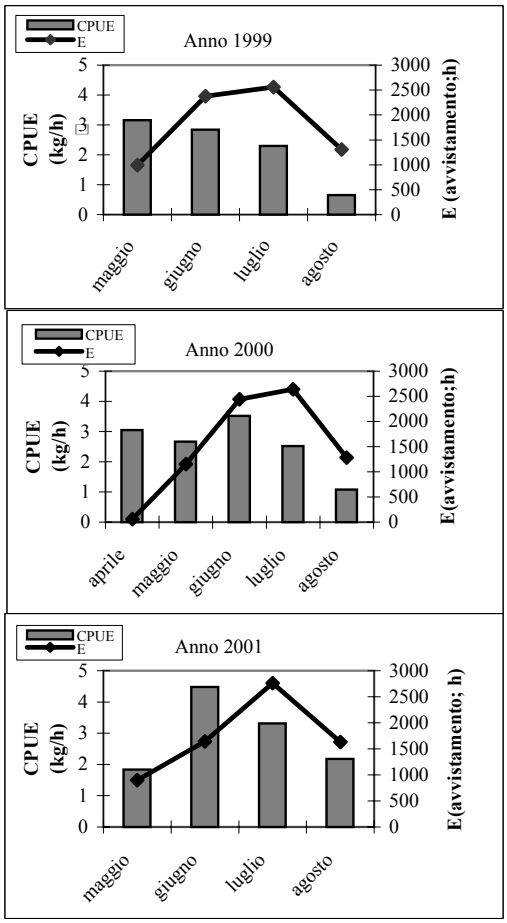


Fig. 1 - Andamento dello sforzo (E; ore di avvistamento) e catture per unità di sforzo mensile di *Xiphias gladius* durante le stagioni di pesca 1999-2001.
Monthly trend of effort (E) and catch per unit effort of Xiphias gladius *during the fishing season 1999-2001.*

Conclusioni

Questo studio ha permesso di evidenziare come, nei tre anni di campionamento, si sia verificato un aumento delle CPUE, sia in numero che in peso, a fronte di un monte

ore di avvistamento confrontabile nei primi due anni e, addirittura, più basso nel 2001. Questo risultato, seppure necessiti di ulteriori approfondimenti, visto il breve periodo di dati rilevati, potrebbe essere imputabile ad un aumento della risorsa provocato dalla diminuzione nell'uso delle reti derivanti (tipo "spadara"), che operavano nelle aree limitrofe dell'area di studio, da Aprile a Settembre (periodo che coincide con l'attività di pesca del pescespada con l'arpone).

Un altro aspetto rilevante di quest'indagine riguarda la scelta delle ore di avvistamento come unità di sforzo, rispetto ai parametri tradizionalmente impiegati in quest'attività di pesca (per es., le giornate di attività o la potenza motore; cfr. Di Natale *et al.,* 1987). Questa preferenza è scaturita da diverse considerazioni, principalmente perché i dati raccolti in questo studio hanno evidenziato variazioni meno evidenti negli altri parametri. Per esempio, nonostante alcune barche abbiano una potenza motore maggiore di altre, la velocità con cui operano si mantiene costante durante le fasi di avvistamento. I giorni di pesca, inoltre, dipendono principalmente dalle condizioni metereologiche per cui potrebbero non esprimere al meglio lo sforzo di pesca. Il numero di ore di avvistamento, di contro, subisce variazioni nel corso della stagione e dovrebbe meglio influenzare la possibilità di cattura del pescespada.

Infine, l'impiego delle ore di avvistamento come appropriata unità di sforzo sembra bene adattarsi alle modalità che regolano questo tipo di pesca. Nel mese di luglio, ad ogni imbarcazione è assegnata, tramite sorteggio giornaliero dalla Capitaneria di Porto, una zona di pesca (la "posta"). L'avvistamento e quindi la cattura del pescespada, sono fortemente dipendenti dalle condizioni marine legate all'andamento delle correnti e alle fasi lunari, che però si manifestano con diversa intensità nelle varie poste, influenzando differentemente le ore di avvistamento delle barche, pur rimanendo invariati i giorni di pesca.

Bibliografia

CAVALIERE A. (1962) – Studi sulla biologia e pesca di *Xiphias gladius* L. Nota II. *Boll. Pesca Pisc. Idrobiol.*, **17** (2): 123-143.

CAVALLARO G., LO DUCA G. (1996) - Aree di pesca del pescespada da parte delle marinerie della costa ionica siciliana. *Biol. Mar. Medit.,* **3** (1): 341-345.

DI NATALE A., D'ORAZIO E., LEONARDI S., MANGANO A., MENTO N., PRESTIPINO GIARRITTA S., SCUDERI M.C., SARA' M. (1987) – Rilevazioni delle quantità pescate e dello sforzo di pesca esercitato nei confronti delle principali specie di Scombroidei.Relazione preliminare. *Atti Sem. UU.OO. prog. ric. prelim. Piano pesca acquac., M.M.M.-C.N.R.*: 301-317.

DI NATALE A., MANGANO A., NAVARRA E., SCHIMMENTI G., VALASTRO M., BASCONE M., ASARO A. (1996) - La pesca del pescespada (*Xiphias gladius* L. 1758) in alcuni importanti porti tirrenici e dello Stretto di Sicilia tra il 1985 ed il 1994. *Biol. Mar. Medit.,* **3** (1): 346-351.

ROMEO T., ANCORA S., MANGANARO A., ANDALORO F., FOSSI M.C. (2001) – The swordfish fishing by harpoon in the Strait of Messina. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit*., **36**: 318 pp.

SISCI R. (1984) – *La pesca al pesce spada nello Stretto di Messina*. EDAS, Messina.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 895-899

I. Rossetti, P. Sartor[1], P. Belcari[2]

APLYSIA p.s.c.r.l., Via delle Viole, 1 - 57124 Livorno, Italia.
[1]CIBM, Livorno, Italia.
[2]DSUA, Università degli Studi di Pisa, Pisa, Italia.

LENGTH-WEIGHT RELATIONSHIP IN *SEPIA OFFICINALIS* L. 1758, (CEPHALOPODA: SEPIOIDEA) IN THE EASTERN LIGURIAN SEA

RELAZIONE TAGLIA-PESO IN SEPIA OFFICINALIS *L. 1758, (CEPHALOPODA: SEPIOIDEA) NEL MAR LIGURE ORIENTALE*

Abstract

Length-weight relationship was examined for Sepia officinalis *(Cephalopoda, Sepioidea) from the eastern Ligurian Sea in the period 1998-2001. Annual and seasonal relationships were negatively allometric (b<3) for both sexes in relation to somatic and total weight. Weight of gonads during maturation affects total weight, especially in females, which resulted significantly heavier than males when the maturation process starts.*

Key-words: *Cephalopoda,* Sepia officinalis*, length-weight relationship, Ligurian Sea*.

Introduction

The cuttlefish *Sepia officinalis* L. 1758, represents one of the most important target species commercially exploited in the Tuscan coasts. In this area, landings of cuttlefish are mostly provided by trawling and set nets (Fabi and Sartor, 2001). Many aspects of the biology of this species are still poorly known. In particular, for a correct management of this resource, it is important to achieve accurate estimates of biological parameters. The aim of the present study is to identify the length-weight relationship characteristics of *S. officinalis* from the eastern Ligurian Sea in function of sex, season and sexual maturity.

Materials and methods

Samples were collected from 1998 to 2001 in the eastern Ligurian Sea with different gears (set and trawl nets), during research programmes funded by European Union and Italian Agricultural and Forestry Policy Ministry.

A total of 2150 specimens of *S. officinalis* were examined (1064 females and 1086 males). Dorsal mantle length (ML) to the nearest 0.5 cm below, total weight (TW) and somatic weight (SW, total weight minus weight of reproductive organs) to 0.1 gram, were recorded for each specimen. Sex and maturity stage were assessed by means of macroscopic analysis of the reproductive organs. Four maturity stages were used: Stage I = Immature; Stage II = Maturing; Stage III = Mature; Stage IV = Fully Mature, according to the maturity scale of Amaratunga and Durward (1979) for males, and Mangold-Wirz (1963), modified, for females. Weight of ovary, nidamental and accessory nidamental glands for females as well as testis and Needham sac for males were also recorded. Length-weight relationships were computed separately by sex and season, following this expression: TW (or SW) = a*ML^b where parameters a and b were estimated through the ordinary least-square regression, after transforming data in natural logarithms. Relative growth was also studied in relation to maturity stage, joining sam-

ples in two groups (Stage I + Stage II; Stage III + Stage IV).

The Student's t-test was utilised to evaluate the differences of the estimated coefficients (slopes) from the isometric condition (H_o: b=3) and to test the significance of the differences of b between males and females.

Results

Specimens analysed ranged from 3 to 18.5 cm ML (females) and from 3 to 16.5 cm ML (males). ML-TW relationship and ML-SW relationship resulted negative allometric (b significantly lower than 3) in both sexes, according to year, season and maturity stage (Tabb. 1 and 2). Similar results are reported for the cuttlefish in the Adriatic Sea (Manfrin-Piccinetti and Giovanardi, 1984; Jardas *et al*., 2001).

A significant difference ($p<0.001$) emerged in the comparison of b of the ML-TW relationship computed for males and females; at the same size, females were heavier than males (Tab. 1). Significant differences between sexes were also found in the comparison of b in winter, spring and summer.

The values of b of the ML-TW relationship for sex and maturity stage resulted

Tab. 1 – *S. officinalis*. Length-total weight relationships (TW) for males (M) and females (F) by season and maturity stages (MS): n = number of specimens; SE = standard error; r = correlation coefficient; a = constant; b = exponent; e = estimate; s = significance level of b = 3; s' = significance level of b between maturity stage for the same sex; *** = p<0.001; ** = p<0.01; * = p<0.05; n.s. = not significant.

Relazione lunghezza-peso totale (TW) *in* S. officinalis *per maschi* (M) *e femmine* (F) *per stagione e stadi maturativi* (MS)*: n = numero di individui, SE = errore standard; r = coefficiente di correlazione; a = costante; b = esponente; e = stima; s = livello di significatività di b rispetto a 3; s'= livello di significatività del confronto di b tra stadi maturativi per lo stesso sesso; *** = p<0.001; ** = p<0.01; * = p<0.05; n.s. = non significativo.*

TW	Sex	n	$\overline{ML}$	SE($\overline{ML}$)	$\overline{TW}$	SE ($\overline{TW}$)	r	a	b	SE(b)	SE(e)	s	s'
TOTAL	M	1086	9,4	0,073	124,9	2,334	0,990	0,347	2,574	0,011	0,103	***	***
	F	1064	10,0	0,080	158,3	3,200	0,991	0,314	2,641	0,011	0,108	***	
WINTER	M	165	9,9	0,166	138,3	5,761	0,991	0,357	2,548	0,025	0,075	***	***
	F	159	10,8	0,194	190,8	9,156	0,989	0,283	2,686	0,033	0,100	**	
SPRING	M	432	10,9	0,084	171,8	3,464	0,975	0,460	2,462	0,027	0,089	***	*
	F	410	11,5	0,083	211,4	4,770	0,968	0,369	2,551	0,033	0,101	***	
SUMMER	M	326	7,8	0,122	79,1	3,007	0,988	0,375	2,529	0,022	0,119	***	*
	F	329	8,5	0,145	103,9	4,148	0,991	0,344	2,588	0,019	0,117	***	
AUTUMN	M	163	7,9	0,131	78,7	3,459	0,982	0,250	2,733	0,041	0,113	*	n.s.
	F	166	8,6	0,155	103,8	6,088	0,987	0,289	2,679	0,034	0,101	**	
MS I+II	M	375	7,1	0,093	61,7	2,139	0,985	0,336	2,587	0,023	0,119	***	n.s.
	F	460	8,0	0,105	88,3	3,053	0,990	0,342	2,591	0,017	0,109	***	
MS III+IV	M	711	10,5	0,065	158,2	2,628	0,976	0,408	2,507	0,021	0,093	***	*
	F	604	11,5	0,072	211,6	3,920	0,965	0,381	2,566	0,028	0,104	***	

significantly different only for mature (stages III + IV) specimens (Tab. 1). On the contrary, using somatic weight as descriptor, no significant differences were found in the comparison of *b* according to year, season and maturity stage (Tab. 2).

Tab. 2 – *S. officinalis:* Length-somatic weight relationships (SW) for males (M) and females (F) by season and maturity stages (MS): n = number of specimens; SE = standard error; r = correlation coefficient; *a* = constant; *b* = exponent; e = estimate; *s* = significance level of *b* = 3; *s'* = significance level of *b* between maturity stage for the same sex; *** = p<0.001; ** = p<0.01; * = p<0.05; n.s. = not significant.

Relazione lunghezza-peso somatico (SW) *in* S. officinalis *per maschi* (M) *e femmine* (F) *per stadi maturativi* (MS) *e stagione: n = numero di individui, SE = errore standard; r = coefficiente di correlazione;* a = *costante;* b = *esponente;* e = *stima;* s = *livello di significatività di* b *rispetto a 3;* s' = *livello di significatività del confronto di b tra stadi maturativi per lo stesso sesso; *** = p<0.001; ** = p<0.01; * = p<0.05; n.s. = non significativo.*

SW	Sex	n	$\overline{ML}$	SE ($\overline{ML}$)	$\overline{SW}$	SE ($\overline{SW}$)	r	*a*	*b*	SE(*b*)	SE(e)	*s*	*s'*
TOTAL	M	933	9,9	0,068	133,4	2,333	0,986	0,379	2,523	0,014	0,095	***	n.s.
	F	851	10,7	0,073	159,8	2,870	0,978	0,410	2,483	0,018	0,110	***	
WINTER	M	143	10,0	0,173	137,2	5,942	0,991	0,357	2,548	0,029	0,076	***	n.s.
	F	139	10,9	0,197	174,8	8,160	0,985	0,394	2,512	0,037	0,097	***	
SPRING	M	422	10,9	0,085	166,0	3,441	0,978	0,426	2,477	0,026	0,085	***	n.s.
	F	386	11,5	0,091	182,3	4,228	0,966	0,377	2,509	0,034	0,101	***	
SUMMER	M	265	8,7	0,111	95,3	3,185	0,979	0,406	2,484	0,032	0,112	***	n.s.
	F	229	9,9	0,135	130,2	4,427	0,977	0,411	2,479	0,036	0,123	***	
AUTUMN	M	103	8,6	0,153	92,9	4,331	0,978	0,335	2,589	0,055	0,103	**	n.s.
	F	97	9,3	0,187	119,2	6,686	0,986	0,281	2,677	0,047	0,093	**	
MS I+II	M	236	7,9	0,105	75,3	2,706	0,980	0,375	2,529	0,034	0,107	***	n.s.
	F	274	9,1	0,113	110,7	3,519	0,981	0,356	2,562	0,031	0,110	***	
MS III+IV	M	697	10,6	0,066	153,1	2,592	0,977	0,379	2,523	0,021	0,091	***	n.s.
	F	577	11,5	0,074	183,2	3,494	0,965	0,330	2,567	0,029	0,105	***	

Conclusions

Differences in the results coming from total and somatic weight may be explained with the different contribution in the two sexes of the reproductive organs on the total weight. As a matter of fact, females invested approximately 10% of total body mass in gonads and accessory reproductive organs when maturing and about 15% at full maturity, whereas in males these proportions never exceeded 4% (Fig. 1). The not significant difference in the values of *b* between males and females found in autumn is a further confirmation of the influence of gonad maturation in the length-weight relationship. In fact, in this season the lowest percentage of mature and fully mature specimens was recorded (Fig. 2).

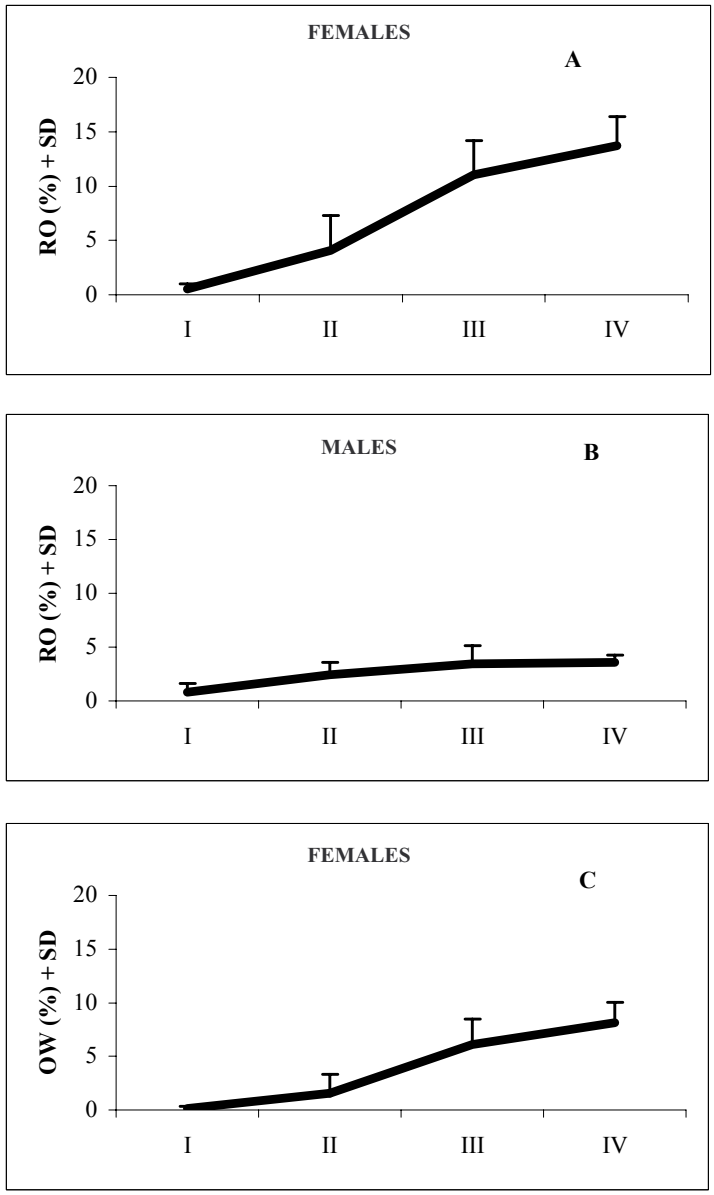


Fig. 1 – *Sepia officinalis*. Reproductive organs (RO) as percentage of total weight by maturity stage in females (A) and males (B). For females, ovary weight (OW) as percentage of total weight is also reported (C). SD = standard deviation.

Percentuale degli organi riproduttivi (RO) *in rapporto al peso totale in femmine* (A) *e maschi* (B) *per stadio maturativo, e percentuale del peso dell'ovario* (OW) *in rapporto al peso totale* (C). *SD = deviazione standard.*

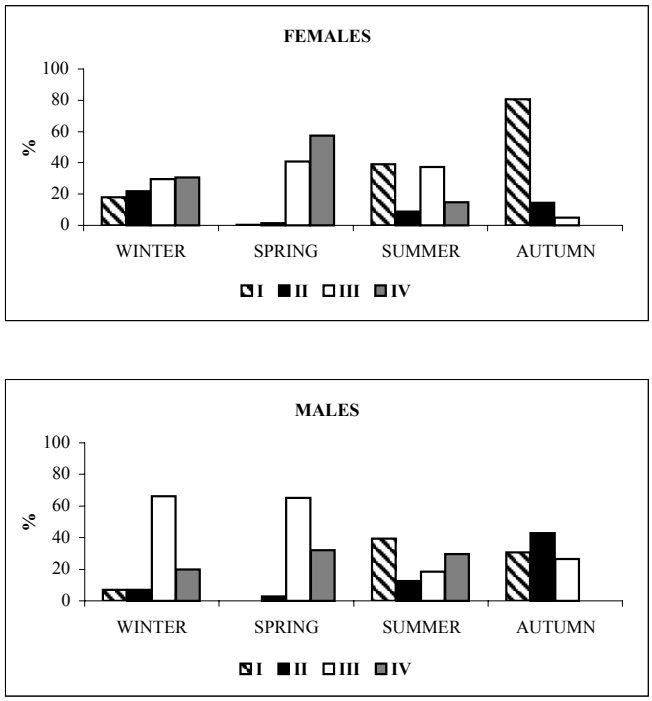


Fig. 2 – *S. officinalis*. Percentage of immature (I), in maturation (II), mature (III) and fully mature (IV) individuals by sex and season.

Percentuale degli individui immaturi (I)*, in maturazione* (II)*, maturi* (III) *e pienamente maturi* (IV) *per sesso e stagione.*

References

AMARATUNGA T., DURWARD R.D. (1979) – Standardisation of data collected for the short-finned squid, *Illex illecebrosus*. *ICNAF Sel. Papers*, **5**: 37-41.

FABI G., SARTOR P. (2001) – *Sepia officinalis*: impact of three set gear fishing techniques in the Adriatic and the Ligurian Sea. *Final Report, EU Study Contract 98/069*: 112 pp.

JARDAS I., PALLAORO A., CÊTINIC P., DULCIC J. (2001) – Cuttlefish, *Sepia officinalis* L., 1758, in the trammel bottom set catches along the Eastern Adriatic coast (Croatia). *Rapp. Comm. Int. Mer Medit.*, **36**: 277.

MANFRIN PICCINETTI G., GIOVANARDI O. (1984) – Données sur la biologie de *Sepia officinalis* L. dans l'Adriatique obtenues lors des expédition Pipeta. *FAO Rap. Pêches*, **290**: 135-138.

MANGOLD-WIRZ K. (1963) – Biologie des Céphalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie et Milieu*, **13** (Suppl.): 285 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 900-903

N. Santamaria, F. Acone*, A. Di Summa, R. Gentile, M. Deflorio, G. De Metrio

Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Università di Bari, Str. Prov.le per Casamassima Km 3
70010 Valenzano, Bari, Italia.
*Dip. Biologia Animale, Univ. di Sassari, Italia.

ETÀ ED ACCRESCIMENTO DI GIOVANILI DI TONNO ROSSO (*THUNNUS THYNNUS* L. 1758) NEI MARI MERIDIONALI D'ITALIA

*AGE AND GROWTH OF JUVENILE BLUEFIN TUNA (*THUNNUS THYNNUS *L. 1758) IN THE SOUTHERN ITALIAN SEAS*

Abstract

*Age estimations were made on sagittae of 24 juvenile bluefin tuna (*Thunnus thynnus *L. 1758), captured by the Italian clupeoids purse seine fleets in the Southern Italian seas. Increment were observed in sagittae sectioned in a transverse plane, viewed and counted with light microscopy. Estimated ages ranged from 37 to 162 days of fish ranging in size from 11.2 to 49.5 cm fork lenght (FL).*

Key-words: *age, daily, growth, otoliths, bluefin tuna.*

Introduzione

Il recente interesse che la comunità scientifica ha mostrato per la domesticazione del tonno rosso (*Thunnus thynnus* L.) ci ha portato a condurre indagini sull'accrescimento di giovanili di questa specie. Le indagini furono svolte nel contesto del progetto UE n° 96/93, che aveva lo scopo di verificare l'incidenza della pesca del cianciolo per clupeiformi sulle catture di giovanili di tunnidi. Tale progetto rappresentò una preziosa occasione per collezionare giovanili (età 0) di diverse specie di sgombridi compreso il tonno rosso e stimare l'età e l'accrescimento attraverso lo studio delle microstrutture riscontrabili nell'otolite.

Materiali e metodi

Nel triennio 1998/00, furono collezionati 32 esemplari di tonno rosso con lunghezza alla forca (LF) compresa fra 11,2 cm e 49,5 cm e peso tra 20,24 g e 2550,23 g, che facevano parte del by catch della pesca dei clupeiformi effettuata con cianciolo nel Mar Ionio. Per la determinazione dell'età in giorni furono utilizzate le microstrutture riscontrabili negli otoliti con l'assunto che esse rappresentano gli incrementi giornalieri. Da ciascun animale furono prelevati i canali semicircolari che furono posti in acqua distillata per 30 minuti. Successivamente gli otoliti furono estratti dalle strutture circostanti e privati di ogni residuo di tessuto. L'otolite utilizzato fu la sagitta la cui lunghezza (Lo) (rostro-postrostro) fu misurata utilizzando l'analizzatore di immagini Quantimet 500/W (Leica, Cambridge, UK). Quindi gli otoliti furono preparati per la lettura secondo il metodo di Secor *et al*. (1991). Le sagitte furono incluse in resina epossidica e tagliate con sega Isomet a bassa velocità. La levigatura fu effettuata con carta a potere abrasivo decrescente (da 240 a 600 grit), utilizzando le dovute cautele al fine di evitare l'erosione del bordo o del nucleo. Le sezioni infine furono levigate con panno Microcloth ed allumina 0.3 μm. La lettura fu eseguita al microscopio ottico Leitz Diaplan con un ingrandimento compreso tra 100 e 400.

Risultati

L'otolite di tonno rosso presenta una forma allungata e su entrambi i lati del piano sagittale presenta un solco che costituisce la parte più sottile dell'otolite. Il core, o regione primordiale, è localizzato nella parte iniziale del solco e rappresenta la sola area in cui sono chiaramente distinguibili bande concentriche di accrescimento. A questa area, su uno dei lobi, seguono bande di accrescimento non più concentriche ed al margine del lobo sono presenti micro-incrementi (~2-4 μm) distinguibili a circa 400 ingrandimenti. I dati statistici delle lunghezze dei 32 otoliti misurati furono i seguenti: media=6339 μm; min=2196 μm; max=7009 μm; dev.st.=836. Solo per 24 esemplari fu possibile individuare in maniera non dubbia le discontinuità (Figg. 1, 2); gli otoliti dei restanti individui furono persi durante la fase della levigatura.

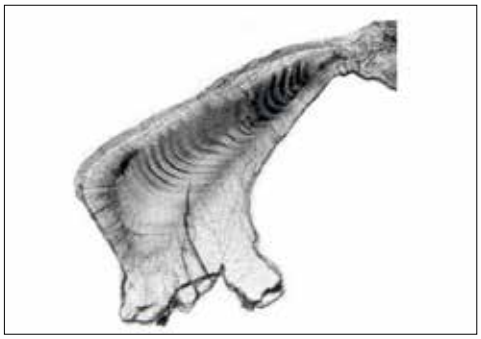


Fig. 1 – Sezione trasversale di sagitta di tonno rosso.
Cross-section of sagitta of bluefin tuna.

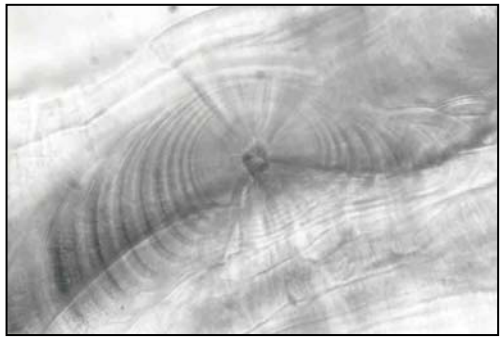


Fig. 2 – Sezione trasversale di sagitta di tonno rosso con nucleo centrale.
Cross-section of sagitta of bluefin tuna with central nucleus.

L'età oscillò tra 37 e 162 giorni in individui con LF compresa tra 11,2 e 49,5 cm e peso tra 20,24 e 2400,12 g, catturati tra il 31 luglio ed il 13 novembre 1999. L'analisi di regressione tra i parametri età e lunghezza ed età e peso fu effettuata secondo il modello lineare (Figg. 3, 4).

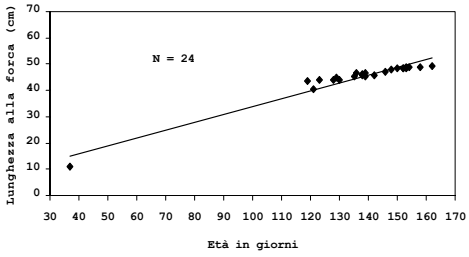


Fig. 3 – Correlazione tra età stimata in giorni e lunghezza alla forca per il tonno rosso.
Regression lines for the relationships betwween estimated age (days)-length for bluefin tuna.

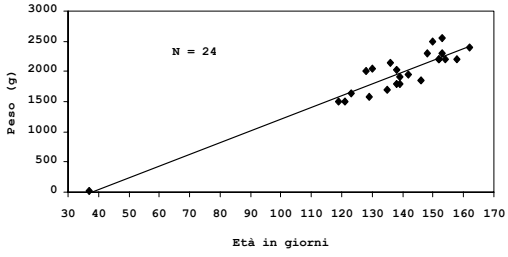


Fig. 4 – Correlazione tra età stimata in giorni e peso per il tonno rosso.
Regression lines for the relationships between estimated age (days)-weight for bluefin tuna.

I risultati dell'analisi di regressione sono riportati nella Tab. 1.

Tab. 1 – Numero di campioni, costanti e coefficienti di correlazioni tra lunghezza-età e peso-età di tonno rosso.
Number of samples, correlation constants and coefficients betwween length-ages and weight-ages for bluefin tuna.

No	A	B	R^2	Modello
24	4,03	0,29	0,94	LF=4,03+0,29*Età
24	-0,74	0,02	0,89	PT=-0,74+0,02*Età

Il valore 0,29, pendenza della retta, indica un tasso di accrescimento giornaliero di 2,9 mm entro l'intervallo di taglia considerato. In Tab. 2 è riportato l'accrescimento giornaliero in lunghezza ed in peso.

Tab. 2 – Accrescimento giornaliero in lunghezza ed in peso del tonno rosso.
Daily-growth in length and weight of bluefin tuna.

	No	Media	Dev.St.	Minimo	Massimo
LF(mm)	24	3,29	0,15	3,03	3,66
PT(g)	24	13,64	3,09	0,55	16,67

Attraverso il calcolo a ritroso, effettuato partendo dalla data di cattura e dall'età in giorni, fu possibile individuare la data di nascita di ciascun esemplare. Ciò consentì di stabilire che il periodo di nascita fu compreso tra il 3 giugno ed il 9 luglio.

La maggior parte degli animali (79,2%) risultò essere nata nel mese di giugno, in particolare durante la seconda metà del mese (Fig. 5).

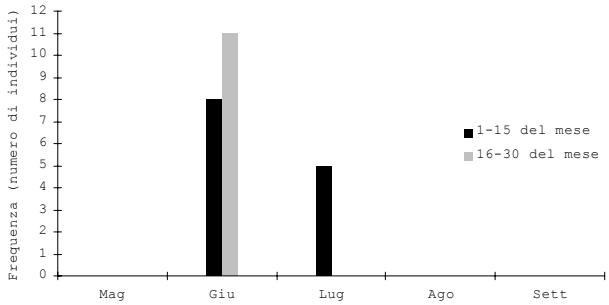


Fig. 5 – Periodo di nascita di tonno rosso calcolato dalla stima dell'età in giorni.
Estimated birth date for bluefin tuna.

Conclusioni

Strutture scheletriche e distribuzioni taglia-frequenza furono utilizzate per la determinazione dell'età e la stima dell'accrescimento di giovanili di tonno rosso del Mediterraneo. Dalla letteratura esistente risulta che le microstrutture degli otoliti possono essere usate con esattezza per la stima dell'età e dell'accrescimento di numerose specie, compresi gli sgombridi. Brothers *et al*. (1983) hanno anche ottenuto sperimentalmente la convalida della periodicità degli anelli giornalieri.

Dall'analisi di regressione da noi effettuata tra i parametri età e lunghezza risultò un incremento di lunghezza giornaliero, pari a 2,9 mm. Individui della classe 0 marcati nel mese di ottobre e ricatturati in novembre da Orsi-Relini *et al*. (1997) nel mar Ligure mostrarono un tasso di crescita giornaliera compreso tra 0,71 e 2 mm al giorno. E' verosimile che tale differenza possa essere dovuta al differente periodo considerato e che i tonni della classe 0 mostrano una crescita fortemente influenzata dalla stagione.

Il periodo di nascita degli esemplari esaminati risultò compreso fra giugno e luglio, con un picco nella seconda metà di giugno, in accordo con i risultati ottenuti dallo studio del periodo di riproduzione nel Mediterraneo da Rodriguez-Roda (1964, 1967) e da Susca *et al.* (2001).

Bibliografia

BROTHERS E.B., PRINCE E.D., LEE D.W. (1983) – Age and growth of young-of-the-year bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from otolith microstructure. *NOAA Tech Rep. NMFS*, **8**: 49-59.

ORSI-RELINI L., PALANDRI G., RELINI M., CIMA C., GARIBALDI F., TORCHIA G. (1997) – Seasonal growth in young bluefin tuna of the Ligurian Sea. *ICCAT, Collective Volume of Scientific Papers*, **46**: 122-125.

RODRIGUEZ-RODA J. (1964) – Biologia del Atùn, *Thunnus thynnus* (L), de la costa sudatlantica de Espana. *Investigaciones Pesqueras*, **25**: 33-164.

RODRIGUEZ-RODA J. (1967) – Fecundidad del atùn, *Thunnus thynnus* (L), de la costa sudatlantica de Espana. *Investigaciones Pesqueras*, **31**: 33-52.

SECOR D.H., DEAN J.M., LABAN E.H. (1991) – *Manual for otilith removal and preparation for microstructural examination*. Electric Power Research Institute and the Belle W. Baruch Institute for Marine Biology and Coastal Research, University of South Carolina, Columbia, South Carolina.

SUSCA V., CORRIERO A., BRIDGES C.R., DE METRIO G. (2001) – Study of the sexual maturity of female bluefin tuna: purification and partial characterization of vitellogenin and its use in an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Fish. Biol.,* **58**: 815-831.

Ricerca realizzata con il supporto finanziario della Comunità Europea DG XIV – Progetto U.E. No 96/093.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 904-908

P. Sartor, F. Carlini, S. De Ranieri

Centro Interuniversitario di Biologia Marina, V.le N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
psartor@discat.unipi.it

DIET OF YOUNG EUROPEAN HAKE (*MERLUCCIUS MERLUCCIUS*) IN THE NORTHERN TYRRHENIAN SEA

ALIMENTAZIONE DEI GIOVANI DI NASELLO (MERLUCCIUS MERLUCCIUS) *NEL MAR TIRRENO SETTENTRIONALE*

Abstract

The diet of European hake, Merluccius merluccius*, lower than 20 cm of total length was investigated through stomach content analysis, according to size class and season. A great variety of preys (32 different species) was found in the 445 stomachs analysed. Diet was composed mainly by crustaceans, as the euphausiids* Nyctiphanes couchii *and* Meganyctiphanes norvegica *and the mysid* Lophogaster typicus*, secondarily by fishes. Food spectrum showed clear differences in function both of size and season.*

Key-words: *feeding ecology,* Merluccius merluccius*, Tyrrhenian Sea.*

Introduction

The European hake, *Merluccius merluccius* (L., 1758) is an important resource for the Mediterranean fisheries; this species is mostly exploited by bottom trawling. Fishing mortality is concentrated on small size specimens, especially on individuals lower than 20 cm of total length. The area of Tyrrhenian sea from Elba to Giannutri Island is undoubtedly one of the zones where this species is more intensely exploited, with important catch rates of juveniles (Belcari *et al*., 2001). The aim of this work is to characterise the diet of young specimens of *M. merluccius* through stomach content analysis, with particular attention to eventual changes in the diet due to size and season.

Materials and methods

Stomachs were collected in the northern Tyrrhenian Sea during three trawl surveys carried out in Autumn 1998, Spring '99 and Summer '99. A total of 150 daily hauls were performed with a random stratified sampling design.

The specimens caught of *M. merluccius* were firstly studied to evaluate the stomach fullness - Fullness Index, FI = full stomachs/(full + empty stomachs). Stomachs were sampled according to four size classes (Total Length, TL, to 0.5 cm): < 7.5 cm TL, 7.5-9.5 cm TL, 10-14 cm TL, 14.5-19.5 cm TL. A minimum of 30 full stomachs for each size class and season was collected. The contribution to the diet of each food category (species or higher taxonomic group) was examined, by size class and season, through the following approaches: F: frequency of occurrence; N: percentage respect to the total number of individuals of all preys; W: percentage respect to the total weight of all preys. The information coming from these parameters was integrated using the Index of Relative Importance (IRI, Pinkas *et al.,* 1971), IRI = F * (N+P). For each food category, IRI was also expressed as a percentage of the total IRI.

Results

Evaginated stomachs were found in 35% of the specimens analysed; this percentage ranged from 4.9% in the specimens <7.5 cm TL to 39.9% in those from 14.5 to 19.5 cm TL. Fullness Index showed the opposite trend, from 0.60 in the first size class to 0.44 in the last one. The mean weight of the stomach content increased with size, from 0.1 g in the specimens <7.5 cm TL to 2.1 g in the last size class. The mean number of preys found in each stomach varied from 2.5 in the first size class to 12.6 in the third size class and resulted 3.2 in the last size class (Fig. 1).

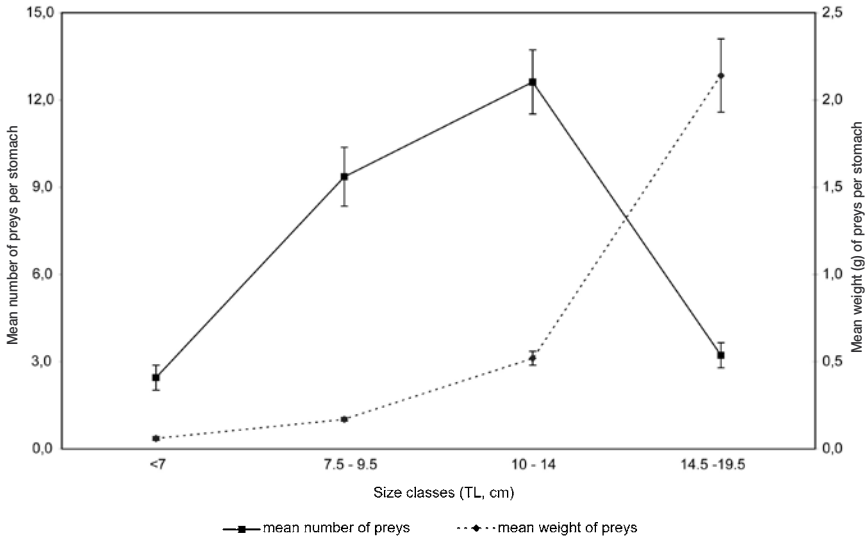


Fig. 1 - Mean weight per prey and mean number of preys per stomach, by size class.
Peso medio per preda e numero medio di prede per stomaco, per classe di taglia.

Diet of young hake was mostly composed by Crustacea (Mysidacea, Euphausiacea and Decapoda), Osteichthyes and Mollusca. A diversified food spectrum emerged from the analysis of the 445 stomach contents, having been identified 32 different prey species (Tab. 1). In spite of this, the bulk of the diet was due to a restricted number of preys. The euphausiid crustaceans *Nyctiphanes couchii* and, secondarily, *Meganyctiphanes norvegica,* constituted a primary food; other important taxa were mysids, with *Lophogaster typicus,* and fishes, with many species (e.g. *Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicholus* and *Maurolicus muelleri*). Cannibalism was also found, but its importance seems to be negligible, at least for the size classes considered in this study.

Clear differences in the diet were detected in function both of size and season (Figg. 2 and 3). Specimens up to 14 cm TL mostly fed on euphausiids, secondly on mysids, this taxon resulting particularly important in spring; in autumn an important role was played by fishes. Diet of specimens from 14.5 to 19.5 cm TL was principally made by fishes, especially in autumn, when this taxon was about 50% of the total IRI. The presence of crustacean decapods was noticeable only in spring and the species more frequently found in the stomachs was the pandalid *Chlorotocus crassicornis*.

Tab. 1 - List of preys found in the stomachs of young *M. merluccius* (TL < 20 cm).
Lista delle prede rinvenute nei contenuti gastrici di M. merluccius *(LT < 20 cm).*

SPECIES	F%	N%	P%	IRI	IRI%
Rondeletiola minor	1.3	0.1	1.5	2.1	0.1
Sepietta oweniana	0.2	*	2.1	0.4	*
Sepiolidae unid.	1.1	0.1	0.5	0.7	*
Ommastrephidae unid.	0.4	*	1.9	0.8	*
Cephalopoda unid.	0.7	0.1	*	*	*
Total Cephalopoda	**3.8**	**0.4**	**6.1**	**24.7**	
Rissoides pallidus	0.2	*	*	*	*
Total Stomatopoda	**0.2**	*	*	*	
Lophogaster typicus	30.1	9.3	5.2	436.5	14.0
Total Mysidacea	**30.1**	**9.3**	**5.2**	**436.5**	
Cirolana sp.	0.4	0.1	*	*	*
Isopoda unid.	0.2	*	*	*	*
Total Isopoda	**0.7**	**0.1**	*	*	
Nyctiphanes couchii	25.6	65.6	7.6	1873.9	59.9
Meganychtiphanes norvegica	7.2	4.4	2.8	51.8	1.7
Euphausiacea unid.	8.8	9.5	2.0	101.2	3.2
Total Euphausiacea	**41.6**	**79.4**	**12.4**	**3818.9**	
Solenocera membranacea	0.7	0.1	0.8	0.7	*
Alpheus glaber	0.9	0.1	0.8	0.4	*
Chlorotocus crassicornis	5.4	0.7	6.4	38.3	1.2
Plesionika heterocarpus	0.4	*	0.4	0.2	*
Plesionika sp.	0.7	0.1	0.5	0.4	*
Pandalidae unid.	0.2	*	0.3	*	*
Philocheras echinulatus	0.2	*	*	*	*
Pontocaris lacazei	0.2	0.0	0.1	*	*
Pasiphaea sivado	0.9	0.1	0.3	0.4	*
Decapoda unid.	2.5	0.3	1.4	4.3	0.1
Total Decapoda	**11.2**	**1.5**	**10.5**	**134.4**	
Crustacea unid.	11.9	6.2	1.1	86.9	1.7
Antonogadus megalokynodon	1.1	0.1	2.0	2.3	0.1
Merluccius merluccius	0.4	*	0.4	0.2	*
Hymenocephalus italicus	0.2	*	0.6	0.1	*
Lesueurigobius friesii	0.2	*	0.1	*	*
Lesueurigobius sp.	1.1	0.1	0.7	0.9	*
Argentina sphyraena	0.2	*	0.2	*	*
Clorophtalmus agassizi	0.2	*	1.3	0.3	*
Cepola rubescens	0.2	*	0.4	*	*
Echiodon dentatus	0.7	0.1	1.5	1.1	*
Maurolicus muelleri	2.5	0.3	2.6	7.3	0.2
Engraulis encrasicolus	1.3	0.1	7.5	9.9	0.3
Sardinella aurita	0.2	*	1.6	0.3	*
Sardina pilchardus	1.3	0.1	9.4	12.4	0.4
Trachurus sp.	0.2	*	0.1	*	*
Lampanyctus crocodilus	0.4	*	1.4	0.6	*
Aphia minuta	0.2	*	0.2	*	*
Citharus linguatula	0.2	*	0.4	*	*
Osteichtyes unid.	13.7	1.6	34.4	493.2	15.8
Total Osteichtyes	**24.3**	**2.9**	**64.8**	**1645.1**	

* = < 0.1

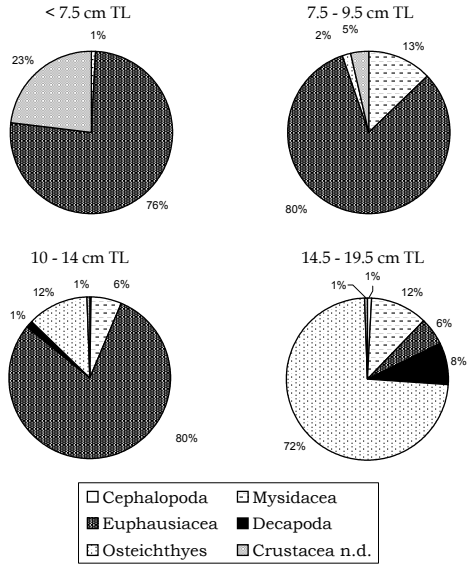


Fig. 2 - Trophic spectrum of *M. merluccius* in function of the size.
Spettro trofico di M. merluccius *in funzione della taglia.*

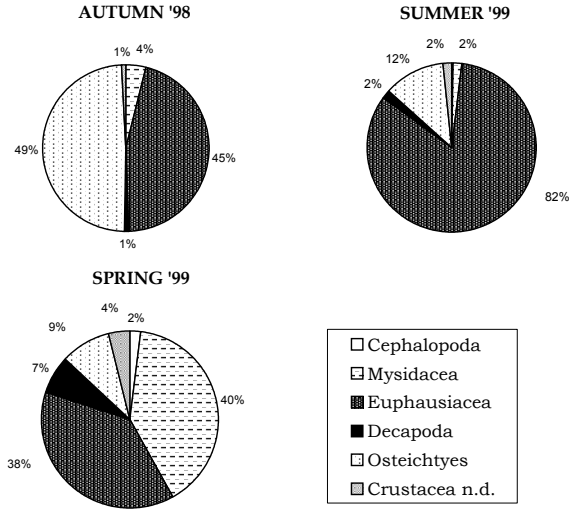


Fig. 3 - Trophic spectrum of *M. merluccius* in function of the season.
Spettro trofico di M. merluccius *in funzione della stagione.*

Conclusions

Results substantially agree with the information available in literature (Froglia, 1973; Andaloro and Arena, 1984; Papaconstantinou and Petrakis, 1987; Orsi Relini *et al*., 1989; Bozzano *et al*., 1997; Carpentieri *et al*., 2000), even though with some differences in the specific composition of the diet. The most important change of the diet of juveniles was observed in correspondence of 14.5 cm TL. Lombarte and Popper (1994), studying the sensorial cell distribution in the inner ear, reported around this size an increase of the areas responsible of detection and location of objects. These sensorial areas could be important in the location of mobile preys, as many species of fishes, predominant in the diet of hakes of greater size.

References

ANDALORO F., ARENA P. (1984) - Preliminary report on feeding of hake, *Merluccius merluccius* (L.) in the Sicilian channel. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.,* **29**: 4 pp.

BELCARI P., DE RANIERI S., REALE B., SARTOR P., SBRANA M., VIVA C. (2001) - Spatial distribution and seasonal concentration of European hake juveniles, *Merluccius merluccius* (L., 1758), in the North Tyrrhenian Sea. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.,* **36**: 328.

BOZZANO A., RECASENS L., SARTOR P. (1997) - Diet of hake, *Merluccius merluccius* (Pisces: Merlucciidae) in the western Mediterranean (Gulf of Lions). *Sci. Mar*., **61** (1): 1-8.

CARPENTIERI P., COLLOCA F., GENTILONI P., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. (2000) - Ecologia trofica di *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) nel Mar Tirreno Centrale. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 798-801.

FROGLIA C. (1973) - Osservazioni sull'alimentazione del merluzzo (*Merluccius merluccius* L.) del medio Adriatico. *Atti V Congr. S.I.B.M., Nardò (LE)*: 327-341.

LOMBARTE A., POPPER A.N. (1994) - Quantitative analysis of postembryonic hair cell addition in the otolithic endorgans of the inner ear of the European hake, *Merluccius merluccius* (Gadiformes, Teleostei). *J. Comp. Neurol*., **345**: 419-428.

ORSI RELINI L., FIORENTINO F., ZAMBONI A. (1989) - Le nurseries del nasello mediterraneo: dove, quando, perché. *Nova Thalassia*, **10** (Suppl. 1): 407-416.

PAPACONSTANTINOU C., PETRAKIS G. (1987) - The food of hake (*Merluccius merluccius*) in Greek Seas. *Vie Milieu*, **37** (2): 77-83.

PINKAS L., OLIPHANT M.S., IVERSON I.L.K. (1971). Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in Californian waters. *Calif. Fish Game Fish Bull*., **152**: 150 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 909-912

M. Sbrana, P. Sartor, B. Reale

Centro Interuniversitario Biologia Marina, Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.

FISHING CAPACITY AND FISHING ACTIVITY OF THE TRAMMEL NET TARGETING RED MULLETS IN THE ARTISANAL FLEET OF LIVORNO (EASTERN LIGURIAN SEA)

CAPACITA' E ATTIVITA' DI PESCA DEL TRAMAGLIO PER TRIGLIE NELLA MARINERIA ARTIGIANALE LIVORNESE (MAR LIGURE ORIENTALE)

Abstract

This study is aimed at characterising the fishery that utilises trammel net targeted to red mullets, a set gear widely employed by the artisanal fleet of Livorno, eastern Ligurian Sea. In the years 1999-2000, data on fishing pattern, composition of the catch, fishing capacity (km of net) and fishing activity (number of fishing days) were collected. The use of this gear was limited almost exclusively to the period from the end of spring and beginning of autumn. Positive linear relationships between total landing and fishing activity and fishing capacity were observed.

Key-words: *artisanal fishing, entangling nets, fishing effort.*

Introduction

The alternative use of different gears depending on seasonal variations in abundance and eco-ethology of the target species is a common practice of many artisanal fisheries.

Among set nets, a version of trammel net specifically devoted to the exploitation of red mullets, *Mullus barbatus* and *M. surmuletus,* is one of the most commonly employed gears by the artisanal fleets of Tuscany, mostly in spring-summer period (Sbrana *et al.*, 2002). The mentioned gear, commonly used by the fleet of Livorno (eastern Ligurian Sea), is characterised by a small mesh size of the inner panel (about 40 mm). Aim of this study is to provide information on fishing capacity and activity of this gear, in the framework of a better management of the coastal resources (Anon., 2000).

Materials and methods

Data were collected during two years (1999-2000), directly at the landing points of the fleet of Livorno (Fabi *et al.,* 2002). Sampling was carried out on a fortnight basis, for 3-4 consecutive days (7-8 days per month) and the total number of vessels fishing with trammel net targeting red mullet was recorded. A total of 182 days of observation was performed and information on 803 fishing days was gathered. Data on composition of the catch and fishing capacity (km of net employed) were collected from a representative number of vessels (10 out of 15). Further information of fishing activity was obtained through interviews with fishermen and fishing associations. Sampled data were therefore proportionally expanded in order to estimate the monthly fishing effort of the whole fleet.

Results

The vessels targeting red mullet with trammel net had 50.6 kW (±9.2 standard error) of mean engine power, 8.6 m (±0.6 s.e.) of mean length, and 4.8 t (±0.7 s.e.) mean gross tonnage. They utilised a net composed by an inner panel of 2.8 m high and 40-45 mm mesh size, and two outer panels 1.4 m high and 260-300 mm mesh size (Tab. 1).

Tab. 1 - Technical characteristics of the trammel net targeting red mullets (*Mullus barbatus* and *M. surmuletus*) used by the Livorno artisanal fleet. Data are referred to a single sheet of net.
*Caratteristiche tecniche del tramaglio per triglie (*M. barbatus *e* M. surmuletus*) utilizzato dalla marineria artigianale livornese. I dati si riferiscono ad una singola pezza di rete.*

INNER PANEL						HEADLINE		LEADLINE
			Meshes					
Height (m)	Length (m)	N. mesh (width)	Size (mm)	Denier gr/n° filament	Hanging ratio	Diam. (mm)	Floats number	(g/m)
2,8	65	4000	45	210/3	0,36	5	65	120
OUTER PANELS								
			Meshes					
Height (m)	Length (m)	N. mesh (width)	Size (mm)	Denier gr/n° filament	Hanging ratio			
1,4	65	400	280	210/6	0,58			

A high number of vessels used this type of trammel net in 1999: 14 in spring (30% of the active fleet) and 19 in summer (50%). In the second year of sampling a lower number of vessels employed this gear: 5 in spring (13% of the active fleet) and 6 in summer (15%) (Fig. 1).

Fishing activity (fishing days) and fishing capacity (km of net used) resulted closely related to the number of vessels using this gear (Fig. 1). Fishing days were concentrated in summer during 1999, while in the following year they were equally distributed between spring and summer; a similar result was obtained concerning fishing capacity.

The maximum of activity (Fig. 1) was observed in summer 1999 (36.7 fishing days/boat) and in spring 2000 (31.8 fishing days/boat). This may be due to the different meteo-marine conditions in the two years.

The mean length of nets utilised by each vessel in each fishing trip ranged from 2200 m in autumn 2000 (when only two vessels were active) to 5700 m in spring 1999 (Fig. 1).

The linear regression between fishing capacity and fishing activity was highly significant ($r^2 = 0.995$; $p < 0.01$), with a positive slope (Fig. 2). The total landing of each season was highly correlated both with the total fishing capacity ($r^2 = 0.979$; $p < 0.01$) and the total fishing activity ($r^2 = 0.967$; $p < 0.01$) (Fig. 2).

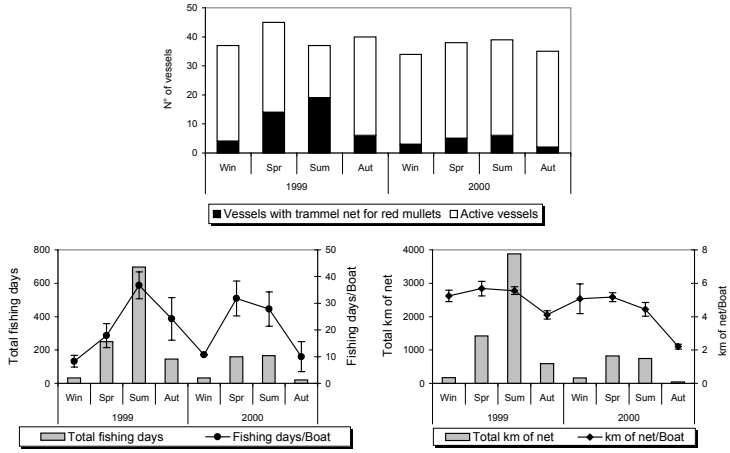


Fig. 1 - Seasonal trend of the number of vessels using trammel net for red mullets (above), of their fishing activity and fishing capacity (below). Fishing days/boat (± s.e.), total km of net (± s.e.) and total number of vessels active in the sampled period are also reported.

Andamento stagionale del numero di barche armate con tramaglio a triglie (sopra) e della loro attività e capacità di pesca (sotto). Sono riportati inoltre i giorni di pesca/barca (± e.s.), i km totali di rete/barca (± e.s.) e il numero totale di imbarcazioni della pesca artigianale attive nel periodo di campionamento.

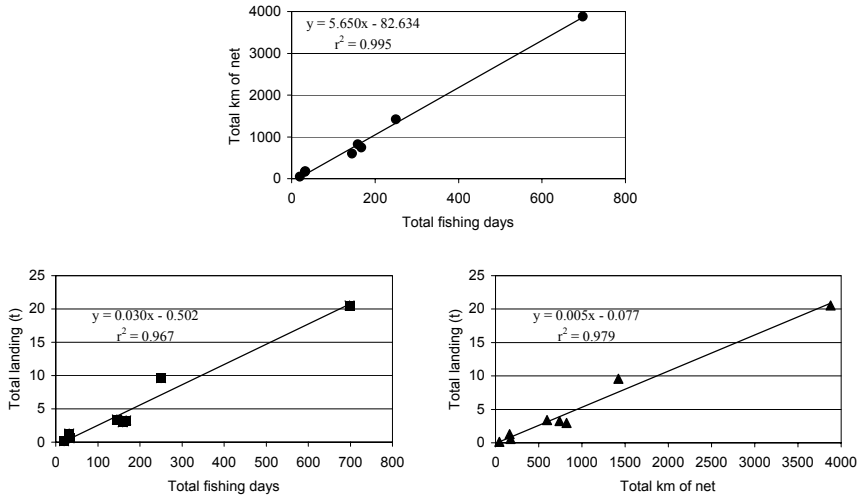


Fig. 2 - Above: fishing capacity vs fishing activity relationship. Below: total landing vs fishing activity and total landing vs fishing capacity relationships.

Sopra: relazione tra capacità e attività di pesca. Sotto: relazioni tra lo sbarcato totale e l'attività di pesca e tra lo sbarcato totale e la capacità di pesca.

Conclusions

A marked seasonality in the use of this gear is evidenced, mostly from the end of spring to the beginning of autumn, in correspondence of the major abundance of the target species. This fishery is characterised by a low number of fishing trips carried out by each vessel during the fishing season (one fishing trip every three days on average).

This fishing activity seems to be influenced by the weather conditions, as well as by the typology of the crew. Few fishermen are generally involved in this fishery (no more than two for each boat) and some of them alternates fishing with other professions. In spite of low activity, vessels performing this fishery are characterised by high fishing capacity.

References

ANONIMOUS (2000) - STECF (Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries), Annex 5 - Points 6 and 8 of terms of reference - Fishing Effort Sub-Group, European Communities.

FABI G., GRATI F., SBRANA M. (2002) - *Attrezzi della piccola pesca utilizzati in funzione della successione stagionale e dell'eco-etologia delle specie ittiche in due aree costiere (Mar Ligure Orientale e Medio Adriatico)*. Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, Final report: 159 pp.

SBRANA M., REALE B., ROSSETTI I., SARTOR P. (2002) – Fishing grounds of the target species exploited by the artisanal fleet of Livorno, eastern Ligurian Sea. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 804-807.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 913-917

U. Scacco, G. Lauriano, G. Moltedo

Istituto Centrale per la Ricerca Applicata al Mare, ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

INCIDENZA DELLA PESCA ARTIGIANALE SU ALCUNE SPECIE COMMERCIALI NEL PARCO NAZIONALE DELL'ASINARA: UN TRIENNIO DI STUDI

ARTISANAL FISHERY IMPACT ON SOME COMMERCIAL SPECIES IN THE ASINARA NATIONAL PARK: A THREE YEAR RESEARCH

Abstract

Catches of commercial species of trammel net artisanal fishery in the Asinara Marine Park were studied for three years. Analysis of catch per unit of effort and length-frequency distribution data of ten species, including teleosts, crustaceans and cephalopods was performed. Results show a decreasing yield in most species and reduction of distribution length modes of Diplodus annularis*,* Diplodus vulgaris *and* Palinurus elephas*.*

Key-words: *artisanal fishery, marine park, NW Sardinia.*

Introduzione

Il Parco Nazionale dell'Isola dell'Asinara, istituito nel 1998, rappresenta un'area caratterizzata da una notevole varietà biocenotica dei fondali e, conseguentemente, anche da una considerevole ricchezza di specie marine, alcune delle quali di elevato valore commerciale. Il mantenimento e la conservazione di queste caratteristiche sono stati garantiti, prima del 1998, dall'interdizione delle acque e delle coste dell'isola determinata dalla presenza di un carcere di massima sicurezza. La pesca artigianale delle marinerie di Stintino e Porto Torres, dapprima limitata dalle interdizioni di cui sopra, oggi è disciplinata dai D.M. 28.05.92 e D.M. 28.11.97. Allo scopo di valutare l'andamento dei rendimenti di pesca col tramaglio e la variazione delle mode di cattura delle principali specie ittiche di interesse commerciale della zona, sono state studiate le variazioni delle distribuzioni taglia-frequenza e dei rendimenti di quelle più abbondanti, nei tre anni successivi all'istituzione del Parco Nazionale dell'Asinara.

Materiali e metodi

L'area di studio (Fig. 1) è rappresentata dai fondali circostanti il Parco Nazionale dell'Isola dell'Asinara (Tunesi *et al*., 1999). Sono stati effettuati censimenti del pescato a bordo di 15 imbarcazioni, afferenti al porto di Stintino, che praticano soprattutto la pesca col tramaglio. Le reti utilizzate avevano maglie di dimensioni diverse prevalentemente in relazione a due stagioni di pesca (CIRSPE, 1998; Diana *et al*., 1998). In questa marineria, infatti, da maggio a metà agosto è usato il cosiddetto "tramaglione" (maglia 50-60 mm), attrezzo finalizzato alla cattura dell'aragosta (*Palinurus elephas*) e da metà agosto a tutto ottobre si utilizza il tramaglio fine (maglia 27 mm) per la pesca della triglia di scoglio (*Mullus surmuletus*). Nel restante periodo le maglie utilizzate sono di lato variabile. Durante il periodo di studio sono stati effettuati 81 imbarchi per un totale di 202 campionamenti con reti da posta ("impostate"). In particolare, sono stati effettuati complessivamente: 29 imbarchi e 90 "impostate" con il tramaglio (15

agosto-31 ottobre degli anni 1999, 2000 e 2001); 29 imbarchi e 85 "impostate" con il tramaglione (1 maggio-14 agosto degli anni 2000 e 2001); 23 imbarchi e 27 "impostate" con il tramaglio misto (1 novembre-31 aprile degli anni 2000 e 2001). Delle 93 specie censite tra teleostei ed elasmobranchi, cefalopodi e crostacei, di cui si è registrata rispettivamente la lunghezza totale, la lunghezza del mantello e la lunghezza del carapace, ne sono state selezionate 10 in base ad un criterio statistico di abbondanza. Sono state messe a confronto per ciascun attrezzo di pesca (tramaglio, tramaglione, tramaglio misto) le distribuzioni taglia-frequenza di *Mullus surmuletus, Palinurus elephas, Diplodus annularis, Diplodus vulgaris, Pagellus erythrinus, Phycis phycis, Scorpaena porcus, Scorpaena scrofa, Serranus cabrilla* e *Sepia officinalis*, relative alle corrispondenti stagioni di pesca nei tre anni di studio. A causa della limitatezza del periodo di monitoraggio e dell'impossibilità di condurre un disegno di campionamento random-stratificato, sono state adottate statistiche non parametriche per il confronto tra le distribuzioni (test a due campioni di Komolgorov-Smirnov, corretto per confronti multipli; Sokal e Rohlf, 1969). Grazie alla disponibilità dei dati di sforzo di pesca (lunghezza delle reti in mare e durata delle cale), è stato possibile calcolare, per specie e per attrezzo, le catture per unità di sforzo (CPUE) stagionali nei tre anni, espressi come numero di individui catturati per ora per chilometro di rete (n/h*km).

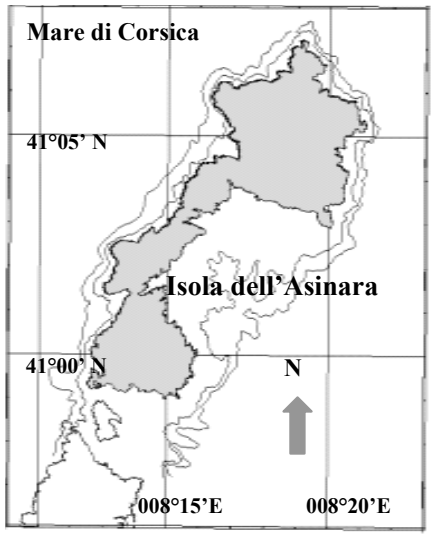


Fig. 1 - Area di studio.
Study area.

Risultati

La tabella 1 riporta i valori di CPUE; si nota un calo dei rendimenti per *M. surmuletus* con una CPUE circa dimezzatosi in tre anni, per *P. elephas* con valori del 2001 ridotti ad 1/4 di quelli del 2000, come pure per *P. erythrinus*, *D. vulgaris* e *S. cabrilla* che in un triennio hanno mostrato una flessione dei rendimenti rispettivamente di circa 7/8, e 2/3 rispetto ai valori del 1999.

Tab. 1 - Cattura per unità di sforzo (n/ora*km) nei tre anni di studio distinti per attrezzo.
*Catch per unit of effort(n/h*km) in the three studied yeas for each gear.*

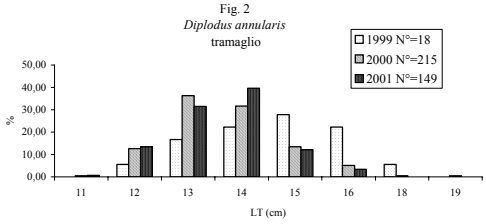
Tramaglio			
Specie	**1999**	**2000**	**2001**
D. annularis	0,02	0,04	0,05
D. vulgaris	0,16	0,06	0,06
M. surmuletus	0,62	0,36	0,31
P. erythrinus	0,16	0,02	0,03
P. phycis	0,04	0,04	0,04
S. cabrilla	0,21	0,01	0,06
S. porcus	0,05	0,05	0,12
S. scrofa	0,01	0,02	0,07
S. officinalis	\	0,04	0,01
Tramaglione			
P.elephas	\	0,14	0,03
Tramaglio misto			
M. surmuletus	\	0,03	0,08
S. officinalis	\	0,05	0,02

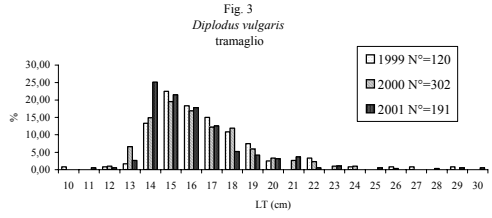
Tab. 2 - Numero di individui per specie nei tre anni di studio distinti per attrezzo e risultati del test K-S. NS: non significativo, S: significativo (* P<0.05,** P<0.01, *** P<0.001).
Number of caught individuals per species in the three year study for each single gear and K-S test results.

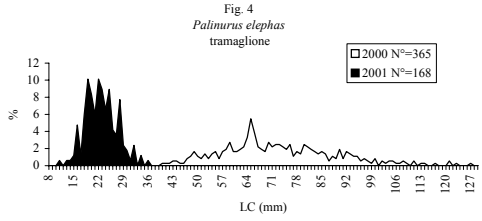
Tramaglio					**K-S test**	
Specie	**1999**	**2000**	**2001**	**1999-2000**	**1999-2001**	**2000-2001**
D. annularis	18	215	149	S**	S*	S*
D. vulgaris	120	302	191	S**	S**	S*
M. surmuletus	468	1745	946	NS	NS	NS
P. erythrinus	122	88	102	NS	NS	NS
P. phycis	30	175	118	NS	NS	NS
S. cabrilla	159	72	176	NS	NS	NS
S. porcus	40	238	370	NS	NS	NS
S. scrofa	11	76	204	S*	S*	S*
S. officinalis	\	173	33	\	\	S*
Tramaglione					**K-S test**	
P.elephas	\	365	168	\	\	S***
Tramaglio misto					**K-S test**	
M. surmuletus	\	81	95	\	\	NS
S. officinalis	\	123	24	\	\	S*

Le CPUE di *S. officinalis* nel biennio 2000-2001 risultano in flessione sia nella pesca col tramaglio fine che con quella a maglia mista. Aumentano al contrario le CPUE dei due scorpenidi (*S. porcus* e *S. scrofa*) circa raddoppiatisi nel triennio di studi. La Tab. 2 riporta il numero di individui per specie catturati con ciascun attrezzo per ciascuna stagione di campionamento e i risultati del confronto tra le distribuzioni taglia-frequenza delle specie considerate.

Il test di Komolgorov-Smirnov applicato per i confronti ha dato risultati molto significativi ($p<0,01$) nel caso di *D. annularis* e *D. vulgaris*, e altamente significativi ($p<0,001$) nel caso di *P. elephas* (rispettivamente Figg. 2, 3 e 4). Per il tramaglio, le due specie del genere *Diplodus* mostrano, nell'arco dei tre anni di studio, una variazione delle distribuzioni e una riduzione delle mode di cattura di 1-2 cm di LT. Ancora più evidente è la riduzione delle mode di cattura del tramaglione per *P. elephas:* nel corso del biennio 2000-01 le mode si sono circa dimezzate. Nel caso di *S. officinalis* e *S. scrofa* si sono riscontrate differenze significative ($p<0,05$) tanto nel tramaglio che nel tramaglio a maglia mista per la prima, ma in questo caso con un aumento delle mode di cattura. Per le altre specie non sono state invece riscontrate variazioni significative.







Figg. 2-3-4 - Distribuzioni taglia- frequenza di *Diplodus annularis*, *Diplodus vulgaris* e *Palinurus elephas* nel periodo 1999-2001.
Length-frequency distributions of Diplodus annularis*,* Diplodus vulgaris *and* Palinurus elephas *during 1999-2001.*

Conclusioni

I risultati acquisiti mostrano che la pesca artigianale col tramaglio con reti di diversa maglia, che insiste nelle acque del parco, ha prodotto una riduzione delle mode di cattura e dei rendimenti di pesca sulle principali specie commerciali. Il calo dei rendimenti di pesca per la maggior parte di queste, tra cui le più importanti *Mullus*

surmuletus e *Palinurus elephas*, e la consistente riduzione delle mode di cattura di quest'ultima come pure quella di *Diplodus anularis* e *D. vulgaris*, evidenziano un intenso sfruttamento di alcune specie commerciali del Parco dell'Isola dell'Asinara. Pur considerate le difficoltà di concertazione con le marinerie di Stintino e Porto Torres, la gestione delle risorse ittiche del Parco dovrebbe indirizzarsi verso una riduzione dello sforzo di pesca, prerogativa necessaria sia alla conservazione di questo ambiente, sia allo sfruttamento sostenibile dell'area.

Bibliografia

CIRSPE (1998) **-** *Studio di fattibilità per l'Istituzione dell'area marina protetta dell'Asinara. Relazione tecnica per l'I.C.R.A.M.*: 135 pp.

DIANA A., DENEGRI G., RUBINO S. (1998) - Proposte sulla regolamentazione della pesca nell'Isola dell'Asinara. In: *L'Isola dell'Asinara, l'ambiente, la storia, il parco*, Poliedro: 253-258.

FISCHER W., SCHENEIDER M., BAUCHOT M.L. (1987) - *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37*. FAO, 1-2: 1530 pp.

SOKAL R.R., ROHLF F.J. (1969) - *Biometry*. W. H. Freeman & Company, San Francisco: 776 pp.

TUNESI L., LAURIANO G., DI NORA T., SALVATI E. (1999) - *Studio di fattibilità per l'Istituzione dell'area marina protetta dell'isola dell'Asinara previsto dall'articolo 36 della legge quadro sulle aree protette N°394/91. Relazione tecnico scientifica* Convenzione 22.12.97 I.C.R.A.M I.C.D.M: 744 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 918-926

F. Serena, C. Mancusi*, R. Auteri

ARPAT, Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana, Via Marradi, 114 - 57126 Livorno, Italia.
*ICRAM - Roma, Italia.

ANNOTATED CHECKLIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE SOUTH LIGURIAN AND NORTH TYRRHENIAN SEA

CHECKLIST COMMENTATA DELLE RAZZE DEL MAR LIGURE MERIDIONALE E DEL TIRRENO SETTENTRIONALE

Abstract

Data on abundance and distribution of skates collected from 1985 to 2001 during scientific trawl surveys as part of the Italian national GRUND project (GRUppo Nazionale risorse Demersali) and from 1994 to 2001 during the Mediterranean MEDITS project (MEDIterranean Trawl Survey,) are presented and discussed. Of the 16 probably valid skates species living in the Mediterranean Sea, 11 were identified in this area directly by FNAM keys, two of which species come from the literature. Finally some juvenile specimens of Raja *were unidentified.*

Key-words: *Rajidae, bottom trawls, Ligurian Sea.*

Introduction

Skates (*sensu* Hamlett, 1999) and sharks represent an important part of the benthic community, playing a fundamental role in the ecosystem trophic relationships and most of them are predators at, or near, the top of marine food webs (Polovina and Ow, 1985; Stevens *et al*., 2000). Some particularly sensible species could be even raised to environmental indicators (data in progress). For this and other reasons, also bound to their commercial exploitation, the study of their biology through the most significant features, like as their structures in size or the biomass and density indexes trends, is very important.

It does exist objective difficulties in the determination at specific level of the skates group, especially due to a high morphological variability. In the Mediterranean Basin are known 17 skates species (*sensu* Stehmann and Bürkel in Whitehead *et al*., 1984). In reality the number of the species recognised in this area is actually 16 as *Raja africana* is not considered as a valid species for the Mediterranean Sea (Compagno pers. com.).

The GRUND and MEDITS projects (Relini, 1998; Bertrand *et al*., 1997), respectively started in 1985 and 1994, allowed to collect a big amount of information concerning the Italian Seas demersal resources and in particular about skates. The collected data allowed to clarify aspects bound to their geographic distribution and relative abundance and, at the time, pointing out the specific determination difficulties about skates, confirming the necessity of examining in detail the taxonomic studies of this group.

Materials and methods

The investigated area is included between the mouth of the Magra River and the Elba Island, between 5 and 800 meters of depth. The adopted sampling design is a "stratified random" (Relini, 1998). 759 and 328 daily tows (an hour long) were con-

ducted during the GRUND and MEDITS projects respectively, using a professional bottom trawl net with meshes size of about 40 mm at the codend. The MEDITS has been always conducted in the spring period, while the GRUND, initially led in spring and summer, from 1994 only followed the autumnal season.

The identification of the specimens refers to the FNAM keys of determination (Stehmann and Bürkel *in* Whitehead *et al*., 1984). For all the captured skates the biomass index (BI), the density index (DI), expressed by Kg/Km^2 and N/Km^2 respectively, and the coefficient of variation (CV%=s.e./avg.*100) were calculated, for the whole area (0-800 m of depth) and also for the strata (0-200 m and 200-800 m). Such elaboration was repeated also for five most representative species (specimens number exceeding 100). For *Raja clavata*, and within the MEDITS project, it has been calculated the *sex-ratio* (sr=female number/total number) by size classes of 2 cm in total length (TL), for bathymetric stratum (every 100 m depth) and for year.

Other demersal resource assessment studies conducted with trammel net along the coastal area have been also considered in this analysis. Finally, some literature information are reported.

Results

During the "trawl-surveys" in the study area a total of 5143 individuals were captured belonging to three batoid groups Torpedinoidei, Rajoidei and Myliobatoidei (*sensu* Compagno, *pers. com*.). In particular 4366 were captured during the GRUND program (1985-2001) and 777 during the MEDITS (1994-2001). Among these were registered 11 of the 16 skates species known. In particular 4836 skates specimens were captured (4116 during the GRUND and 720 in the MEDITS) and for the skates species recognised we can state that: *Raja miraletus* (number of specimens=1746) and *Raja clavata* (n=1708) are the predominant species in the captures and are well distributed in the whole area. Also *Raja montagui* (n=912) is abundant, while *Raja asterias* and *Raja oxyrinchus* are scarcely represented (236 and 203 individuals respectively). *R. clavata*, *R. miraletus* and *R. montagui* represent, all together, about the 90% of the total number and weight of skates captured during the GRUND project and more than 80% of those of MEDITS project. The other two species *Raja fullonica* (n=18) and *Raja circularis* (n=8) are to be considered as rare. Besides, using gill nets and combined net in few meters of water (7-10 m) five specimens of *Raja undulata* and one of *Raja brachyura* were captured. *Raja batis* and *Raja rondeleti* are mentioned in literature for the waters in front of Livorno, by Tortonese (1956) and Bougis (1959) respectively.

The total yields in weight and number calculated for km^2 of the specimens captured during the scientific bottom trawls showed that some species (*R. clavata, R. miraletus*) are very abundant, while others can be considered only incidental captures (*R. circularis, R. fullonica*) (Tab. 1). These two last species appeared in the capture only at the beginnings of the nineties and they continued to be caught up to now even if in scarce number. In the synoptic table (Tab. 1) *R. polistigma* does not appear; in a previous work, in fact, we probably confused it with *R. montagui* (Serena *et al*., 1998).

The skates named as "spp." are young specimens or grown-ups with intermediate characteristics, for which the determination was extremely difficult and therefore we did not consider as opportune to show their specific membership.

Raja (Raja) asterias Delaroche, 1809

The captures of this species, both in the GRUND and in the MEDITS, were not abundant but in any case always referred to the coastal area, between 9 and 170 m of

depth, on muddy bottoms, especially concentrated between 100-150 meters. The size range was 11,5-68 cm in TL. Juveniles of this species, soon after their born, move quickly in shallow waters (5-7 m depth) and then leave them progressively with the growth. Tag and release studies actually in progress (Catalano *et al*., submitted) suggest that the "hatch" probably happen close to the bottom, at about 30-40 m of depth. The *sex-ratio* substantially confirms the equivalent presence of both sexes.

Tab. 1 - Synoptic table of the species sampled in the studied area (the size range is referred to merged data of GRUND and MEDITS projects).
Tavola sinottica delle specie presenti nell'area di studio (l'intervallo di dimensione delle specie è riferito ai progetti GRUND e MEDITS considerati insieme).

		GRUND				MEDITS				Bibliography	NOTES
SPECIES	**Size Range (cm)**	**N**	**Kg/Km^2**	**N/Km^2**	**Depth Range (m)**	**N**	**Kg/Km^2**	**N/Km^2**	**Depth Range (m)**		
Raja (Raja) asterias	11,5 -68,0	193	0,8	2,4	9 - 165	43	1,5	2,6	14 - 170		
Raja (Dipturus) batis										Tortonese E., 1956	
Raja (Raja) brachyura	71,0										1 specimen captured with gill net (2002); Arpat-Gea collection
Raja (Leucoraja) circularis	26,0 - 91,0	8	0,1	0,1	352 - 566	/	/	/	/		
Raja (Raja) clavata	11,0 - 94,0	1548	10,6	19,1	23 - 589	160	7,5	7,3	14 - 576		
Raja (Leucoraja) fullonica	32,0 - 84,0	11	0,2	0,2	366 - 549	7	0,2	0,2	380 - 512		
Raja (Raja) miraletus	11,0 - 48,0	1379	3,8	21,0	13 - 439	367	4,4	22,3	14 - 386		
Raja (Raja) montagui	12,0 - 49,0	847	1,7	10,8	20 - 633	65	1,4	0,4	2,7		
Raja (Dipturus) oxyrinchus	17,0 - 112,0	125	1,0	1,3	164 - 580	78	5,4	1,6	2,5		
Raja rondeleti										Bougis P., 1959; Tortonese E., 1987	
Raja undulata										Baino R. *et al.,* 1998	5 specimens captured with combined trammel gillnet (1995); Arpat-Gea
Raja spp.		5	0,1	0,0	91 - 370	/	/	/	/		
Total		4116	132,7	54,9	/	720	51,1	123,4	/		

The biomass and density indexes concerning the MEDITS program show a clear positive trend especially for 1999 (BI = 2,26 Kg/Km^2; DI = 6,5 N/Km^2). The same trend is not confirmed for the data coming from the GRUND (Fig. 2). This fact could be due to the different seasons in which the samplings were made.

Raja (Dipturus) batis Linnaeus, 1758

Tortonese (1956) studied some juveniles specimens caught in the waters of Livorno.

Raja (Raja) brachyura Lafont, 1873

Only a single individual of this species was captured with gill net on a sandy bottom 10 m depth. It was a female of 71 cm in total length.

Raja (Leucoraja) circularis Couch, 1838

This species can be considered rare in the captures as, up to now; only 8 specimens were recorded in the bathial zone (352-566 m depth). The size range was of 26-91 cm in TL.

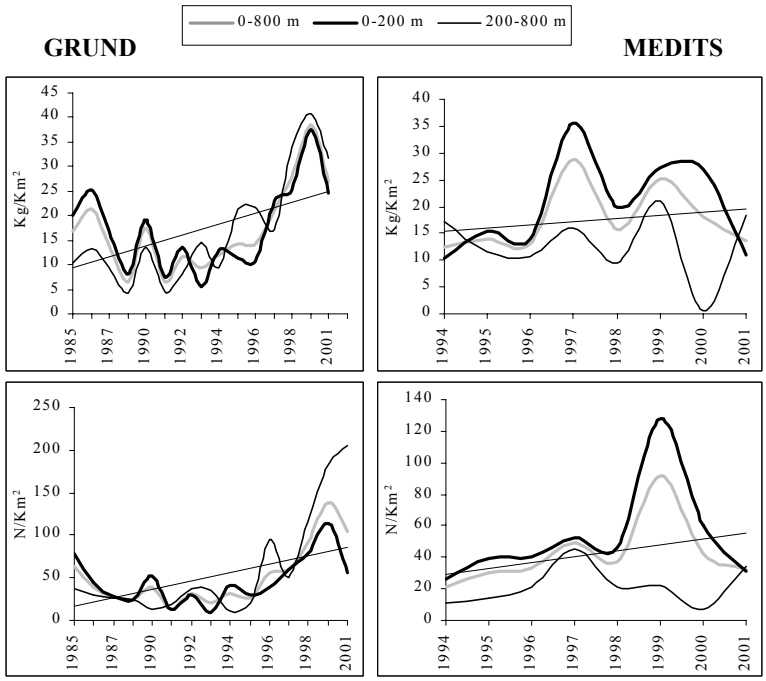


Fig. 1 - Trend of the Biomass Index (BI) and of the Density Index (DI) during the years for the total number of skates sampled during the GRUND and MEDITS projects.

Andamento degli indici di biomassa (IB) e di densità (ID) negli anni per il totale delle razze catturate nelle due campagne GRUND e MEDITS.

Raja (Raja) clavata Linnaues, 1758

For *R. clavata*, and as regards to the MEDITS data, the structure in size for sex, depth and year was analysed. Such analysis was led on a total of 157 captured specimens (73 males, 84 females). The size range for this species was of 11-94 cm in TL. The highest numbers of individuals are registered between 101-200 m and 301-400 m of depth. In the first stratum the specimens show different size while in the second specimens with total length between 20 and 45 cm are most representative. The size/frequency distribution of all data show the presence of several cohorts in the population structure, especially characterised by a double mode on about 17 and 60 cm in TL. (Fig. 3).

The females' number is always higher than the males. The annual sex ratio evolution is almost constant and only in the last few years shows an inversion of tendency in favour of the males (Tab. 3). The biomass and density indexes trend for this species is similar in the two projects (Fig. 2).

Raja (Leucoraja) fullonica Linnaeus, 1758

Only 11 specimens of this species were captured on the same bottom as *R. circularis* (366-549 m). The minimum TL registered was of about 32 cm and the maximum of 84 cm.

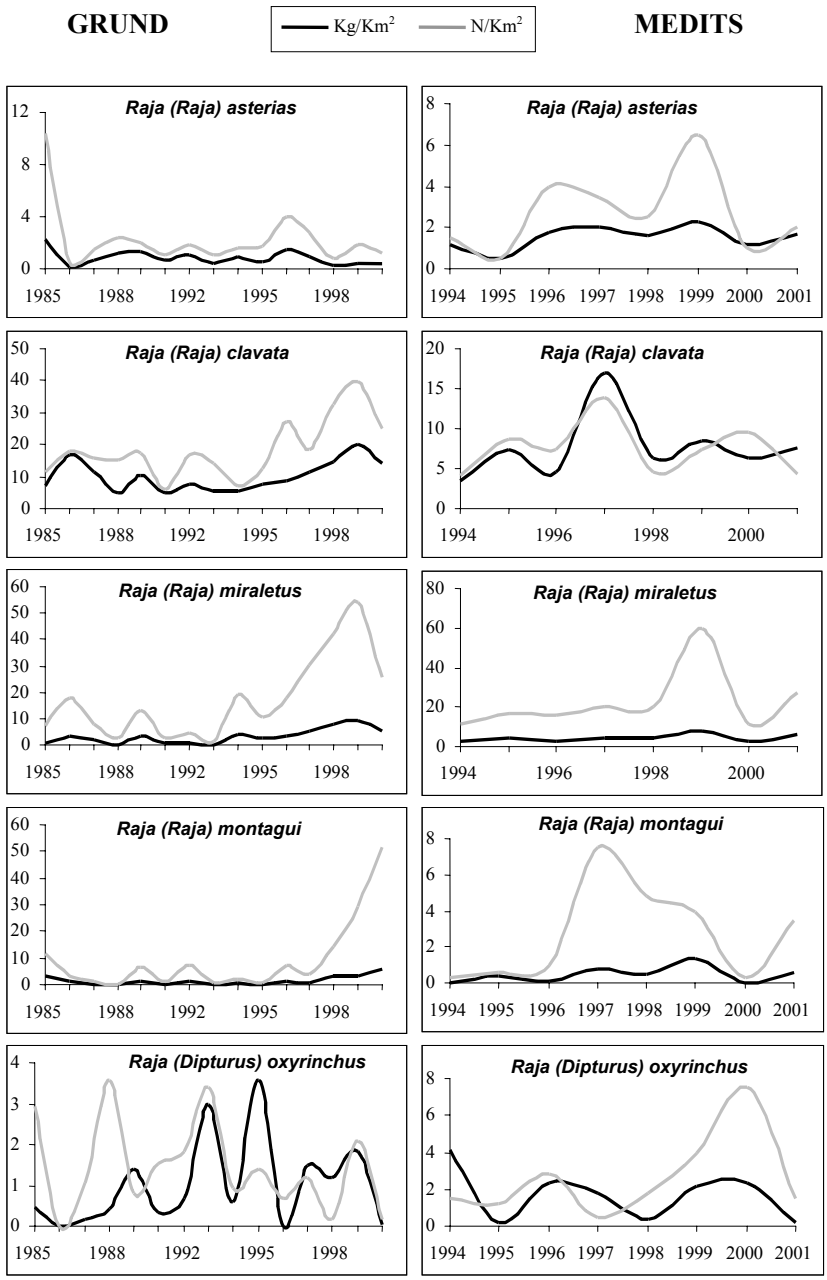


Fig. 2 - Trend of the Biomass Index (BI) and of the Density Index (DI) during the years for main five species of skates (n° individuals > 100) caught during GRUND and MEDITS programs.

Andamento degli indici di biomassa (IB) e di densità (ID) negli anni per cinque specie maggiormente rappresentate (n>100) nelle catture dei progetti GRUND e MEDITS.

Tab. 2 - Synoptic table of the Biomass and Density Index averages (BI and DI) and coefficient of variation (CV%) related to the two strata.

Tavola sinottica degli indici medi e dei corrispondenti coefficienti di variazione (CV%) nei due macrostrati.

		0-200 m				200-800 m				0-800 m			
		Kg/Km^2	CV (%)	N/Km^2	CV (%)	Kg/Km^2	CV (%)	N/Km^2	CV (%)	Kg/Km^2	CV (%)	N/Km^2	CV (%)
GRUND	1985	20,2	23	78,6	27	10,3	43	38,2	33	16,7	20	64,2	23
	1986	25,3	25	44,3	36	13,2	44	29,5	54	21,5	22	39,6	30
	1987	16,9	27	28,3	29	9,4	39	26,1	36	14,0	22	27,4	21
	1988	8,1	51	24,0	26	4,1	48	24,2	47	6,4	39	24,0	24
	1990	19,2	40	52,4	66	13,6	41	12,6	33	17,4	21	39,9	33
	1991	7,3	23	12,8	13	4,5	39	18,9	23	6,4	20	12,8	18
	1992	13,6	23	30,2	11	8,0	22	36,4	59	11,7	19	32,2	19
	1993	5,6	44	9,8	25	14,6	80	36,2	53	9,5	29	21,4	33
	1994	13,0	24	40,3	8	9,2	38	11,6	27	11,9	21	31,8	32
	1995	11,3	30	29,3	12	21,2	43	20,9	25	14,3	26	26,8	18
	1996	10,7	25	38,6	34	21,7	39	94,4	52	14,3	7	56,9	10
	1997	23,0	24	60,0	31	17,0	33	50,0	33	21,0	6	60,0	7
	1998	25,1	21	78,9	32	33,9	30	116,3	51	27,9	6	91,1	9
	2000	37,4	22	114,4	27	40,7	52	183,3	77	38,5	6	137,4	9
	2001	24,7	19	55,6	23	31,8	38	205,8	53	27,0	6	104,8	12
MEDITS	1994	10,2	31	25,8	45	17,0	41	10,7	36	12,6	25	20,7	38
	1995	15,4	28	38,8	34	11,6	77	14,5	41	14,1	29	30,5	30
	1996	14,0	29	40,0	33	10,7	51	21,4	28	12,9	25	33,6	27
	1997	35,4	24	52,4	30	16,1	41	45,0	43	28,8	22	49,9	24
	1998	19,8	31	46,7	28	9,5	32	21,3	48	15,7	27	37,4	25
	1999	27,2	26	127,5	35	21,1	42	21,7	46	25,1	22	91,4	34
	2000	26,9	31	60,8	51	0,6	79	7,2	68	17,9	33	42,5	49
	2001	11,0	29	31,7	36	18,4	50	33,7	49	13,5	28	32,4	29

Raja (Raja) miraletus Linnaeus, 1758

This species is distributed between 13 and 439 meters of depth, even if it is in preference concentrated between 50-150 m. Contrary to other species, *R. miraletus* lives in different bottom, from the muddy substratum to the *Posidonia oceanica* seabed. The structure in size of the population sample coming from the GRUND data shows an important mode on 40 cm TL (Relini *et al*., 1999) but the size range is represented by a 11-48 cm TL interval. The biomass and density indexes trends, for 1999 in both GRUND and MEDITS project, shows a clear discrepancy between BI and DI, probably due to exceptional captures of juvenile specimens (Fig. 2).

Raja (Raja) montagui Fowler, 1910

After *R. clavata* and *R. miraletus, R. montagui* is the most abundant species in the trawl-surveys capture. The species is characterised by a marked variability of colour and drawing of the stains that cover the back. It occupies a very wide depth range (20-633 m), preferring the depths of 100-400 m, but concentrating between 300-400 m. Important captures of juvenile specimens were registered but they must be considered as occasional. This fact happened during the GRUND project, in 2000 and 2001 (BI = 3,29 Kg/Km^2, DI = 29,66 N/Km^2; BI = 5,87 Kg/Km^2, DI = 51,55 N/Km^2 respectively), while for the MEDITS in the 1997 (BI = 0,75 Kg/Km^2, DI = 7,5 N/Km^2) (Fig. 2). The recovered specimens were concentrated between 12 and 49 cm in TL.

Raja (Dipturus) oxyrinchus L. 1758

This species is distributed in a not very wide depth range (130-580 m), concentrating above all on the outside margin of the slope (300-400 m). The relative biomass and density indexes show clear fluctuations probably determined by not abundant but

constant captures in both the projects (Fig. 2). The size range of the captured specimens was 17-112 cm in TL.

Raja (Raja) undulata Lacépède, 1802

Also in this case only five specimens of this rare species were captured with a combined trammel-gillnet on a sandy bottom off 10 m depth. The size range was 27-35 cm in TL.

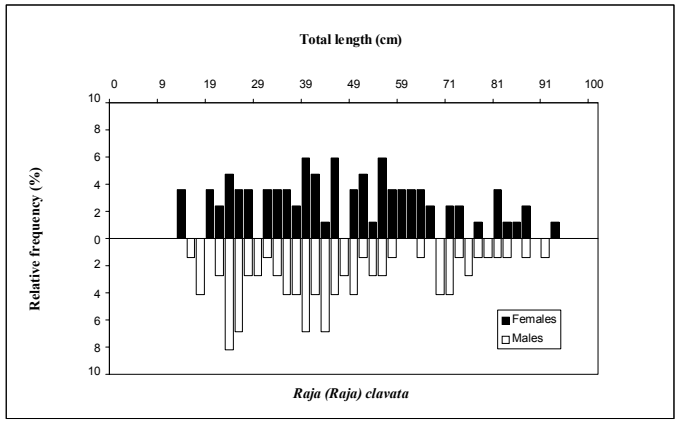


Fig. 3 - Length-frequency distribution (TL, cm) by sex for *Raja clavata* from data collected during the MEDITS surveys (1994-2001).

Lunghezza-frequenza per sesso degli esemplari di Raja clavata *catturati duranti i surveys MEDITS (1994-2001).*

Tab. 3 - *Sex ratio* in relation to depth and year for *Raja clavata* (data collected during the MEDITS surveys, 1994-2001).

Sex ratio *per profondità e per anno degli esemplari di* Raja clavata *catturati duranti i surveys MEDITS (1994-2001).*

Strata	**0-100 m**		**101-200 m**		**201-300 m**		**301-400 m**		**401-500 m**		**501-600 m**		**Total per sex**		**Total per year**	***Sex ratio***
Year	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**		
1994			2	3			3	1	1				6	4	10	0,60
1995		1	4	5	4	4	1		2	1			11	11	22	0,50
1996			3	3	3	2	3	1	3	2			12	8	20	0,60
1997	1	1	5	7	2		14	8		2			22	18	40	0,55
1998			4	3	2	1		1					6	5	11	0,55
1999			8	4		1	1	2				2	9	9	16	0,50
2000	1		7		1								9		9	1,00
2001			4	8			3	9			2	1	9	18	27	0,33
Total	2	2	37	33	12	8	25	22	6	5	2	3	84	73	157	
Total per stratum	4		70		20		47		11		5		157			
Sex ratio	0.50		0.53		0,60		0.53		0.55		0.40					

Conclusions

Although the analysis of the annual trends of the total BI and DI for all the area and separately by strata highlight strong fluctuations the temporal trends derived from GRUND and MEDITS projects data seem positive (Fig. 1). There are also observed important differences among the annual values of the coefficient of variation (CV%), both as regards to the weight (6% - 39%) and to the number (21% - 137%) (Tab. 2).

The positive trend of the BI and DI of R. *clavata*, *R. miraletus* and *R. montagui* seems to have an important influence upon the overall analysis. In particular, the increasing trend of the BI observed during the GRUND surveys in the last years of sampling (1998-2001) can be mainly due to the positive evolution of the BI for *R. clavata* in these years. The increasing of the trend for the DI observed during the same years, in the GRUND surveys, could be due to a massive presence of *R. miraletus*, even if also for *R. clavata* and *R. montagui* a pick for the DI is registered during the same years of sampling (Fig. 2). The positive trend of the DI of these years can be due to a very important recruitment of species like *R. montagui, R. miraletus* and *R. clavata* or, alternatively, to abundant occasional catches of juveniles.

The positive trend of the GRUND, with respect to the MEDITS, could be also due to a better efficiency of capture of the fishing gear, or, more simply, to the change of the vessel since 1996.

Bougis (1959) described *R. rondeleti*, very similar to *R. fullonica*, for the French coasts (Sète, Banyuls) and he said also that a specimen caught in Livorno belonged to this species. Tortonese (1987) didn't agree with this statement but he considered the Livorno specimen as *R. fullonica* (Tortonese, 1956).

Regarding to the specimens, even adults, for whom no analytical description was expressed, studies on the DNA has been attempted in order to be able to determine the exact species.

Acknowledgements

Thanks are given to two anonymous referees whose suggestions allowed to improve the quality of this paper. We would like to thank also our colleague Carlo Cuoco for the technical help and support to the work.

References

BAINO R., RIGHINI P., SILVESTRI R. (1998) – Target species and cpue of trammel, gillnet and combined net in sandy and rocky bottoms. *Rapp. Comm. Int. Mer. Mèdit*., **35**: 516-517.

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SUPLET A. (1997) - An international bottom trawl survey in the Mediterranean. The MEDITS program 1997. *ICES Annual Science Conference*. *CM 1997/Y: 03*: 1-16.

BOUGIS P. (1959) – Sur une raje mal connue des cotes francaises, *Raja rondeleti* n. sp. (= *R. fullonica* Rondelet). *Vie et Milieu*, **10-1**: 104-115.

CATALANO B., MANCUSI C., CLO' S., DALU' M., SERENA F., VACCHI M. (2003) – "Marcatura e rilascio" di esemplari giovanili di razza stellata *Raja asterias* nelle acque toscane: risultati preliminari e prospettive di lavoro. *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 789-791.

HAMLETT W.C. (1999) – *Sharks, Skates, and Rays. The Biology of the Elasmobranch Fishes*. The John Hopkins Univ. Press, Baltimore and London: 516 pp.

POLOVINA J.J., OW M.D. (1985) – An approach to estimate an ecosystem box model. *Fishery Bullettin*, **83** (3): 457-460.

RELINI G. (1998) - Valutazione delle Risorse Demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds.) (1999) - Synthesis of the Knowledge on Bottom Fisheries Resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (Suppl. 1): 868 pp.

SERENA F., BAINO R., RIGHINI P. (1988) - Geographical and depth distribution of Rays in Northern Tyrrhenian Sea. *Rap. Comm. Int. Mer. Médit*., **31** (2): 277 pp.

STEVENS J.D., BONFIL R., DULVY N.K., WALKER P-A. (2000) - The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and implication for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, **57**: 476-494.

STEHMANN M., BÜRKEL D.L. (1984) - Rajidae. In: Whitehead P.J.P., M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (eds), *FNAM. Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

TORTONESE E. (1956) – *Fauna d'Italia; Leptocardia-Ciclostomata Selachii*. Ed. Calderini Bologna: 334 pp.

TORTONESE E. (1987) – *Pesci del Mediterraneo: recenti studi intorno alla sistematica e distribuzione*. Cooperativa Editrice Il Ventaglio: 111 pp.

This study was carried out with data coming from scientific trawl surveys campaigns financed by Ministero delle Politiche Agricole e Forestali of Italy and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 927-930

R. Silvestri, R. Baino, A. Voliani

Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana-Area Mare
Sezione Regionale, Gestione della fauna ittica, Ecosistemi marini e Acquacoltura,
Via Marradi, 114 - 57126 Livorno, Italia.

CARATTERISTICHE DELLE CATTURE DI *SEPIA OFFICINALIS* CON RETI DA POSTA

CATCH CHARACTERISTICS OF SEPIA OFFICINALIS *WITH SET NETS*

Abstract

Catches of Sepia officinalis *(Mollusca, Cephalopoda) with four different set nets and a trawl are compared. Most productive seasons for the set nets are winter and spring in relation to reproductive migration. Catch rates vary between 100 and 400 g for 100 m of net and are 5 times larger at night than during the day. Mean size of the individuals in the catch is similar for males and females and it is related to the mesh size, but mean individual lengths are always higher in set nets than in trawls.*

Key-words: *cuttlefish, catch composition, trammel net, trawl, Tyrrhenian Sea.*

Introduzione

La seppia comune, *Sepia officinalis* (L., 1758), rappresenta una delle più importanti specie bersaglio, per la pesca a strascico e la pesca artigianale, in gran parte del Mediterraneo (Ezzeddine-Najai e El Abed, 2001; Jardas *et al*., 2001; Petrakis e Politou, 2001). In Italia la piccola pesca costiera cattura questa specie soprattutto nel periodo invernale e primaverile, con reti da posta e nasse; i rendimenti delle catture per alcune aree sono stati calcolati da Fabi *et al*. (2001) e Sbrana *et al*. (2001). Il presente lavoro si propone di analizzare anche aspetti temporali e biologici delle catture di questa specie, confrontandoli con quelli dello strascico.

Materiali e metodi

Lungo la costa toscana, immediatamente a sud di Livorno, nell'arco degli ultimi 25 anni, sono state condotte oltre 800 pescate sperimentali con reti da posta a profondità comprese tra 2 e 10 m.

Sono state utilizzate quattro diverse reti lunghe mediamente 600 metri: un tremaglio (maglia del panno interno di 21 mm da nodo a nodo, altezza 1,5 m), un tremaglio alto (28 mm, 1,8 m), una rete incastellata (25 mm, 1,5+4,5 m) e una monofilo ad imbrocco (28 mm, 2,5 m). Il panno interno del tremaglio è costituito da treccia di poliammide 210/3, quello del tremaglio alto in treccia di poliammide 210/2, mentre quello dell'incastellata e della rete ad imbrocco è un monofilo dal diametro di 0,25 mm. I tremagli sono di filo non colorato, che viene considerato, dai pescatori professionisti, più efficiente per i cefalopodi.

Sepia officinalis è stata catturata in 536 pescate, i cui rendimenti sono stati standardizzati ed espressi in grammi catturati per 100 m di rete. Le taglie (misurate ai 5 mm inferiori di lunghezza del mantello), il sesso e la maturità gonadica sono stati analizzati su 470 individui; la maturità è stata definita con una scala macroscopica a tre stadi

(immaturo, in maturazione, maturo) derivata da una semplificazione di quella di Lipinsky (1979). Per il confronto delle catture con la rete a strascico sono stati utilizzati 790 individui di *S. officinalis*, catturati in 57 cale GRUND realizzate negli anni 1995-2000 a profondità comprese tra 13 e 30 m.

Risultati

I rendimenti delle reti da posta sono distribuiti secondo il modello di Poisson con media pari alla varianza e non si evidenziano trends significativi negli anni. Globalmente, il rendimento medio di *S. officinalis* è di 133 g per 100 m di tremaglio (d.s. = 11,5), 178 g (d.s. = 13,3) per l'incastellata, 336 g (d.s. = 18,3) per il tremaglio alto e solo 10 g (d.s. = 3,2) per la monofilo. Il rendimento delle pescate notturne è 5 volte superiore a quello diurno e le rese, relativamente al substrato, si riducono passando dal fondo sabbioso (173 g) al misto (158 g) al fondo duro (91 g).

Spesso gli individui di seppia sono catturati a gruppi lungo la rete in conseguenza del richiamo visivo che gli individui intrappolati esercitano sull'altro sesso durante il periodo della riproduzione, come già osservato da Boletzky (1983). Inoltre non è infrequente la cattura nelle reti da posta di predatori (es. *Muraena helena* e *Conger conger*) per l'effetto esca esercitato dalla seppia.

Sotto il profilo stagionale, i rendimenti mostrano un massimo da febbraio ad aprile (300-600 g per 100 m di rete, in relazione al tipo di attrezzo) e un minimo in agosto-settembre con rendimenti sempre inferiori ai 50 g (Fig. 1).

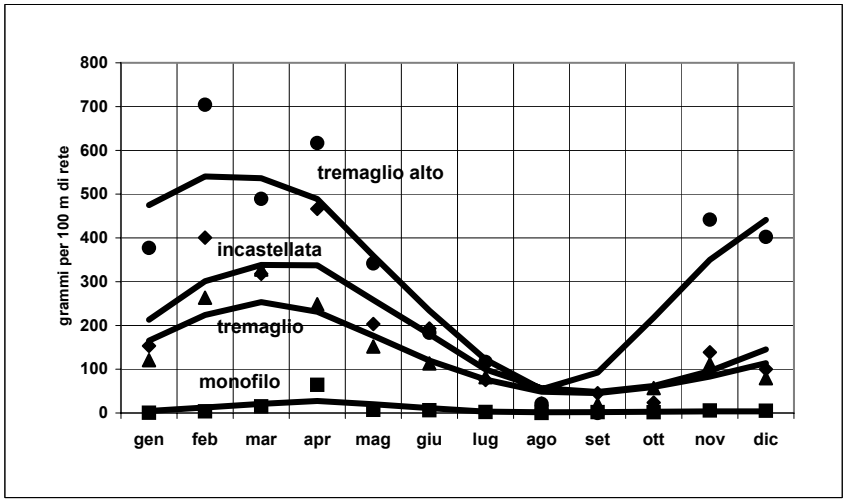


Fig. 1 – Rendimento medio mensile delle catture di seppia (*Sepia officinalis*) con le quattro reti da posta.
Mean monthly catch rates of cuttlefish with the four set nets.

Le catture delle reti da posta sono costituite per oltre l'80% da individui con taglie comprese fra 9 e 14 cm (lunghezza dorsale del mantello), mentre quelle della rete a strascico sono sensibilmente inferiori, tra 6 e 11 cm (Fig. 2).

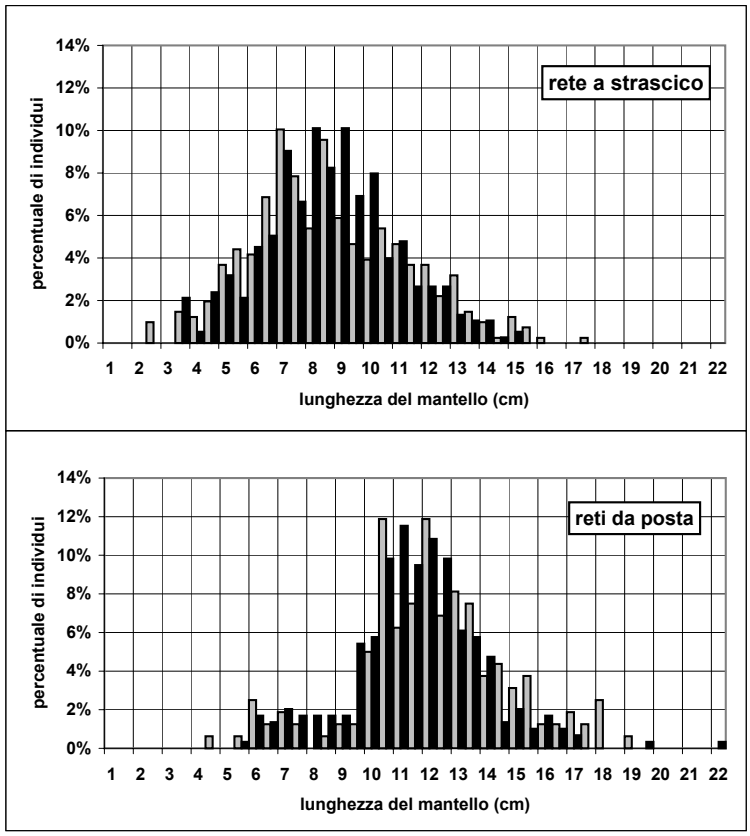


Fig. 2 – Distribuzioni di taglia delle catture dello strascico e delle reti da posta di *Sepia officinalis* (maschi in nero, femmine in grigio).
Size distributions of the catches obtained by trawl and set nets (males in black, females in grey).

I valori della taglia media degli esemplari si differenziano anche tra le reti da posta, in relazione alla dimensione delle maglie: 9,7 (±2,8 d.s.) cm LM per il tremaglio, 11,4 (±1,4) cm per l'incastellata e 12,1 (±1,8) cm per il tremaglio alto. La taglia media dello strascico è invece sensibilmente inferiore e pari a 8,6 (±2,5) cm.

Il rapporto tra i sessi è prossimo all'unità nelle catture con entrambi gli attrezzi e le distribuzioni di frequenza delle lunghezze non mostrano differenze statisticamente significative tra maschi e femmine. Nel periodo autunnale (ottobre-novembre) le femmine catturate dallo strascico a profondità maggiori sono per il 35% in maturità I, per il 53% in stadio II e solamente il 12% in stadio III, mentre negli stessi mesi per le reti da posta, le percentuali sono rispettivamente del 21%, 10% e 69%. Queste percentuali confermano il trasferirsi dei riproduttori verso le acque costiere dove, nel periodo febbraio-maggio, praticamente tutte le femmine (99%) catturate sono in stadio III.

Conclusioni

Le catture delle reti da posta, utilizzate tradizionalmente nella fascia costiera, sono caratterizzate da individui di taglie superiori a quelle dello strascico (che opera più al largo), soprattutto per effetto della migrazione riproduttiva della specie verso la costa, come evidenziato dalle differenti distribuzioni della maturità gonadica in accordo con la bibliografia della specie.

I rendimenti di cattura sono marcatamente stagionali, con massimi in marzo e minimi in agosto; tale fluttuazione è simile a quella osservata in Adriatico da Jardas *et al*. (2001) che però risulta leggermente ritardata con massimi a maggio e minimi a novembre.

In relazione al tipo di rete, i rendimenti medi si riducono dal tremaglio alto, all'incastellata, al tremaglio basso, mentre le catture della monofilo possono considerarsi occasionali: i valori da noi osservati per 100 m di rete (200-300 g) sono comparabili con quelli di attrezzi simili (225 g) riportati da Petrakis e Politou, (2001) per le acque greche, di circa 300 g da Sbrana *et al*. (2001) nel Mar Ligure e 160 g da Fabi *et al*. (2001) sui fondi sabbiosi dell'Adriatico.

L'effetto nictemerale è molto forte nelle reti da posta, con rendimenti molto superiori durante la notte, ed anche il substrato condiziona le catture che risultano più elevate sui fondi sabbiosi rispetto a quelli misti o duri.

Bibliografia

BOLETZKY S.V. (1983) – *Sepia officinalis*. In: P.R. Boyle (ed), *Cephalopod life cycles*, Academic Press, **1**: 31-52.

EZZEDDINE-NAJAI S., EL ABED A. (2001) – Etude de la croissance de la seiche *Sepia officinalis* Linné, 1758 (Cephalopoda, Decapoda) de la Région nord de Tunisie. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.,* **36** (1): 263 pp.

FABI G., GRATI F., LUCCHETTI A., SCARCELLA G. (2001) – Osservazioni preliminari sulle catture di *Sepia officinalis* con tre attrezzi da posta in Medio Adriatico. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 660-664.

JARDAS I., PALLAORO A., CETNIC P., DULCIC J. (2001) – Cuttlefish, *Sepia officinalis* L., 1758, in the trammel bottom set catches along the Eastern Adriatic coast (Croatia). *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.,* **36** (1): 277 pp.

LIPINSKI M.R. (1979) – Universal maturity scale for the commercially important squids (Cephalopoda: Teuthoidea). The results of maturity classification of *Illex illecebrosus* population for the years 1973-1977. *ICNAF Fish. Res. Doc*. 79/2/38, Serial n.5364: 40 pp.

PETRAKIS G., POLITOU C.Y. (2001) – Cuttlefish trammel net 'metier' in Grece. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.,* **36** (1): 309 pp.

SBRANA M., FRANCESCONI B., VIVA C. (2001) – Catch efficiency and demographic structure of the catches of two types of trammel nets for the cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus 1758, along the coastal area of Livorno. *Biol. Mar. Medit*., **8** (1): 779-782.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 931-934

M. Sinopoli, D. Campo, G. D'Anna*, F. Badalamenti*, P. Vivona, F. Andaloro

ICRAM - Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare, Sts Palermo, Via Emerico Amari, 124 - 90139 Palermo, Italia.
*IRMA-CNR, Castellammare del Golfo, Trapani, Italia.

UTILIZZO DEI CENSIMENTI VISIVI PER LO STUDIO DELLA FAUNA ITTICA ASSOCIATA AI FADs

USE OF VISUAL CENSUS IN THE STUDY OF FADs ASSOCIATED FISH FAUNA

Abstract

A study was carried out, aimed at evaluating the efficacy of visual census techniques when assessing the fish fauna associated to FADs. Visual censuses were carried out in the Gulf of Castellammare from July to December 2001. Data were collected from three different sites where traditional FADs made up by palm leaves were set. Nine fish species belonging to Carangidae, Coryphaenidae, Balistidae and Scombridae were recorded. FADs fish community showed a strong seasonality.

Key-words: *fish attracting, census, associated species.*

Introduzione

Diverse specie ittiche si incontrano frequentemente associate ad oggetti galleggianti alla deriva o ancora ad organismi planctonici di grandi dimensioni e ad alghe pleustofitiche. Il potere attrattivo esercitato sui pesci dai corpi galleggianti è stato utilizzato dalla pesca professionale sin da epoche remote. Nel Mediterraneo la struttura e la composizione dei popolamenti ittici associati ai corpi d'ombra (FADs: Fish Aggregating Devices) è stata studiata tradizionalmente su dati provenienti da pescate sperimentali e professionali (Massutì e Reñones, 1994; Relini *et al.*, 1994; Deudero *et al.*, 1999; Andaloro *et al.*, in press). In Sicilia la pesca sotto i FADs viene effettuata nel periodo compreso fra luglio e dicembre utilizzando come corpi d'ombra foglie di palma ancorate al fondo tramite una cima (Andaloro *et al.*, in press). La pesca tuttavia rappresenta un metodo di campionamento distruttivo, è quindi inefficace per lo studio di un popolamento ittico nel tempo.

Lo scopo di questo lavoro è di caratterizzare il popolamento ittico associato ai FADs nel periodo luglio/dicembre, utilizzando una tecnica non invasiva come il censimento visivo.

Materiali e metodi

Lo studio è stato svolto fra luglio e dicembre 2001 nella porzione centrale del Golfo di Castellammare (Sicilia nord occidentale), a circa 2 miglia di distanza dalla costa su di un fondale fangoso con profondità comprese fra 95 e 110 metri. In ciascuno dei tre siti scelti per l'esperimento, sono stati posizionati 6 FADs costituiti da foglie di palma. Sono state effettuate solamente 16 delle 30 campagne di censimento visivo preventivate (5 per mese), questo a causa delle cattive condizioni meteorologiche registrate durante il periodo autunnale. Durante ogni campagna sono stati effettuati censimenti visivi in immersione in tre FADs scelti casualmente fra i sei disponibili in ciascun sito. L'operatore subacqueo situato ad una distanza di circa tre metri dal FAD ha registrato

per 5 minuti il numero di individui di ciascuna specie utilizzando classi di abbondanza in progressione geometrica (Harmelin-Vivien *et al.,*1985). I dati raccolti sono stati organizzati in una matrice specie/periodo di campionamento, sommando le repliche spaziali relative ai tre siti e quindi sottoposti ad un ordinamento utilizzando la tecnica dell'MDS (Multi Dimensional Scaling) basata sull'indice di similarità di Bray-Curtis (Clarke e Warwick, 1994). Il numero medio di individui (N), la ricchezza specifica (S) e l'indice di diversità di Shannon-Weaver (H') sono stati calcolati su base stagionale, raggruppando i campioni di luglio e agosto (estate) e ottobre-dicembre (autunno) sulla base dei risultati ottenuti dall'ordinamento. Inoltre sono stati confrontati statisticamente i valori medi di N, S e H' nelle due stagioni.

Risultati

Sono stati censiti 3335 individui appartenenti a 4 famiglie e 9 specie. I *Carangidae* sono presenti con 6 specie mentre *Coryphaenidae*, *Balistidae* e *Scombridae* ciascuna con una specie (Tab. 1). In Fig. 1 sono riportati i risultati dell' MDS, dove si evidenzia chiaramente la separazione tra campioni estivi ed autunnali.

Tab. 1 - Specie ittiche associate ai FADs. Sono riportati il numero medio di individui delle specie per FADs calcolati nell'intero periodo e separatamente nelle stagioni estate ed autunno.
Fish species associated to FADs. Mean numbers per FADs calculated on the overall study period and separately on Summer and Autumn are reported.

		Estate		**Autunno**		**Intero Periodo**
Famiglia	**Specie**	**N**	**ds**	**N**	**ds**	**N**
Balistidae	*Balistes carolinensis* Gmelin, 1789	0.3	1.18	1.38	3.17	0.70
Carangidae	*Caranx crysos* (Mitchill, 1815)	0.14	0.91	33.45	57.31	12.64
	Caranx sp.	--	--	0.02	0.14	0.01
	Naucrates ductor (Linnaeus, 1758)	0.22	0.79	1.25	2.78	0.61
	Seriola dumerili (Risso, 1810)	12.18	14.96	0.02	0.14	7.64
	Seriola fasciata (Block 1815)	--	--	0.18	0.56	0.07
	Trachurus spp.	1.93	10.57	--	--	1.21
Coryphaenidae	*Coryphaena hippurus* Linnaeus, 1758	0.43	4.11	--	--	0.27
Scombridae	*Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758)	0.03	0.16	--	--	0.02
Totale individui		**1374**		**1961**		**3335**

Non si osservano differenze statisticamente significative tra i valori di H'($F_{1,142}=3.54$, $p=0.06$, Tab. 2) ed S ($F_{1,142}=1.85$, $p<0.18$, Tab. 2) nelle due stagioni, mentre il numero medio di individui (N) è maggiore in autunno ($F_{1,142}=10.09$, $p<0.001$, Tab. 2). Solo 4 delle 9 specie censite risultano comuni alle due stagioni.

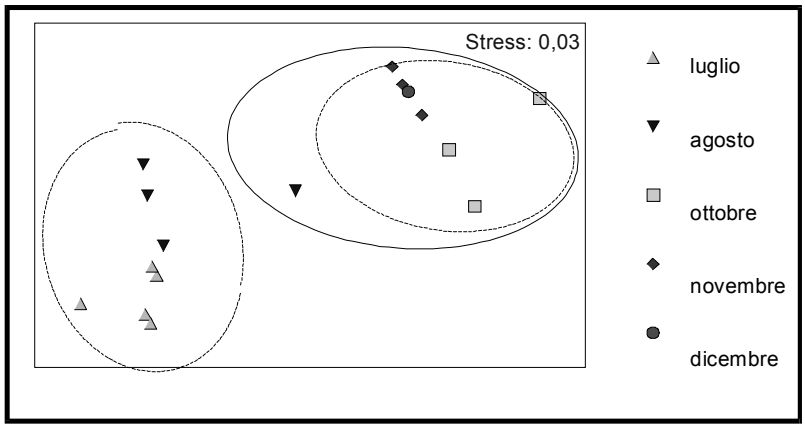


Fig. 1 - MDS (Multi Dimensional Scaling) condotta sui valori di abbondanza media delle specie associate ai FADs nel periodo luglio-dicembre 2001. Nel grafico i punti contenuti all'interno della linea continua hanno valori di similitudine maggiori del 40% mentre i punti all'interno delle linee tratteggiate hanno valori di similitudine maggiori del 60%.

MDS (Multi Dimensional Scaling) performed on mean abundance data of species associated to FADs in the period July-December 2001. Points within the solid line were clustered at similarity values higher than 40%, and those within the dotted lines at similarity values higher to 60%.

Tab. 2 - Valori medi stagionali di abbondanza (N), diversità H' (indice di diversità di Shannon-Weaver) e ricchezza specifica (S) della fauna ittica associata ai FADs. In parentesi è riportato il valore della deviazione standard.

Mean seasonal values of abundance (N) diversity H' (Shannon- Weaver diversity index) and species richness (S) of FAD associated fish fauna (standard deviation in brackets).

	Estate		**Autunno**	
H'	0.13	(0.23)	0.21	(0.29)
S	1.48	(0.74)	1.67	(0.91)
N	15.28	(20.45)	36.30	(57.06)

Conclusioni

La composizione specifica del popolamento ittico che risulta dai censimenti visivi è paragonabile a quella ottenuta con pescate sperimentali da altri autori sia nel Golfo di Castellammare (D'Anna *et al.* 1999) che in altre aree del Mediterraneo occidentale (Massutì e Reñones, 1994; Relini *et al.*, 1994; Deudero *et al.*, 1999; Andaloro *et al.*, in press). I FADs offrono rifugio fondamentalmente a forme giovanili di specie ittiche e la loro abbondanza è correlata al periodo riproduttivo(vedi Deudero *et al.*, 1999), *S.*

dumerili domina in estate e *C. crysos* in autunno. I censimenti visivi si rivelano dunque efficaci nel descrivere la composizione specifica, la struttura e le variazioni stagionali del popolamento ittico associato ai FADs senza dover fare ricorso a tecniche invasive che richiedono il prelievo delle specie.

Bibliografia:

ANDALORO F., CAMPO D., SINOPOLI M., CASTRIOTA L., CAMPAGNUOLO S. (in press.) - Pelagic fish community associated with FADs off the Sicilian coast (Southern Tyrrhenian Sea). *Proceeding of 1st Symposium of Island Ecosystems Funchal Portugal 5-9 Marzo 2000.*

CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation.* Natural Environment Research Council, UK: 144 pp.

D'ANNA G., BADALAMENTI F., RIGGIO S. (1999) - Traditional and experimental floating fish aggregating devices in the Gulf of Castellammare (NW Sicily): results from catches and visual observations. *Scientia Marina,* **63** (3-4): 209-218.

DEUDERO S., MERELLA P., MORALES-NIN B., MASSUTÍ E., ALEMANY F., (1999) - Fish communities associated to FADs in the Western Mediterranean. *Scientia Marina,* **63** (3-4): 199-207.

HAMELIN-VIVIEN M.L., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABÈ G., BLANC F., CHEVALIER L., DUCLERC J., LASSERRE G. (1985) - Evalutation visuelle des peuplements et population de poissons: mèthodes et problèmes. *Rev. Ecol. (Terre Vie),* **40**: 467-539.

MASSUTI E., REÑONES O. (1994) - Observaciones sobre la comunidad de peces pelágicos asociados a objetos flotantes en aguas oceánicas alrededor de la isla de Mallorca. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr*., **10** (1): 81-93.

RELINI M., RELINI L., RELINI G. (1994) - An offshore buoy as a FAD in the Mediterranean. *Bull. Mar. Sci.*, **55** (2-3): 1099-1105.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 935-940

L. Sion, G. D'Onghia, A. Tursi, A. Matarrese

Department of Zoology, University of Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE NORTH-WESTERN IONIAN SEA

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) DEL MAR IONIO NORD OCCIDENTALE

Abstract

The list of the skate species of the north-western Ionian Sea is reported here, using data from literature and experimental bottom trawl surveys carried out from 1985 to 2001. The abundance indexes calculated for all species pooled indicate the low incidence of Rajidae in this area. The most frequent species are R. circularis *and* R. miraletus.

Key-words: *skates, trawlers, Ionian Sea, Mediterranean Sea.*

Introduction

The scientific knowledge on the distribution, abundance and biology of Rajiformes in the Italian seas is quite limited, even though in the whole Mediterranean basin there are many contributions on the biology and ecology of these cartilaginous fish.

Only since 1985 and from 1994, as part of the research on the demersal resources, both in Italian seas and northern Mediterranean basin, has there been the possibility to gather systematic information on these fish. Particularly, the information on the north-western Ionian Sea is reported in Matarrese *et al.* (1996), Relini *et al.* (2000) and Sion *et al.* (2000).

In the present work a systematic list of the skate species, found in the above-mentioned area, is reported. Moreover, density and biomass indexes of the species captured during some experimental bottom trawl surveys are provided.

Materials and methods

Data from literature and experimental bottom trawl surveys carried out as part of national (GRUND, 1985-2001) and international (MEDITS, 1994-2001) research projects, were examined.

The investigated area in the Ionian Sea is between Cape Otranto and Cape Passero (Fig. 1). Since 1985 a total of 1,565 experimental hauls were carried out from 10 to 750 m of depth. The characteristics of design sampling and the details of the projects GRUND and MEDITS are reported by Relini (1998).

The species were determined using the systematic keys reported in Tortonese *et al.* (1956) and Whitehead *et al.* (1984); the skate's list is reported in the taxonomic order indicated by Stehmann *et al.* (1984).

During the trawl surveys GRUND and MEDITS carried out from 1994 to 2001, the density (N/km^2) and biomass (kg/km^2) indexes were calculated for all species captured in 998 hauls.

Mean values and their corresponding coefficient of variation (C.V.) were calculated by shelf (within 200 m depth) and by slope (as far as 750 m).

Fig. 1 - Map of investigated area in the north-western Ionian Sea.
Mappa dell'area investigata nel Mar Ionio nord-occidentale.

Furthermore, the number of individuals is indicated for each species captured in each year during the entire period (1994-2001).

Results

To date, in the north-western Ionian Sea 12 skate species have been reported.

Considering the literature, the first useful information about these fish goes back at the end of the 19th century and refer to the capture of *R. asterias*, *R. clavata* and *R. miraletus* in the Gulf of Taranto (Targioni-Tozzetti, 1871).

Afterwards, Zuccardi (1922) reported again *R. asterias* and *R. miraletus* in the "Mar Piccolo" and in the "Mar Grande of Taranto". Brunelli & Bini (1934) caught *R. clavata* at about 400 m depth in the Gallipoli area.

Furthermore, Pastore (1976) recorded the presence of *R. naevus* and again *R. asterias* and *R. miraletus*, in the Gulf of Taranto.

Parenzan (1983) found *R. batis*, *R. oxyrinchus*, *R. asterias*, *R. clavata*, *R. miraletus*, *R. montagui*, *R. polystigma* and *R. alba* in the Apulian seas, not specifying if such spe-

cies were captured along the Adriatic or Ionic coasts. This author observed only very rare captures of *R. naevus* along the Apulian Ionic coast.

During the experimental bottom trawl surveys carried out from 1985 the captures of *R. batis*, *R. oxyrinchus*, *R. montagui* and *R. alba* have been confirmed (Matarrese *et al.*, 1996; Sion *et al.*, 2000), whilst for the fist time the presence of *R. circularis* and *R. fullonica* was observed (Matarrese *et al.*, 1996; Sion *et al.*, 2000).

Franceschini *et al.* (1993) during experimental trawl surveys carried out during 1988-1990 along Sicilian coast of the Ionian Sea found the following species: *R. batis*, *R. oxyrinchus*, *R. naevus*, *R. asterias*, *R. clavata*, *R. miraletus*, and *R. radula*.

R. polystigma has never been caught during 15 years of experimental surveys. In Tab. 1, the list of the skate species found in the north-western Ionian Sea is reported, indicating both literature and trawl survey data, the latter with bathymetric range.

Tab. 1 - List of skate species found in the north-western Ionian Sea.*species come from published data; °species come from bottom trawl surveys carried out from 1985 to 2001.
*Elenco delle razze catturate nel Mar Ionio nord-occidentale. *specie provenienti da dati pubblicati; °specie provenienti da campagne sperimentali di pesca a strascico effettuate dal 1985 al 2001.*

Species	**Published data**	**Bottom trawl surveys**		
			depth (m)	
			min.	max.
Raja (Dipturus) batis Linnaeus, 1758	*	°	625	625
Raja (Dipturus) oxyrinchus Linnaeus, 1758	*	°	532	741
Raja (Leucoraja) circularis Couch, 1838		°	25	625
Raja (Leucoraja) fullonica Linnaeus, 1758		°	160	587
Raja (Leucoraja) naevus Muller & Henle, 1841	*			
Raja (Raja) asterias Delaroche, 1809	*	°	18	320
Raja (Raja) clavata Linnaeus, 1758	*	°	25	505
Raja (Raja) miraletus Linnaeus, 1758	*	°	12	430
Raja (Raja) montagui Fowler, 1910	*	°	25	48
Raja(Raja) polystigma Regan, 1923	*			
Raja (Raja) radula Delaroche, 1809	*			
Raja (Rostroraja) alba Lacepède, 1803	*	°	532	532

The density (DI) and biomass indexes (BI) by shelf and slope, for all species caught, are reported in Tab. 2.

Tab. 2 - Average density (DI) and biomass (BI) indexes calculated for all skates pooled captured in the north-western Ionian Sea from 1994 to 2001.

Indici medi di densità (ID) e di biomassa (IB) calcolati per il totale delle razze catturate nel Mar Ionio nord-occidentale dal 1994 al 2001.

DI (N/km^2)	shelf		slope	
	average	VC (%)	average	VC (%)
1994	-	-	-	-
1995	0.41	781.5	0.69	563.0
1996	1.84	461.7	0.44	502.3
1997	0.68	532.9	0.27	723.0
1998	0.81	547.3	0.11	969.5
1999	0.99	515.1	0.17	682.3
2000	5.51	529.0	0.46	483.2
2001	1.66	451.8	0.42	481.0
BI (kg/km^2)	**shelf**		**slope**	
	average	VC (%)	average	VC (%)
1994	-	-	-	-
1995	0.321	816.1	0.009	619.2
1996	1.793	719.0	0.481	678.7
1997	0.428	522.8	0.828	826.0
1998	0.040	599.7	0.093	969.5
1999	0.855	565.0	0.005	767.8
2000	0.665	613.7	0.034	557.3
2001	1.035	531.1	0.023	793.0

On the shelf, the mean density values ranged from 0.41 N/km^2 (VC=781.5%) in 1995 to 5.51 N/km^2 (VC=529.0%) in 2000; whilst on the slope, the mean density values varied between 0.11 N/km^2 (VC=969.5%) in 1998 and 0.69 N/km^2 (VC=563.0%) in 1995. The mean biomass values, calculated on the shelf, were between 0.04 kg/km^2 (VC=599.7%) in 1998 and 1.793 kg/km^2 (VC=719.0%) in 1996, whilst on the slope the mean biomass values fluctuated between 0.005 kg/km^2 (VC=767.8%) in 1999 and 0.828 kg/km^2 (VC=826.0%) in 1997. No captures of skates were recorded in 1994.

The most frequent species in the north-western Ionian Sea are *R. circularis*, *R. asterias* and *R. miraletus*, although found with a low number of individuals. The remaining species have been collected once or twice during the whole period considered (Tab. 3).

Tab. 3 - Individuals number of the skate species caught in the north-western Ionian Sea during the bottom trawl survey (GRUND and MEDITS) carried out from 1994 to 2001.

Numero d'individui delle razze catturate durante le campagne sperimentali di pesca a strascico (GRUND and MEDITS) effettuate nel Mar Ionio dal 1994 al 2001.

Species	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	Totale
Raja (Dipturus) oxyrinchus							1	1	2
Raja (Leucoraja) circularis		3	4	2			3	2	14
Raja (Leucoraja) fullonica					1	2			3
Raja (Raja) asterias		2	2	1	1	1	1		8
Raja (Raja) clavata			1					1	2
Raja (Raja) miraletus			3	1		1	11	3	19
Raja (Raja) montagui					2			1	3
Raja (Rostroraja) alba				1					1

Conclusions

The information collected during 15 years of experimental surveys (1985-2001) confirms the presence of all species reported in the previous list, in the north-western Ionian Sea (Targioni-Tozzetti, 1871; Zuccardi, 1922 in Pastore, 1976; Brunelli & Bini, 1934; Pastore, 1976; Parenzan, 1983), with exception of *Raya naevus* and *Raya polystigma* which were never reported and *R. circularis* and *R. fullonica* which were found for the first time only, during these years.

The density and biomass indexes have evidenced that the skate species are not very abundant either on the shelf or on the slope. Also the commercial data confirm that the captures are occasional.

Nowadays, there is a very harsh scientific debate on the rarefaction of the elasmobranchs in relation to the trawl fishing (e.g. Stevens *et al.*, 2000). In fact, the low incidence of Rajiformes observed in the north-western Ionian Sea could be strictly connected to fishing pressure. In the north-eastern Ionian Sea (Greek waters), where trawl fishing is less concentrate and limited down to 400 m in depth, more abundant captures of Rajiformes have recently been observed, in the first place *R. oxyrinchus* and *R. clavata* (D'Onghia *et al.*, 2002).

References

BRUNELLI G., BINI G. (1934) – Ricerche comparative sulle pesche profonde di diversi mari Italiani. *Boll. Pesca Piscicult. Idrobiol.*, **10** (6): 733-744.

D'ONGHIA G., POLITOU CH., MASTROTOTARO F., MYTILINEOU CH., MATARRESE A. (2002) – Biodiversity of the upper slope demersal community in the eastern Mediterranean: preliminary comparison between two areas with and without trawl fishing. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, **30**: 31.

FRANCESCHINI G., ANDALORO F., DIVIACCO G. (1993) – La macrofauna dei fondi strascicabili della Sicilia orientale. *Naturalista sicil.*, S., 4, **17** (3-4): 311-324.

MATARRESE A., D'ONGHIA G., TURSI A., BASANISI M. (1996) – New information on the Ichthyofauna of the south-eastern Italian coasts (Ionian Sea). *Cybium*, **20** (2): 197-211.

PARENZAN P. (1983) – *Puglia Marittima*. Ed. Congedo, 1, 2.
PASTORE M. (1976) – Note ittiologiche del Golfo di Taranto. I°. Generalità e lista delle specie. *Oebalia*, **2**: 91-103.
RELINI G. (1998) – I progressi della ricerca italiana sulla pesca a strascico. *Biol. Mar. Medit.*, **5** (2): 3-21.
RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) – I Selàci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 347-384.
STEVENS J.D., BONFIL R., DULVY N.K, WALKER P.A. (2000) – The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, **57**: 476-494.
SION L., D'ONGHIA G., BASANISI M., PANZA M. (2000) – Distribuzione dei Selàci sui fondi strascicabili del Mar Ionio nord-occidentale. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 455-460.
STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) – Rajidae. In: Whitehead P.J.P., M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (eds), *FNAM. Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean.* UNESCO, Paris, **1**: 163-196.
TARGIONI-TOZZETTI A. (1871) – Elenco dei Pesci riportati dai viaggi di Taranto, di Sicilia, di Sardegna. In Rel. a S.E. il Min. di A.I.C., **1** (1): 252-256.
TORTONESE E. (1956) – *Leptocardia, Ciclostomata, Selachii - Fauna d'italia.* Bologna, Ed. Calderini, **2**: 334 pp.
WHITEHEAD P.J.P., BAUCHOT M.L., HUREAU J.C., NIELSEN J., TORTONESE E. (eds) (1984) – *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean.* UNESCO, Paris, **1**: 510 pp.

This study was carried out using data coming from experimental bottom trawl-surveys financed by Italian Government and European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 941-945

M.T. Spedicato, G. Lembo, P. Carbonara

COISPA Tecnologia e Ricerca s.c.r.l., Via dei Trulli, 18/20 - 70045 Torre a Mare, Bari, Italia.
coispa@coispa.it

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES, RAJIDAE) IN THE CENTRAL-SOUTHERN TYRRHENIAN SEA

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE NEL TIRRENO CENTRO-MERIDIONALE

Abstract

Data from trawl surveys carried out from 1985 to 2001 allowed to identify 8 species of the Raja genus *(Pisces, Rajiformes) and the most recurrent fish was* Raja (Raja) clavata*. Generally the abundance indices estimated for the pooled species were very variable and rather low, thus no significant trend could be detected.*

Key-words: *skates, trawl-surveys, distribution, abundance, Tyrrhenian sea.*

Introduction

As in other geographical areas of the Mediterranean, also in the central-southern Tyrrhenian Sea different species of skates represent a by-catch of trawl fisheries. Only some of them are appreciated and marketed (e.g. *Raja (Raja) clavata*), while others are discarded at sea, due to their negligible commercial value. These Selachians are, however, recognised as important indicators of the impact of the fishing pressure on the Mediterranean biodiversity (Vacchi & Notarbartolo di Sciara, 2000) and their decline has been associated to the increased level of exploitation in areas such as the Gulf of Lions (Aldebert, 1997) and the Adriatic Sea (Jukic-Peladic *et al.*, 2000).

In this paper the distribution and abundance indices of a pool of skates and of the species *Raja (Raja) clavata* are analysed on the basis of data collected during trawl surveys performed at national (GRU.N.D. project; Relini, 2000) and international level (MEDITS project; Bertrand *et al.*, 2000) along the Italian coasts.

Materials and methods

The list of the species of the studied area (central-southern Tyrrhenian sea from Garigliano River to Cape Suvero; total area: 12,999 km^2) was compiled using 23 and 8 trawl surveys from GRU.N.D (1985-2001) and MEDITSIT (1994-2001) projects, respectively. The surveys were carried out adopting a random stratified sampling design over a depth range from 10 to 800 m. For the purpose of this paper, two macro-strata were considered, the continental shelf (10-200 m) and the slope (201-800 m). The occurrence index of the species was calculated as percentage ratio between the number of specimens of one species over the pooled surveys and the number of specimens of the pooled species over the pooled surveys. The biomass indices (kg/km^2) were estimated according to the swept area method (Pauly, 1983). As far as the GRU.N.D. time series is concerned, the data of the autumn surveys since 1994 were used, while the spring-summer data are those of the MEDITS trawl-surveys time series since 1994 to 2001.

Similarly the abundance indices of *Raja (Raja) clavata* were estimated. For this species the length range (total length), as recorded within the MEDITSIT project, is also reported.

Results

As a whole 8 species of the genus *Raja* were identified at depth from 8,5 to 625 m and with a percentage of occurrence ranging from 0.2 to 56.8 (Tab. 1). *Raja (Dipturus) batis* and *Raja (Dipturus) oxyrinchus* were distributed on epibathyal bottoms, whereas *Raja (Raja) miraletus* was mostly caught in shallower waters characterised by muddy or sandy beds. The other three species, namely *Raja (Raja) asterias, Raja (Raja) clavata* and *Raja (Raja) montagui* showed a very wide distribution, with the last two species mainly concentrated from 201 to 500 m depth.

Tab. 1 – List of the *Raja* species caught during the GRU.N.D. and MEDITSIT trawl surveys (years: 1985-2001). The depth range (m) and the percentage of occurrence is also reported.
Lista delle specie di Raja *catturate durante le campagne GRU.N.D. e MEDITSIT (anni: 1985-2001) con l'intervallo delle profondità (m) di ritrovamento e la percentuale di occorrenza.*

	1985-2001			
	Minimum Depth (m)	Maximum Depth (m)	GRU.N.D. occurrence %	MEDITS occurrence %
Raja (Dipturus) batis	297	431	11,3	
Raja (Dipturus) oxyrinchus	238	542	12,6	18,2
Raja (Raja) asterias	8,5	358	15,6	14,9
Raja (Raja) brachyura	167	167	0,2	
Raja (Raja) clavata	44	625	50,0	56,8
Raja (Raja) miraletus	23	171	5,6	1,4
Raja (Raja) montagui	89	463	2,9	7,4
Raja (Raja) polystigma	143	583	1,8	1,4

Despite the pooling of all the species, generally the biomass indices were very variable and rather low, with values ranging from 0.3 to 5 kg/km^2 on the shelf and from 0.5 to 4.5 kg/km^2 on the slope (Figg. 1-2). The most recurrent species *Raja (Raja) clavata* gave the substantial contribute to the overall abundance, with very variable indices ranging from 0.03 to 3.3 kg/km^2 on the slope (Figg. 3-4). This species was not caught at all in any stratum during the MEDITSIT surveys of 1998. The size of 56 individuals captured in the MEDITSIT survey was in the total length interval from 12.5 to 70 cm.

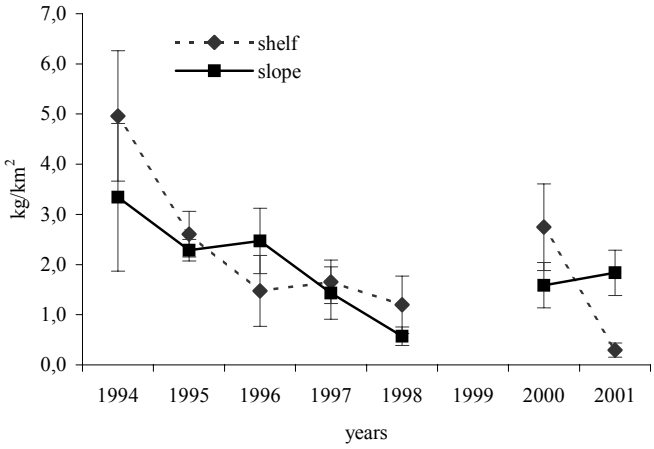


Fig. 1 - Abundance index (kg/km^2) of the skates (pooled species) caught on the continental shelf (10-200 m) and on the slope (201-800 m) during the GRU.N.D. trawl surveys.
Indice di abbondanza (kg/km^2) delle razze, catturate durante le campagne GRU.N.D. nei due macrostrati: piattaforma continentale (10-200 m) e scarpata (201-800 m).

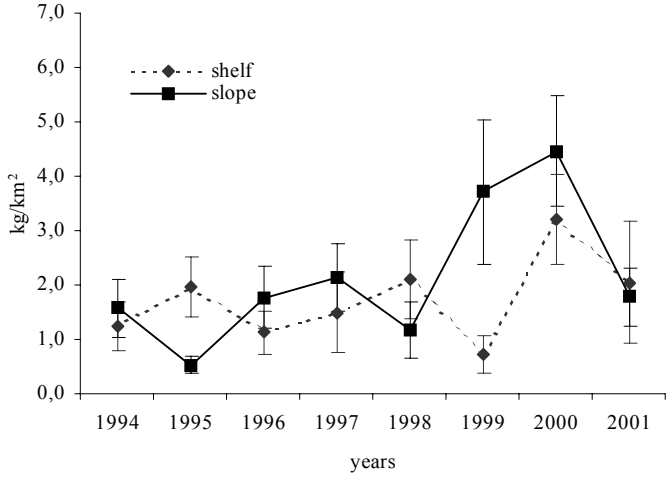


Fig. 2 - Abundance index (kg/km^2) of the skates (pooled species) caught on the continental shelf (10-200 m) and on the slope (201-800 m) during the MEDITSIT trawl surveys.
Indice di abbondanza (kg/km^2) delle razze catturate durante le campagne MEDITSIT nei due macrostrati: piattaforma continentale (10-200 m) e scarpata (201-800 m).

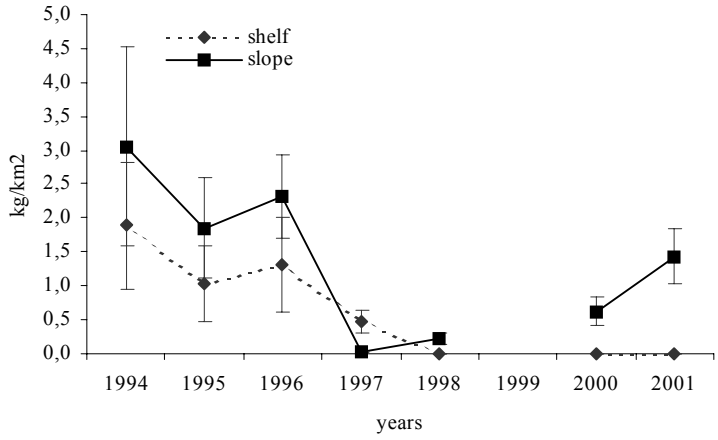


Fig. 3 - Abundance index (kg/km^2) of *Raja (Raja) clavata* caught on the continental shelf (10-200 m) and on the slope (201-800 m) during the GRU.N.D. trawl surveys.
Indice di abbondanza (kg/km^2) di Raja (Raja) clavata *catturata durante le campagne GRU.N.D. nei due macrostrati: piattaforma continentale (10-200 m) e scarpata (201-800 m).*

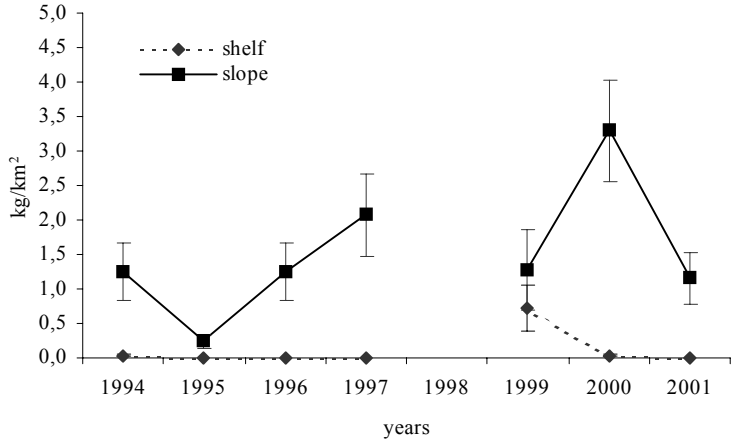


Fig. 4 – Abundance index (kg/km^2) of *Raja (Raja) clavata* caught on the continental shelf (10-200 m) and on the slope (201-800 m) during the MEDITSIT trawl surveys.
Indice di abbondanza (kg/km^2) di Raja (Raja) clavata *catturata durante le campagne MEDITSIT nei due macrostrati: piattaforma continentale (10-200 m) e scarpata (201-800 m).*

Conclusions

Among the 16 species of Rajidae distributed in the Mediterranean (Stehmann and Bürkel, 1984) and the 14 reported by Bauchot (1987) for the Tyrrhenian Sea, 8 were found in the southern-central area of this basin. The lacking of more records, as well as the little differences in respect to neighbouring areas, might be due to difficulties in the classification (Relini *et al.*, 2000), although the collected information are substantially in agreement with the outcomes from other Tyrrhenian zones (Baino e Serena, 2000; Relini *et al.*, 2000). Also the observed patterns of distribution were comparable to that reported for neighbouring areas (Minervini *et al.*, 1985; Hemida *et al.*, 2000). The very scant and variable abundance indices did not allow to detect any significant trend throughout the time, although a decreasing tendency seems to occur in the GRU.N.D. time series.

References

ALDEBERT Y. (1997) – Demersal resources of the Gulf of Lions (NW Mediterranean). Impact of exploitation on fish diversity. *Vie Milieu*, **47**: 275-284.

BAINO R., SERENA F. (2000) – Valutazione di abbondanza e distribuzione geografica di alcuni selaci dell'alto Tirreno e Mar Ligure Meridionale. *Biol. Mar. Medit.,* **7** (1): 433-439.

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) – An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. In: Bertrand J.A., Relini G. (eds), *Demersal resources in the Mediterranean*. IFREMER; *Actes de Colloques,* **26**: 76-93.

BAUCHOT M.L. (1987) – Raies et autres batoides. In Fischer W., Bauchot M.L, Schneider M.R.,: *Fichês FAO d'idéntification des espèces pour les besoins de la pêche*. *Méditerranée et Mer Noir. Zone de Pêche 37*. FAO, Rome, **2**: 845-886.

JUKIC-PELADIC S., VRGOC N., KRSTULOVIC-SIFNER S., PICCINETTI C., PICCINETTI-MANFRIN G., MARANO G., UNGARO N. (2000) – Long-term changes in demersal resources of the Adriatic Sea: comparison between trawl surveys carried out in 1948 and 1998. *Fisheries Research*, **1106**: 1-10.

HEMIDA F., MOUMENE F., GIORDANO D. (2000) – Distribution of some ray species from the Algerian basin. *Biol. Mar. Medit.,* **7** (1): 412-416.

MINERVINI R., GIANOTTA M., BIANCHINI M.L. (1985) –Observations on the fishery of *Raiformes* in Central Tyrrhenian Sea. *Oebalia*, **11** (2): 583-591.

PAULY D. (1983) - Algunos métodos simples para la evaluación de recursos pesqueros tropicales. *FAO Doc. Tec. Pesca,* **234**: 1-49.

STEHMANN M., BÜRKEL D.L. (1984) – Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), FNAM. *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

RELINI G. (2000) – La ricerca sulla pesca: le risorse demersali. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (4): 13-45.

RELINI G, BIAGI F., SERENA A., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) – I Selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 347-384.

VACCHI M., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2000) – I pesci cartilaginei nei mari italiani, una risorsa che richiede urgenti misure di tutela. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 296-311.

The data reported in this paper were collected within the GRU.N.D. and MEDITSIT research project, supported by the Italian Ministry for the Agriculture and Forest Policy and the European Union.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 946-948

C. Tidu, A. Cannas[1], E. Lecca, M.F. Meloni, M. Pinna[2], R. Savarino

Acquacoltura e Ricerca, Soc. Coop., Via Brigata Sassari, 31 - 09045 Quartu Sant'Elena, Cagliari, Italia.
coopar@tiscalinet.it
[1]C.I.R.S.PE. – Centro Italiano Ricerche e Studi per la Pesca, Roma, Italia.
[2]Università degli Studi di Lecce, Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Lecce, Italia.

CATCHES ANALYSIS OF *PALINURUS ELEPHAS* (FABRICIUS, 1787) IN NORTHWESTERN SARDINIA

ANALISI DELLE CATTURE DI PALINURUS ELPHAS *(FABRICIUS, 1787) NEL NORD OVEST DELLA SARDEGNA*

Abstract

In this paper we examined 20 years of catches of Palinurus elephas *in northwestern Sardinia. The results showed that the fishing pressure is the most important factor controlling the landings, although natural variability can also play an important role.*

Key-words: Palinurus elephas*, spiny lobster*, *landing statistics*, *north western Sardinia.*

Introduction

Although in the last years several papers showed a decline of the landings of *Palinurus elephas* in northwestern Sardinia (Cannas *et al*., 1998, Secci *et al*., 2000), an analysis of the catches has not been done.

Catches analysis can be useful in the management of the spiny lobster fisheries in order to detect both influences of the natural variability and of the fishing activity. This could be very important taking into account that one of the main characteristics of the fishery of *P. elephas* is the great interannual variability of the landings, due especially to the recruitment changeability, a common trait in spiny lobsters (Cobb *et al*., 1997).

Materials and methods

Catches and number of boats that during the fishing season fished spiny lobsters from 1981 to 2001 by the Coop. Pescatori Stintino were collected. The catches regard the zone off northwestern Sardinia, between west side of Asinara Island and Capo Caccia, near Alghero town, in which the fishermen belonging to the Stintino fleet normally fish. The monthly effort (fishing days/boat) was recorded from 1997 to 2001 for each fishing season. To study the influence of the natural variability and the influence of the fishing pressure on the landings of *Palinurus elephas* in NW Sardinia we compared the catches of the Stintino fleet with the catches from 1981 to 2000 of the Maó and Fornell fleets (Menorca Island, western Mediterranean) (Personal communication: F. De Pablo Pons). Finally an analysis of the monthly evolution of the CPUE was done.

Results and conclusions

The landings of the Stintino fleet showed a global decrease from 4.3 tonnes in 1981 to 1.5 tonnes in 2001 (Fig. 1). The data indicated an abnormal increase of the catches from 1984 to 1987, which exceed 10 tonnes in 1985 and 1986. This increase was

probably due to natural variability in recruitment because the boats number (Fig. 2), the duration of the fishing season, the fishing area and the methodology (trammel nets, generalised in Sardinia from 1950's, Cottilgia *et al*., 1976) when compared with previous years did not change. This fact could be confirmed comparing the landings of northwestern Sardinia with the landings of western Mediterranean (Menorca Island) (Fig. 1) where for the same period an increase of the catches was observed. However, whereas the landings of the Menorca fleets in the following years showed an undefined pattern, the landings of the Stintino fleet showed a strong decline from 1988 to the present. This decrease in the landings is possibly due to overexploitation. Nevertheless, a very similar evolution of the catches with high values from 1984 to 1987 and subsequent strong decline was reported also for the central west coast of Sardinia by Secci *et al*., (2000). The hypothesis of overexploitation in NW Sardinia can be confirmed by the CPUE evolution of the Stintino fleet that decreased from 10 kg/boat/day in 1976 (Cottiglia *et al*., 1976) to 4,2 in 1997, and 3,3 in 2001. This overexploitation could be explained by the fishing effort increase: in 1976 the fleet was of 10 boats (Cottiglia *et al*., 1976) whereas in the early 90's it was of 16 (Fig. 2). This effort increase accompanied by the selective harvesting could have determined a global reduction in the recruitment of the following years, as it has also been observed in other spiny lobster's fisheries (Baez-Hidalgo *et al*., in press).

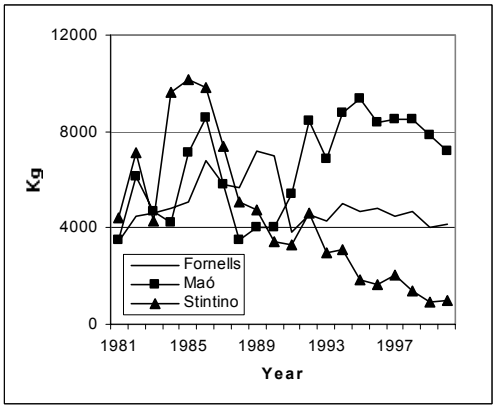


Fig. 1 - Landings of *P. elephas* for the fleets of Fornells, Maó and Stintino. 1981-2000.
Sbarcato di P. elephas *delle flotte di Fornells, Maó e Stintino. 1981-2000.*

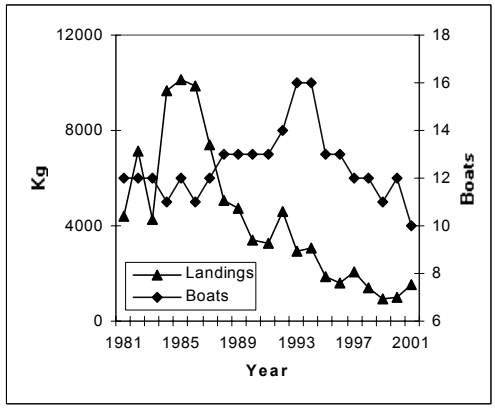


Fig. 2 - Landings and number of boats by the Stintino fleet. 1981-2001.
Sbarcato e numero di barche della flotta di Stintino. 1981-2001.

The CPUE monthly analysis (kg/boat/day) from 1997 to 2001 showed significantly higher values at the beginning of the fishing season (ANOVA one way, $p<0.05$) (Fig. 3). These results are also common in other species of spiny lobster (Lozano-Alvarez *et al*., 1991) possibly because of the aggregation during the closed season due to the conjunction of absence of fishing mortality and recruitment. In the following months due to the fishing activity a decline of the CPUE can be observed.

The results indicated the fishing pressure as the most important controlling factor of the landings of *P. elephas,* although the natural variability can also play an important role.

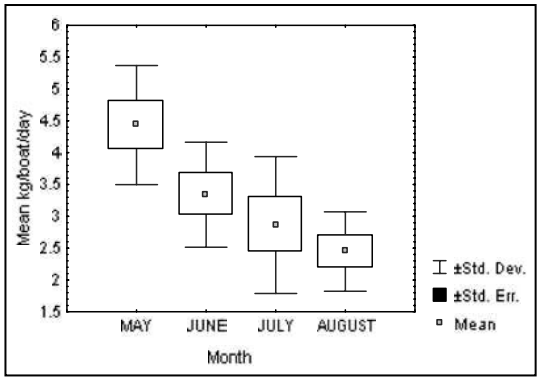


Fig. 3 - Mean monthly CPUE by the Stintino fleet. 1997-2001.
CPUE medie mensili della flotta di Stintino. 1997-2001.

Acknowledgements

We thank the fishermen from the Cooperativa Pescatori Stintino for their collaboration. We also acknowledge S. Saba, P. Solinas, L. Ligios, O. Sanna, C. Wendelin, M. Bianchini and C. Campillo-Campbell for their valuable support throughout the study. We would like to express our sincere appreciation to F. De Pablo Pons for providing the fishing data of Menorca Island.

References

BAEZ-HIDALGO M., ACEVEDO R.B., PEREZ-PUELLES R.C. (in press) – Análisis de las capturas de la langosta espinosa *Panulirus argus*, en la plataforma suroccidental de Cuba. *Rev. Inv. Mar*.

CANNAS A., PINNA M., SAVARINO R., SECCI E., TIDU C. (1998) – Progetto di ripopolamento di aragosta rossa (*Palinurus elephas*) in un'area del golfo dell'Asinara: Aspetti biologici, tecnici e produttivi. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 1442-1449.

COBB J.S., BOOTH D.J., CLANCY M. (1997) - Recruitment strategies in lobsters and crabs: a comparison. Mar. Freshwater Res., **48**: 797-806.

COTTIGLIA M., IONTA G., MASALA B., SERRA E., MASALA M.L. (1976) - La pesca dell'aragosta in Sardegna. Ecologia, etologia, produzione e sforzo di pesca. *La programmazione in Sardegna,* **59**: 46-59.

LOZANO-ALVAREZ E., BRIONES-FOURZAN P., PHILLIPS B.F. (1991) – Fishery characteristic, growth and movements of the spiny lobster *Panulirus argus* in Bahia de la Ascencion, Mexico. *Fish. Bull*., **89**: 79-89.

SECCI E., CUCCU D., FOLLESA M.C., CAU A. (2000) – Fishery and tagging of *Palinurus elephas* in Sardinian seas. In: J.C. von Vaupel Klein and F.R. Schran (eds), *The Biodiversity Crisis and Crustacea*: 665-672.

This Research was funded by the Ministero delle Politiche Agricole e Forestali.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 949-953

M. Vallisneri, M. Scapolatempo, S. Tommasini, S. Cavicchi

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna,
Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.

CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA DI *SOLEA VULGARIS* (QUENSEL, 1806) DEI MARI ITALIANI

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SOLEA VULGARIS *(QUENSEL, 1806) OF THE ITALIAN SEAS*

Abstract

A morphological study was conducted of the common sole Solea vulgaris *from specimens collected in the Adriatic, Ionian and Tyrrhenian seas, for which scarce data is available. Ten morphometric and two meristic characters were investigated on 187 specimens. The multi- and univariate statistical analyses carried out on the data revealed highly significant differences in the specimens taken from the three seas to the extent that distinct populations may be assumed to exist.*

Key-words: Solea vulgaris*, morphometric and meristic characters, population separation analysis.*

Introduzione

La gestione e la conservazione degli stock ittici implicano l'esatta definizione delle unità di popolazione nell'ambito di una determinata area di pesca (Turner *et al*., 1989; Corti e Crosetti, 1996). In particolare la sogliola (*Solea vulgaris*), nonostante l'ampia diffusione nel Mediterraneo e l'elevato pregio economico, presenta grande confusione nella nomenclatura e nell'identificazione delle unità di popolazione (Horwood, 1993; Tinti *et al*., 1999; Tinti e Piccinetti, 2002). A tale scopo è stata condotta un'indagine sulla variabilità morfologica di *Solea vulgaris* dei mari italiani.

Materiali e metodi

Su esemplari di sogliola comune (*Solea vulgaris*) provenienti dal mare Adriatico (n=86; Chioggia, Ravenna, Rimini, Pesaro, San Benedetto del Tronto, Termoli, Lesina, Molfetta, Brindisi, Durazzo e Valona), Tirreno (n=62; Salerno e Livorno) e Ionio (n=39; Taranto, Gallipoli, Siracusa), sono stati analizzati 10 caratteri morfometrici e 2 caratteri meristici (Tab. 1). Per non introdurre altre fonti di variabilità, si è preferito campionare soltanto individui adulti, attorno ai 25 cm di lunghezza totale (Vallisneri *et al*., 2000). Inoltre, per eliminare l'effetto della taglia sugli esemplari considerati, i parametri cefalici sono stati rapportati alla lunghezza della testa e quelli corporei alla lunghezza standard. I dati sono stati analizzati mediante metodo statistico univariato (ANOVA con un criterio di classificazione e test di Bonferroni per il confronto delle medie) e multivariato (analisi discriminante) con il programma Statgraphics-Plus 1998.

Risultati

Analisi univariata

Nella Tab. 2 sono riportati i valori medi ed i confronti statistici dei parametri morfometrici e meristici delle sogliole comuni provenienti dalle tre aree di campio-

namento (Adriatico, Ionio e Tirreno). Sei caratteri sono significativamente diversi fra le tre regioni. Nello specifico, le sogliole dell'Adriatico presentano la dimensione di entrambi gli occhi, la lunghezza della pinna dorsale ed il numero delle vertebre più bassi rispetto ai corrispettivi valori delle sogliole del Tirreno, mentre queste ultime mostrano l'altezza relativa più bassa rispetto alle sogliole dell'Adriatico. Le sogliole dello Ionio sono più simili a quelle dell'Adriatico per la maggioranza dei caratteri.

Tab. 1 - Caratteri morfometrici e meristici, con i corrispondenti acronimi, usati per l'analisi della separazione degli stock di *Solea vulgaris.*

Morphometric and meristic characters and acronyms used for S. vulgaris *stock separation analysis.*

	Caratteri morfometrici
P	Peso (g)
LS	Lunghezza standard (mm)
T	Lunghezza della testa (mm)
M	Lunghezza mascella inferiore (mm)
OA	Diametro dell'occhio più alto (mm)
OB	Diametro dell'occhio più basso (mm)
PD	Lunghezza della pinna dorsale (mm)
PA	Lunghezza della pinna anale (mm)
H	Altezza (mm)
PPO	Lunghezza della pinna pettorale lato oculare (mm)
	Caratteri meristici
NV	Numero delle vertebre totali
NS	Numero delle spinule marginali sulle scaglie

Tab. 2 - Valori medi ed errori standard dei caratteri considerati (standardizzati o assoluti). "P": livello di significatività del test per confronti multipli tra le medie; a, b, c: letture uguali denotano confronti non significativi (basati sul test di Bonferroni).

Mean values and standard errors of different characters. P: level of significance of the multiple comparisons among mean; a, b, c: equal letters denote not significant comparison between means on the basis of Bonferroni test.

Caratteri	**Adriatico (n=86)**	**Tirreno (n=62)**	**Ionio (n=39)**	**P**
-P/LS	0.463±0.022	0.438±0.026	0.510±0.033	n.s
-T/LS	0.268±0.002	0.266±0.002	0.265±0.003	n.s.
-M/T	0.454±0.005	0.446±0.006	0.440±0.007	n.s.
-OA/T	0.125±0.002 [b]	0.136±0.003 [a]	0.117±0.003 [b]	<0.0001
-OB/T	0.131±0.002 [b]	0.140±0.003 [a]	0.119±0.003 [c]	<0.0001
-PD/LS	0.946±0.004 [b]	0.975±0.004 [a]	0.970±0.005 [a]	<0.0001
-PA/LS	0.797±0.007 [b]	0.830±0.009 [a]	0.802±0.011 [a,b]	0.0141
-H/LS	0.354±0.003 [b]	0.333±0.003 [a]	0.354±0.004 [b]	<0.0001
-PPO/LS	0.073±0.001	0.074±0.001	0.074±0.001	n.s.
-NV	43.651±0.271 [b]	46.194±0.271 [a]	44.308±0.341 [b]	<0.0001
-NS	12.016±0.291	12.016±0.291	12.205±0.367	n.s

Analisi multivariata

Nella Tab. 3 sono riportati i risultati dell'analisi discriminante. I gruppi sono molto discriminati sulla base delle variabili in esame. Il 70% degli esemplari risulta classificato correttamente. La prima funzione discriminante spiega il 75% della variabilità totale e separa le sogliole del Tirreno da quelle dei mari Adriatico e Ionio. La seconda funzione discriminante spiega il restante 25% della varianza totale (Fig. 1). Dai risultati dell'analisi, sostanzialmente in accordo con i risultati ottenuti mediante l'analisi univariata, i caratteri che hanno maggiore potere discriminante sono: altezza, occhio alto, vertebre. Quelli che maggiormente contribuiscono a spiegare la seconda sono: occhio basso, pinna dorsale, mandibola.

Tab. 3 - Coefficienti della funzione discriminante, autovalori, percentuale di varianza spiegata e test (χ^2) per la significatività delle variabili canoniche.
Discriminant function coefficients, eigenvalues, relative percent of variance and test (χ^2) for the significance of canonical variates.

Caratteri	**Coefficienti della funzione discriminante**	
	1	2
-P/LS	-0.35583	0.08028
-T/LS	0.13074	-0.34955
-M/T	-0.07125	-0.42031
-OA/T	0.41844	-0.20468
-OB/T	0.19829	-0.59217
-PD/LS	0.20317	0.73132
-PA/LS	0.25404	-0.00412
-H/LS	-0.4652	0.08606
-PPO/LS	0.03849	0.12137
-NV	0.57397	0.06171
-NS	0.20590	-0.18008
Autovalori	0.66071	0.21250
Percentuale di varianza spiegata	75.66	24.34
Wilks Lambda	0.49661	0.82474
$\chi 2$	125.288	34.490
d.f.	22	10
P	<0.0001	0.0002

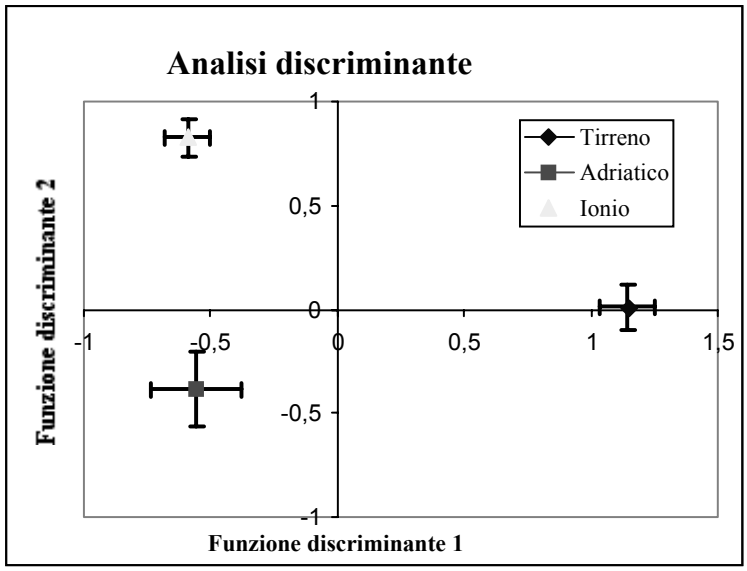


Fig. 1 - Rappresentazione grafica dei risultati dell'Analisi Discriminante ("plot" dei centroidi") applicata a *Solea vulgaris* dei mari italiani. Le barre rappresentano gli errori standard.
Graphic representation of the results of the Discriminant Analysis (plot of centroid) applied to S. vulgaris *from the Italian seas. Bars are standard errors.*

Conclusioni

Solea vulgaris presenta differenze morfometriche e meristiche fra i mari Adriatico, Ionio e Tirreno, relativamente ai dati analizzati. I risultati dell'analisi statistica mostrano, infatti, raggruppamenti in tre popolazioni distinte per oltre il 70% dei dati. La popolazione dello Ionio pare meno distante della popolazione del Tirreno rispetto a quella dell'Adriatico. Questa indagine preliminare, che trova riscontro con i recenti risultati genetici (Tinti e Piccinetti, 2002), suggerisce interessanti approfondimenti sia in relazione al singolo mare, che tra bacini diversi, anche in relazione alla gestione della pesca (Vallisneri *et al*., 2001).

Bibliografia

CORTI M., CROSETTI D. (1996) - Geographic variation in the grey mullet: a geometric morphometric analysis using partial warp scores. *J. Fish Biol*., **48**: 255-269.

HORWOOD J. (1993) - The Bristol channel sole (*Solea solea* L.): a fisheries case study. *Adv. Mar. Biol*., **29**: 215-368.

TINTI F., COLOMBARI A., VALLISNERI M., PICCINETTI C., STAGNI A.M. (1999) - Comparative analysis of a mtDNA control region fragment amplified from three Adriatic flatfish species and molecular phylogenesis of Pleuronectiformes. *Mar. Biotech*., **1**: 20-24.

TINTI F., GUARNIERO I., UNGARO N., PICCINETTI C. (2002) - Struttura genetica di *Solea vulgaris* dei mari Italiani determinata mediante analisi della variabilità di marcatori mitocondriali. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 818-821.

TURNER G.F., PITCHER T.J., GRIMM A.S. (2001) – Identification of the lake Malawi Oreochromis (Nyasalapia) spp. using multivariate morphometric techniques. *J. Fish Biol*., **35**: 799-812.

VALLISNERI M., PICCINETTI C., STAGNI A.M., COLOMBARI A., TINTI F. (2000) - Dinamica di popolazione, accrescimento e riproduzione di *Solea vulgaris* (Quensel 1806). *Biol. Mar. Medit*., **7**: 1-6.

VALLISNERI M., TINTI F., TOMMASINI S., PICCINETTI C. (2001) - Reproductive cycle of the common sole *Solea vulgaris* (Quensel 1806) in the Northern Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, **42** (2): 59-63.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 954-957

S. Vitale, A.M. Beltrano, A. Milazzo, S. Cusumano, M. Ingrassia

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, IRMA-CNR, Via L. Vaccara, 61
91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

SULLA DETERMINAZIONE DELL'ETÀ DEI PESCI MEDIANTE PESATURA DEGLI OTOLITI

ON FISH AGE DETERMINATION BY OTOLITH WEIGHT

Abstract

The accurate estimation of fish age-structure is indispensable for the study of population dynamic. This paper showed a linear relationship between fish age and $\log_e$ *of otoliths weight in* Sarpa salpa *(L., 1758) (pisces osteichthyes). The statistical analysis (F test) showed a not significant difference in the age structure estimated by traditional annuli counting and otolith weight. In* Sarpa salpa *this technique can be proposed as routine for age estimation.*

Key-words: Sarpa salpa*, age, otoliths weight, strait of Sicily.*

Introduzione

La stima dell'età nei pesci è indispensabile per gli studi di dinamica di popolazione. La variabilità di crescita tra diversi gruppi di età e il rallentamento dell'accrescimento negli adulti rende complessa la determinazione della struttura in età della popolazione. L'età nei pesci è spesso stimata con metodi diretti, attraverso l'interpretazione degli anelli di accrescimento dell'otolite o di altre parti dure caratterizzate da una crescita continua. Sebbene la stima dell'età attraverso la conta degli anelli dell'otolite risulta il principale metodo per lo studio della crescita dei pesci ossei, le letture effettuate da diversi osservatori coincidono per una percentuale che raramente supera il 90% (Sanderman, 1969; Ernst *et al*., 1995).

Molti autori hanno dimostrato che esiste una relazione tra il peso dell'otolite e l'età dei pesci (Boehlert, 1985; Pawson, 1990; Fletcher, 1991; Worthington *et al*., 1995) poiché il peso dell'otolite cresce durante tutta la vita dell'esemplare (Fowler e Doherty, 1992).

La tecnica della stima dell'età mediante pesatura dell'otolite si è rivelata più efficace rispetto alla stima dell'età attraverso la lettura dell'otolite in *Sardinops neopilchardus* tant'è che è stata suggerita come procedura standard per la stima dell'età degli esemplari catturati dalla pesca commerciale (Fletcher e Blight, 1996).

In questo lavoro si è cercato di individuare l'esistenza di una relazione lineare tra il $\log_e$ del peso dell'otolite e l'età della salpa.

Materiali e metodi

I dati sono stati raccolti nell'ambito di un progetto denominato "Stocks assessment of some coastal species caught by artisanal fishery (SACS)" finanziato dall'Unione Europea, dal Consiglio Nazionale delle Ricerche e dal National Agricultural Research Foundation.

Tra l'ottobre 1997 e il settembre 1998 lungo la costa meridionale della Sicilia so no state campionate le catture di salpa della flotta artigianale. Complessivamente sono

stati raccolti 532 esemplari. Sono stati prelevati gli otoliti per la stima dell'età attraverso l'osservazione degli anelli di accrescimento. Ciascuna coppia di sagitte è stata letta mediante uno stereomicroscopio a luce riflessa con ingrandimento di 9× da due osservatori per tre volte, a circa un mese una dall'altra, ed è stato utilizzato il valore medio dell'età determinata nelle tre diverse letture.

Tutti gli otoliti sinistri, opportunamente ripuliti ed essiccati, sono stati pesati mediante una bilancia digitale con una precisione al 0,1 mg.

Poiché la relazione tra l'età (x) e il peso dell'otolite (y) non è lineare, la trasformazione logaritmica del peso ($\log_e$(P.O.+1) dell'otolite è stata effettuata per stabilizzare la varianza e stimare i parametri *a* e *b* della relazione lineare come proposto da Cardinale *et al*., 2000.

Infine, la struttura in età della cattura costruita con l'età osservata (attraverso la lettura degli otoliti) è stata confrontata con la struttura in età stimata mediante un test F a blocchi randomizzati.

Risultati

L'osservazione degli anelli di accrescimento sugli otoliti ha permesso di individuare 9 classi di età (0-8 anni).

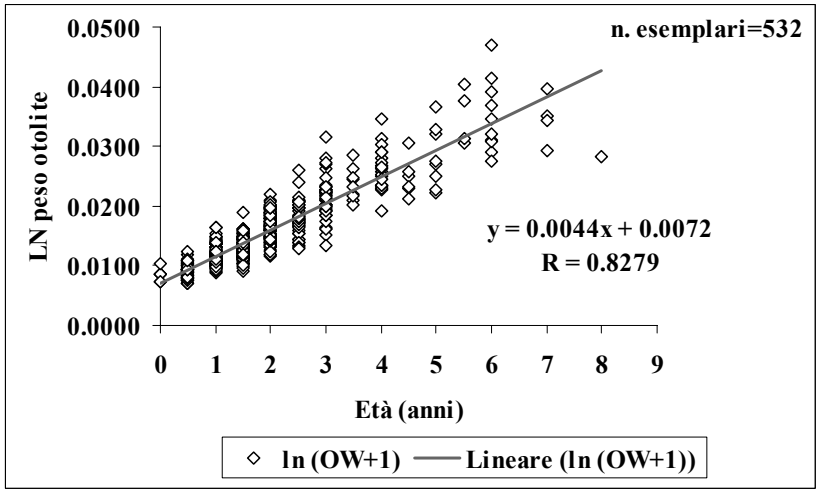


Fig. 1 - Relazione tra il $\log_e$ del peso dell'otolite e l'età.
Relationship between $\log_e$ otoliths weight and age.

I parametri *a* e *b* della relazione lineare tra il $\log_e$ del peso dell'otolite e l'età (Fig. 1) sono risultati pari a 0.0044 e 0.0072 rispettivamente. Poiché il coefficiente di regressione (R = 0.8279) mostra un buon adattamento ai dati sperimentali, il confronto tra la struttura della cattura osservata non differisce dalla struttura della cattura stimata attraverso il peso degli otoliti (Fig. 2).

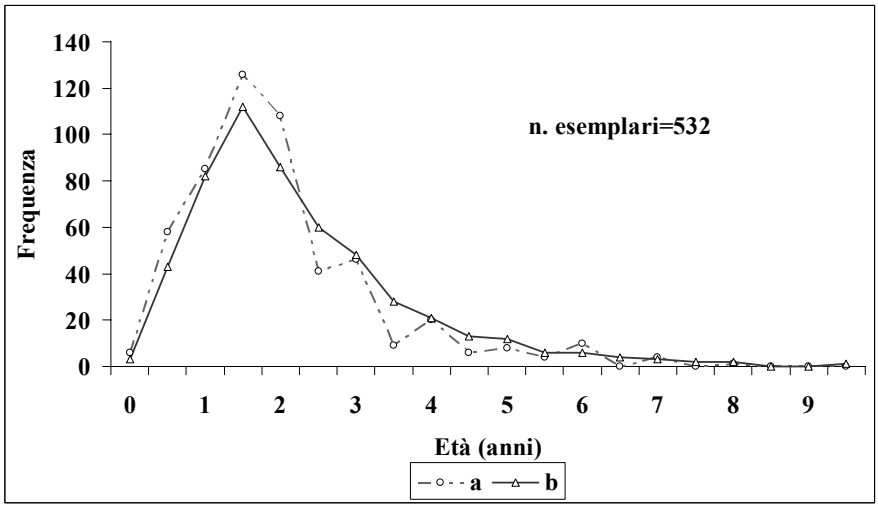


Fig. 2 - Struttura in età stimata mediante lettura degli otoliti (a); struttura in età determinata mediante pesatura degli otoliti (b).
Age-structure estimated by otoliths reading (a); age-structure determined by otoliths weight (b).

Le varianze delle due strutture per età osservata e stimata non sono statisticamente diverse($F^* = 0.013 < 1$, $531F0.05 = 3.84$).

Conclusioni

La sovrapposizione delle strutture in età e la verifica che non ci sono differenze significative secondo il test F indicano che tale metodo può essere utilizzato per la stima dell'età degli esemplari di salpa. La riduzione dei tempi di analisi e gli inevitabili errori di lettura delle bande di crescita dell'otolite rendono sicuramente vantaggioso l'utilizzo della tecnica proposta.

Bibliografia

BOEHLERT G.W. (1985) – Using objective criteria and multiple regression models for age determination in fishes. *Fish. Bull. U.S.*, **83**: 103-117.

CARDINALE M., ARRHENIUS F., JOHNSSON B. (2000) – Potential use of otolith weight for the determination of age-structure of Baltic cod (*Gadus morhua*) and plaice (*Pleuronectes platessa*). *Fisheries Research*, **45**: 239-252

ERNST P., LARSSON P.O., RAINER O., SCHULTZ N. (1995) – Preliminary results of a comparative cod otolith age reading experiment carried out by scientist from Sweden and Germany in 1994. *ICES C.M.* 1995/J:25: 20 pp.

FLETCHER W.J. (1991) – A test of the relationship between otolith weight and age for the pilchard *Sardinops neopilchardus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**: 35-38.

FOWLER A.J., DOHERTY P.J. (1992) – Validation of annual growth increments in the otoliths of two species of damelfish from the southern Great Barrier. *Reef. Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, **43**: 1057-1068.

FLETCHER W.J., BLIGHT S.J. (1996) – Validity of using translucent zones of otoliths to age the pilchard *Sardinops sagax neopilchardus* from Albany, Westen Australia. *Mar. Freshwater Res.*, **47** (4): 617-624.

PAWSON M.G. (1990) – Using otolith weight to age fish. *J. Fish Biol*., **36**: 521-531.

SANDERMAN E.J. (1969) – Age determination and growth rate in redfish, *Sebastes* spp., from selected areas around New foundland. *Int. Comm. Northwest. Atl. Fish. Res. Bull.*, **6**: 79-106.

WORTHINGTON D.G., FOWLER A.J., DOHERTY P.J. (1995) – Variation in the relationship between otolith weight and age: implications for the estimation of age of two tropical damsel-fish (*Pomacentrus moluccensis* and *P. wardi*). *Can. J. Aquat. Sci.*, **52**: 233-242.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 958-965

C. Viva, B. Reale, M. Sbrana*

Centro Interuniversitario di Biologia Marina, Viale N. Sauro, 4 - 57100 Livorno, Italia.
*Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Italia.

ANNOTATED CHECK LIST OF THE SKATES (CHONDRICHTHYES; RAJIDAE) IN THE NORTHERN TYRRHENIAN SEA

LISTA COMMENTATA DELLE RAZZE (CHONDRICHTHYES; RAJIDAE) DEL MAR TIRRENO SETTENTRIONALE

Abstract

A list of skates of the northern Tyrrhenian Sea is presented on the base of the literature and data gathered in 15 years (1985-2001) of experimental bottom trawl surveys. Of the 17 species recognized for the Mediterranean Sea, 9 were identified directly or were reported in previous studies. Some species such as R. oxyrinchus *and* R. asterias *are common whereas others have almost disappeared. The index of abundance DI and BI (all skates pooled) is reported and compared with the landing index. A positive trend of the abundance index is highlighted.*

Key-words: *cartilaginous fishes, skates, trawlers, Tyrrhenian Sea, Mediterranean Sea.*

Introduction

The GRUND and MEDITS trawl surveys carried out from 1985 allowed the gathering of important time series data concerning the distribution and abundance of the Rajidae family in all Italian Seas (Relini and Piccinetti, 1991; Bertrand *et al*., 2000; Relini *et al*., 2000).

In the area of study, namely the northern Tyrrhenian Sea, knowledge on the biology and particularly the status of the stock of cartilaginous fish was low prior to the above mentioned surveys (Brunelli and Bini, 1934; D'Ancona and Razzauti, 1937; Matta, 1958; Bini, 1970). A first list of skates species, collected in this area during the 1985-87 GRUND survey, was drawn up by De Ranieri *et al*. (1991).

The objective of the present work is to give a more accurate description of the presence and abundance of the Rajidae family in the northern Tyrrhenian Sea after 16 years of trawl surveys. Although the importance of Rajidae both in economic value and in abundance is negligible, they are considered as biological indicators of evolution of the fauna in a given area, particularly where a major multispecies fishery is present, due to their ecological importance as apex predators and their biological characteristics (Vacchi and Notarbartolo di Sciara, 2000).

Materials and methods

To compile the list of Rajidae two main standard sources were used: data produced by research campaigns (GRUND and MEDITS), and the scientific literature. The surveys were carried out from 1985 to 2001 between 0 and 800 m depth; during the GRUND survey 24 cruises were performed for a total of 632 hauls, and 8 cruises for a total of 336 hauls during the MEDITS. The sampling strategy is reported in Relini (1998a, b) and Bertrand *et al.* (2000). During the various surveys, several authors identified the species by means of different criteria, mainly following the classification keys

of Tortonese (1956), Soljan (1975), Stehmann and Büerkel (1984). The species were named by adopting the terminology used in Stehmann and Büerkel (1984). Only for *R. clavata*, a target species in the MEDITS survey, total length and sex were collected.

Estimates of the abundance index (DI = N°/km^2) and biomass index (DB = Kg/ km^2), pooled for all the species, were based on the swept area method (Cochran, 1977) and refer to the strata "shelf" (0-200 m depth), "slope" (200-800 m depth) and total area (0-800 m depth).

The estimated indexes obtained during the trawl surveys were compared with the Rajidae annual landing per unit effort (LPUE, Kg/day/boat) of the trawl fleet of Porto Santo Stefano, the main port in the area of study. Landing data were collected monthly over a three to five day observation period at the local auction. Monthly landing of skates was estimated by raising the sampled data to the total fishing days of the fleet in that month. Fishing effort data were calculated monthly by consulting the official archives.

Results

From all the cruises carried out in the northern Tyrrhenian Sea from 1985 to 2001, seven species belonging to the Rajidae family were identified out of seventeen collected in the Mediterranean Sea (Quignard and Tommasini, 2000): *Raja* (*Dipturus*) *batis*, *Raja* (*Dipturus*) *oxyrinchus, Raja asterias, Raja clavata, Raja miraletus, Raja montagui*, *Raja* (*Rostroraja*) *alba* (Tab. 1). In previous studies, a number of authors reported the presence of some of these species in the area (Brunelli and Bini, 1934; D'Ancona and Razzauti, 1937; Matta, 1958; Bini, 1970). Moreover D'Ancona and Razzauti, (1937) reported the presence, at depths less than 200 m, of *Raja* (*Leucoraja*) *circularis* and *Raja* (*Leucoraja*) *fullonica* (Tab. 1).

Tab. 1 - Species list and bathymetric distribution of Rajidae recorded in the northern Tyrrhenian Sea.
Lista delle specie e distribuzione batimetrica di Rajidae segnalate nel mar Tirreno Settentrionale.

	GRUND	MEDITS	Previous works		
	1985-2001	1994-2001	Bini, 1973	D'Ancona e Razzauti, 1937	Matta, 1958
Raja (Dipturus) batis		530		<200	
Raja (Dipturus) oxyrinchus	190-716	158-612	350	<500	
Raja (Leucoraja) circularis				<200	
Raja (Leucoraja) fullonica				<200	
Raja asterias	14-365	12-297		<200	100
Raja clavata	156-524	65-250		<500	
Raja miraletus	23-380	84-178		<400	
Raja montagui	40-319	99-308		<400	
Raja (Rostroraja) alba	80-258			<200	

Tabb. 2 and 3 show the indexes, in abundance and biomass, for each species gathered during the GRUND and MEDITS surveys and for all strata.

Tab. 2 - Average abundance indices in number of specimens (DI = n/km^2) and in biomass (DB = kg/km^2) obtained during the GRUND surveys for each species. CV% = (s.e./mean) * 100.
*Indici di abbondanza medi in numero di individui (DI = n/km^2) e in biomassa (DB = kg/km^2) ottenuti durante le campagne GRUND per ciascuna specie. CV% = (e.s./media) * 100.*

		R. alba			*R. asterias*			*R. clavata*			*R. miraletus*			*R. montagui*			*R. oxyrinchus*			*Raja sp.*		
		SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL	SHELF	SLOPE	TOTAL
1985	**Kg/Km^2**	0,04		0,02					0,06	0,02	0,13	0,06	0,10	0,17	0,53	0,30						
	CV	100,01		100,00					100,00	100,00	100,00	70,51	79,22	100,00	56,03	50,72						
	N°/Km2	0,51		0,33					0,73	0,27	1,03	1,34	1,14	0,91	4,40	2,19						
	CV	100,83		98,98					100,18	99,45	100,01	69,37	64,10	99,65	54,80	48,63						
1986	**Kg/Km^2**								0,60	0,22				0,39	0,87	0,56				0,24	0,14	0,20
	CV							99,81	100,00	99,55				62,64	82,49	53,51				70,18	76,09	72,83
	N°/Km2							0,26	0,92	0,50				1,92	1,77	1,87				1,08	0,92	1,02
	CV							100,45	100,34	74,88				53,14	59,86	39,97				76,75	76,35	76,34
1987	**Kg/Km^2**							0,53		0,33	0,67		0,42	0,02		0,01				0,02		0,01
	CV							100,00		100,00	100,00		100,00	100,01		99,96				99,98		125,68
	N°/Km2							0,31		0,19	6,42		4,07	0,31		0,20				1,28		0,81
	CV							98,38		101,92	100,04		99,95	99,95		98,12				100,37		126,17
1990	**Kg/Km^2**										0,23	0,30	0,26	0,75		0,38						
	CV										79,06	158,11	67,34	79,06		100,00						
	N°/Km2										1,05	0,93	0,99	2,11		1,05						
	CV										79,47	79,45	75,00	79,09		112,46						
1991	**Kg/Km^2**				0,23	0,02	0,13				0,27		0,14	0,22	0,02	0,12		0,01	0,00			
	CV				81,65	145,79	92,70				81,65		100,00	81,65	101,70	91,61		145,84	99,89			
	N°/Km2				0,54	0,24	0,40				2,57		1,32	0,51	1,16	0,83		0,46	0,22			
	CV				82,33	80,19	85,64				81,47		113,87	82,26	56,24	65,15		78,65	114,60			
1992	**Kg/Km^2**				0,33	0,09	0,20		0,28	0,15	0,21		0,10					0,02	0,01			
	CV				49,14	85,05	49,01		141,42	100,00	80,00		100,00					141,41	100,01			
	N°/Km2				1,59	1,90	1,76		0,21	0,11	0,57		0,27					0,21	0,11			
	CV				43,02	95,44	44,24		139,68	99,78	80,70		99,72					141,27	101,34			
1993	**Kg/Km^2**		0,03	0,01	0,50		0,24				0,05		0,02							0,50		0,24
	CV		141,42	100,00	79,97		99,45				80,43		100,01							80,44		100,00
	N°/Km2		0,33	0,17	1,10		0,53				0,72		0,34							1,44		0,69
	CV		139,79	100,58	57,11		72,00				80,51		101,19							80,34		99,72
1994	**Kg/Km^2**				0,13		0,08		0,01		0,01		0,00	1,99	0,01	1,28		0,08	0,03	0,01		0,01
	CV				73,59		73,94		99,92	99,85	100,05		99,95	98,27	99,97	97,99		68,91	70,27	99,97		99,96
	N°/Km2				0,49		0,31		0,39	0,14	0,23		0,15	3,71	0,35	2,50		0,77	0,28	0,23		0,15
	CV				69,27		70,71		99,72	100,01	99,92		98,05	92,82	101,69	88,25		68,57	69,20	99,15		97,11
1995	**Kg/Km^2**				0,15		0,09	1,20	0,76	1,04	0,11		0,07	0,16	0,09	0,14		4,16	1,50			
	CV				100,00		100,00	73,37	100,00	59,70	93,94		94,02	100,00	87,48	78,29		98,25	98,32			
	N°/Km2				0,24		0,16	2,63	2,00	2,40	0,66		0,42	0,49	0,79	0,60		3,08	1,11			
	CV				101,65		97,23	69,77	100,17	56,92	73,92		74,75	100,29	68,62	61,28		65,74	67,27			
1996	**Kg/Km^2**				0,19	0,21	0,20	2,15	0,20	1,14							1,38	0,06	0,69			
	CV				69,16	100,00	62,54	100,00	100,00	91,12							100,00	100,00	95,82			
	N°/Km2				0,60	0,24	0,41	1,53	2,78	2,18							0,31	0,51	0,41			
	CV				68,72	98,88	56,57	100,33	100,10	73,89							98,77	99,21	72,78			
1997	**Kg/Km^2**					0,07	0,04		0,09	0,05	0,02		0,01	0,57	0,34	0,45		1,25	0,65			
	CV					100,00	99,99		100,00	100,01	99,98		100,03	100,00	88,95	69,60		100,00	100,00			
	N°/Km2					0,29	0,15		0,78	0,40	0,30		0,15	0,67	1,03	0,86		1,21	0,63			
	CV					98,73	98,99		99,57	100,76	101,38		97,11	100,54	78,26	61,01		99,68	99,67			
1998	**Kg/Km^2**				1,75		0,84	1,34	0,60	0,95	0,03	0,14	0,09	0,37		0,18	2,34	0,65	1,46	0,05		0,02
	CV				78,22		78,77	100,00	100,00	74,32	99,99	100,00	86,16	100,00		100,00	100,00	76,67	78,55	88,30		88,55
	N°/Km2				3,27		1,57	0,67	1,55	1,13	0,27	1,03	0,67	0,93		0,45	1,00	1,52	1,27	0,69		0,33
	CV				62,92		63,95	99,93	100,08	76,34	99,04	100,53	82,11	100,31		99,62	100,43	49,80	48,55	70,41		71,14
2000	**Kg/Km^2**																	4,73	2,46			
	CV																	72,24	72,86			
	N°/Km2																	1,33	0,69			
	CV																	70,63	71,33			
2001	**Kg/Km^2**				2,14	1,02	1,56				0,21		0,10				1,10	0,05	0,55			
	CV				88,60	69,53	62,58				100,00		100,00				100,00	100,00	94,89			
	N°/Km2				4,99	7,01	6,04				0,60		0,29				0,86	0,27	0,56			
	CV				87,09	75,84	56,80				99,34		98,51				100,64	101,69	77,78			

Tab. 3 - Average abundance indices in number of specimens (DI = n/km^2) and in biomass (DB = kg/km^2) obtained during the MEDITS surveys for each species. CV% = (s.e./mean) * 100.
*Indici di abbondanza medi in numero di individui (DI = n/km^2) e in biomassa (DB = kg/km^2) ottenuti durante le campagne MEDITS per ciascuna specie. CV% = (e.s./media) * 100.*

		R. asterias			*R. clavata*			*R. miraletus*			*R. montagui*			*R. oxyrinchus*		
		SHELF	SLOPE	TOTAL.	SHELF	SLOPE	TOTAL.	SHELF	SLOPE	TOTAL.	SHELF	SLOPE	TOTAL.	SHELF	SLOPE	TOTAL.
1994	**Kg/Km^2**	0,92		0,44		0,09	0,05				0,49		0,24	4,85		2,31
	CV	100,00		100,00		100,00	99,99				100,00		100,00	100,00		100,00
	N°/Km2	0,88		0,42		0,43	0,22				1,70		0,81	0,85		0,41
	CV	99,61		99,56		99,66	101,70				100,23		100,20	100,23		98,98
1995	**Kg/Km^2**	1,37		0,65	1,09		0,52					0,17	0,09		3,74	1,96
	CV	69,20		70,21	100,00		100,00					87,11	87,42		81,26	81,72
	N°/Km2	2,99		1,43	1,98		0,94					1,11	0,58		1,64	0,86
	CV	73,81		74,35	99,95		100,13					69,91	70,77		57,07	58,31
1996	**Kg/Km^2**	4,64		2,21	1,50		0,72								0,27	0,14
	CV	93,28		93,47	100,00		100,00								99,11	99,13
	N°/Km2	9,43		4,49	3,07		1,46								0,91	0,48
	CV	89,25		89,56	99,86		99,98								69,35	69,76
1997	**Kg/Km^2**	8,33		3,97				0,86		0,41	8,54		4,07	1,43	1,26	1,34
	CV	100,00		100,00				100,00		100,00	97,38		97,46	100,00	100,00	69,85
	N°/Km2	4,09		1,95				0,88		0,42	5,02		2,39	1,02	0,42	0,71
	CV	99,94		99,86				99,61		99,20	82,58		83,09	100,18	100,51	74,54
1998	**Kg/Km^2**	5,36		2,55	0,97		0,46	0,04		0,02					0,63	0,33
	CV	80,29		80,88	100,00		100,00	100,01		100,02					96,06	96,14
	N°/Km2	2,91		1,39	1,02		0,49	0,99		0,47					0,93	0,49
	CV	54,71		56,28	100,18		99,20	100,28		100,46					69,23	69,59
1999	**Kg/Km^2**	6,99		3,33	5,30		2,52				0,67		0,32		0,07	0,03
	CV	56,53		58,12	65,77		66,91				68,93		69,94		100,00	99,99
	N°/Km2	20,53		9,78	3,71		1,77				1,79		0,85		0,44	0,23
	CV	59,87		61,26	58,10		59,45				68,83		70,07		99,33	99,29
2000	**Kg/Km^2**	0,51	0,16	0,33				0,06		0,03	1,58		0,75		5,37	2,81
	CV	100,00	82,39	76,36				100,00		99,99	100,00		100,00		68,03	68,90
	N°/Km2	0,99	0,87	0,93				1,06		0,50	0,99		0,47		3,72	1,95
	CV	100,28	68,62	60,23				99,78		100,61	99,83		100,13		75,77	76,28
2001	**Kg/Km^2**	0,29		0,14	9,43		4,49							0,11	2,32	1,27
	CV	100,00		100,00	82,47		82,98							100,00	95,62	91,74
	N°/Km2	1,04		0,50	11,32		5,39							1,10	1,37	1,24
	CV	100,19		99,06	90,29		90,58							100,22	55,09	52,26

R. batis. Only one small specimen (total weight 15.0 g) was caught during the spring 1996 cruise at 530 m depth, between the islands of Pianosa and Corsica.

R. oxyrinchus was the species that showed the highest frequency of occurrence (4.7%); it was widely distributed between 158 and 716 m depth, although higher frequency of occurrence and abundance was found at depths exceeding 400 m.

R. asterias was a common species in the area, with a frequency of occurrence 4.1%; it was distributed between 12 and 358 m depth, showing greatest yields at depths less than 100 m.

R. clavata. The frequency of occurrence of this species was 2.5%; it was mainly caught in the area surrounding the island of Montecristo between 150 and 350 m depth. Fig. 1 shows the length frequency distribution by sex of the specimens gathered during the MEDITS surveys. A total of 14 males, size range between 20.5 and 73.0 cm total length, and 8 females, 23.0-77.0 cm total length, were sized.

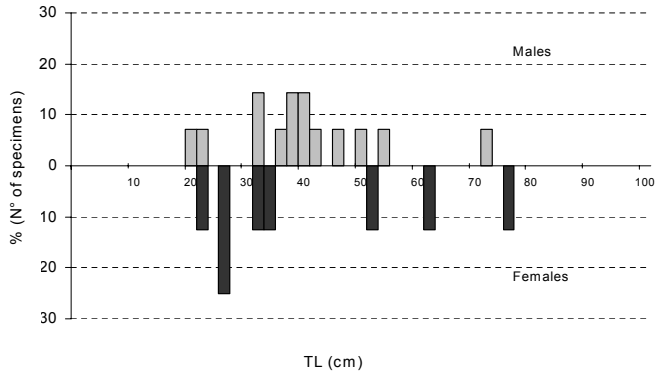


Fig. 1 - Length frequency distributions of the specimens of *R. clavata* collected during the MEDITS surveys.
Distribuzione di frequenza di taglia degli individui di R. clavata *raccolti durante le campagne MEDITS.*

R. miraletus was distributed in the bathymetric range between 23 and 380 m, mainly in the area between the isles of Montecristo and Elba, with a frequency of occurrence of 1.9%.

R. montagui, distributed between 40 and 319 m depth, was present with a frequency of occurrence of 3.9%, concentrated essentially along the bathymetric of 200 m.

R. alba. This was very rare in the area of study; only two specimens were caught: one during the spring 1985 cruise, at 80 m depth along the southern coast of the isle of Elba, and one in the spring 1993, at 258 m depth off the isle of Giglio.

The estimated indexes in number (DI) and biomass (DB), pooled for all the species, for the strata shelf, slope and total area, are shown in Tabb. 4 and 5, respectively for the GRUND and MEDITS trawl surveys. Generally the indexes were characterized by a high variability both within the same cruise (CV ranged between 35.9 and 158.9%) and among cruises.

Tab. 4 - Average abundance indices in number of specimens (DI = n/km^2) and in biomass (DB = kg/km^2) obtained during the GRUND surveys for all species pooled. CV% = (s.e./mean) * 100.
*Indici di abbondanza medi in numero di individui (DI = n/km^2) e in biomassa (DB = kg/km^2) ottenuti durante le campagne GRUND per tutte le specie messe insieme. CV% = (e.s./media) * 100.*

	SHELF				SLOPE				TOTAL AREA			
year	DB	CV	DI	CV	DB	CV	DI	CV	DB	CV	DI	CV
1985	0,33	69,8	2,45	72,2	0,65	61,4	6,47	68,6	0,45	45,9	3,93	50,1
1986	0,63	65,3	3,26	62,1	1,60	66,1	3,62	77,0	0,98	47,3	3,39	47,9
1987	1,23	89,6	8,32	102,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	113,2	5,27	129,6
1990	0,98	79,1	3,16	79,2	0,30	158,1	0,93	158,9	0,64	77,7	2,05	78,1
1991	0,72	44,6	3,62	58,8	0,05	73,2	1,86	71,5	0,39	52,9	2,77	50,5
1992	0,54	40,9	2,16	35,9	0,39	100,0	2,32	80,0	0,46	41,9	2,25	36,4
1993	1,05	53,9	3,26	47,2	0,03	141,4	0,33	139,8	0,52	67,0	1,73	55,4
1994	2,14	91,6	4,65	74,0	0,10	56,5	1,51	45,6	1,40	89,2	3,52	62,9
1995	1,61	55,3	4,02	47,4	5,01	98,3	5,88	74,4	2,83	65,1	4,69	41,9
1996	3,72	97,4	2,44	88,3	0,47	69,6	3,53	93,2	2,03	85,9	3,00	66,0
1997	0,59	83,9	0,98	64,2	1,75	88,8	3,30	70,4	1,20	60,7	2,18	48,9
1998	5,88	69,1	6,84	49,6	1,38	71,9	4,10	76,1	3,54	57,0	5,42	42,1
1999												
2000	0,00	0,0	0,00	0,0	4,73	72,2	1,33	70,6	2,46	72,9	0,69	71,3
2001	3,44	86,6	6,45	80,7	1,07	65,9	7,28	72,9	2,21	66,6	6,88	53,6

Tab. 5 - Average abundance indices in number of specimens (DI = n/km^2) and in biomass (DB = kg/km^2) obtained during the MEDITS surveys for all species pooled. CV% = (s.e./mean) * 100.
*Indici di abbondanza medi in numero di individui (DI = n/km^2) e in biomassa (DB = kg/km^2) ottenuti durante le campagne MEDITS per tutte le specie messe insieme. CV% = (e.s./media) * 100.*

	SHELF				SLOPE				TOTAL AREA			
Year	DB	CV	DI	CV	DB	CV	DI	CV	DB	CV	DI	CV
1994	6,27	85,8	3,43	77,4	0,09	100,0	0,43	99,7	3,03	84,8	1,86	69,4
1995	2,46	56,4	4,97	57,5	3,91	77,5	2,75	41,6	3,22	52,9	3,81	38,8
1996	6,14	73,3	12,50	70,3	0,28	96,6	1,38	73,4	3,07	70,6	6,67	63,7
1997	19,16	94,2	11,01	83,5	1,26	100,0	0,42	100,5	9,79	88,1	5,46	80,6
1998	6,37	68,2	4,93	39,7	0,63	96,1	0,93	69,2	3,37	62,8	2,84	36,2
1999	12,96	42,5	26,02	50,6	0,07	100,0	0,44	99,3	6,21	44,7	12,62	51,5
2000	2,15	75,9	3,04	54,7	5,53	65,9	4,58	61,7	3,92	52,4	3,85	43,2
2001	9,83	79,2	13,46	76,7	2,32	95,6	1,37	55,1	5,89	65,8	7,13	69,5

The biomass indexes observed during the MEDITS surveys (DB ranged from 3.0 to 9.8 Kg/km^2 were higher than the GRUND survey (DB ranged from 0.4 to 3.5 Kg/km^2).

During the MEDITS surveys the higher indexes were consistently found in the shelf stratum; whereas during the GRUND surveys the importance of the stratum varied in the different years. Number indexes showed a similar trend to biomass indexes.

The biomass indexes for the total area were compared with the annual Rajidae LPUE of the trawl fleet of Porto Santo Stefano, the main port in the study area (Fig. 2). Although fluctuations were observed, a positive trend of the indexes was found both for the trawl surveys and the landing data.

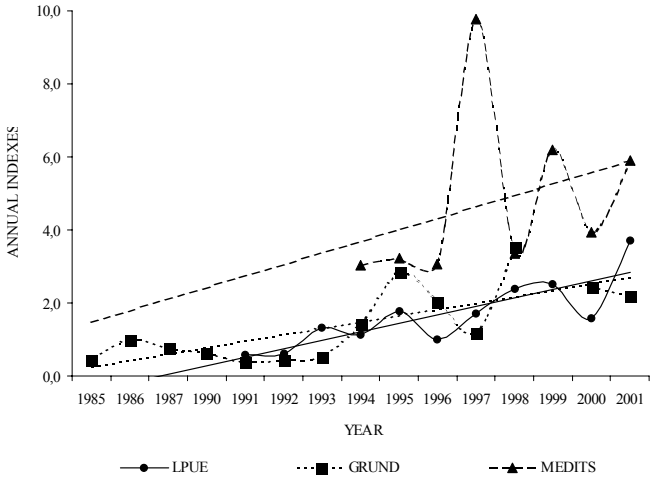


Fig. 2 - Annual abundance indices of Porto Santo Stefano trawl landing (kg/day/boat) and MEDITS and GRUND surveys (kg/km^2). Regression lines are also reported.
Indici annuali di abbondanza e relative linee di regressione dello sbarcato a strascico di Porto Santo Stefano (kg/giorno/barca) e delle campagne GRUND e MEDITS (kg/km^2).

Conclusions

Nine species belonging to the Rajidae family were reported for the northern Tyrrhenian Sea, of which two very rare and two reported for research carried out prior to the trawl surveys. Variability in the abundance indexes of the most important species was observed; indices were generally low but with marked fluctuations during the years.

Analysis of the trend of abundance indexes pooled for all Rajidae species showed a positive trend, in contrast to findings for other Italian Seas obtained by Sion *et al*. (2000).

According to Hemida *et al*. (2000) the higher indexes obtained during the MEDITS cruises were probably due to greater efficiency of the gear utilised, which presented a vertical opening higher than that utilised in the GRUND surveys.

In conclusion, the abundance of Rajidae in the northern Tyrrhenian Sea seems to be negligible, especially if compared with similar data of adjacent areas (Bertrand *et al*., 2000; Relini *et al*., 2000). This may be due to the environmental characteristics of this area (mainly morphology and type of bottom), that doesn't allow the presence of high amounts of these species. In addition, the lack of consistent historical catch data makes impossible to know if this resource was considerably more abundant in the past.

However, the positive trend showed by the biomass indexes in the last fifteen years could be related with the strong reduction of trawl fishing effort observed in the area in the same period (Sbrana, 2000).

References

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACOSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) - An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. In: Bertrand J.A., Relini G. (eds), *Demersal resources in the Mediterranean*., Actes de Colloques, Ifremer Edition, **26**: 76-93.

BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPACOSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) – Contribution on the distribution of elasmobranches in the Mediterranean (from the Medits surveys). *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 385-399.

BINI G. (1970) - Ricerche sulla pesca a strascico nelle acque tirreniche dell'Arcipelago Toscano, delle coste laziali, del Golfo dell'Asinara e al largo della Corsica. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol*., **25** (2): 249-271.

BRUNELLI G., BINI G. (1934) – Ricerche comparative sulle pesche profonde di diversi mari italiani. *Boll. Pesca Piscicolt. Idrobiol*., Anno **10**: 733 pp.

COCHRAN (1977) – *Sampling techniques*: Wiley series probability and mathematical statistics.

D'ANCONA U., RAZZAUTI A. (1937) - Pesci e pesca nelle acque dell'Arcipelago Toscano. *Comm. Intern. Explor. Scientif. Mer Medit*., Rapports pour les Réunions scientifiques: 16 pp.

DE RANIERI S., BIAGI F., SBRANA M. (1991) – Condroitti di fondi molli nell'Arcipelago Toscano Meridionale. *Ricerche Biologia Selvaggina*, **14** (Suppl.): 71-73.

HEMIDA F., MOUMENE F., GIORDANO D. (2000) – Distribution of some ray species from the Algeria basin. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 412-416.

MATTA F. (1958) – La pesca a strascico nell'Arcipelago Toscano. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol*., **13**: 23-371.

QUIGNARD J.P., TOMASINI J.A. (2000) - Mediterranean fish biodiversity. *Biol. Mar. Medit*., **7** (3): 1-66.

RELINI G. (1998 a) – I progressi della ricerca italiana sulla pesca a strascico. *Biol. Mar. Medit*., **5** (2): 3-21.

RELINI G. (1998 b) – Valutazione delle risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G., BIAGI F., SERENA F., BELLUSCIO A., SPEDICATO M.T., RINELLI P., FOLLESA M.C., PICCINETTI C., UNGARO N., SION L., LEVI D. (2000) – I selaci pescati con lo strascico nei mari italiani. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 347-384.

RELINI G., PICCINETTI C. (1991) – Stato attuale dei censimenti ittici nei mari italiani. *Ricerche Biologia Selvaggina*, **14** (Suppl.): 29-54.

SBRANA M. (2000) - Monitoring of the trawl and gillnet landings in the Central and Northern Tyrrhenian Sea. EU Contract N° 97/0068, Final technical report: 166 pp.

SION L., D'ONGHIA G., BASANISI M., PANZA M. (2000) – Distribuzione dei selaci sui fondi strascicabili del mar Ionio nord-occidentale. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 455-460.

SOLJAN T. (1975) – *I pesci dell'Adriatico*. Mondatori ed.: 522 pp.

STEHMANN M., BÜERKEL D.L. (1984) – Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.-L., Hureau J.-C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), FNAM. Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean. UNESCO, Paris, **1**: 163-196.

TORTONESE E. (1956) – Fauna d'Italia. Leptocardia, Ciclostomata, Selachii. Ed. Calderini Bologna: 334 pp.

VACCHI M., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2000) – I pesci cartilaginei nei mari italiani, una risorsa che richiede urgenti misure di tutela. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 296-311.

This work was carried out analysing data collected during trawl surveys financed by the Ministero delle Politiche Agricole e Forestali of Italy and by the Commission of the European Union (D.G. XIV).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 966-970

A. Voliani, A. Abella, C. Cuoco

A.R.P.A.T. - Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana,
Sezione Regionale G.E.A., Via Marradi, 114 - 57126 Livorno, Italia.

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DI TRE SPECIE DI *PAGELLUS* NEL MAR LIGURE SUD-ORIENTALE

GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF THREE SPECIES OF PAGELLUS *IN SOUTH-EASTERN LIGURIAN SEA*

Abstract

The geographic distribution of three species of Pagellus *(Osteichthyes, Sparidae) off the Northern Tuscan coasts was studied. Recruitment always occurs near the coast, but the distribution patterns of the species differ in successive phases of life. While* P. erythrinus *mostly remains in the shelf all its life, bigger individuals of* P. acarne *and* P. bogaraveo *show a shift towards deeper waters, more evident for the second species.*

Key-words: Pagellus *spp. geographical distribution, Ligurian Sea.*

Introduzione

Nei mari italiani il genere *Pagellus* è rappresentato da tre specie: *P. erythrinus* (pagello fragolino), *P. acarne* (in Toscana chiamato mafrone) e *P. bogaraveo* (detto localmente occhione). *P. erythrinus* è diffuso lungo tutte le coste italiane, mentre le altre due specie sono poco comuni in Adriatico (Relini *et al*., 1999).

Orsi Relini *et al*. (1984) hanno descritto la presenza di giovani a bassa profondità lungo le coste liguri. Le informazioni relative agli spostamenti lungo la piattaforma continentale delle tre specie durante il loro ciclo vitale sono scarse; *P. bogaraveo* è la specie a più ampia distribuzione verticale e può essere catturato fino a 800 metri di profondità; *P. erythrinus* e *P. acarne*, invece, sono considerati più comuni fino alle batimetriche di 100 e 180 metri, rispettivamente (Relini *et al*., 1999).

In questo lavoro è stata analizzata la distribuzione geografica e batimetrica di ciascuna specie in relazione all'età, nell'area prospiciente le coste toscane settentrionali, a nord dell'Isola d'Elba.

Materiali e metodi

Sono stati usati i rendimenti orari (kg/h e n/h) e le distribuzioni di taglia delle tre specie, ottenute da 23 campagne di pesca a strascico realizzate nell'ambito del programma GRU.N.D. (Relini, 2000) e da 8 del programma MEDITS (Bertrand *et al*., 2000), condotte nell'area prospiciente la costa toscana settentrionale dal 1985 al 2001. Il campionamento, random stratificato per profondità, ha coperto la zona fino all'isobata di 800 m.

Le informazioni, che sono georeferenziate, sono state rappresentate e analizzate con l'estensione "Spatial analyst" del programma ArcView (ESRI, 1996). Sono state create 4 carte tematiche per ognuna delle tre specie che descrivono la consistenza delle popolazioni nell'area indagata e i loro spostamenti ontogenetici. Per quest'ultimo obiettivo, le popolazioni sono state suddivise in tre gruppi: le classi d'età 0+ e 1+ e un terzo gruppo che comprende tutte le classi successive. La suddivisione in classi d'età è stata

fatta utilizzando i parametri di crescita, stimati in Voliani *et al*. (2003), e mettendo in relazione le distribuzioni di taglia (lunghezza totale; cm) con il periodo dell'anno. Per le analisi sono risultati disponibili 13.621 esemplari di *P. erythrinus*, 5.794 di *P. acarne* e 1.906 di *P. bogaraveo*.

Risultati

In Fig. 1 sono rappresentate le distribuzioni geografiche delle tre specie, espresse come rendimenti (kg/h). Il pagello fragolino è presente lungo tutta la fascia costiera, isole comprese, con rese più abbondanti in prossimità delle secche e, in generale, nell'area meridionale; la piattaforma non è interamente interessata alla presenza di questo pagello che risulta sporadico a profondità superiori a 150 metri. Il mafrone ha una distribuzione simile a quella della specie precedente, ma meno continua in tutta l'area ed inoltre si spinge più frequentemente a profondità maggiori, in particolare nel canale in prossimità delle isole di Capraia e Gorgona. L'occhione mostra una presenza ancor più discontinua su tutta la piattaforma, mentre appare più frequente nel batiale, in particolare in prossimità delle secche rocciose del largo.

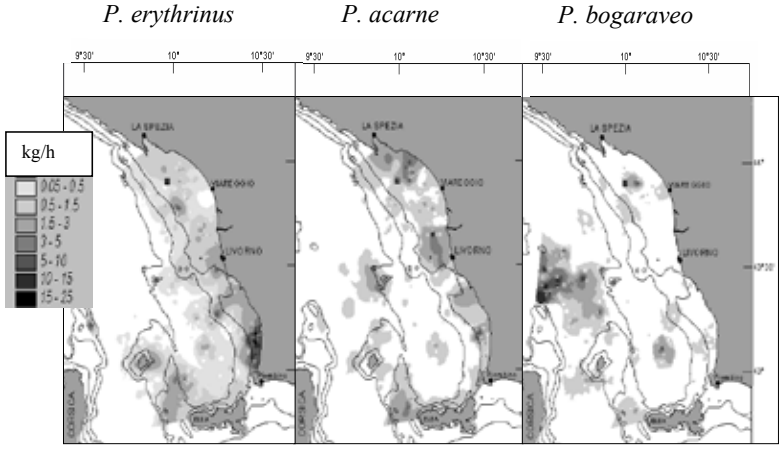


Fig. 1 - Distribuzione degli indici di biomassa delle tre specie di *Pagellus* analizzate.
Distribution of biomass indices of the three investigated Pagellus *species.*

In Fig. 2 sono rappresentate, in successione, le distribuzioni spaziali delle abbondanze (n/h) dei tre gruppi d'età per le tre specie. Il pagello fragolino mostra una progressiva diminuzione della frequenza sottocosta, più accentuata dopo il secondo anno di vita (età >1+) e nell'area settentrionale; l'apparente assenza di giovani della 0+ lungo la costa delle isole è da attribuire alla carenza di informazioni nelle zone a fondi duri non strascicabili. Nel mafrone appare invece uno spostamento verso il largo, più evidente, anche se con pochi esemplari, nelle classi d'età superiori. Nell'occhione il fenomeno dell'allontanamento dalla costa con il progredire dell'età è ancora più evidente.

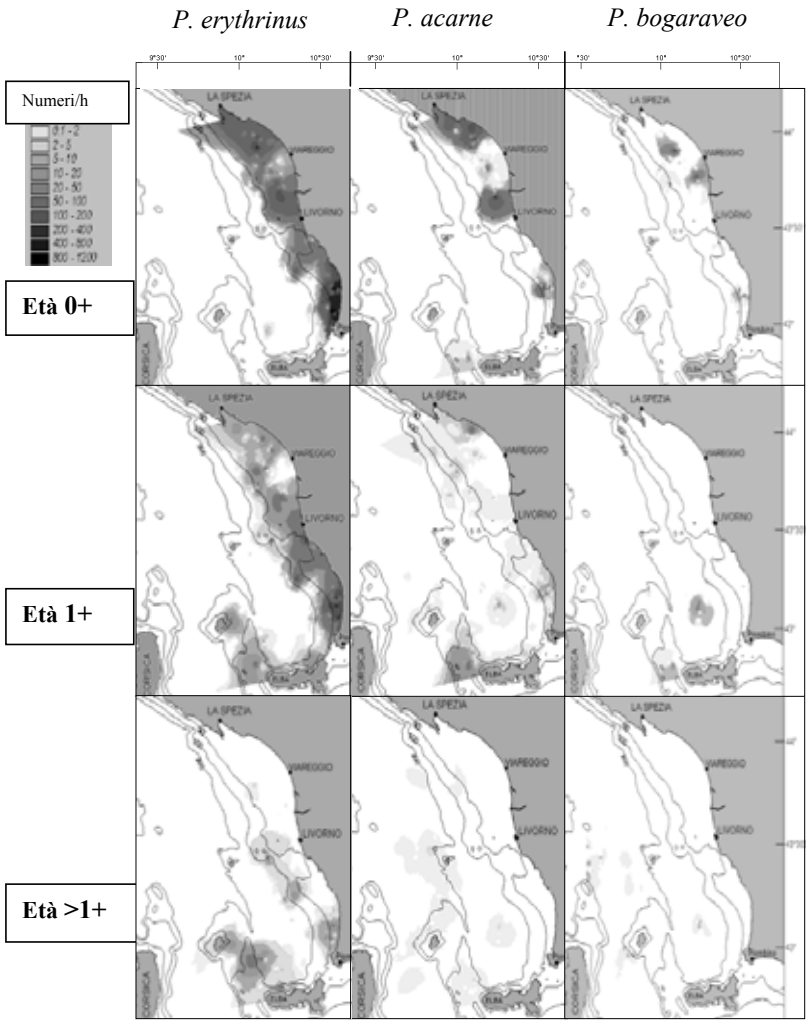


Fig. 2 - Distribuzione spaziale delle abbondanze delle tre specie di *Pagellus* per classe di età.
Spatial distribution of abundance of the three species of Pagellus *by age class.*

Le considerazioni emerse con le analisi delle carte trovano conferma nei grafici di Fig. 3 dove, per ogni specie, sono indicati gli intervalli, i quartili e le mediane delle lunghezze totali degli esemplari campionati nei diversi strati di profondità. Quest'analisi indica che in *P. erythrinus* la mediana aumenta leggermente con la profondità, ma gli intervalli di taglia sono tutti sovrapposti (nell'area con profondità tra 20 e 50 metri è compreso quasi completamente l'intervallo delle lunghezze osservate); in *P. acarne*, e ancor di più in *P. bogaraveo*, l'aumento della taglia con la profondità è evidente, sia osservando le mediane che i quartili delle lunghezze rilevate.

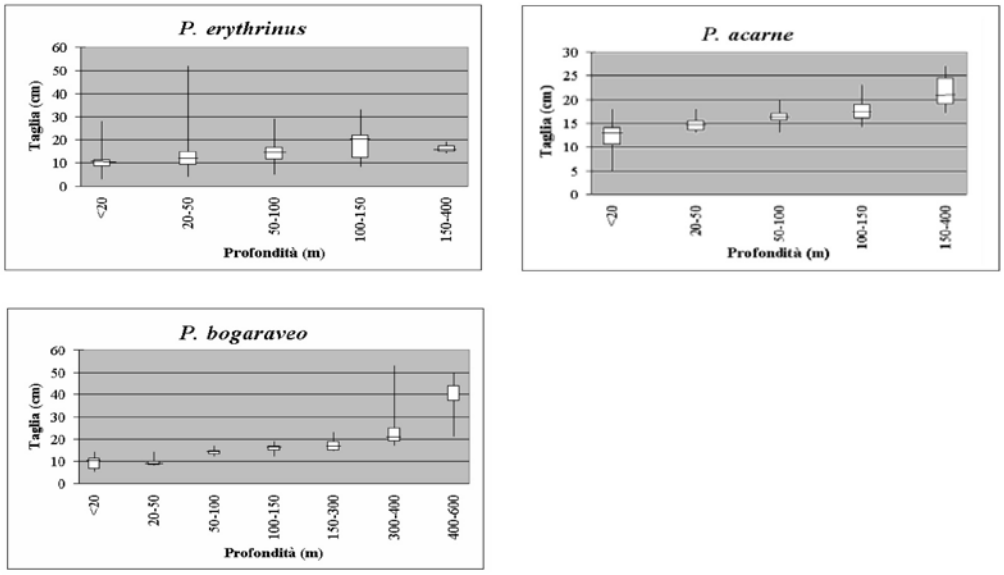


Fig. 3 – Relazione tra taglia (lunghezza totale) di *Pagellus* spp. e profondità. Sono rappresentati l'intervallo delle taglie osservate (barra verticale), i valori corrispondenti al primo e al terzo quartile (rettangolo) e la mediana (linea orizzontale).

Relationship between size (total length) and depth in Pagellus *spp. The observed size range (vertical line), the values corresponding to the first and third quartile (rectangle) and the median (horizontal line) are represented.*

Conclusioni

Le tre specie presentano tutte un reclutamento costiero, ma una successiva dispersione dalle zone di nursery che si differenzia sensibilmente. Il pagello fragolino è distribuito lungo tutta la fascia costiera, ma con densità diverse, probabilmente in relazione alle condizioni ambientali, ma anche alla differente pressione di pesca a cui sono sottoposte le due zone, a nord e a sud di Livorno (Abella *et al*., 1999). Questa ipotesi è confermata dalla successiva evoluzione nelle due aree riguardo alle abbondanze per classi di età: individui più anziani ben rappresentati a sud e in prossimità delle isole e quasi assenti a nord. In prossimità della costa, nelle aree meno sfruttate, insieme ai giovani si possono trovare tutte le classi d'età, anche gli esemplari più anziani.

Il mafrone appare distribuito in maniera più discontinua lungo la fascia costiera, forse anche in relazione al comportamento gregario che il campionamento casuale traduce in indici di biomassa molto eterogenei a seconda dell'incontro o meno del banco di pesci. Inoltre, questa specie mostra una progressiva dispersione verso il largo delle taglie maggiori.

Per l'occhione, come già evidenziato da Orsi Relini e Fida (1992) nel Mar Ligure Settentrionale, gli esemplari più anziani sono stati rilevati a profondità elevate, comprese tra 400 e 600 m. Questo fatto, unito alle scarse catture di giovani nella fascia costiera, ha fatto sì che le maggiori biomasse siano state identificate nella zona del

batiale. Per questa specie, forse più che per le altre due, i risultati possono essere stati condizionati dalla presenza di ampie zone con fondi duri non strascicabili (zona dei coralli bianchi e delle secche del largo) dove non è stato possibile campionare, ma l'occhione è catturato comunemente da pescatori professionisti e dilettanti mediante la pesca con i palangresi e con i filaccioni.

Bibliografia

ABELLA A., BELLUSCIO A., BERTRAND J., CARBONARA P.L., GIORDANO D., SBRANA M., ZAMBONI A. (1999) – Use of MEDITS trawl survey data and commercial fleet information for the assessment of some Mediterranean demersal resources. *Aquat. Living Resour*., **12** (3): 155-166.

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (2000) – An international trawl survey in the Mediterranean: the MEDITS programme. *Actes de Colloques IFREMER,* **26**: 76-93.

ESRI (1996) - *ArcView GIS. The Geographic Information System for Everyone*. Environmental Systems Research Institute, Inc.: 340 pp

ORSI RELINI L., FIDA B. (1992) – Note di biologia di *Pagellus bogaraveo* in Mar Ligure. *Oebalia*, **17** (2) (Suppl.): 81-86.

ORSI RELINI L., RELINI G., ROMEO G., TUNESI L. (1984) – Reclutamento e primo accrescimento degli Sparidi del genere *Pagellus* sui fondi strascicabili costieri del Mar Ligure. *Nova Thalassia*, **6** (Suppl.): 489-501.

RELINI G. (2000) – Demersal trawl surveys in Italian Seas: a short review. *Actes de Colloques IFREMER,* **26**: 46-75.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds.) (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (Suppl. 1): 869 pp.

VOLIANI A., ABELLA A., MANCUSI C. (2003) – Accrescimento di tre specie di *Pagellus* nel Mar Ligure sud-orientale. *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 971-974.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 971-974

A. Voliani, A. Abella, C. Mancusi*

A.R.P.A.T. - Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana,
Sezione Regionale G.E.A., Via Marradi, 114 - 57126 Livorno, Italia.
*ICRAM Roma, Italia.

ACCRESCIMENTO DI TRE SPECIE DI *PAGELLUS* NEL MAR LIGURE SUD-ORIENTALE

GROWTH OF THREE SPECIES OF PAGELLUS *IN THE SOUTH-EASTERN LIGURIAN SEA*

Abstract

Individual growth of three Pagellus *species* (P. erythrinus, P. acarne, P. bogaraveo; *Osteichthyes, Sparidae*) *in the South-Eastern Ligurian Sea was studied. Estimates of von Bertalanffy growth parameters were obtained by length frequency analyses. Data proceed from trawl surveys performed in the period 1985-2001 and from information collected during other studies on the coastal recruitment. Among the three species,* P. acarne *shows the higher value of K but lower* L_{∞}. P. bogaraveo *is characterised throughout its life span by a biggest size-at-age.*

Key-words: Pagellus, *growth, Tuscan Archipelago.*

Introduzione

L'accrescimento individuale delle tre specie di *Pagellus* presenti nei mari italiani è già stato studiato da molti Autori in diverse aree del Mediterraneo e dell'Atlantico; tra di essi si ricordano alcuni lavori relativi ai mari italiani (Andaloro, 1982; Andaloro e Prestipino Giarritta, 1985; Orsi Relini e Romeo, 1985; Orsi Relini e Fida, 1992; Cefali *et al*., 1998) ed altri ritenuti utili per confronto (Krug, 1989; Pajuelo e Lorenzo, 1998). Tutti i precedenti studi hanno utilizzato la tecnica della lettura degli annuli di accrescimento negli otoliti o nelle scaglie. Nel presente lavoro lo stesso argomento è stato affrontato avvalendosi delle distribuzioni di taglia ed analizzando la progressione delle classi modali.

Materiali e metodi

I dati utilizzati provengono dalle campagne di pesca a strascico dei programmi GRUND (Relini, 1998), degli anni 1985-2001, e MEDITS (Bertrand *et al*., 1997), degli anni 1994-2001, condotte nell'area prospiciente le coste settentrionali della Toscana, a nord dell'Isola d'Elba. Ulteriori informazioni sulle reclute sono state acquisite nel periodo 1994-97 mediante campionamenti svolti con reti non selettive per la pesca di *Aphia minuta* (Auteri, 1996). Complessivamente sono state rilevate le taglie (lunghezza totale al mezzo cm inferiore) di circa 18400 individui di *Pagellus erythrinus*, 8400 di *P. acarne* e 1500 di *P. bogaraveo*. Le distribuzioni di taglia sono state elaborate per tutti gli anni combinati, accorpandole in sei periodi di due mesi ciascuno. Non si è ritenuto opportuno separare le distribuzioni per sesso in quanto le tre specie analizzate sono ermafrodite. Per la stima dei parametri di crescita, secondo il modello di von Bertalanffy (VBGF), sono state individuate le diverse coorti nelle distribuzioni delle lunghezze mediante la separazione delle classi modali con i programmi Bhattacharya e NORMSEP presenti nel software FiSAT (Gayanilo *et al.*, 1996). Ad ognuna delle mode

è stata assegnata un'età mediante l'individuazione di un'ipotetica data di nascita scelta sulla base delle informazioni raccolte in bibliografia (Andaloro, 1982; Orsi Relini *et al*., 1984; Orsi Relini e Fida, 1992). Nella successiva interpolazione dei punti, per ogni specie è stata aggiunta anche la taglia massima campionata, alla quale è stata assegnata un'età, attingendo dalle indicazioni bibliografiche (Andaloro, 1982; Orsi Relini e Fida, 1992). In questa procedura, una eventuale scarsa precisione dell'età assegnata non comporta differenze apprezzabili nei parametri in quanto le taglie maggiori sono prossime a L_∞, nella parte della curva dove il coefficiente angolare è vicino a zero.

Risultati

Le distribuzioni di taglia sono riportate in Fig. 1; agli istogrammi sono sovrapposte le curve normali corrispondenti alle prime classi di età. Nel caso di *P. erythrinus* sono stati campionati esemplari di taglia compresa tra 1,5 e 52 cm LT, con una decisa prevalenza delle lunghezze inferiori a 20 cm. Il reclutamento (taglie da 1,5 a 5 cm) è risultato massiccio da giugno ad agosto, anche se è continuato fino al mese di dicembre; le distribuzioni del primo anno di vita appaiono talvolta bimodali, forse per il prolungarsi del reclutamento che avviene in maniera non continua. In *P. acarne* le taglie sono risultate comprese tra 3 e 29 cm LT, ma le più rappresentate sono quelle inferiori a 18 cm. La prima comparsa di giovani è avvenuta in novembre (esemplari di 2-3 cm). In *P. bogaraveo* sono state osservate taglie comprese tra 3 e 55 cm LT, con una prevalenza di taglie fino a 20 cm. Il reclutamento di questa specie è stato osservato in giugno (moda di 6-7 cm). I parametri di crescita (VBGF; K, anni $^{-1}$; L_∞, cm e t_0, anni) sono risultati i seguenti: 0,118; 54,3; –1,12 ($r^2 = 0{,}987$), 0,285; 30,4; –1.16 ($r^2 = 0{,}987$) e 0,127; 59,0; –1,06 anni ($r^2 = 0{,}992$) per *P. erythrinus*, *P. acarne* e *P. bogaraveo*, rispettivamente.

Le corrispondenti relazioni lunghezza (LT; cm) per età sono le seguenti:

Età (anni)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
P. erythrinus	12,0	16,7	20,9	24,6	27,9	30,9	33,5	35,8	37,8	39,7
P. acarne	14,1	18,2	21,3	23,6	25,3	26,6	27,5	28,3	28,8	29,2
P. bogaraveo	13,6	19,0	23,8	28,0	31,7	34,9	37,8	40,3	42,5	44,5

Conclusioni

Il metodo dell'analisi della progressione delle classi modali consente, se i dati sono numerosi, distribuiti nel corso dell'anno e ottenuti anche utilizzando reti non selettive, di avere ottime indicazioni sull'accrescimento, in particolare per i primi anni di vita. Di contro, il metodo presenta difficoltà per le classi di età successive, quando le mode non sono ben individuabili. Per questo sono stati inseriti, nelle elaborazioni, anche i valori delle taglie maggiori riscontrate nei campionamenti. Ciò ha permesso l'aggiustamento della curva ai valori osservati anche per le classi di età maggiori e, di conseguenza, una migliore stima del parametro L_∞. Inoltre, la scelta di accorpare i dati ogni due mesi ha consentito di individuare un maggior numero di mode nelle distribuzioni, in particolare per gli esemplari più anziani, generalmente meno rappresentati.

In *P. erythrinus*, gli accrescimenti nei primi tre anni sono risultati minori rispetto alle altre specie; questa specie, di contro, negli anni successivi, presenta taglie maggiori di *P. acarne*. Le taglie di *P. bogaraveo* sono maggiori rispetto alle altre specie per le classi di età superiori alla prima.

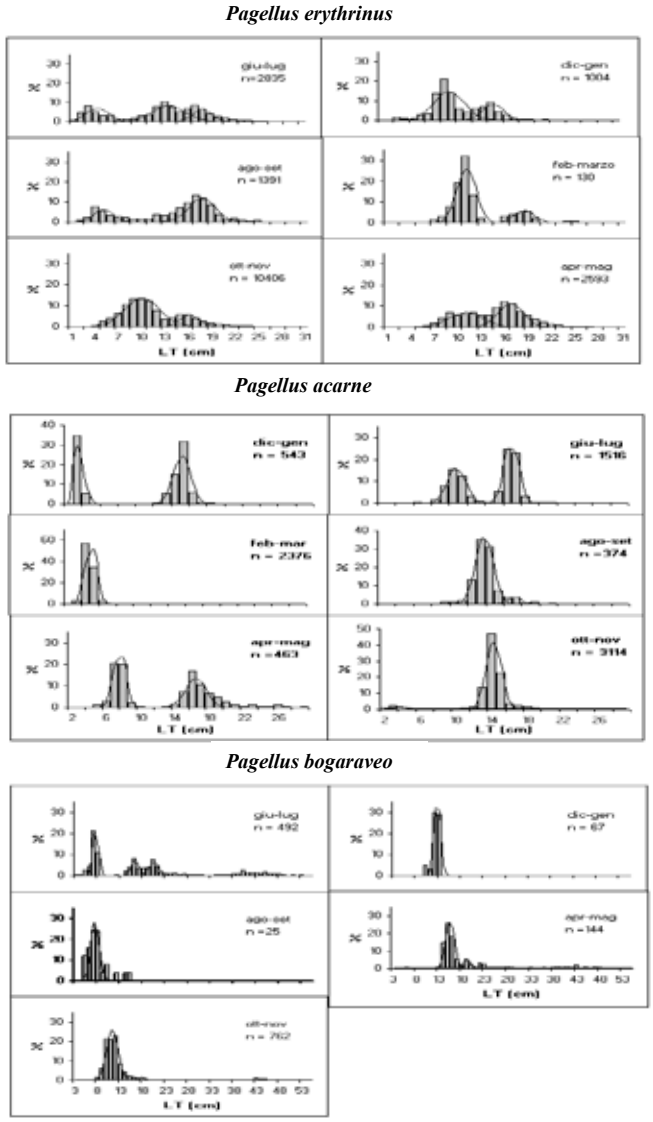


Fig. 1 - Distribuzioni di taglia delle tre specie di *Pagellus*. Agli istogrammi sono sovrapposte le curve normali delle prime classi di età.
Observed length distribution of the three species of Pagellus *and expected curves (over imposed) of the first years of life.*

Confrontando i risultati ottenuti con quelli di altri lavori, tutti effettuati utilizzando la lettura di otoliti o scaglie, la crescita di *P. erythrinus* appare molto simile a quella stimata da Pajuelo e Lorenzo (1998) alle Isole Canarie e, limitatamente ai primi anni, anche ai risultati ottenuti da Orsi Relini e Romeo (1985) nel Mar Ligure Settentrionale; sono invece più elevati rispetto agli accrescimenti rilevati da Andaloro e Prestipino

Giarritta (1985) e da Cefali *et al*. (1998) rispettivamente nello Stretto di Sicilia e nel Tirreno Meridionale. Riguardo a *P. acarne,* nel lavoro di Andaloro (1982), relativo alle acque dello Stretto di Messina, risultano accrescimenti minori nei primi tre anni di vita rispetto a quelli da noi rilevati, che invece concordano con i risultati del lavoro di Orsi Relini *et al*. (1984) relativo al Mar Ligure Settentrionale ed ai primi due anni di vita della specie. Gli accrescimenti di *P. bogaraveo* nel Mar Ligure sud-orientale sono risultati intermedi tra quelli poco superiori ottenuti da Orsi Relini e Fida (1992) nel Mar Ligure Settentrionale, e quelli di Krug (1989) in Atlantico, alle Isole Azzorre, risultati leggermente inferiori.

Bibliografia

ANDALORO F. (1982) – Résumé des paramètres biologiques sur *Pagellus acarne* de la Mer Tyrrhénienne méridionale et de la Mer Jonienne septentrionale. *FAO Fish. Rep*., **266**: 89-92.

ANDALORO F., PRESTIPINO GIARRITTA S. (1985) – Contribution to the knowledge of the age, growth and feeding of pandora, *Pagellus erythrinus* in the Sicilian Channel. *FAO Fish. Rep*., **336**: 85-87.

AUTERI R. (1996) - Studio per l'individuazione di un sistema razionale per lo sfruttamento del rossetto nell'Alto Tirreno. *Relazione finale periodo 1994-1996.* MRAAF: 51 pp.

BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLET A. (1997) – An international bottom trawl survey in the Mediterranean. The MEDITS programme. *1997 ICES Annual Science Conference*. CM 1997/Y: 03: 1-16.

CEFALI A., BRUNO R., TORRE R., CAMMAROTO S. (1998) – Biologia di *Pagellus erythrinus* nel basso Tirreno e confronto con altri popolamenti mediterranei. *Biol. Mar. Medit*., **5** (1): 674-682.

GAYANILO F.C., SPARRE P., PAULY D. (1996) - The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FiSAT). User's Guide. FAO Computerized Information Series (Fisheries), **8**: 126 pp.

KRUG H.M. (1989) – The Azorean blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Teleostei: Sparidae): age and growth. *Cybium*, **13**: 347-355.

ORSI RELINI L., FIDA B. (1992) – Note di biologia di *Pagellus bogaraveo* in Mar Ligure. *Oebalia*, **17-2** (Suppl.): 81-86.

ORSI RELINI L., RELINI G., ROMEO G., TUNESI L. (1984) – Reclutamento e primo accrescimento degli Sparidi del genere *Pagellus* sui fondi strascicabili costieri del Mar Ligure. *Nova Thalassia*, **6** (Suppl.): 489-501.

ORSI RELINI L., ROMEO G. (1985) – Vertical distribution, age, growth and mortality of *Pagellus erythrinus* on trawled areas of the Ligurian Sea. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit*., **29** (8): 103-106.

PAJUELO J.G., LORENZO J.M. (1998) – Population biology of the common pandora *Pagellus erythrinus* (Pisces: Sparidae) off the Canary Islands. *Fish. Res*., **36**: 75-86.

RELINI G. (1998) – Valutazione delle risorse demersali. *Biol. Mar. Medit*., **5** (3): 3-19.

RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo Centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Medit*., **6** (Suppl. 1): 869 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 975-979

L. Aguzzi, V. Carini, A. Cuttitta, C. Cavalcante, S. Mazzola, G. Basilone, G. Buscaino, B. Patti, A. Bonanno

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Sezione di Mazara del Vallo dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero, IAMC-CNR, Via Luigi Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.

DISTRIBUZIONE SPAZIALE E ABBONDANZA DEL POPOLAMENTO MESOZOOPLANCTONICO NEL CANALE DI SICILIA

MESOZOOPLANKTON DISTRIBUTION AND ABUNDANCE IN THE SICILY CHANNEL

Abstract

Mesozooplankton abundance and taxonomic composition were analyzed from samples collected in the north-western sector of the Sicily Channel (June 2000), in the framework of the EC-funded research project MED98-070. Copepods accounted for 82% of zooplankton community and dominated throughout the study area, decreasing in abundance from coastal to offshore stations.

Key-words: *Mesozooplankton, Copepods, Sicily Channel.*

Introduzione

Il Canale di Sicilia è un'area particolarmente interessante da un punto di vista oceanografico perché esposta agli scambi di acqua tra il bacino occidentale ed orientale del Mediterraneo e soggetta a fenomeni di upwelling lungo la costa meridionale della Sicilia. In questo lavoro sono presentati i dati preliminari relativi al mesozooplancton prelevato in un'area della costa sud-occidentale della Sicilia, allo scopo di integrare le informazioni relative alla composizione e distribuzione spaziale del popolamento mesozooplanctonico del Canale di Sicilia, che riguardano soprattutto l'ambiente pelagico (Mazzocchi *et al*., 1997; Siokou-Frangou *et al.*, 1997).

Materiali e metodi

I campioni di zooplancton sono stati prelevati nel mese di giugno 2000 mediante un retino Bongo 40, equipaggiato di flussimetro, con bocca di 40 cm di diametro e maglia di 200 μm. Le pescate sono state effettuate in obliquo da una profondità di 100 m alla superficie (o dal fondo alla superficie nelle stazioni con profondità inferiori a 100 m). Il materiale prelevato è stato immediatamente fissato in una soluzione di formalina ed acqua di mare al 4%, tamponata con Borax ed i campioni sono stati poi osservati allo stereomicroscopio per il sorting e l'identificazione tassonomica. Le stazioni di campionamento dello zooplancton sono state ordinate in transetti costa-largo in funzione della profondità del fondale; le stazioni sono state quindi denominate come: neritico-costiere (A1), entro la batimentrica dei 50 metri; neritiche (A2), tra le batimetrice dei 50 e 200 metri e pelagiche (A3), oltre la batimetrica dei 200 metri.

Risultati

L'esame dei campioni raccolti evidenzia che la comunità zooplanctonica è dominata dai Copepodi che contribuiscono per l'82% al totale dello zooplancton esaminato (Tab. 1).

Tab. 1 - Abbondanza relativa (%) dei diversi gruppi zooplanctonici nell'area di studio.
Relative abundance of the main zooplankton taxa in the study area.

TAXA	%
COPEPODI	81.91
APPENDICULARIE	5.10
Evadne spinifera	3.81
CHETOGNATI	2.10
GASTEROPODI	2.03
Podon sp.	1.60
OSTRACODI	0.90
DECAPODI larve	0.71
LAMELLIBRANCHI larve	0.39
EUFAUSIACEI (larve+ adulti)	0.39
SIFONOFORI spp.	0.35
MEDUSE	0.22
POLICHETI	0.11
DOLIOLIDAE	0.09
Penilia avirostris	0.08
E. tergestina	0.07
ANFIPODI	0.04
TOMOPTERIDAE	0.02
CIRRIPEDI larve	0.02
MISIDACEI	0.02
ECHINODERMI larve	0.02
Leucifer	0.01
ISOPODI	0.01

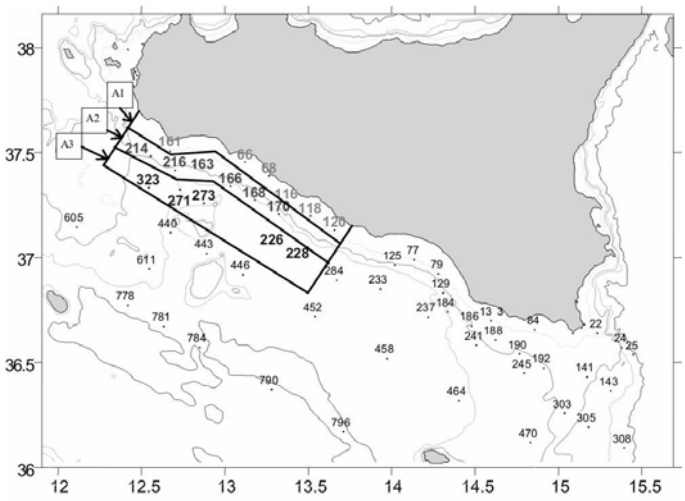


Fig. 1 - Area di studio e stazioni di campionamento (dentro il riquadro): stazioni neritico costiere (A1); stazioni neritiche (A2); stazioni pelagiche (A3).
Study area and sampling stations (within the box): coastal-neritic stations (A1); neritic stations (A2); pelagic stations (A3).

L'abbondanza media dello zooplancton totale è di 690 ind/m^3(σ=407); i valori massimi si osservano alle stazioni 116 e 170 (rispettivamente con 1441 ind/m^3 e 1525 ind/m^3) ed i minimi alle stazioni 166 e 228 (rispettivamente con 274,6 ind/m^3 e 167,6 ind/m^3). I valori medi di abbondanza zooplanctonica osservati per i tre gruppi di stazioni sono: 913 ind/m^3 (σ=421) per il gruppo A1, 647 ind/m^3 (σ=441) per il gruppo A2 e 473 ind/m^3 (σ=264) per il gruppo A3. Si osserva quindi un gradiente, in termini di abbondanza del popolamento zooplanctonico, dalla costa verso il largo, con una costante dominanza percentuale dei Copepodi (Fig. 2) che contribuiscono mediamente, all'intera comunità, per l'84% nelle stazioni neritico-costiere (A1), l'82% nelle stazioni neritiche (A2) e il 78% nelle stazioni pelagiche (A3). Sono state identificate 87 specie di Copepodi; le specie con abbondanza relativa sul totale dei Copepodi ≥1% sono riportate in Tab. 2, insieme alle frequenze. La composizione specifica del popolamento a Copepodi presenta, soprattutto in termini di abbondanza relativa, una certa eterogeneità tra i gruppi di stazioni A1, A2 e A3: le stazioni costiere (A1) sono caratterizzate dalla presenza di Paracalanus parvus, il cui contributo relativo medio varia dal 10% all'1% (A2 e A3) e di Centropages ponticus (7%), quest'ultimo del tutto assente in A2 e A3. Viceversa, lungo lo stesso gradiente costa-largo si registra un incremento di densità e di abbondanza relativa per le specie Centropages typicus (2% in A1; 5% in A2 e 6% in A3) Clausocalanus paululus (1% in A1; 2% in A2 e 4% in A3), C. arcuicornis (0.2% in A1; 2% in A2 e A3), C. pergens (1% in A1; 4% in e in A3) e Oithona atlantica (0.4% in A1; 2% in A2 e 6% in A3); per Oncaea curta si osserva un aumento dei valori di abbondanza relativa dalla costa verso il mare aperto, ma il valore più elevato si registra per le stazioni neritiche (2% in A1; 5% in A2 e 4% in A3).

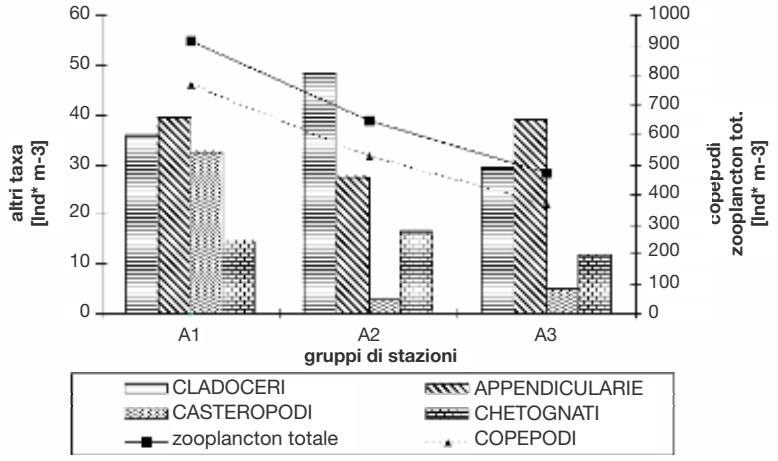


Fig. 2 - Abbondanza (ind/m^3) dello zooplancton totale e dei principali gruppi tassonomici nei tre gruppi di stazioni (A1,A2,A3) campionate nel Canale di Sicilia.

Total zooplankton and main taxa abundance (ind/m^3) in the three groups of stations (A1, A2 and A3) sampled in the Sicily Channel.

Tab. 2 - Abbondanza relativa (%) e frequenza (%) delle principali specie di Copepodi (ind/m^3).
Relative abundance and occurrence (%) of the main Copepods species (ind/m^3).

COPEPODI	%	Frequenza (%)
Centropages copepoditi	26.23	100.0
Clausocalanus copepoditi	14.91	100.0
Oithona copepoditi	7.33	100.0
Centropages typicus	5.26	100.0
Paracalanus parvus	4.41	94.1
Oncaea curta	3.61	100.0
Clausocalanus pergens	2.67	100.0
Paracalanus copepoditi	2.66	100.0
Centropages ponticus	2.35	35.3
Calocalanus spp.	2.17	88.2
Copepoditi Calanidae spp.	2.16	100.0
Acartia copepoditi	1.93	82.4
Clausocalanus paululus	1.81	100.0
Diaixis pigmoea	1.21	52.9
Oncaea spp.	1.12	100.0
Clausocalanus arcuicornis	1.11	88.2
Diaixis copepoditi	1.09	47.1
Oithona atlantica	1.08	94.1
Oncaea copepoditi	1.07	94.1
Acartia clausi	1.01	70.6
Oncaea scottodicarloi	1.00	100.0

Conclusioni

I valori di abbondanza dello zooplancton nel Canale di Sicilia risultano abbastanza elevati e non molto inferiori a quelli riportati da altri autori relativamente all'Adriatico Meridionale (Casavola *et al*., 1998; Hajderi *et al.*, 1994) sempre nel periodo estivo; sono sicuramente più elevati se confrontati con valori di abbondanza registrati nelle comunità di largo del Canale di Sicilia e del Mar Ionio (Siokou-Frangou *et al.*, 1997).

L'analisi preliminare della distribuzione qualitativa e quantitativa dei taxa identificati indica una differenziazione spaziale della struttura del popolamento zooplanctonico nell'area presa in esame, soprattutto per quanto riguarda i Copepodi. La zona A1 è, infatti, caratterizzate dalla presenza di specie tipicamente costiere quali *Paracalanus parvus*, *Centropages ponticus*, *Acartia clausi, Euterpina acutifrons* e *Temora stylifera*; nella zona A2 non si ritrovano più *Centropages ponticus* e *Temora stylifera* mentre cominciano a prevalere *Centropages typicus*, *Clausocalanus pergens*, *Clausocalanus paululus*, *Calusocalanus arcuicornis*, *Oncaea curta* e *Oithona atlantica*, che ritroviamo come specie principali anche in A3. In generale, si può concludere che i gruppi di stazioni A2 (neritiche) e A3 (pelagiche) sono più simili tra loro, nella composizione specifica, rispetto ad A1 (neritico-costiere); infine, in A3 non si evidenziano le caratteristiche di un popolamento zooplanctonico tipicamente pelagico, sia qualitativamente sia quantitativamente, come riportato da altri autori per il Canale di Sicilia (Siokou-Frangou *et al.*, 1997) e ciò può essere imputato alle peculiari caratteristiche del Canale, con la presenza di una estesa piattaforma (Banco Avventura) nella zona nord-occidentale e fenomeni di upwelling lungo la costa che consentono lo spostamento di acque superficiali verso il largo.

Bibliografia

CASAVOLA N., HAJDERI E., MARANO G. (1998) - Relationship between the density of *Engraulis encrasicolus* eggs and zooplanktonic biomass in the southern Adriatic Sea. *Biol. Mar. Medit.*, **1** (1): 56-62.

HAJDERI E., CASAVOLA N., MARANO G. (1994) - Indagini preliminari sui copepodi nel canale d'Otranto. *Biol. Mar. Medit.,* **1** (1): 113-118.

MAZZOCCHI M.G., CHRISTOU E.D., FRAGOPOLOU N., SIOKOU-FRANGOU I. (1997) - Mesozooplankton distribution from Sicily to Cyprus (Eastern mediterranean): I. General aspects. *Oceanol. Acta*, **20** (3): 521-534.

SIOKOU-FRANGOU I., CHRISTOU E.D., FRAGOPOULU N., MAZZOCCHI M.G. (1997) - Mesozooplankton distribution from Sicily to Cyprus (Eastern mediterranean): II. Copepod assembleges. *Oceanol. Acta*, **20** (3): 537-548.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 980-983

A. Bensi, P. Del Negro

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 – 34010 Trieste, Italia.

ABBONDANZE VIRALI NEL GOLFO DI TRIESTE

VIRUS ABUNDANCE IN THE GULF OF TRIESTE

Abstract

Viral abundances were investigated in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) from autumn 1998 to summer 2001. The high variability of VLP abundance confirms the hypothesis that viruses are active components of marine planctonic system. Moreover the absence of correlations between VLP and the main chemical-physical parameters suggests the absence of control exerted by hydrological features.

Key-words: *Virus, Gulf of Triest, Northern Adriatic Sea.*

Introduzione

I virus rappresentano la componente planctonica più abbondante (Furhman, 1999; Wommack e Colwell, 2000) in tutti gli ambienti marini, dall'area eutrofica costiera all'oceano, dalla superficie al fondo, e dalle regioni polari fino a quelle tropicali. In Adriatico, bacino molto studiato sia a livello oceanografico che biologico, la presenza e la distribuzione dei virus è stata indagata solamente negli anni novanta in aree limitate e attraverso campionamenti sporadici (Weinbauer *et al*., 1993). Questo lavoro costituisce una prima stima della distribuzione dei virus nell'ecosistema planctonico del Golfo di Trieste.

Materiali e metodi

A partire da ottobre 1998 fino a giugno 2001 sono stati effettuati campionamenti mensili nella stazione C1 (45º42'03"N, 13º42'36"E) del Golfo di Trieste situata a 200 m dalla linea di costa in prossimità della Riserva Marina di Miramare. I campioni d'acqua sono stati prelevati a 0 m, 5 m, 10 m e 15 m (fondo) utilizzando una Mini-Rosetta (1016 GENERAL OCEANIC) equipaggiata con 6 bottiglie Niskin (5 L). Sono stati inoltre rilevati i principali parametri fisico-chimici con una sonda multiparametrica (Idronaut Ocean Seven 316).

Aliquote pari a 100 µl d'acqua, fissate in formalina (2% conc. finale) prefiltrata su 0,02 µm, sono state filtrate su membrane in allumina (Anodisc) con porosità pari a 0,02 µm. Le membrane sono state quindi delicatamente adagiate su 50 µl di SYBR Green I, preparato in soluzione DMSO (dimetilsulfossido), e riposte al buio per 30–45 min (Noble e Fuhrman, 1998). Avvenuta la colorazione, ogni filtro è stato posizionato su un vetrino portaoggetti sopra 30 µl di una soluzione di fissaggio ed è stato coperto con ulteriori 30 µl della stessa soluzione e quindi con un vetrino coprioggetto. I vetrini sono stati conservati a –20 ^{0}C fino al momento del conteggio che avveniva entro e non oltre 15 giorni dal campionamento. I conteggi sono stati eseguiti utilizzando un microscopio OLYMPUS BX 60 F5 con lampada a vapori di mercurio (100W) e filtro di eccitazione Filter Cube U-MWB (BandPass 420-480 nm).

I dati ottenuti sono stati elaborati con il package di programmi di SURFER e GRAPHER (Golden Softwer inc. 1989) ed analizzati utilizzando il test non parametrico di Wilcoxon.

Risultati

La distribuzione temporale delle particelle virali (Virus Like Particles - VLP) segue una dinamica suddivisibile in tre periodi ben distinti. Il primo periodo va da ottobre 1998 a giugno 1999 ed è caratterizzato da abbondanze contenute oscillanti tra 2-3 $\times 10^9$ VLP L^{-1}. Successivamente, da luglio 1999 a giugno 2000, le VLP aumentano e risultano comprese tra 6×10^9 e 3×10^{10} VLP L^{-1}. Nell'ultimo periodo, da luglio 2000 a giugno 2001 le abbondanze diminuiscono nuovamente (< di 10×10^9 VLP L^{-1}) senza raggiungere, però, i valori caratterizzanti il primo anno di osservazione (Fig. 1).

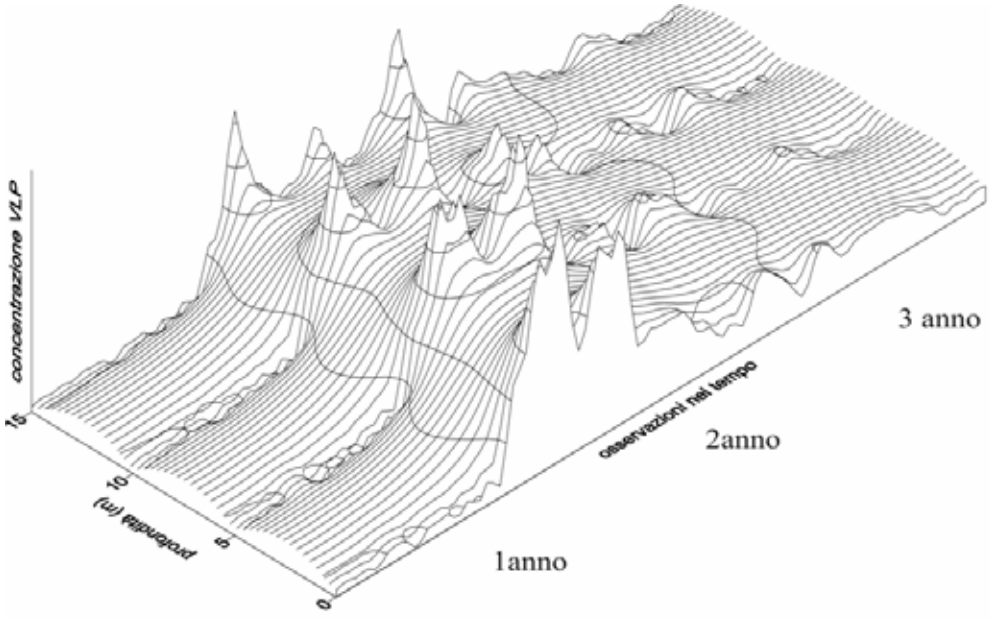


Fig. 1 - Stima dell'andamento temporale delle abbondanze di VLP frutto di interpolazione di dati discreti (programma SURFER).
Temporal trend of VLP abundance obtained by data interpolation (SURFER program).

L'esecuzione del test di Wilcoxon sui dati relativi ai tre periodi conferma la loro diversità: il primo periodo differisce significativamente dal secondo ($p < 0{,}0077$) e dal terzo ($p < 0{,}007$) così come il secondo anno risulta diverso dal terzo ($p < 0{,}005$).

Utilizzando la rappresentazione dei dati secondo il modello a box-plot (Fig. 2) è stato possibile confermare le differenze tra i periodi di osservazione ed evidenziare parallelamente anche la variabilità intra annuale dei dati. Durante il secondo periodo (1999-2000) alla maggior abbondanza di VLP corrisponde una dispersione maggiore dei dati.

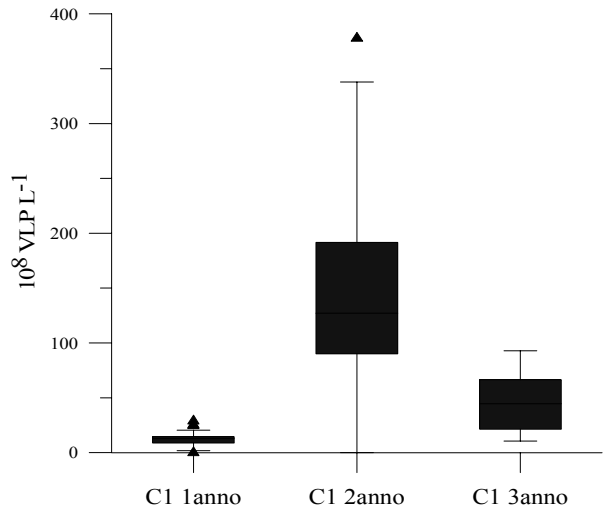


Fig. 2 - Box plot relativi alle abbondanze di VLP nei tre anni di campionamento: 1998-99 (1° anno), 1999-2000 (2° anno), 2000-01 (3° anno).

Box plots showing VLP abundances during three years sampling period: 1998-99 (1° year), 1999-2000 (2° year), 2000-01 (3° year).

In nessuno dei tre periodi considerati la distribuzione delle VLP risulta correlata significativamente con i principali parametri chimico-fisici (temperatura, salinità, anomalia di densità e O_2 disciolto).

Conclusioni

L'estrema variabilità nelle abbondanze di virioplancton nel Golfo di Trieste conferma la tesi che i virus rappresentino una componente attiva nel sistema planctonico marino. E'interessante osservare come, parallelamente alle più elevate abbondanze di VLP rilevate nel periodo 1999-2000, siano comparse le mucillagini. Secondo le più recenti ipotesi (Azam *et al.*, 2000) tale fenomeno sembra essere strettamente associato alle dinamiche della comunità batterica che rappresenta anche il bersaglio preferenziale dei virus planctonici.

L'assenza di correlazioni lineari significative tra l'abbondanza di VLP ed i parametri chimico-fisici della colonna d'acqua suggeriscono che, al contrario di quanto rilevato in altri ambienti (Bird *et al*., 1993), nel Golfo di Trieste lo sviluppo della componente virale non sembra controllato da forzanti idrologici.

Bibliografia

AZAM F., FONDA UMANI S., FUNARI E. (1999) - Significance of bacteria in the mucilage phenomenon in the northern Adriatic Sea. *Annali Istituto Superiore Sanità*, **35** (3): 411-419.

BIRD F.D., MARANGER R., KARL M.D. (1993) - Palmer LTER: Aquatic virus abundances near the Antarctic Peninsula. *Antarc. J. U. S.,* **28**: 234-235.

FUHRMAN J.A (1999) - Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature,* **399**: 541-548.

NOBLE R.T., FUHRMAN J.A. (1998) - Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria. *Aquat. Microb. Ecol*., **14**: 113-118.

WEINBAUER M.G., FUKS D., PEDUZZI P. (1993) - Distribution of viruses and dissolved DNA along a coastal trophic gradient in the northern Adriatic Sea. *Appl. Environ. Microbiol.,* **59**: 4074-4082.

WOMMACK K.E., COLWELL R.R. (2000) - Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol. Mol. Biol. Rew.,* **64**: 69-114.

Lo studio è stato condotto nell'ambito del progetto "Studio dello stato trofico e delle anomalie del sistema Alto Adriatico" facente parte del programma Interreg II Italia-Slovenia finanziato dall'UE e dalla Regione Friuli Venezia Giulia.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 984-986

M. Cabrini, I. Pecchiar, S. Comisso, C. Falconi, P.F. Culverhouse*

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 – 34010 Trieste, Italia.
*Centre for Intelligent System, University of Plymouth, UK.

IDENTIFICAZIONE AUTOMATIZZATA DI FITOPLANCTON TOSSICO

HARMFUL PHYTOPLANKTON BY ARTIFICIAL NEURAL NETWORK

Abstract

To recognize harmful algae an advanced pattern recognition is represented by DiCANN (Dinoflagellate Categorisation by Artificial Neural Network). This system demonstrated an accurate categorisation of 23 species of dinoflagellates from microscope images. The purpose of DiCANN is improve and speed the routine analysis of marine laboratories.

Key-words: *dinoflagellates, artificial neural network, Adriatic Sea.*

Introduzione

La commercializzazione dei mitili è notevolmente diminuita in alcuni periodi dell'anno a seguito della contaminazione da biotossine marine. Il problema, diffuso su scala mondiale, aumenta gradualmente nel tempo anche in zone precedentemente incontaminate e con i controlli cresce di conseguenza l'informazione relativa alle tossine e alle loro strutture chimiche: recentemente sono state isolate nuove tossine e sono stati valutati i loro effetti tossicologici (Yasumoto e Satake, 1998). In Italia dal 1989 sono operativi monitoraggi regionali sia sulle biotossine algali conformi alle direttive UE, che sul topo, per valutare l'effetto tossico e la determinazione delle specie responsabili. L'analisi tassonomica prevista viene effettuata attraverso osservazioni al microscopio ottico; all'operatore vengono perciò richieste abilità ed esperienza di sistematica dei dinoflagellati marini, in quanto dai risultati dell'identificazione e dalle analisi tossicologiche verrà valutata la qualità dei molluschi e disposta l'autorizzazione alla loro vendita. I tempi d'attesa per i risultati sono piuttosto lunghi (alcune settimane) e, in caso di positività, comportano elevati rischi economici per i produttori.

Scopo principale di DiCANN (Dinoflagellate Categorisation by Artificial Neural Network), sistema d'automatizzazione per l'identificazione delle immagini microscopiche di campioni biologici marini, è quello di rendere facile e più veloce il controllo della presenza delle specie algali tossiche.

Materiali e metodi

Il programma DiCANN può essere utilizzato secondo due fasi: 1) l'apprendimento (TRAINING); 2) la verifica (TEST). DiCANN non contiene nessun modello d'identificazione di diversi campioni pertanto, per riuscire ad etichettare le specie sulla base delle immagini, il programma deve essere istruito formando delle categorie. All'interno di una stessa categoria la variabilità degli oggetti (specie) influenza molto le capacità operative di DiCANN. Per rendere automatica l'identificazione a livello di specie, genere o famiglia è necessario individuare un *range* di categorie entro cui operare.

Nell'ambito del progetto sono state raccolte, selezionate e misurate centinaia immagini di *Dinophysis* per ogni categoria attraverso una camera digitale e successivamente

sono state processate in un database allo scopo di sviluppare la rete neurale DiCANN: ad esempio sono state inserite 430 immagini appartenenti a 5 specie di *Dinophysis*. Nella Fig. 1 il diagramma mostra la specie scelta (l'oggetto) racchiusa in una finestra, le prove su un computer biprocessore Pentium II 450 MHz hanno dimostrato che sono stati necessari soltanto 40 sec per segmentare un oggetto ed aggiungerlo al set apprendimento. Una volta che il *software* è istruito, l'identificazione avviene soltanto in 5 sec. In un precedente lavoro (Simpson *et al*., 1992) è stato dimostrato che è richiesto un minimo di 40 immagini d'ogni specie per l'apprendimento del sistema. Nuovo materiale può anche essere usato per estendere gli studi ed ampliare le potenzialità del classificatore. Ogni immagine è stata corredata da una scheda contenente informazioni di tipo geografico, ecologico ed altre utili all'operatore. Tutte le immagini e le relative schede sono state inserite in una banca dati curata da Thomas Parisini del Dipartimento di Informatica, Sistemistica e Telematica (DIST) dell'Università di Genova.

L'identificazione automatizzata è stata provata anche su campioni contenenti colture

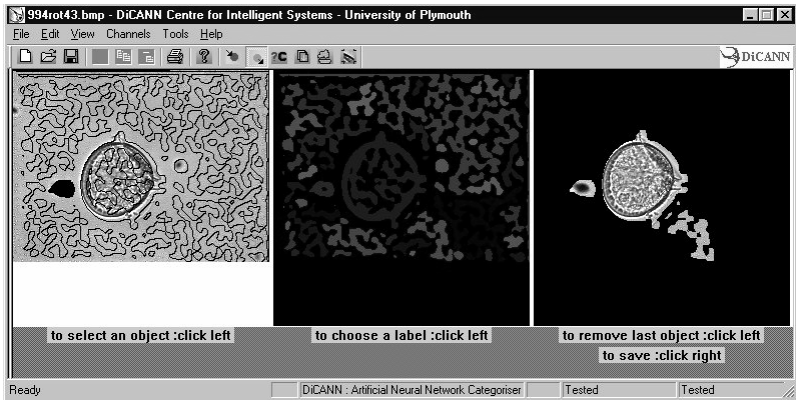


Fig. 1 - Esempio di immagine di *Dinophysis* riconosciuta dal programma DiCANN.
Example of a picture of Dinophysis *recognised by DiCANN program.*

di *Alexandrium* spp. Le cellule sono state colorate con calcofluor per evidenziare la teca, facilitare in questo modo il riconoscimento e prendere le misure lineari. La determinazione delle specie appartenenti al genere *Alexandrium* appare piuttosto problematica, poiché legata a piccoli elementi difficili da essere discriminati dal programma; per ora rappresenta un limite.

Conclusioni

Il sistema d'automatizzazione DiCANN rappresenta lo strumento di supporto attendibile, facile, veloce ed "instancabile" che può affiancare il lavoro dell'operatore. Dalla verifica finora fatta nell'apprendimento del sistema neurale i migliori risultati sono stati ottenuti con immagini di *Dinophysis* mentre per *Alexandrium* è necessario apportare delle migliorie al *software*, in quanto le capacità di DiCANN dovranno essere ampliate anche all'applicazione di materiale trattato con coloranti fluorescenti. In un futuro non

lontano ogni laboratorio marino, coinvolto nelle analisi di *routine*, dovrà dotarsi di strumenti d'identificazione automatizzata simili a DiCANN, al fine di ridurre il carico degli operatori che potranno dedicarsi maggiormente all'interpretazione dei risultati ed alla ricerca.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il dr. Alfred Beran per la disponibilità delle colture di *Alexandrium*. Questo studio è stato eseguito nell'ambito del progetto di ricerca Dinoflagellate Categorisation by Neural Network (DiCANN) sostenuto dal finanziamento dell'Unione Europea MAS3-CTD98-0188.

Bibliografia

SIMPSON R.G., WILLIAMS R., ELLIS R.E., CULVERHOUSE P.F. (1992) - *Mar. Ecol. Progr. Ser*., **79**: 303- 308.

YASUMOTO T., SATAKE M. (1998) - New toxins and their toxicological evaluations. In: Reguera B., Blanco J., Fernandez M.L., Wyatt T. (eds), *Harmful Algal Blooms.* Xunta de Galicia and IOC of UNESCO: 461-464.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 987-989

S. Comisso, I. Pecchiar, M. Cabrini

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 - 34010 Trieste, Italia.
saracaterinacomisso@yahoo.it

EVOLUZIONE DELLA BIODIVERSITA' SPECIFICA DELLA COMUNITA' MICROFITOPLANCTONICA DEL GOLFO DI TRIESTE (GENNAIO 2001-GENNAIO 2002)

BIODIVERSITY EVOLUTION OF MICROPHYTOPLANKTON COMMUNITY OF THE GULF OF TRIESTE (JANUARY 2001-JANUARY 2002)

Abstract

In the Gulf of Trieste two stations were monitored from January 2001 to January 2002 in order to describe the biodiversity evolution of phytoplankton community and its relation with the influence of the environmental parameters. The results show a significative change in the structure of diatoms blooms. In January 2002 we focus the diatom Asterionellopsis glacialis *occurence responsible of the premature bloom, in both stations.*

Key-words: *phytoplankton biodiversity, marine enviroments, Gulf of Trieste.*

Introduzione

La distribuzione della comunità fitoplanctonica del Golfo di Trieste è ben documentata sia nella parte orientale che occidentale e in particolare una stazione posta nella riserva del Parco Marino di Miramare viene monitorata mensilmente dal 1986 (Malej e Fonda Umani, 1998, Mozetic *et al*., 1998, Cabrini *et al*., 2000). La componente microfitoplanctonica di quest'area è rappresentata prevalentemente dalle diatomee, la cui distribuzione varia in relazione agli apporti intermittenti soprattutto dell'Isonzo e la cui dinamica è regolata dal sinergismo di molti altri fattori naturali quali la temperatura, la salinità, la luce, i nutrienti, la stratificazione della colonna d'acqua (Franco e Michelato, 1992).

Ogni anno la diversità specifica del popolamento a diatomee risulta variabile, nel corso degli ultimi anni è stata osservata una significativa riduzione delle dimensioni delle varie specie (Sellner e Fonda Umani, 1999).

Per approfondire l'evoluzione della biodiversità della comunità autotrofa e per individuare i rapporti che intercorrono tra i gruppi tassonomici fitoplanctonici sono stati analizzati i risultati dell'ultimo anno di campionamento (gennaio 2001- gennaio 2002).

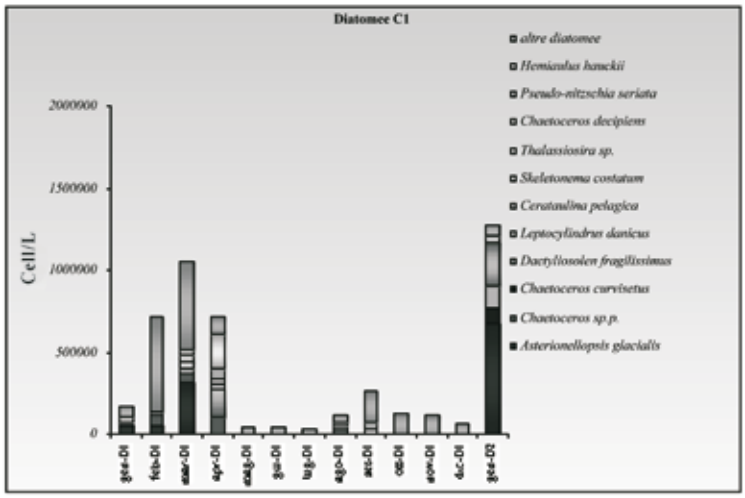
Materiali e metodi

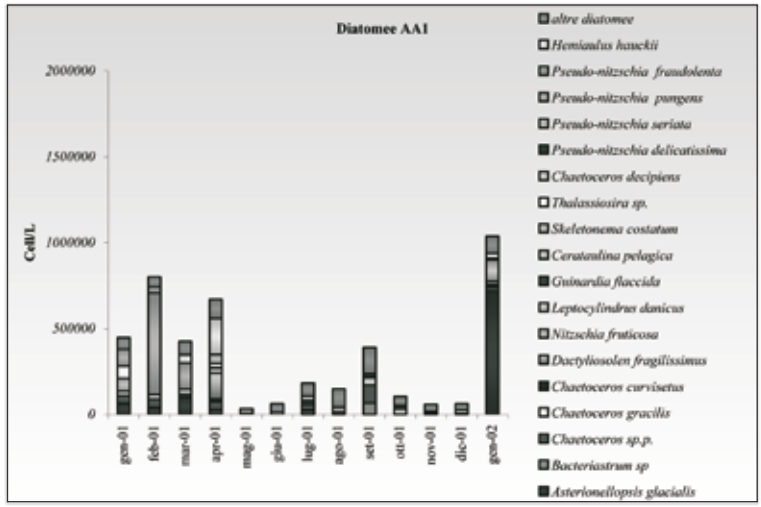
I campionamenti sono stati effettuati mensilmente nella stazione costiera C1 (lat. 45°42',05; long. 13°42',60; profondità 17 m) e nella AA1 (lat. 45°39',83; long. 13°35',77; profondità 21 m), localizzata a circa 5 miglia dalla costa. I campioni d'acqua sono stati raccolti mensilmente a tre quote variabili (superficie, intermedio1 e intermedio 2) nella AA1 e a 4 quote fisse (0, 5, 10, 15 m) nella C1. I campioni sono stati fissati con formalina neutralizzata 4%, e subcampioni di 50 ml sono stati successivamente analizzati per la stima della diversità specifica e per la valutazione dell'abbondanza secondo il metodo di Utermöhl (Zingone *et al*., 1990).

Risultati

L'evoluzione temporale della comunità fitoplanctonica nel periodo preso in esame (gennaio 2001-gennaio 2002) mostra come le fioriture primaverili da monospecifiche siano state sostituite da plurispecifiche per la contemporanea presenza di grandi diatomee come *Hemiaulus hauckii*, *Asterionellopsis glacialis* e *Chaetoceros* spp.

Nelle Figg. 1 e 2 i valori di abbondanza del fitoplancton sono stati integrati su tutta la colonna d'acqua: la fioritura microfitoplanctonica che si verifica nei mesi di febbraio, marzo e aprile 2001 è costituita dalle medesime specie di diatomee in entrambe le stazioni (*H. hauckii*, *A. glacialis*, *Chaetoceros* spp., *Skeletonema costatum*). In corrispondenza al minimo termico (6.25 °C) inoltre, soprattutto nella stazione C1, si assiste ad un considerevole aumento di abbondanza, supportato in particolare dalla diatomea *A. glacialis*.





Figg. 1 e 2
Specie dominanti della comunità fitoplanctonica nella stazione C1 ed AA1 da gennaio 2001 a gennaio 2002.

Dominant species of the phytoplanktonic community at station C1 and AA1 from January 2001 to January 2002.

Conclusioni

La dinamica e la struttura della comunità autotrofa microfitoplanctonica del periodo considerato risultano atipiche rispetto a quelle osservate negli anni precedenti (Cabrini *et al*., 2000).

In quest'ultimo anno (2001/2002) il riscaldamento atmosferico ha condizionato fortemente le caratteristiche idrologiche e conseguentemente ha influito sulle comunità a livello biologico (relaz. INTERREG., 2001). Il complesso sistema idrodinamico costantemente influenzato dagli apporti fluviali e dalle variabili condizioni del regime eolico, agisce direttamente sulla selezione specifica della comunità autotrofa. Nel corso degli ultimi anni inoltre, la significativa riduzione delle dimensioni di specie dominanti accanto alla graduale diminuzione della produttività comporta una tendenza del sistema ad un regime oligotrofico piuttosto che eutrofico come osservato in precedenza (Fonda Uman*i et al.*, 1992). L'evento più singolare è rappresentato dalla precoce fioritura di *Asterionellopsis glacialis* in gennaio 2002, in concomitanza al valore più basso di temperatura (6,25°C) come già accaduto in marzo 2001, seppure con densità meno significative.

Si può quindi concludere che la struttura della comunità fitoplanctonica del Golfo di Trieste è in continua evoluzione, parallelamente all'evolversi delle condizioni ambientali sia idrodinamiche che climatiche.

Ringraziamenti

Ringraziamo il dr. Damiano Virgilio per la collaborazione ed i preziosi consigli.

Bibliografia

CABRINI M., COK S., PECCHIAR I. (2000) - Dinamica e struttura del microfitoplancton nella fascia costiera del Golfo di Trieste. *Biol. Mar. Medit.,* **7** (1): 850-853.

FONDA UMANI S., FRANCO P., GHIRARDELLI E., MALEJ A. (1992) - Outline of oceanography and the plqnkton of the Adriativ Sea. In: G. Colombo *et al.* (eds), *Marine Eutrophication and Population Dynamics*, Olsen& Olsen, Fredensborg, Denmark: 347-365.

FRANCO P., MICHELATO A. (1992) - Northern Adriatic Sea: oceanography of the basin proper and the western coastal zone. *Science Total Environment,* **152**: 35-62.

MALEJ A., FONDA UMANI S. (1998) - Evoluzione delle interazioni trofiche nell'ecosistema del Golfo di Trieste. Atti Convegno "Evoluzione dello stato trofico in Adriatico: Analisi degli interventi attuali e future linee di intervento". Marina di Ravenna, 28-29 Settembre 1995: 61-70.

MOZETIC P., FONDA UAMANI S., CATALETTO B., MALEJ A. (1998) – Seasonal and inter-annual plankton variability in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *ICES Journal of Marine Science*: 1-12.

RELAZIONE CONCLUSIVA INTERREG II (2001) – Oceanografia fisica. In: INTERREG II - Relazione conclusiva luglio 1998- giugno 2001. Direzione Regionale dell'Ambiente: 6-9.

SELLNER K.G., FONDA UMANI S. (1999) - Dinoflagellate Blooms and Mucilage Production. In: Malone T.C. *et al.* (eds), *Coastal and Estuarine Studies*. American Geophysical Union: 173-206.

ZINGONE A., HONSELL G., MARINO D., MONTRESOR M., SOCAL G. (1990) Fitoplancton. In: Innamorati M., Ferrari I., Marino D., Ribera D'Alcalà M. (eds), *Metodi dell'ecologia del plancton marino*, Nova Thalassia: 183-197.

Lo studio effettuato rientra nel Progetto Europeo INTERREG II Italia-Slovenia, finanziato dalla Comunità Europea e dalla Regione Friuli Venezia Giulia – Direzione Ambiente.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 990-993

A. Cuttitta, C. Cavalcante, G. Basilone, G. Buscaino, A. Garcia[1], J. Garcia Lafuente[2], A. Bonanno, B. Patti, S. Mazzola, V. Carini, P. Avellone

Istituto di ricerche sulle Risorse Marine e l'Ambiente, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via L. Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo, Trapani, Italia.
[1]Instituto Español de Oceanografia, Fuengirola, Malaga, Spagna.
[2]Department of Applied Physics, University of Malaga, Malaga, Spagna.

DISTRIBUZIONE DI UOVA E LARVE DI *SARDINELLA AURITA* IN RELAZIONE ALLE CONDIZIONI OCEANOGRAFICHE NEL CANALE DI SICILIA

DISTRIBUTION OF EGGS AND LARVAE OF SARDINELLA AURITA *IN RELATION TO OCEANOGRAPHIC CONDITIONS IN THE SICILY CHANNEL*

Abstract

This paper deals with distribution and abundance of Sardinella aurita *eggs and larvae recorded during the ichthyoplanktonic surveys carried out in June-July 1998, 1999 and 2000. Results indicate the area off Cape Passero (the southernmost tip of Sicily), characterised by favourable conditions for larval survival, as a possible nursery area for this species.*

Key-words: Sardinella aurita*, Sicily Channel, oceanography, ichthyoplankton.*

Introduzione

La sardinella (*Sardinella aurita* Valenciennes, 1847) è un pesce pelagico ritenuto finora di scarso interesse economico. Il progressivo aumento di questa specie osservato nelle catture ha spinto la comunità scientifica ad approfondirne lo studio in quanto potenziale risorsa (Palomera e Sabatés, 1990; Bakun e Parrish, 1990). Nell'ambito del progetto europeo MED 98/070 sono stati condotti tre survey ittioplanctonici nei mesi di Giugno e Luglio degli anni 1998, 1999 e 2000 (BANSIC98, BANSIC99 e BANSIC00) al fine di studiare la distribuzione e la densità delle uova e delle larve di *Engraulis encrasicolus* sulla piattaforma continentale a sud-ovest della Sicilia fino all'Isola di Malta. L'interesse nei confronti della *Sardinella aurita,* cattura accessoria ed accidentale rispetto all'acciuga, è giustificato dal fatto che questa specie è stata ritrovata nelle stesse stazioni della specie target ed è nota la sua capacità di accrescimento e di competizione con le altre specie larvali per ciò che riguarda l'alimento (Cuttitta *et al*., 2000). Dal punto di vista oceanografico l'area studiata è caratterizzata dalla Corrente Atlantico-Ionica (Atlantic-Ionic Stream o AIS) che fluisce in direzione sud-est nel Canale di Sicilia verso il Mar Ionio (Mazzola *et al*., 2000); il suo percorso e la sua variabilità anno per anno influenzano altri fenomeni idrologici importanti come l'estensione dell'upwelling e la formazione di strutture frontali che hanno delle conseguenze sulle strategie di spawning dei clupeidi (Garcia Lafuente *et al*., 2002) e sulla sopravvivenza dei primi stadi di vita (Mazzola *et al*., 2000).

Materiali e metodi

I campioni oggetto del presente lavoro sono stati raccolti sulla piattaforma continentale prospiciente la costa meridionale siciliana lungo una griglia di transetti approssimativamente separati da 4 miglia nautiche. In ognuna delle stazioni i campionamenti

sono stati effettuati dal fondo, o da 100 m di profondità, alla superficie mediante retinate oblique di Bongo 40, campionatore a doppia bocca equipaggiato con rete di maglia 200 µm. I dati idrologici sono stati raccolti mediante una sonda CTD e da satellite (SST). I campioni di zooplancton sono stati conservati in formaldeide al 4% tamponata con Borace e successivamente analizzati allo stereomicroscopio. Sulla base di precedenti studi (Mazzola *et al*., 2000 e 2002; Garcia Lafuente *et al*., 2002) l'area di studio è stata suddivisa in 3 zone: Zona A (possibile area di deposizione), compresa tra Mazara del Vallo e Porto Empedocle; Zona B, compresa tra Porto Empedocle e Marina di Ragusa; Zona C (possibile zona di accrescimento), da Marina di Ragusa al largo di Capo Passero. Quindi la densità media delle uova (uova/m^2) e delle larve (larve/m^2) è stata riferita a questi specifici tratti di mare.

Risultati

Nel corso della campagna Bansic98 sono state rilevate 242 uova e 124 larve di *Sardinella aurita* che rappresentano rispettivamente il 7% e il 6% delle catture totali di uova e larve di pesce. La principale area di spawning è localizzata lungo la costa centro meridionale della Sicilia (Fig. 1a), con una maggiore densità delle uova in corrispondenza delle zone A e B. Nella regione C è stata riscontrata un'elevata frequenza di ritrovamento e un'elevata densità di larve di sardinella (Fig. 1b). Dal punto di vista idrografico questa distribuzione spaziale delle uova e delle larve di *Sardinella aurita* risente del percorso dell'AIS (Fig. 1c), che avvicinandosi alla costa nei pressi di Sciacca (in zona A) induce una temperatura più elevata e un basso regime di velocità, determinando condizioni favorevoli alla deposizione.

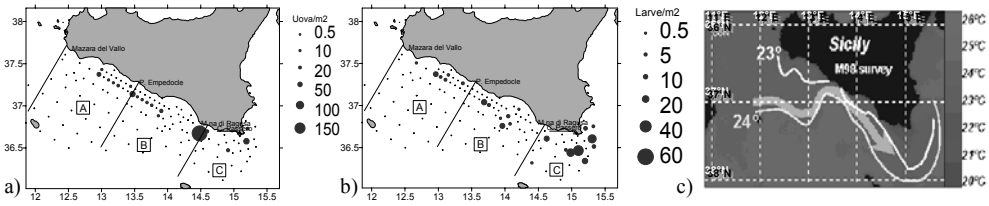


Fig. 1 - a) Distribuzione ed abbondanza di uova (uova/m^2) durante Bansic98; b) Distribuzione ed abbondanza di larve (larve/m^2) durante Bansic98; c) mappa della temperatura superficiale del mare durante Bansic98. La freccia indica la traiettoria dell'AIS prendendo come riferimento le isoterme T=23 °C e T=24 °C.

a) Distribution and abundance of eggs (eggs/m^2) during Bansic98; b) Distribution and abundance of larvae (larvae/m^2) during Bansic98; c) Sea Surface Temperature map during Bansic98. The arrow depicts the trajectory of the AIS taking the isotherms of T=23 ºC and T=24 ºC as reference.

Durante la campagna Bansic99 sono state catturate 43 uova e 3 larve di *Sardinella aurita* che rappresentano rispettivamente il 5% e meno dell'1% delle catture totali di uova e larve di pesce. La distribuzione delle uova è perlopiù omogenea lungo tutta la costa meridionale della Sicilia (Fig. 2a). La scarsa presenza di larve registrata durante questa campagna oceanografica (Fig. 2b) potrebbe essere legata alla bassa temperatura superficiale nell'area di studio, notevolmente inferiore rispetto a quella della campagna

BANSIC98. E' da notare come l'AIS scorra più a largo avvicinandosi alle coste siciliane solo nei pressi della punta più meridionale della Sicilia (Fig. 2c).

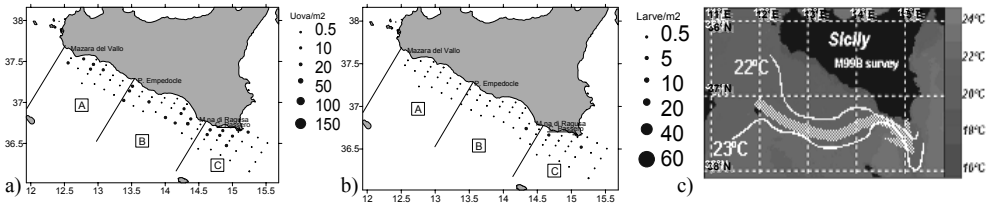


Fig. 2 - a) Distribuzione ed abbondanza di uova (uova/m^2) durante Bansic99; b) Distribuzione ed abbondanza di larve (larve/m^2) durante Bansic99; c) mappa della temperatura superficiale del mare durante Bansic99. La freccia indica la traiettoria dell'AIS prendendo come riferimento l'isoterma T=23 °C.

a) Distribution and abundance of eggs (eggs/m^2) during Bansic99; b) Distribution and abundance of larvae (larvae/m^2) during Bansic99; c) Sea Surface Temperature map during Bansic99. The arrow depicts the trajectory of the AIS taking T=23 ºC isotherm as reference.

Nel corso della campagna Bansic00 sono state catturate 97 uova e 123 larve di *Sardinella aurita* che rappresentano rispettivamente il 4% e il 3% delle catture totali di uova e larve di pesce. Sono state individuate due aree di deposizione, una in prossimità di Sciacca e una vicino Capo Passero (Fig. 3a) dove vi è anche la maggiore densità di uova. Il pattern di distribuzione delle larve (Fig. 3b) mostra che i valori più elevati di frequenza di ritrovamento e di densità sono stati riscontrati al largo della costa sud-orientale della Sicilia.

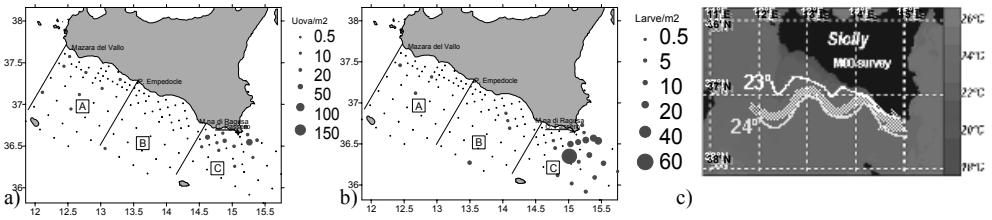


Fig. 3 - a) Distribuzione ed abbondanza di uova (uova/m^2) durante Bansic00; b) Distribuzione ed abbondanza di larve (larve/m^2) durante Bansic00; c) mappa della temperatura superficiale del mare durante Bansic00. La freccia indica la traiettoria dell'AIS prendendo come riferimento le isoterme T=23 °C e T=24 °C.

a) Distribution and abundance of eggs (eggs/m^2) during Bansic00; b) Distribution and abundance of larvae (larvae/m^2) during Bansic00; c) Sea Surface Temperature map during Bansic00. The arrow depicts the trajectory of the AIS taking the isotherms of T=23 ºC and T=24 ºC as reference.

Conclusioni

La bassa densità di uova e specialmente di larve riscontrata durante la campagna BANSIC99 non permette di distinguere un chiaro pattern di distribuzione, mentre i

risultati dei survey ittioplanctonici BANSIC98 e BANSIC00 hanno mostrato che la maggiore concentrazione di uova e larve di *Sardinella aurita* si trova nell'estremità sud-orientale della Sicilia, che potrebbe quindi rappresentare un'area di nursery per questa specie. Come già osservato per l'acciuga (Garcia Lafuente *et al*., 2002) la presenza della Corrente Atlantico-Ionica (Atlantic-Ionic Stream o AIS), che fluisce in direzione sud-est nel Canale di Sicilia verso il Mar Ionio, favorisce il trasporto di uova e larve fino al largo della costa di Capo Passero, dove sono riscontrabili condizioni favorevoli alla sopravvivenza larvale. I dati acquisiti mediante CTD e da satellite hanno mostrato la presenza in quest'area di un vortice ciclonico che consente la ritenzione delle larve e l'arricchimento delle acque dovuto a fenomeni di risalita di acque subsuperficiali (upwelling). Inoltre, la disponibilità di cibo per le larve è assicurata anche dalla presenza di una struttura frontale al largo di Capo Passero, una conseguenza della collisione delle masse d'acqua dell'AIS con le acque settentrionali del Mar Ionio; questo fronte concentra le risorse di plancton che sono necessarie per sostenere il metabolismo della crescita delle larve (Mazzola *et al*., 2002).

Bibliografia

BAKUN A., PARRISH R.H. (1990) - Comparative studies of coastal pelagic fish reproductive habitats: the Brazilian sardine (*Sardinella aurita*). *J. Cons. int. Explor. Mer.,* **46**: 269-283.

CUTTITTA A., PATTI B., BONANNO A., BASILONE G., GARCIA A., CARPENA A., GODOY L., MAZZOLA S. (2000) - Primi dati sull'accrescimento giornaliero delle larve di *Sardinella aurita*, nel canale di Sicilia. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 861-864.

GARCÍA LAFUENTE J., GARCÍA A., DELGADO J., QUINTANILLA L., CUTTITTA A., PATTI B., MAZZOLA S. (2000) - Hydrological transport and retention mechanisms influencing early life stages of the Sicilian Channel anchovy. Scientific Advisory Committee, GFCM, 1-3 March 2000. Notes: W.D. SAC Meeting Fuengirola.

GARCÍA LAFUENTE J., GARCÍA A., MAZZOLA S., QUINTANILLA L., DELGADO J., CUTTITTA A., PATTI B. (2002) - Hydrographic phenomena influencing early life stages of the Sicilian Channel anchovy. *Fisheries Oceanography*, **11** (1): 31-44.

MAZZOLA S., GARCÍA A., GARCÍA LAFUENTE J. (2000) - Distribution, Biology and Biomass estimates of the Sicilian Channel anchovy, DG XIV, MED 96/052, Final Report.

MAZZOLA S., GARCÍA A., GARCÍA LAFUENTE J. (2002) - The Sicilian Channel anchovy fishery and the underlying oceanographic and biological processes conditioning their interannual fluctuactions, DG XIV, MED 98/070, Final Report.

PALOMERA I., SABATÉS A. (1990) - Co-occurrence of *Engraulis encrasicolus* and *Sardinella aurita* larvae in the Northwestern Mediterranean. *Sci. Mar.,* **54** (1): 61-67.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 994-997

M. De Domenico, S. Scarfì, M. Leonardi*, F. Raffa*, M. De Luca, E. De Domenico

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina, Salita Sperone, 31
98166 Messina, Italia.
edd@unime.it
*Istituto Sperimentale Talassografico (IAMC-CNR), Spianata S. Raineri, 96 - 98122 Messina , Italia.
leonardi@ist.me.cnr.it

VARIAZIONE TEMPORALE DELLE COMUNITÀ MICROBICHE IN UN SITO PELAGICO AL LARGO DI CAPO PASSERO (MARE IONIO MERIDIONALE)

MICROBIAL COMMUNITIES TEMPORAL VARIATIONS IN A PELAGIC SITE OFFSHORE CAPE PASSERO (SOUTHERN IONIAN SEA)

Abstract

Qualitative and quantitative microbial communities variation related to POC and PON and water masses distribution was examined in the KM3 station (0–3300 m) off Cape Passero, during a four years period (1999 – 2002). Bacterial plate counts were carried out in Marine Agar medium and in SWC medium. Isolates were identified by API20NE system and by classical identification pathways. POC and PON were evaluated on filtered samples (Whatman GF/F), using a CHN Autoanalyzer (PE 2400) with acetanilide as standard.

Key-words: *microbial communities, POC PON, water masses, southern Ionian Sea, temporal variation.*

Introduzione

Nel proseguire lo studio pluriennale sulla distribuzione delle comunità microbiche in acque pelagiche del Mar Mediterraneo, si è avuta l'opportunità di esaminare la medesima area per quattro anni consecutivi. Infatti, nell'ambito del progetto NEMO (NEutrin Monitoring Observatory) dell'INFN-Laboratori Nazionali del Sud per la realizzazione di un osservatorio per lo studio dei neutrini in acque profonde, è stata esaminata, da un articolato gruppo di ricerca, l'area pelagica ad est di Capo Passero nell'inverno 1999, nell'autunno 2000, nell'estate 2001 e nella primavera 2002. In particolare è stata condotta un'indagine multidisciplinare mirata alla valutazione delle caratteristiche trofiche, microbiologiche e fisico-chimiche delle masse d'acqua presenti nell'area, nei diversi quadri stagionali.

La presente nota intende fornire prime considerazioni sulla distribuzione quantitativa e qualitativa delle comunità microbiche in relazione all'incidenza del particellato organico ed alle proprietà oceanografiche lungo la colonna d'acqua di 3.300 m della stazione KM3 (36°30' N - 15°50' E).

Materiali e metodi

Le misure idrologiche sono state eseguite utilizzando un profilatore CTD Sea-Bird 911plus. I dati sono stati acquisiti e sottoposti a validazione, secondo le metodologie in uso (UNESCO, 1983; UNESCO, 1988).

I prelievi dei campioni d'acqua sono stati eseguiti su cinque quote nello strato eufotico (5, 25, 50, 75, 100 m), ed ogni cento metri fino al fondo, mediante bottiglie tipo Niskin montate su Rosette. In ogni campione d'acqua sono state valutate sia le conte

microbiche vitali su Marine Agar (spread plate) sia i batteri luminosi su SWC (filtri 0,45 μm). Sui ceppi isolati sono stati eseguiti i tests per l'identificazione a livello di genere utilizzando i sistemi miniaturizzati API 20 NE per i Gram (-).

Per la determinazione di POC (Particulate Organic Carbon) e PON (Particulate Organic Nitrogen) campioni volumetrici di acqua di mare (1000-4000 ml), prefiltrati su maglia da 200 μm, sono stati filtrati su filtri Whatmann GF/F (già calcinati a 490°C per 4 h). L'analisi è stata quindi eseguita mediante un CHN-Autoanalizer (Perkin Elmer 2400), utilizzando acetanilide come standard, ad una temperatura di combustione di 950 °C, previa acidificazione con vapori di acido cloridrico (8-12 h).

Risultati

L'andamento dei profili verticali di temperatura e salinità rivela chiaramente la struttura stratificata dalla colonna d'acqua esaminata, in accordo a quanto noto sulla idrologia del Mar Ionio Occidentale (Malanotte-Rizzoli *et al.*, 1997; Manca *et al*., 2001). Lo strato 0-150 m risulta principalmente occupato da acqua di origine Atlantica (MAW: Modified Atlantic Water) con salinità variabili da 38,6 a 38,7. Nello strato intermedio (150-800 m) predomina la LIW (Levantine Intermediate Water) con valori di salinità massima, nella stazione esaminata, di 38,8 intorno ai 200-250 m. La EMDW (Eastern Mediterranean Deep Water) di origine Adriatica risiede nella struttura sottostante la LIW; negli strati più profondi (2.500 m-fondo) è identificabile la CDW (Cretean Deep Water).

L'incidenza del particellato organico è risultata in generale modesta. I valori di POC e PON si sono mostrati minori di quelli rilevati in altre zone oligotrofiche del Mediterraneo (Caruso *et al*., 1998), ma comparabili con quelli riportati da altri autori per quest'area (Rabitti *et al.*, 1994; Boldrin *et al*., 2002). La distribuzione dei valori di POC e PON lungo la colonna d'acqua è risultata apprezzabilmente eterogenea in relazione alla stratificazione termoalina, con ampie variazioni soprattutto nei periodi invernale ed autunnale. In inverno i valori di POC oscillano, infatti, tra un minimo di 15,53 μgC/l ed un massimo di 93,33 μgC/l, con una deviazione standard pari a 18,15. Per quanto riguarda il PON il minimo ed il massimo, rilevati entrambi nel periodo autunnale, sono risultati rispettivamente pari a 1,85 μgN/l e 12,00 μgN/l. In generale valori più bassi ed omogenei sono stati registrati nel periodo estivo, a carico sia dell'azoto sia del carbonio organico particellato.

Il rapporto tra carbonio organico ed azoto nel particellato (C/N) non evidenzia importanti differenze stagionali nello strato eufotico, dove si mantiene intorno ad un valore medio di 6, rivelando una buona efficienza del comparto autotrofico. Oltre i 1.000 m, peraltro, le linee di isovalore evidenziano una marcata differenziazione stagionale. In particolare nel periodo autunnale valori di C/N maggiori di 7 hanno messo in evidenza una significativa preponderanza della componente detritale, mentre in inverno ed estate i valori di C/N si sono mantenuti più bassi, evidenziando una migliore correlazione tra le componenti trofiche.

Le conte vitali su Marine Agar sono risultate comprese tra 0 e 1.765 CFU/ml (1999), 0 e 1.500 CFU/ml (2000), 40 e 1.460 CFU/ml (2001), 0 e 80 CFU/ml (2002). Picchi di concentrazione batterica sono stati rilevati a 1.300 m nell'inverno 1999, a 2.000 m nell'autunno 2000, a 1.200 e 1.400 m nell'estate 2001. Nella primavera 2002 si è evidenziato un massimo relativo a 1.000 e 1.100 m, ma con valori sensibilmente più bassi rispetto agli anni precedenti.

I ceppi batterici isolati su Marine Agar appartengono ai generi *Pseudomonas*, *Aci-*

netobacter, *Aeromonas*, *Moraxella* e *Pasteurella* per i Gram negativi; *Micrococcus* e *Bacillus* per i Gram positivi. Per le normali difficoltà di crescita in laboratorio, solo poco più del 10% degli oltre 400 ceppi isolati, è stato classificato. Insolitamente, il genere più rappresentato è *Bacillus* (Gram positivo). E' evidente che, con le tecniche analitiche oggi disponibili, è possibile ottenere indicazioni tassonomiche più specifiche dall'analisi del 16S rDNA per la valutazione delle affinità filogenetiche. Sui ceppi isolati sono attualmente in corso tali indagini.

I batteri luminosi hanno mostrato valori tra 0 e 12 CFU/10 ml (2000), 0 e 10 CFU/10 ml (2001), 0 e 12 CFU/10 ml (2002). La loro distribuzione lungo la colonna d'acqua è risultata discontinua, con il valore massimo a 900, 1.400 e 1.200 m di profondità, rispettivamente nel 2000, 2001 e 2002. La distribuzione verticale dei batteri luminosi non risulta significativamente correlata con quella del carbonio organico particellato in nessuno dei periodi di indagine. I valori del coefficiente di regressione sono risultati pari a –0,29 nel campionamento autunnale (2000) e –0,27 in quello primaverile (2002). Del resto la presenza dei batteri luminosi è stata principalmente rilevata in corrispondenza delle acque profonde, dove l'incidenza del POC è risultata sempre modesta. Sui ceppi di batteri luminosi isolati sono attualmente in corso le indagini di carattere tassonomico sia con i classici test fisiologici e biochimici, sia mediante l'analisi del 16S rDNA per la valutazione delle affinità filogenetiche.

Conclusioni

I risultati qui esposti in forma preliminare, afferiscono ad un più ampio set di dati, alcuni dei quali sono ancora in corso di analisi o di elaborazione; in considerazione di ciò, non è ancora possibile fornire un quadro dettagliato della struttura delle comunità microbiche in questo sito. I dati attualmente disponibili ci consentono comunque di confermare quanto riscontrato in precedenti ricerche svolte in aree pelagiche del Mar Mediterraneo (De Domenico M. *et al*., 1996), relativamente alla presenza di un picco di conte vitali negli strati iniziali delle acque profonde.

L'eterogeneità spazio-temporale evidenziata per alcuni dei parametri esaminati risulta in accordo con la estrema variabilità dell'area studiata (Manca *et al*., 2001), in un contesto già estremamente instabile, quale appare il Mediterraneo Orientale negli ultimi anni. La elaborazione completa dell'insieme dei dati conseguiti ed una loro attenta interpretazione potrebbe contribuire anche ad una migliore valutazione dei fenomeni idrologici che stanno avvenendo nel Mare Ionio.

Bibliografia

BOLDRIN A., MISEROCCHI S., RABITTI S., TURCHETTO M.M., BALBONI V., SOCAL G. (2002) – Particulate matter in the southern Adriatic and Ionian Sea: Characterisation and downward fluxes. *J. Mar. Syst.*, **33-34**: 389-410.

CARUSO G., LEONARDI M., AZZARO M., ZACCONE R. (1998) - Attività microbiche e turnover della sostanza organica in ambiente oligotrofico (Isole Egadi). *Biol. Mar. Medit*., **5** (1): 27-34.

DE DOMENICO M., GIULIANO L., CORTESE G., DE DOMENICO E. (1996) - Distribuzione delle comunità microbiche in relazione con le caratteristiche idrologiche in acque pelagiche del Canale di Sardegna. In: G. Alberelli, A De Maio, M. Piccazzo (eds), *Atti 11° Congresso Ass. Ital. Oceanol. Limnol.*, Sorrento, 26-28 ottobre 1994: 363-372.

MALANOTTE-RIZZOLI P., MANCA B. B., RIBERA D'ALCALA M., THEOCHARIS A., BERGAMASCO A., BREGANT D., BUDILLON G., CIVITARESE G., GERGOPOULOS D., MICHELATO A., SANSONE E., SCARAZZATO P., SOUVERMEZOGLOU E. (1997) - A synthesis of

the Ionian Sea hydrography, circulation and water mass pathways during POEM-Phase I. *Progress in Oceanography*, **39**: 153-204.

MANCA B., URSELLA L., SCARAZZATO P. (2001) - New development of Eastern Mediterranean circulation based on hydrological observations and current measurements. *Marine Ecology (PSZN),* **23** (Suppl.): 237-257.

RABITTI S., BIANCHI F., BOLDRIN A., DAROSS L., SOCAL G., TOTTI C. (1994) – Particulate matter and phytoplankton in the Ionian Sea. *Oceanol. Acta*, **17** (3): 297-307.

UNESCO (1983) – Algorithms for computation of fundamental properties of seawater. *Unesco Technical Papers in Marine Science*, *No. 44*: 53 pp.

UNESCO (1988) – The acquisition, calibration, and analysis of CTD data. A report of SCOR Working Group 51. *Unesco Technical Papers in Marine Science*, *No. 54*: 92 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 998-1002

C. De Vittor, F. De Prà

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 – 34010 Trieste, Italia.

DISTRIBUZIONE DELLA CLOROFILLA *A* FRAZIONATA NELLA COLONNA D'ACQUA DEL GOLFO DI TRIESTE: AUTUNNO 1998 - ESTATE 2001

DISTRIBUTION OF SIZE FRACTIONATED CHLOROPHYLL A IN THE WATER COLUMN OF THE GULF OF TRIESTE: AUTUMN 1998 – SUMMER 2001

Abstract

*Chlorophyll-*a *size fractions were investigated in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) from autumn 1998 to summer 2001 and found to vary seasonally and spatially. The total concentrations increase in fall-winter and in coastal areas always reach maximum during early spring.*

Key-words: *Chlorophyll* a *size fractions, Gulf of Trieste.*

Introduzione

La determinazione della concentrazione di clorofilla *a* è una delle analisi maggiormente utilizzate nei programmi di ricerca e di monitoraggio per la stima indiretta della biomassa algale e della sua produttività. Il ricorso a pre-filtrazioni differenziate consente di studiare le comunità microalgali anche da un punto di vista dimensionale. Nel Golfo di Trieste, la struttura della comunità fitoplanctonica è fortemente influenzata da acque ricche in nutrienti provenienti dal fiume Isonzo e dalla stratificazione della colonna d'acqua (Malej *et al.,* 1995). L'utilizzo di modelli multivariati sulla composizione chimica delle acque del Golfo, proposti da Barbieri *et al*. (1999 a; b), ha permesso di evidenziare come le dinamiche temporali e la distribuzione spaziale dei nutrienti inorganici condizionino la concentrazione di clorofilla *a*. Malej *et al.* (1995), inoltre, hanno rilevato che la classe dimensionale maggiore a 10 μm risulta particolarmente stimolata dagli apporti continentali.

Scopo del presente studio è determinare il relativo contributo delle frazioni <2, 2-20, >20 μm alla concentrazione totale di clorofilla *a*, nelle fluttuazioni temporali della biomassa fitoplanctonica che caratterizzano il Golfo di Trieste.

Materiali e metodi

Il campionamento è stato effettuato mensilmente, da ottobre 1998 a giugno 2001, in tre stazioni del Golfo di Trieste: la prima influenzata dagli apporti del fiume Isonzo (St. A4 - 45°41.61' N; 13°33.88' E), la seconda costiera (St. C1 - 45°42.05' N; 13°42.60' E) e la terza posizionata al centro del Golfo (St. AA1 - 45°39.83' N; 13°35.77' E). I campioni d'acqua sono stati raccolti con bottiglie Niskin a tre-quattro quote discrete, scelte in base alle caratteristiche termoaline della colonna d'acqua, nelle stazioni A4 e AA1 e a quattro quote fisse (0, 5, 10, 15 m), scelte al fine di conservare una serie storica trentennale di dati, nella stazione C1. Per la determinazione della clorofilla *a* totale, aliquote pari a 1L di subcampione sono state filtrate su filtri di fibra di vetro Whatmann GF/F (Ø 47 mm). La stima del contributo delle diverse classi dimensionali

è stata ottenuta mediante prefiltrazione su maglia da 20 μm e su membrana di policarbonato (Nuclepore) da 2 μm. L'analisi spettrofluorimetrica è stata condotta su estratto acetonico utilizzando uno spettrofluorimetro PERKIN ELMER LS50B (Lorenzen e Jeffrey, 1980).

Risultati

Le concentrazioni di clorofilla *a* totale variano tra 0.11 μgL^{-1}, minimo assoluto rilevato alla quota di fondo della stazione AA1 in novembre 2000, e 5.94 μgL^{-1}, massimo assoluto misurato in superficie nella stazione C1, in febbraio 1999. Concentrazioni generalmente più elevate corrispondono ai periodi autunnali (novembre 1998, settembre e novembre 1999, ottobre 2000), mentre i massimi relativi si rilevano sempre durante le fioriture tardo invernali-primaverili (febbraio 1999, 2000, 2001), soprattutto nella stazione costiera. I profili verticali di concentrazione non risultano in genere ben definiti, solitamente però, nei mesi estivi i valori più elevati si riscontrano alle quote più profonde e durante l'inverno in superficie. In Fig. 1 sono riassunti i valori di concentrazione di clorofilla *a* (dati integrati su colonna) relativi alle tre stazioni oggetto di studio.

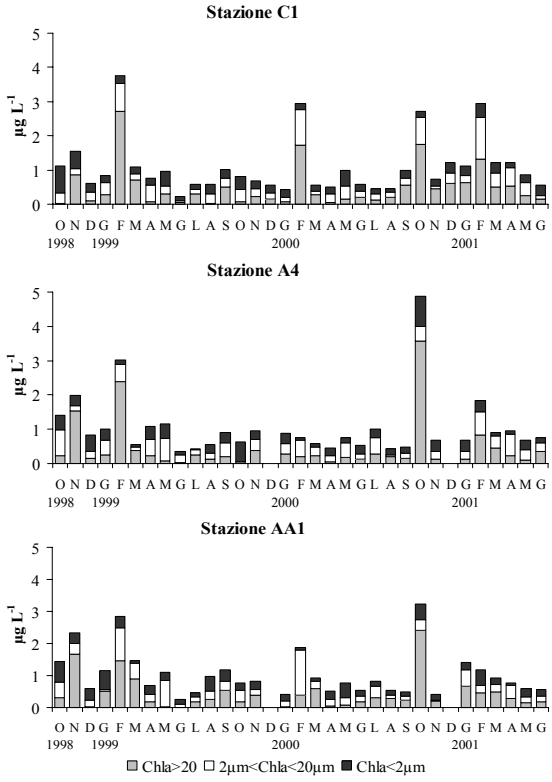


Fig. 1 - Distribuzione temporale della clorofilla *a* frazionata.
Temporal distribution of size-fractioned Chlorophyll a.

Appare evidente come, nel periodo considerato, le fioriture fitoplanctoniche, autunnali e primaverili, si siano manifestate con intensità differente in aree diverse del Golfo. Sembra, infatti, che il popolamento fitoplanctonico tenda a svilupparsi maggiormente nelle stazioni al largo in autunno, mentre prediliga le zone costiere (stazione C1) in occasione delle fioriture primaverili. Anche il contributo delle diverse frazioni varia notevolmente (Fig. 2). In novembre 1998 e ottobre 2000, infatti, il maggiore contributo (>50%) alla totalità della clorofilla *a* è attribuibile alla frazione di dimensioni superiori ai 20 μm.

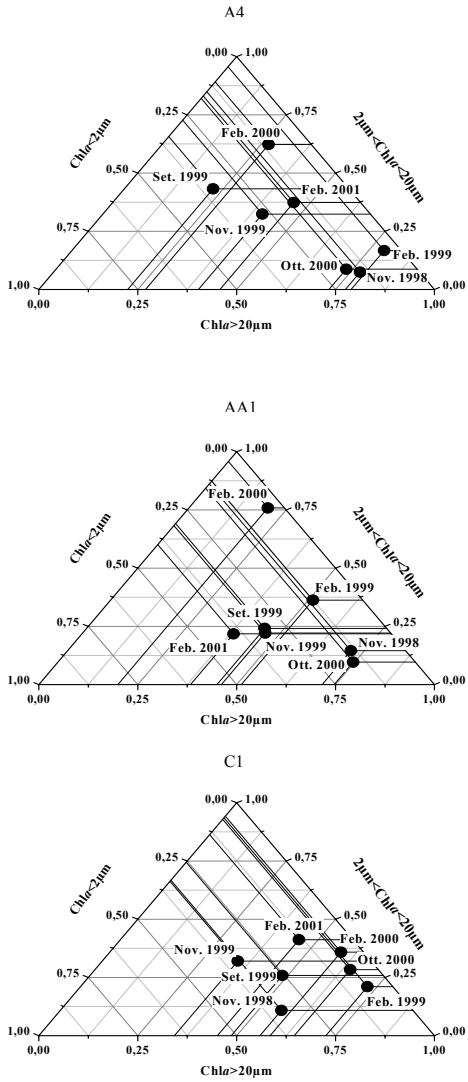


Fig. 2 - Diagrammi ternari del contributo percentuale delle diverse frazioni di clorofilla *a* durante le principali fioriture fitoplanctoniche.

Ternary graphs of size-fractioned chlorophyll a *during main phytoplankton blooms.*

Durante l'autunno 1999 la situazione è parsa alquanto diversa: il contributo della frazione superiore ai 20 μm alla clorofilla totale risulta nettamente più contenuto e sempre inferiore al 50% in tutte le stazioni analizzate. Acquistano, invece, maggiore importanza le frazioni <2 μm e 2-20 μm che raggiungono percentuali superiori al 25%. Le fioriture primaverili (febbraio 1999, 2000 e 2001) risultano caratterizzate da maggiori variazioni spazio-temporali nel contributo percentuale delle diverse frazioni alla clorofilla totale. La frazione >20 μm è generalmente la più abbondante solo nella stazione costiera; particolare risulta il mese di febbraio 2000, quando, nella stazione AA1 il contributo della frazione 2-20 μm costituisce più del 75% del totale.

Conclusioni

Le variazioni temporali di concentrazione totale di clorofilla *a*, evidenziate nel periodo considerato, confermano gli andamenti più volte descritti per il Golfo di Trieste, caratterizzato dalle tipiche fioriture primaverili ed autunnali (Malej *et al.,* 1995; Cabrini *et al*., 2000). I profili verticali suggeriscono come il popolamento fitoplanctonico segua un andamento condizionato dalla distribuzione verticale dei nutrienti: durante l'inverno, infatti, l'omogeneità della colonna d'acqua rende disponibili i sali nutritivi a tutte le profondità e di conseguenza la penetrazione della radiazione solare costituisce il fattore maggiormente limitante la crescita microalgale. Nel periodo estivo, invece, con l'instaurarsi della stratificazione termoalina, i nutrienti tendono ad essere confinati al disotto del picnoclino e di conseguenza le cellule fitoplanctoniche, non limitate in questo caso dalla disponibilità di luce, sono generalmente più abbondanti in profondità. Picchi di concentrazione di clorofilla in corrispondenza delle quote più profonde però, pur indicando un aumento in biomassa fitoplanctonica, possono in parte derivare da un incremento della quantità di clorofilla *a* all'interno della cellula, dovuto ad adattamenti fisiologici ad eventuali basse intensità luminose (Ninčević *et al.,* 2002). La struttura chimico-fisica della colonna d'acqua condiziona anche la composizione della comunità microalgale (Huang *et al*., 1999): le cellule fitoplanctoniche, infatti, hanno esigenze diverse, soprattutto in termini di nutrienti, a seconda delle loro dimensioni. Lee Chen (2000), ad esempio, riporta che il pico- ed il nanoplancton tendono a dominare quando la produttività è bassa e la produzione rigenerata superiore alla nuova produzione. Gli organismi di dimensioni più grandi, invece, diventano dominanti quando la produttività è alta e la nuova produzione è maggiore di quella rigenerata. Huang *et al*. (1999) sostengono, inoltre, che il rapporto superficie/volume dell'alga, piuttosto che i processi fotosintetici, può essere positivamente correlato alle quantità di carbonio organico disciolto di origine fotosintetica (PDOC) rilasciato: più piccola perciò sarà la cellula algale, maggiore sarà il PDOC rilasciato. Viste le notevoli implicazioni nei diversi processi biologici, diviene quindi estremamente importante conoscere la struttura dimensionale del popolamento fitoplanctonico nelle fluttuazioni temporali che esso subisce. L'analisi della clorofilla *a* frazionata, consentendo di determinare il relativo contributo delle diverse frazioni alla concentrazione totale di clorofilla *a*, rappresenta una tecnica relativamente semplice utile per studiare le comunità anche da un punto di vista dimensionale in quanto permette di stimare rapidamente quale sia la classe dominante nella biomassa algale in un determinato momento.

Bibliografia

BARBIERI P., ADAMI G., PREDONZANI S., REISENHOFER E., MASSART D.L. (1999a) - Survey of environmental complex system: pattern recognition of physicochemical data describing coastal water quality in the Gulf of Trieste. *J. Environ. Monit.,* **1**: 69-74.

BARBIERI P., ANDERSSON C.A., MASSART D.L., PREDONZANI S., ADAMI G., REISENHOFER E. (1999b) - Modelling bio-geochemical interactions in the surface water of the Gulf of Trieste by 3-way PCA. *Anal. Chim. Acta,* **398**: 227-235.

CABRINI M., COK S., PECCHIAR I. (2000) – Dinamica e struttura del fitoplancton nella fascia costiera del Golfo di Trieste. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 850-853.

HUANG B., HONG H., WANG H. (1999) - Size-fractionated primary productivity and the phytoplankton-bacteria relationship in the Taiwan Strait. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **183**: 29-38.

LEE CHEN Y.L. (2000) - Comparisons of primary productivity and phytoplankton size structure in the marginal regions of southern East China Sea. *Cont. Shelf. Res.*, **20**: 437-458.

LORENZEN C.J., JEFFREY S. (1980) - Determination of chlorophyll in seawater. *Technical Papers in Marine Science*. SCOR-UNESCO, **35**: 1-20.

MALEJ A., MOZETIČ P., MALAČIČ V., TERZIĆ S., AHEL M. (1995) - Phytoplankton responses to freshwater inputs in a small semi-enclosed gulf (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **120**: 111-121.

NINČEVIČ Z., MARASOVIČ I., KUŠPILIČ G. (2002) – Deep chlorophyll-a maximum at one station in the middle Adriatic Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **82**: 9-19.

Il presente studio è stato effettuato nell'ambito del Progetto INTERREG 2 Italia – Slovenia, finanziato dalla Comunità Economica Europea e dalla Regione Friuli Venezia Giulia, Direzione dell'Ambiente.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1003-1005

C. Larato, E. Crevatin, A. Degani, C. Falconi, P. Del Negro

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 – Trieste, Italia.

INFLUENZA DELLE MUCILLAGINI SULLO SVILUPPO DELLA COMUNITÀ PICOPLANCTONICA AUTOTROFA

INFLUENCE OF THE MUCILLAGE ON THE AUTOTROPHIC PICOPLANKTONIC COMMUNITY

Abstract

Temporal changes in autotrophic picoplankton abundance were investigated from June 1999 to June 2001 in a station located in the middle of the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea).

The investigation allows to compare microbial abundance during summer 1999 and 2001 (years without mucilage) and summer 2000 when a major mucilage event occurred, in order to know if the picoplanktonic increase in summer 2000 had been influenced by the mucillage event.

Key-words: *autotrophic picoplankton, mucillage events, Gulf of Trieste.*

Introduzione

La presenza di macro aggregazioni mucillaginose è stata segnalata a partire dalla seconda metà di maggio 2000 a sud del Conero e, progressivamente, ha interessato tutto il bacino dell'Alto Adriatico. Il fenomeno è stato ampiamente documentato sia relativamente ai processi di formazione che agli effetti sull'ecosistema. I macro aggregati, infatti, rappresentano siti di intensa attività biologica, microecosistemi all'interno dei quali si realizza un rapido ricircolo di nutrienti inorganici che consentono un esasperato utilizzo della materia organica presente (Del Negro *et al*., 2000). L'acqua di mare immediatamente circostante l'aggregato risulta, pertanto, arricchita sia in molecole organiche disciolte sia in sali nutritivi (Azam e Long 2001). Si verifica, perciò, un consorzio tra gli organismi che si trovano all'interno e quelli esterni che è stato molto studiato relativamente alla componente batterica eterotrofa ma risulta poco noto per gli organismi procarioti autotrofi.

Poiché la comunità picoplanctonica autotrofa (0,2-2 μm) del Golfo di Trieste è costituita prevalentemente da cianobatteri (Del Negro *et al.*, 1996) si è voluto indagare il ruolo esercitato dalle mucillagini, ed in particolare dal rilascio di nutrienti dagli aggregati, sullo sviluppo del popolamento picofitoplanctonico confrontando la distribuzione temporale osservata nei periodi precedenti, successivi e contemporanei al manifestarsi del fenomeno.

Materiali e metodi

Nel periodo compreso tra giugno 1999 e giugno 2001 è stato condotto un monitoraggio mensile in una stazione (AA1) posizionata nell'area centrale del Golfo di Trieste. I campioni d'acqua sono stati prelevati con bottiglie Niskin da 5 l a 3 quote discrete (superficie, intermedio e fondo –21 m).

L'abbondanza di organismi picoplanctonici autotrofi è stata stimata mediante microscopia in epifluorescenza (Maugeri *et al*., 1990), mentre la determinazione della con-

centrazione di nutrienti è stata effettuata secondo il metodo di Grasshoff *et al*., (1983).

I dati relativi ad ogni parametro vengono espressi come integrale su colonna.

Risultati

La comunità picoplanctonica risulta costituita prevalentemente da cianobatteri mentre gli organismi eucarioti sono sempre scarsamente rappresentati. Le abbondanze del popolamento sono comprese tra 10^8 cell l^{-1} (luglio 2000) e 10^6 cell l^{-1} (febbraio 2000) (Fig. 1), valori dello stesso ordine di grandezza di quelli rilevati precedentemente nel Golfo di Trieste (Del Negro *et al*., 1996). L'andamento temporale evidenzia come le abbondanze più elevate vengano raggiunte in estate mentre i minimi corrispondono ai mesi tardo autunnali e primaverili. Le abbondanze massime, superiori di un ordine di grandezza rispetto ai valori medi, corrispondono al periodo di comparsa delle mucillagini (giugno-luglio 2000).

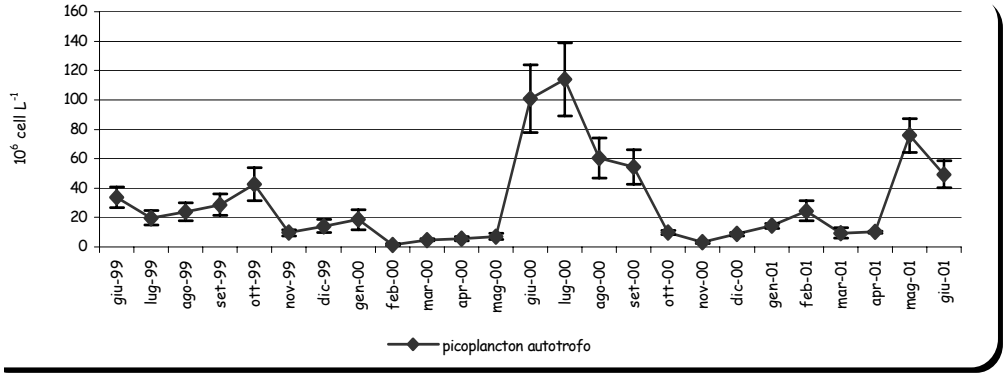


Fig. 1 - Andamento temporale delle abbondanze del picoplancton autotrofo.
Temporal pattern of autotrophic picoplankton abundance.

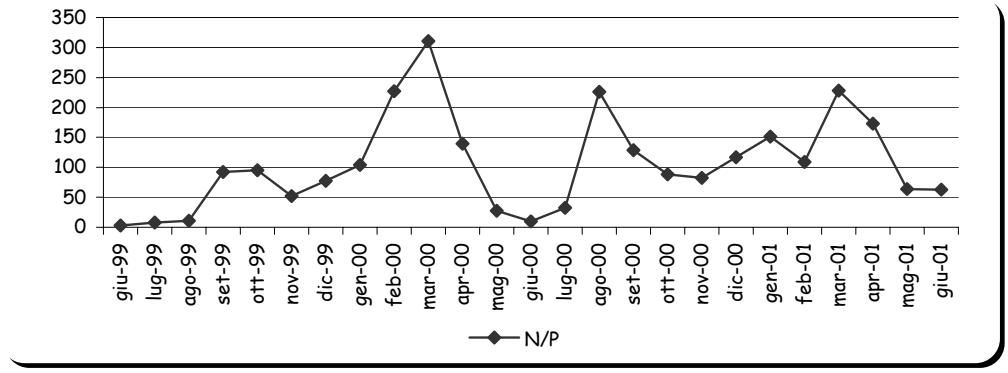


Fig. 2 - Andamento temporale del rapporto N/P.
Temporal pattern of N/P ratio.

In tale periodo le concentrazioni di nutrienti nell'acqua libera non aumentano in modo significativo ma il rapporto N/P diminuisce drasticamente. Variazioni nel rapporto N/P sembrano, infatti, influenzare lo sviluppo del popolamento la cui abbondanza aumenta quando il rapporto è basso (mesi estivi) e diminuisce quando il rapporto aumenta, come nel periodo primaverile ed autunnale (Fig. 2).

Conclusioni

Durante l'estate del 2000, parallelamente alla comparsa di macro-aggregazioni mucillaginose, le abbondanze picofitoplanctoniche raggiungono i valori massimi.

Tale incremento di organismi non è associato ad un rilevante aumento di nutrienti nell'acqua libera. La rimineralizzazione che avviene all'interno dell'aggregato sembra, infatti, non influenzare le concentrazioni circostanti. Il rapporto N/P, analogamente a quanto si verifica durante ogni periodo estivo, diminuisce in seguito allo sviluppo della fioritura primaverile di fitoplancton di maggiori dimensioni che determina una massiccia utilizzazione di azoto (Cabrini *et al*., 1994). Un basso rapporto N/P favorisce lo sviluppo dei cianobatteri (Kahru *et al.,* 2000) inibiti da elevate concentrazioni di sali d'azoto (El Hag e Fogg 1986).

Nonostante non sembri dimostrabile una relazione diretta tra aggregati mucillaginosi e concentrazione di nutrienti è probabile che le elevate abbondanze picofitoplanctoniche rilevate nell'acqua libera siano associate alla capacità dei cianobatteri di utilizzare prontamente gli ioni inorganici liberati, ed in particolare il fosfato.

L'arricchimento conseguente ai processi di riminerlizzazione delle mucillagini non sembra pertanto registrabile nell'acqua libera, ma dovrebbe venir misurato nello spazio immediatamente prospiciente l'aggregato ove, probabilmente, i nutrienti vengono immediatamente utilizzati dalle cellule.

Bibliografia

AZAM F., LONG R. (2001) – Sea snow microcosms. *Nature*, **414**: 495-498.

CABRINI M., MILANI L., BRAUN E., MARTECCHINI E.,FONDA UMANI S.(1991-94) – The phytoplankton in a station in the Gulf of Trieste from October 1988 to December 1990. *Nova Thalassia*, **12**: 191-243.

DEL NEGRO P., RAMANI P., BRAUN E., PREDONZANI S., ZUCCARELLO V. (1996) – Dynamics of picocyanobacteria in the Northern Adriatic Sea. *Arch. Hydrobiol*.: 447-454.

DEL NEGRO P., LONG R.A., RAMANI P., WELKER C., PUDDU A., FONDA UMANI S., AZAM F. (2000) – Efficienza del circuito microbico in presenza di mucillagine. *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 214-221.

EL HAG A.G., FOGG G.E. (1986) – The distribution of coccoid blue-green algae (Cyanobacteria) in the Menai Straits and Irish Sea. *Br. Phycol. J*., **21**: 45-54.

GRASSHOFF K., EHRHARDT M., KREMLING K. (1983) – *Methods of seawater analysis*.Verlag Chemie. Weinheim, Germany: 458 pp.

KAHRU M., LEPPÄNEN J.M., RUD O., SAVCHUK O.P. (2000) - Cyanobacteria blooms in the Gulf of Finland triggered by saltwater inflow into the Baltic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **207**: 13-18.

MAUGERI T.L., ACOSTA POMAR L., BRUNI V. (1990) - Il picoplancton. In: Metodi per lo studio del plancton marino. *Nova Thalassia*, **10** (2): 199-205.

Il lavoro è stato svolto nell'ambito del programma "Studio dello stato trofico e delle anomalie del sistema alto Adriatico" finanziato dalla Comunità Europea e dalla Regione Friuli Venezia Giulia nell'ambito del progetto Interreg II Italia-Slovenia.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1006-1009

C. Facca, A. Sfriso, G. Socal*

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Venezia, Calle Larga Santa Marta 2137 - 30123 Venezia, Italia.
*Istituto di Biologia del Mare, CNR, Castello 1364/a - 30122 Venezia, Italia.

DIATOMEE PLANCTONICHE E BENTONICHE: ABBONDANZA E DIVERSITÀ NELLA LAGUNA DI VENEZIA

PLANKTONIC AND BENTHIC DIATOMS: ABUNDANCE AND DIVERSITY IN THE VENICE LAGOON

Abstract

Planktonic and benthic diatoms mean abundance ranged between 0.3 ± 0.2 e 5.1 ± 7.7 millions cell./l and 1.3 ± 0.4 e 4.4 ± 2.5 millions cells/ml, respectively. The highest values were recorded in the most eutrophicated areas near the mainland whereas minima occurred near the port entrances. Shannon diversity indices were higher at the stations influenced by the sea than near the industrial zone where marked seasonal variations were observed.

Key-words: *diatoms, phytoplankton, microphytobenthos, Venice Lagoon, indices.*

Introduzione

Lo studio della distribuzione spazio-temporale delle diatomee planctoniche ed, in particolare, bentoniche si inserisce in un contesto più ampio che ha lo scopo di definire un indice descrittivo delle caratteristiche dei siti di campionamento, come è già stato fatto con il gruppo bentonico per i corsi d'acqua dolce (Kelly, 1998; Gómez e Licursi, 2001). In questa fase, ancora preliminare rispetto all'individuazione dell'indice di trofia, verranno presentati i dati relativi alle abbondanze spazio temporali delle due comunità.

L'ecosistema lagunare veneziano è caratterizzato da un'elevata variabilità spaziale con condizioni ambientali fortemente impattate dalle attività dell'uomo. Per alcuni decenni i cicli biogeochimici sono stati influenzati essenzialmente dall'accrescimento e dalla degradazione di *Ulva rigida* C. Ag. con effetti significativi anche sulla biodiversità degli organismi nectonici e bentonici. Nel corso degli anni '90 i fenomeni di risospensione/sedimentazione del sedimento sono significativamente aumentati (Sfriso, 2000) soprattutto in seguito alla scomparsa delle macroalghe e alla pesca con sistemi altamente impattanti di *Tapes philippinarum* Adams e Reeve (Orel *et al*., 2000). In questo contesto si è voluto verificare che ruolo le Bacillariophyceae hanno assunto e in che modo la loro distribuzione possa riflettere le diverse condizioni ambientali.

Materiali e metodi

I campioni sono stati raccolti con cadenza mensile in sei stazioni (Stt.) rappresentative delle principali caratteristiche della laguna di Venezia (Fig. 1) e distribuite lungo un transetto che va dalla bocca di porto di Malamocco (Stt. A e B) alla terraferma (Stt. E e F). Le Stt. B, D, E e F sono state campionate tra novembre 1998 e ottobre 1999, mentre le Stt. A, C e, nuovamente, F tra giugno 2000 e maggio 2001. Le Stt. A, B e C presentavano popolazioni di macrofite, rispettivamente *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch., *Zostera marina* L. e *Ulva rigida* C. Ag. Nelle altre stazioni non sono

state registrate biomasse significative a causa non solo degli alti tassi di risospensione del sedimento caratteristici di queste zone ma anche della pesca delle vongole e del traffico navale e da diporto.

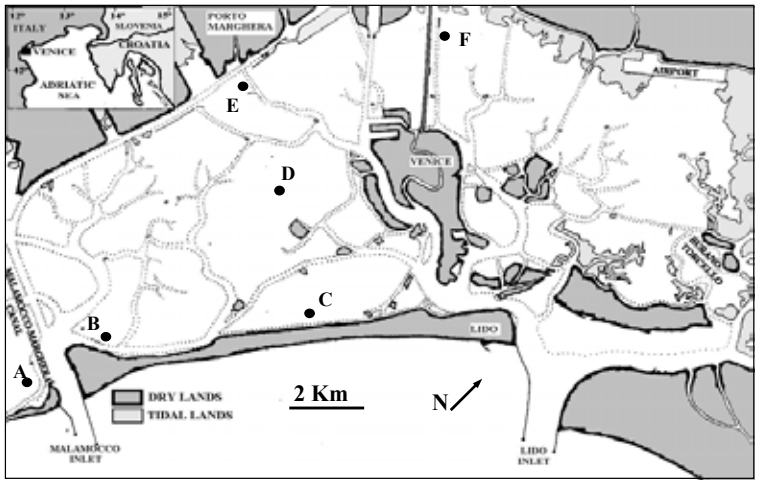


Fig. 1 - Area di studio.
Study area.

Campioni dell'intera colonna d'acqua sono state raccolti, evitando ogni contatto con il sedimento, mediante una bottiglia di plexiglas (h. 150 cm, d. 10 cm) e fissati con formalina. La raccolta e il trattamento del sedimento superficiale (primi 3-4 mm) sono descritti in Facca *et al.* (2002a). La stima quantitativa e l'identificazione tassonomica delle diatomee sono state fatte al microscopio ottico invertito secondo il metodo proposto da Utermöhl (1958).

Risultati

Le abbondanze medie più basse, sia per la frazione planctonica (ca. 0.3×10^6 cell. dm^{-3}) che per quella bentonica (ca. 1.3×10^6 cell. cm^{-3}), sono state registrate in prossimità della bocca di porto, mentre le più alte sono state osservate a ridosso della terraferma (tra 2.7 e 5.1×10^6 cell. dm^{-3} per il plancton, tra 3.2 e 4.4×10^6 cell. cm^{-3} per il benthos). I valori massimi sono stati registrati in primavera e all'inizio dell'estate per quanto riguarda la colonna d'acqua (max: St. F, giugno 1999 -23×10^6 cell. dm^{-3}) e tra agosto ed ottobre per quanto riguarda il sedimento (max: St. F, agosto 1999 - 10.5×10^6 cell. cm^{-3}). La composizione tassonomica e gli andamenti delle due comunità sono risultati piuttosto diversi. Le diatomee planctoniche hanno evidenziato una variabilità temporale maggiore rispetto a quelle bentoniche, sia in termini di abbondanza che di diversità. Nella colonna d'acqua si sono registrati, a seconda dei periodi, bloom di *Skeletonema costatum* Cleve e *Chaetoceros socialis* Lauder, mentre nel sedimento superficiale i taxa prevalenti sono stati *Cocconeis scutellum* Ehrenberg, *Thalassiosira* sp. e *Navicula* sp. (<10 μm) e la loro abbondanza è rimasta piuttosto costante durante tutto il periodo di osservazione. A parte poche eccezioni (stazioni in prossimità della ter-

raferma), poiché nel sedimento non sono state registrate delle vere e proprie fioriture, l'indice di diversità di Shannon ha avuto un andamento pressoché costante (variazioni tra 3.0 e 4.9). La presenza di specie dominanti nella colonna d'acqua ha determinato, invece, forti fluttuazioni della diversità (tra 1.0 e 4.4).

Conclusioni

Sulla base delle osservazioni fatte e dopo confronto della varianza stagionale e spaziale (Test ANOVA a due vie) dei dati disponibili sembra che la comunità delle diatomee bentoniche possa meglio caratterizzare i siti di campionamento e dare, quindi, risultati più attendibili nel caso venga usata come indice di stato ambientale o di trofia. Correlazioni significative sono, infatti, state osservate con la granulometria del sedimento (percentuale frazione fine <63 μm), i flussi di sedimentazione e la presenza/assenza delle macrofite, mentre trascurabile è risultata l'influenza della temperatura (Facca *et al*., 2002a).

Il calcolo della dominanza cumulativa ha permesso di avere una prima conferma, del tutto preliminare, della potenzialità di un indice che coinvolga le diatomee bentoniche anche per gli ambienti costieri (vedi citazioni per ambienti d'acque dolci). Si è osservata, infatti, una netta differenza tra le stazioni a ridosso della terraferma (Stt. E e F), maggiormente impattate, rispetto alle altre quattro (Fig. 2). Non è stato possibile ottenere risultati simili nel caso della frazione planctonica.

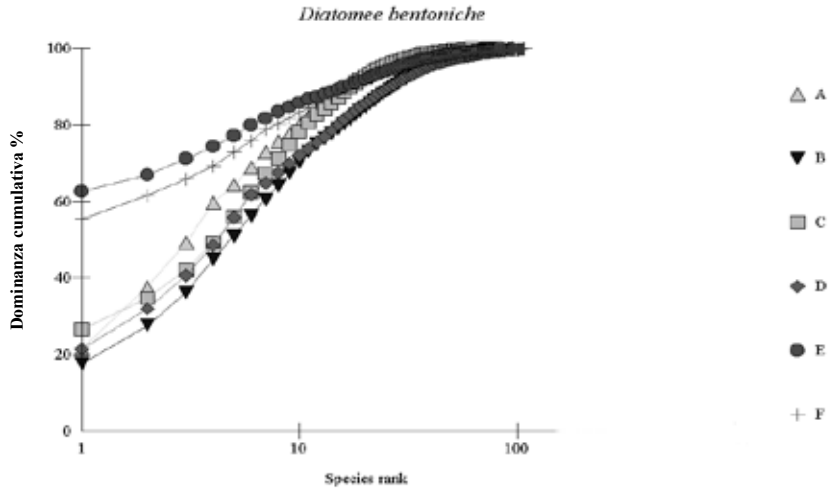


Fig. 2 - Andamenti della dominanza cumulativa (%).
Cumulative dominance trends (%).

Non vanno, tuttavia, trascurate le importanti informazioni che si possono trarre dal confronto tra le specie nella colonna d'acqua e quelle nel sedimento superficiale (Facca *et al.*, 2002b).

Bibliografia

FACCA C., SFRISO A., SOCAL G. (2002a) - Temporal and spatial distribution of diatoms in the surface sediment of the Venice lagoon. *Bot. Mar.,* **45**: 170-183.

FACCA C., SFRISO A., SOCAL G. (2002b) - Changes in abundance and composition of phytoplankton and microphytobenthos due to increased sediment fluxes in the Venice lagoon, Italy. *Estuar. Coast. Shelf. Sci*., **54**: 773-792.

GÓMEZ N., LICURSI M. (2001) - The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquat. Ecol.*, **35**: 173-181.

KELLY M.G. (1998) - Use of trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers. *Water Res.,* **32**: 236-242.

OREL G., BOATTO V., SFRISO A., PELLIZZATO M. (2000) - *Piano per la gestione delle risorse alieutiche delle lagune della provincia di Venezia*. Provincia di Venezia, Venezia: 102 pp.

SFRISO A. (2000) - Eutrofizzazione e inquinamento delle acque e dei sedimenti nella parte centrale della laguna di Venezia. In: CNV, MAV, LLPP (eds), *Nuovi Interventi per la Salvaguardia di Venezia*, Venezia, **3**: 258 pp.

UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkomnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. int. Verein. Limnol.,* **9**: 1-38.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1010-1013

R. La Ferla, F. Azzaro, M. Azzaro, E. Crisafi

Istituto Sperimentale Talassografico (IAMC-CNR) di Messina, Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.

BIOMASSA E RESPIRAZIONE MICROBICA NEL MARE DI ROSS

MICROBIAL BIOMASS AND RESPIRATION IN THE ROSS SEA

Abstract

The microbial biomass and respiratory activity in two sites of the Ross Sea were studied with the aim of evaluating the biological pump efficiency and the carbon flux veiculated by microbes throughout the water column.

Key-words: *microbial biomass, respiration, Antarctica.*

Introduzione

Nell'ambito del Programma Nazionale di Ricerche in Antartide (PNRA), progetto BIOSESO II, durante la XVI spedizione è stato condotto uno studio sui flussi di sostanza organica in due siti del Mare di Ross dove sono posizionati due ancoraggi. Scopo del nostro progetto è quello di stimare l'efficienza della pompa biologica e di valutare il carbonio organico veicolato dal comparto microbico attraverso la colonna d'acqua, mediante lo studio della biomassa microbica e dell'attività respiratoria. Precedenti ricerche nel Mare di Ross erano state rivolte soltanto ai processi che avvengono nella zona fotica (La Ferla *et al*., 1995; Crisafi *et al*., 2000; Ducklow *et al.*, 2001).

Materiali e metodi

Le stazioni esaminate (A e B), sede di 2 ancoraggi del progetto BIOSESO 2 sono state campionate 2 volte nell'arco di 24 ore (a, b); nella stazione B l'esperimento è stato ripetuto a distanza di 18 giorni (st. BI: 20/01/2001; st. BII: 06/02/2001). I campioni d'acqua sono stati prelevati prima e dopo il posizionamento di trappole flottanti di sedimentazione. Nella zona eufotica i campioni sono stati raccolti a quote selezionate sulla base del profilo della PAR (Photosynthetically active radiation) mentre, nella zona afotica, i prelievi sono stati effettuati con un passo di un campione ogni 100 metri di profondità fino al fondo.

La biomassa è stata determinata mediante l'analisi dell'ATP frazionato nelle componenti pico-, nano- e micro-planctoniche della colonna d'acqua (Holm-Hansen e Pearl, 1972). Ulteriori campioni sono stati raccolti dal sedimento superficiale prelevato mediante box-corer. Il valore di ATP totale è stato trasformato in carbonio mediante il fattore 250 (Karl, 1980). Il picoplancton è stato stimato mediante conteggio diretto con DAPI (Porter e Feig, 1980) e come determinazione dei Lipolisaccaridi (LPS) (Watson *et al.*, 1977). L'abbondanza cellulare è stata convertita in biomassa secondo Ducklow e Carlson (1992), ed i LPS secondo Watson *et al.* (1977). I tassi respiratori sono stati stimati mediante la valutazione dell'attività del Sistema di Trasporto degli Elettroni (ETS) (Packard e Williams, 1981) e trasformati in produzione metabolica di CO_2 (La Ferla e Azzaro, 2001).

Risultati

I parametri microbiologici sono risultati ben correlati tra loro indicando un funzionamento sinergico dell'assemblaggio microbico. In tutte le stazioni sono state notate delle differenze tra lo strato eufotico ed afotico per tutti i parametri (Tab. 1); la concentrazione di carbonio derivata dalla stima dei LPS ha mostrato la minore variabilità, in particolare nel sito B.

Tab. 1 - Valori minimi e massimi del carbonio derivato da ATP totale, conteggi con DAPI, stime di LPS e attività ETS nelle tre stazioni esaminate (BI a, BI b, BII a, BII b, Aa e Ab) nella zona eufotica (E) ed afotica (A).

Minima and maxima values of carbon derived from total ATP, DAPI counts, LPS estimates and ETS activity in the examined stations (BI a, BI b, BII a, BII b, Aa e Ab) in the euphotic (E) and aphotic (A) zones.

		BI station			BII station			AI station		
		min-max	$\overline{m}$ ± d.s.	n	min-max	$\overline{m}$ ± d.s.	n	min-max	$\overline{m}$ ± d.s.	n
		µg C/l			µg C/l			µg C/l		
C-ATP	E	1,1-96,0	33,9±32,8	14	2,1-52,0	21,3±15,5	14	12,0-437,9	198,3±180,6	12
	A	0,5-1,9	1,2±0,5	10	1,2-6,8	4,3±1,7	8	2,2-19,1	8,1±6,4	12
C-DAPI	E	0,3-0,9	0,6±0,2	14	0,4-0,8	0,7±0,1	14	0,2-3,2	1,1±0,9	12
	A	0,1±0,6	0,3±0,2	10	0,4-1,2	0,7±0,2	8	0,2-0,7	0,4±0,2	12
C-LAL	E	0,6-0,9	0,8±0,1	14	0,7-1,1	0,8±0,1	14	1,2-1,4	1,4±0,1	12
	A	0,5-0,9	0,7±0,2	10	0,6-1,1	0,9±0,2	8	0,8-1,6	1,3±0,2	12
C-ETS (day)	E	0,04-0,52	0,12±0,13	14	0,03-0,41	0,14±0,12	14	0,08-0,37	0,19±0,11	11
	A	0,02-0,05	0,03±0,01	10	0,01-0,09	0,03±0,02	8	0,04-0,09	0,05±0,02	12

Le alte stime di ATP evidenziano chiaramente le condizioni di eutrofia del sito A. In generale, i valori ottenuti negli strati superficiali risultano più elevati rispetto a quanto riscontrato precedentemente nel mare di Ross (La Ferla *et al*., 1995; Crisafi *et al*., 2000) e simili a quelli determinati da Karl (1980) negli stretti di Gerlache e Bransfield (circa 2000 ng/l) che risultano i più elevati valori mai determinati per gli ambienti marini. Nella st. B, invece si evidenzia un moderato trofismo. La struttura dei popolamenti microbici ha evidenziato che la frazione micro-planctonica domina sempre la comunità (Fig. 2). Nella st. BII, a distanza di 18 giorni dal primo esperimento, è stato notato un abbattimento della biomassa totale mentre è aumentato il peso in percentuale del nanoplancton. Nella st. A invece, dove era in corso un'intensa fioritura fitoplanctonica con valori di biomassa totale molto elevati, quasi il 100% del popolamento apparteneva al micro-plancton. Tale riscontro si riflette nell'accumulo di materiale organico osservato nel sedimento della st. A dove la biomassa stimata è risultata 10 volte maggiore che nella st. B (st. A 6438 ng C cm^{-3}; st. B 676 ng C cm^{-3}).

Lungo la colonna d'acqua la biomassa stimata dalla misura di ATP e l'attività ETS decrescevano esponenzialmente, ma i valori di ETS risultavano più omogenei forse a causa della basse temperature che riducono considerevolmente le attività metaboliche.

La distribuzione lungo la colonna d'acqua delle biomasse derivate da LPS e da conteggi con DAPI nelle st. BI e BII ha messo in evidenza un andamento ben accoppiato che ricade nel range già determinato per zone temperate e antartiche. Tuttavia le stime di biomassa calcolate da LPS risultano leggermente più elevate di quelle calcolate con DAPI. Nella st. A, nello strato superficiale, le stime dal DAPI risultano due volte

maggiori di quelle derivate dai LPS, mentre negli strati più profondi, la biomassa da LPS si mantiene più elevata divergendo maggiormente rispetto alla st. B (La Ferla *et al.*, 2001). Le differenze tra le due stime di biomassa potrebbero essere dovute al fatto che i LPS quantificano un componente cellulare che varia con la morfologia e la taglia cellulare.

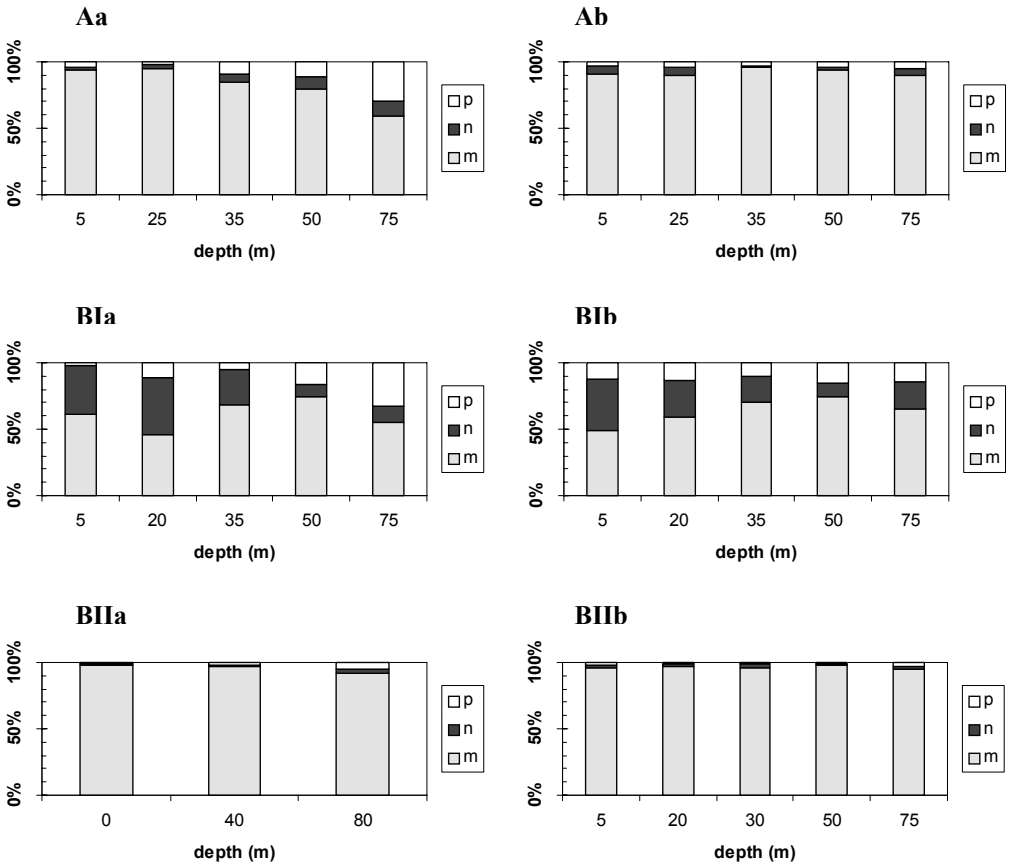


Fig. 1 - Profili verticali dell'ATP nelle frazioni pico-, nano- e microplanctoniche nelle stazioni studiate BI (a,b), BII (a,b) e A (a,b) e rappresentazione percentuale delle categorie dimensionali dei popolamenti microbici lungo la colonna d'acqua.

Size fractions ATP vertical profiles (pico-, nano- and pico-sizes) in the studied stations BI (a,b), BII (a,b) and A (a,b) and size fractions percentage of microbial population along the water column.

I dati di biomassa da ATP e respirazione integrati negli strati superficiali (0-200 m) hanno mostrato che nella st. A, la biomassa risultava >20 g C m^{-2} mentre in B risultava circa 3 g C m^{-2}. L'attività respiratoria mostrava differenze meno marcate tra le stazioni, variando tra 30 e 15 mg C g^{-1} m^{-2}, rispettivamente nella st. A ed B. Negli strati profondi

l'integrazione (200 m - fondo) mostrava risultati similari. Nella zona afotica della st. A, la biomassa integrata risultava di 4 g C m^{-2} contro 1 g C m^{-2} nella st. B. Qui sono stati remineralizzati 10 mg di C g^{-1} m^{-2} mentre nella st. A si è registrato un valore doppio.

Conclusioni

Il rapporto percentuale tra biomassa totale e respirazione (B/R) si è sempre mantenuto al di sotto dell'unità indicando lenti tassi di turn-over in tutte le stazioni.

In definitiva nonostante le elevate biomasse negli strati superficiali, l'attività respiratoria lungo tutta la colonna d'acqua si mantiene bassa per cui i processi ossidativi non consentono la remineralizzazione della sostanza organica presente, che subirà processi di export o di sinking.

Ringraziamenti

Vogliamo inoltre ringraziare la Sig.ra Giovanna Maimone per l'importante contributo alla ricerca.

Bibliografia

CRISAFI E., AZZARO F., LA FERLA R., MONTICELLI L. (2000) - Microbial biomass and respiratory activity related to the ice-melting upper layers in the Ross Sea (Antartica). In: Faranda M.F., Guglielmo L., Ianora A. (eds), *Ross Sea Ecology*, Springer-Verlag, Berlino: 171-180.

DUCKLOW H.W., CARLSON C.A. (1992) – Oceanic bacteria production. In: Marshall K.C. (ed), *Advances in Microbial Ecology*, Plenum Press, New York, **12**: 113-181.

DUCKLOW H.W, DICKSON M.L., KIRCHMAN D.L., STEWARD G., ORCHARDO J., MARRA J., AZAM F. (2000) – Constraining bacterial production, conversion efficiency and respiration in the Ross Sea, Antarctica, January – February 1997. *Deep-Sea Research II,* **47**: 3227-3248.

HOLM-HANSEN O., PAERL H.W. (1972) – The applicability of ATP determination for estimation of microbial biomass and metabolic activity. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol*., **29**: 149-168.

KARL D.M. (1980) – Cellular nucleotide measurements and applications in microbial ecology. *Microbiol. Rew*., **44**: 739-796.

LA FERLA R., ALLEGRA A., AZZARO F., GRECO S., CRISAFI E. (1995) – Observations on the microbial biomass in two stations of Terra Nova Bay (Antartica) by ATP and LPS measurements. *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.*, **16** (4): 307-315.

LA FERLA R., AZZARO F., AZZARO M., MAIMONE G. (2001) – Microbial biomass and respiratory activity in two sites in the Ross Sea, 2nd International Conference on the Oceanography of the Ross Sea, Antarctica. Ischia 3-8 ottobre 2001.

LA FERLA R., AZZARO M. (2001) – Microbial respiration in the Levantine Sea: evolution of the oxidative processes in relation to the main Mediterranean water masses. *Deep-Sea Research I*, **48** (10): 2147-2159.

PACKARD T.T., WILLIAMS P.J. leB. (1981) - Rates of respiratory oxygen consumption and electron transport in surface sea water from the Northwest Atlantic. *Oceanol. Acta*, **4**: 351-358.

PORTER K.G., FEIG Y.S. (1980) – The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 943-948.

WATSON S.W., NOVITSKY T.J., QUINBY H.L., VALOIS F.W. (1977) – Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33** (4): 940-946.

La ricerca è stata effettuata nell'ambito del PNRA, progetto BIOSESO II.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1014-1017

F. Magillo, M. Faimali, S. Geraci

CNR – Istituto di Scienze Marine (ISMAR), Via De Marini, 6 – 16149 Genova, Italia.

EFFECT OF CADMIUM CHLORIDE ON THE SWIMMING BEHAVIOUR OF *BALANUS AMPHITRITE* (CRUSTACEA: CIRRIPEDIA) LARVAE

EFFETTO DEL CLORURO DI CADMIO SUL COMPORTAMENTO NATATORIO LARVALE DI BALANUS AMPHITRITE *(CRUSTACEA: CIRRIPEDIA)*

Abstract

Inhibition of swimming activity in Balanus amphitrite *(Darwin, 1854) larvae was used as an index of environmental stress, compared to mortality and immobilization. Average swimming speed was measured by means of videographic and image-analysis techniques. After 24 hours of exposure to cadmium chloride, the IC50 (swimming speed), LC50 (mortality) and EC50 (immobilization) values were calculated.*

Key-words: *swimming,* Balanus amphitrite*, toxicity, cadmium, image processing.*

Introduction

Several authors suggest that behavioural criteria in ecotoxicology are more sensitive indicators of toxic stress than conventional ones based on survival, growth and reproduction (Wolf *et al.*, 1998). Concerning the genus *Balanus*, different behavioural aspects related to imposed toxic stresses have been studied, i.e.: phototaxis (Lang *et al.*, 1980; Wu *et al.*, 1997a; Faimali *et al.*, 1997, 1999; Magillo *et al.*, 2002), settlement (Wu *et al.*, 1997b) and swimming performance (Wu *et al.*, 1997a).

Swimming performance for zooplankters has a great ecological relevance for its role in finding food and avoiding predation: the exposure to toxic substances at sublethal levels may thus reduce fitness and survival (Bailleul & Blust, 1999). The evaluation of swimming speed has been demonstrated to be an interesting end-point of relatively simple experimental set-up and quantification, though only few works led to a result in terms of IC50, the most representative being those conducted by Charoy *et al.* (1995) with rotifers. To date, most ecotoxicological behavioural studies with aquatic invertebrates have been performed with representatives of the genus *Daphnia* (Wolf *et al.,* 1998; Bailleul & Blust, 1999), while few data are available for marine organisms.

With the present investigation a standardized method was employed in order to obtain quantified data of toxicity referred as swimming inhibition, for larvae of *Balanus amphitrite* Darwin (1854). As a first application, the effect of cadmium chloride on swimming behaviour was studied.

Materials and methods

Filtered (0,22 μm) natural sea-water at 37‰ was used as diluition medium for $CdCl_2$: the used $CdCl_2$-concentrations (0.08-0.16-0.32-0.64-1.28-2.56-5.12-10.24-20.48 $\mu g \cdot ml^{-1}$) were based on preliminary acute toxicity tests, and were expected to range from no to heavy mortality.

Larvae were obtained from laboratory-reared adult barnacles and stored in petridishes, in filtered (0.22 μm) natural sea-water at 20 °C and 37‰, without food and aeration, in six replicates for each treatment concentration and control, for 24 hours.

The experimental set-up (Fig. 1) used for the measure of swimming behaviour consists of a video camera with a macro-objective, which records the paths of a sample of larvae swimming in a small chamber (internal size: 21×14×3 mm). The apparatus is contained in a black box in order to avoid possible phototactic effects on swimming, and the chamber is observed under infrared monitoring light. Organisms were dark-adapted for 2 minutes before video-recording (time fixed by preliminary tests in order to reach steady speed and uniform spatial distribution). Swimming behaviour in darkness at 20 °C was digitally recorded for about two seconds at 12 frames per second, by a frame grabber plugged into a PC. Images were analysed through an image-analysis software (Scion Image) integrated by custom-made macros (Pascal language) to obtain the reconstruction of individual path-tracks and the measure of the average swimming speed ($mm \cdot sec^{-1}$) for each sample (15 individuals). Data were finally referred as swimming inhibition, normalized to the average swimming speed of the control (V = average swimming speed):

$$\text{Inhibition}(\%) = ((V_{TREATED} - V_{CONTROL}) / V_{CONTROL}) \times 100$$

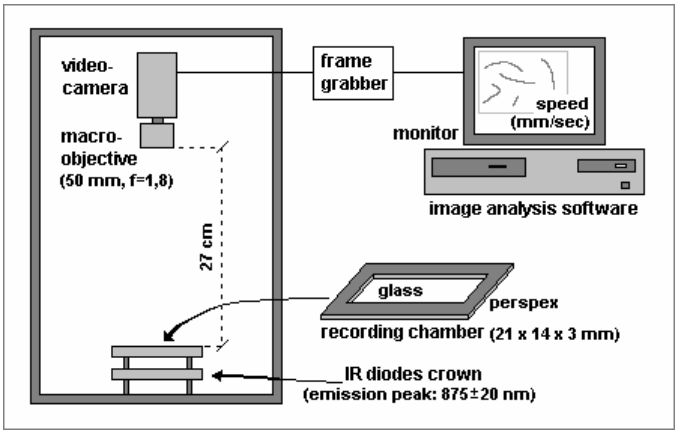


Fig. 1 - Experimental set-up for the behavioural test (swimming inhibition).
Apparato sperimentale per il test comportamentale (inibizione del nuoto).

In parallel, commonly used tests were performed:

- The mortality test, considering the percent of dead larvae (total absence of appendages movements for 5 seconds, for individual larvae observed under optical microscope).
- The immobilization test, considering the percent of nonmotile larvae (dead or with vibrating appendages).

One-way ANOVA followed by SNK test was performed to detect significant effects of the used concentrations on mortality, immobilization and swimming inhibition. The respective LC50 (mortality), EC50 (immobilization) and IC50 (swimming inhibition) were calculated with the Spearman – Karber method.

Results

The swimming activity of nauplii II of *Balanus amphitrite* was altered by sub-lethal concentrations of $CdCl_2$: in fact a significant decrease of swimming speed was detectable at 0.16 $\mu g \cdot ml^{-1}$, while mortality was statistically significant only at 1.28 $\mu g \cdot ml^{-1}$ (SNK test, $\alpha = 0.01$) (Fig. 2).

The control mean swimming speed, used for normalization, was 1.44 (S.E. = 0.02, N = 90 resulting from 6 replicates and 15 individuals each replicate) $mm \cdot sec^{-1}$. The calculated IC50, EC50 and LC50 values are reported in Tab. 1.

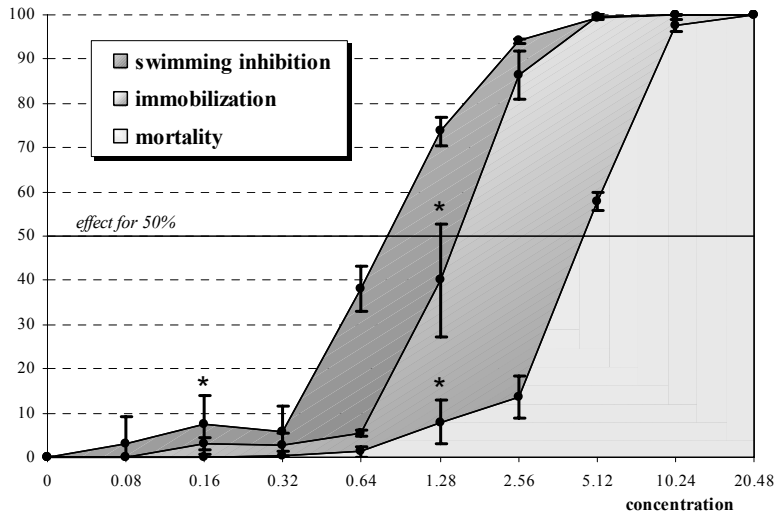


Fig. 2 – Percentage of mortality, immobilization and swimming inhibition for *B. amphitrite,* at the tested concentrations of cadmium chloride. Bars indicate standard deviations (mortality and immobilization, N=6) and standard errors (swimming inhibition, N=6x15). Asterisks indicate the lower concentration at which each calculated end-point value begins to be significantly different to the control (SNK test, α=0.01).

Percentuale di mortalità, immobilizzazione e inibizione del nuoto per B. amphitrite*, alle concentrazioni testate di cloruro di cadmio. Le barre indicano le deviazioni standard (mortalità e immobilizzazione, N=6) e gli errori standard (inibizione del nuoto, N=6x15). Gli asterischi indicano la concentrazione minore alla quale ognuno degli end-point calcolati inizia ad essere significativamente differente dal controllo (SNK test, α=0.01).*

Tab. 1 - Calculated values for the three end-points (Spearman – Karber method).
Valori calcolati per i tre end-point (metodo di Spearman – Karber).

End-point	Value ($\mu g \cdot ml^{-1}$)	95% confidence limits	
		min	max
IC50 (swimming inhibition)	**0.853**	*0.738*	*0.968*
EC50 (immobilization)	**1.399**	*1.341*	*1.458*
LC50 (mortality)	**4.193**	*4.143*	*4.244*

Conclusions

The proposed behavioural test led successfully to a quantification in terms of IC50 for swimming activity disrupted by an imposed toxic stress.

Other sublethal toxicological studies carried on *Balanus amphitrite* with cadmium gave the following results: Wu *et al.* (1997a) reported a concentration of 1 $\mu g \cdot ml^{-1}$ as LOEC for phototactic inhibition (for 24 hours at 20 °C and 32‰), while Wu *et al.* (1997b) found a concentration of 0.1 $\mu g \cdot ml^{-1}$ as LOEC for settlement inhibition (for 6 days at 27 °C and 32‰). Other works that analyzed toxicity of cadmium on marine organisms reported values of 3 $\mu g \cdot ml^{-1}$ (IC50 for proliferation of *Tetrahymena pyriformis* after 9 hours: Bogaerts *et al.*, 2001), 8.3 $\mu g \cdot ml^{-1}$ (EC50 for luminescence inhibition of *Vibrio fischeri* after 15 minutes: Bogaerts *et al.*, 2001) and 5.5-18.3 $\mu g \cdot ml^{-1}$ (EC50 for development of *Paracentratus lividus* after 72 hours: Office of Pesticide Programs, 2000).

Compared to other toxicological investigations, the proposed technique is highly sensitive: toxic effects are detectable at sub-lethal concentrations and the calculated end-point (IC50) gives very good results. The employed technique is promising for further applications employing other toxic substances. Of a certain interest is the possibility of coupling naupliar swimming inhibition with cyprids settlement behaviour of *B. amphitrite,* to obtain an integrate and sensitive method to assess toxicity on the same test organism. The consideration of such behavioural criteria, in order to better characterise toxic effects of substances, could be useful and advantageous for pollution monitoring in aquatic environments.

References

BAILLIEUL M., BLUST R. (1999) – Analysis of the swimming velocity of cadmium-stressed *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol*., **44**: 245-254.

BOGAERTS P., BOHATIER J., BONNEMOY F. (2001) – Use of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis* for the assessment of toxicity and quantitative structure-activity relationships of xenobiotics: comparision with the Microtox test. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* **49**: 293-301.

CHAROY C.P., JANSSEN C.R. (1999) – The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. II. Comparative sensitivity of various behavioural criteria. *Chemosphere*, **38**: 3247-3260.

CHAROY C.P., JANSSEN C.R., PERSOONE G., CLÉMENT P. (1995) – The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. I. The use of automated trajectometry for determinig sublethal effects of chemicals. *Aquat. Toxicol.*, **32**: 271-282.

FAIMALI M., ROMAIRONE V., TERLIZZI A., SCUDERI D., GERACI S. (1997) – Fototattismo larvale in *Balanus amphitrite* e *Artemia salina*: possibili impieghi in test ecotossicologici per pitture antivegetative. *Biol. Mar. Medit*., **4** (1): 643-645.

LANG W.H., FORWARD R.B.JR., MILLER D.C., MARCY M. (1980) – Acute toxicity and sublethal behavioral effects of copper on barnacle nauplii (*Balanus improvisus*). *Mar. Biol*., **58**: 139-145.

MAGILLO F., FAIMALI M., ANDRENACCI M., GERACI S. (2002) – Video-track analysis of light-induced motion response in *Balanus amphitrite* larvae. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 852-855.

OFFICE OF PESTICIDE PROGRAMS (2000) – Environmental Effects Database (EEDB). *Environmental Fate and Effects Division, U.S. EPA, Washington D.C.*

WOLF G., SCHEUNDERS P., SELENS M. (1998) – Evaluation of the swimming activity of *Daphnia magna* by image analysis after subministration of sublethal Cadmium concentrations. *Comp. Biochem. Physiol., pt A,* **120** (1): 99-105.

WU R.S.S., LAM P.K.S., ZHOU B.S. (1997a) – A phototaxis inhibition assay using barnacle larvae. *Environ. Toxicol. Water Qual.,* **12**: 231-236.

WU R.S.S., LAM P.K.S., ZHOU B.S. (1997b) – A settlement inhibition assay with cyprid larvae of the barnacle *Balanus amphitrite*. *Chemosphere,* **35**: 1867-1874.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1018-1021

G.A. Mocci, P.L. Solinas

RisorsAmbiente Picc. Soc. Coop. a r.l., Via G. Capra, 1 - 07100 Sassari, Italia.
mocciga@tiscalinet.it

DATI PRELIMINARI SUI POPOLAMENTI MESOZOOPLANCTONICI NEL GOLFO DELL'ASINARA (SARDEGNA)

PRELIMINARY DATA ON ZOOPLANKTONIC ASSEMBLAGES IN THE GULF OF ASINARA

Abstract

A preliminary study on the spatial distribution and seasonal variability of zooplankton was carried out in the Gulf of Asinara (N Sardinia). A total of 152 samples (19 stations) was collected during eight surveys between April 2000 and November 2001. Copepods were the dominant taxon and Paracalanus*,* Clausocalanus*,* Centropages *and* Acartia *the most common genera.*

Key-words: *zooplankton, Mediterranean Sea, North-Sardinia.*

Introduzione

Gli studi sui popolamenti zooplanctonici delle acque costiere della Sardegna sono scarsi. Fra i più recenti ricordiamo alcuni lavori che riguardano il Golfo di Cagliari (De Miranda Restivo *et al.,* 1992, 1996) ed il Golfo di Olbia (Delogu e Mocci, 1995). Con il presente lavoro vengono fornite alcune informazioni sullo zooplancton del Golfo dell'Asinara acquisiti durante un'indagine ecologica che ha interessato la fascia costiera compresa entro il Compartimento Marittimo di Porto Torres.

Materiali e metodi

Lo zooplancton è stato raccolto durante otto campagne di campionamento, la prima nell'aprile 2000, seguita nello stesso anno da quelle di giugno, settembre e dicembre, mentre nel 2001 sono state svolte in marzo, giugno, agosto e l'ultima alla fine di novembre. I prelievi sono stati effettuati su sei transetti (Tr.1-2-3-4-5-6) perpendicolari alla costa, il primo situato in corrispondenza dell'Isola dell'Asinara e l'ultimo di fronte alla spiaggia di San Pietro a Mare (Fig. 1). Su ogni transetto erano localizzate tre stazioni di prelievo, disposte dalla costa verso il largo. Un'ulteriore stazione, isolata, era posta in corrispondenza della foce del Rio Mannu (St.10). Con un retino modello WP2 e maglia da 200 μm, sono state effettuate pescate verticali dal fondo alla superficie ed i campioni prelevati sono stati fissati con formalina neutralizzata al 4%. I conteggi sono stati eseguiti identificando i diversi taxa e determinando a livello specifico Copepodi e Cladoceri.

Risultati

L'analisi quantitativa mostra nelle diverse stazioni picchi di densità di mesozooplancton nelle campagne primaverili, estive ed a volte anche in quelle autunnali. Nell'aprile 2000 i valori massimi si sono avuti nella St.10 (5357 ind/m^3) e, con il valore massimo assoluto di 9021 ind/m^3, nella St.12. Nelle campagne effettuate a giugno 2000 e ad

agosto 2001 i valori massimi sono stati registrati rispettivamente nella St.2 (5227 ind/m^3) e nella St.8 (7852,3 ind/m^3) (Tab. 1). Il valore massimo autunnale di 5.537,4 ind/m^3 è stato registrato nella St.10 (dicembre 2000) (Tab. 1).

Fig. 1 - Area di studio (Golfo dell'Asinara, Sardegna) con l'indicazione delle stazioni di prelievo.
Study area (Gulf of Asinara, Sardinia) with station locations.

Tab. 1 - Valori assoluti di densità di mesozooplancton nelle stazioni (ind/m^3).
Absolute density values of zooplankton by stations (ind/m^3).

transetti	stazioni	apr.2000	giu.2000	set.2000	dic.2000	mar.2001	giu.2001	ago.2001	nov.2001
	st.1	4,6	967,6	306,8	918,3	323,5	67,8	1593,0	619,1
TR.1	st.2	1597,2	5227,1	860,4	2162,4	1086,1	569,7	1246,1	737,0
	st.3	2186,8	3771,1	537,7	1233,2	761,0	441,0	967,8	501,7
	st.4	1216,6	57,7	241,6	1130,7	464,0	186,7	661,3	528,0
TR.2	st.5	2140,7	268,0	775,8	1066,7	1054,1	1581,2	633,7	480,0
	st.6	3115,2	1097,9	252,4	1159,7	1314,9	713,4	429,1	380,2
	st.7	113,6	27,9	175,5	135,0	70,0	61,3	52,5	276,4
TR.3	st.8	619,0	197,6	287,6	76,9	2104,6	458,5	7852,3	1212,3
	st.9	2656,5	382,7	855,6	765,7	1182,9	498,6	860,0	1622,9
	st.10	5357,5	154,8	439,2	5537,4	398,3	148,7	1401,7	1140,9
	st.11	2190,3	433,1	908,3	1440,0	1660,0	524,9	745,0	495,0
TR.4	st.12	9021,0	207,1	1296,7	979,4	1008,5	848,5	814,5	819,4
	st.13	2419,9	77,3	2007,8	598,3	751,3	297,4	716,5	793,0
	st.14	479,4	1522,6	396,4	1381,1	795,8	947,4	1397,9	871,6
TR.5	st.15	255,6	1039,0	819,8	1209,8	384,4	446,8	565,9	487,8
	st.16	1742,4	1769,7	324,6	563,9	461,9	532,6	382,7	269,7
	st.17	254,0	437,2	14,0	309,3	208,0	5,3	93,3	1258,7
TR.6	st.18	590,0	483,7	90,1	361,9	187,6	346,7	173,3	967,6
	st.19	470,0	1911,3	235,3	952,2	193,2	1424,4	540,5	667,7

Calcolando le densità medie fra i valori di mesozooplancton rilevati nelle stazioni di ogni transetto nelle otto campagne, si osserva che il Tr.4, posto nell'area di mare antistante il porto commerciale di Porto Torres, ha il valore più elevato (1293,9 ind/m^3) seguito dal transetto n.1 (1195,3 ind/m^3) perpendicolare alla costa orientale dell'Isola dell'Asinara. I valori medi più bassi sono stati registrati nei transetti più orientali (Tr.5 e 6, 793,7 e 507,3 ind/m^3 rispettivamente).

Se si prendono in considerazione le densità mesozooplanctoniche medie per campagna, il valore più alto si ha in aprile 2000, circa 1900 ind/m^3, di poco superiori a 1000 ind/m^3 quelle di luglio e dicembre 2000 e settemre 2001, le altre campagne hanno invece medie comprese fra 531 ind/m^3 (giugno 2001) e 758 ind/m^3 (marzo 2001).

Sono stati identificati 13 taxa: Copepodi, Cladoceri, Foraminiferi, Cnidari, larve di Gasteropodi, larve di Lamellibranchi, larve di Policheti, larve di Cirripedi, larve di Decapodi, larve di Echinodermi, Tunicati, Chetognati e uova e larve di Teleostei. I Copepodi sono il gruppo più abbondante con una percentuale media del 70% di zooplancton totale. Sono state classificate circa 40 specie fra le quali le più abbondanti e frequenti appartengono ai generi *Paracalanus* (*P. parvus* Claus, *P. denudatus* Claus e *P. nanus* Sars), *Centropages* (*C. typicus* Kröyer, *C. ponticus* Karavaev, *C. violaceus* Claus, *C. kröyeri* Giesbrecht), *Clausocalanus* (*C. lividus* Frost & Fleminger, *C. furcatus* Brady, *C. arcuicornis* Dana, *C. jobei* Frost & Fleminger, *C. paululus* Farran, *C. pergens* Farran), *Acartia* (*A. clausi* Giesbrecht, *A. discaudata* var. *mediterranea* Giesbrecht, *A. margalefi* Alcaraz, *A. adriatica* Steuer), *Paracartia* (*P. grani* Sars, *P. latisetosa* Krictzaugin) e *Pteriacartia* (*P. josephinae* Crisafi). Fra le specie appartenenti alla famiglia Acartiidae è da segnalare il ritrovamento di *Paracartia grani*, poco conosciuta nei mari italiani, che nel dicembre 2000 raggiunge un'abbondanza di 55 ind/m^3 (St.13). La più abbondante e frequente è invece *A. clausi* che raggiunge un massimo assoluto di 970 ind/m^3 nell'aprile 2000 (St.12). I Cladoceri, presenti soprattutto nelle campagne estive ed autunnali, in genere non superano percentuali del 15% di zooplancton totale, con l'eccezione registrata nel giugno 2001 dove si hanno valori percentuali del 60% (St.8). Le specie appartengono principalmente ai generi *Evadne* (*E. spinifera* P.E. Muller e *E. tergestina* Claus) e *Podon (P. intermedius* Lilljeborg *e P. polyphemoides* Leuckart*)*, con qualche raro esemplare di *Penilia avirostris* Dana. Interessante è inoltre l'abbondante presenza delle Appendicolarie che in alcuni campioni rappresentano quasi il 40% (St. 2 dic. 2000 e St. 9 giu. 2001).

Conclusioni

Dai dati ricavati nelle otto campagne di prelievo, emerge che nel transetto n.4, posto nell'area di mare antistante il porto commerciale di Porto Torres, sono stati registrati valori di densità medi di mesozooplancton più elevati, ed inoltre che i transetti orientali hano valori medi inferiori rispetto a quelli occidentali.

Dal calcolo delle medie per campagna il valore stagionale più elevato, che si discosta dagli altri, è quello registrato nell'aprile 2000 (1917 ind/m^3), mentre fra altre campagne non vi sono notevoli differenze ed i valori sono compresi fra 531 ind/m^3 (giugno 2001) e 1156 ind/m^3 (dicembre 2000).

Interessante la presenza anche per il Golfo dell'Asinara di *Paracartia grani*, documentata da diversi autori lungo le coste del Mediterraneo occidentale (Guerrero e Rodriguez, 1998). Nel resto del Mediterraneo è segnalata da qualche anno anche nel Golfo di Napoli (Mazzocchi, com. pers.); in Sardegna nel 1988 la specie è stata individuata nella Baia di Porto Conte (Mocci, dati non pubblicati). Il numero d'individui

riscontrato nella staz. 13 (55 ind/m^3), potrebbe far pensare ad una presenza non più accidentale di questa specie, la cui distribuzione spazio-temporale dovrà essere verificata attraverso ulteriori indagini.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Dott. David Pala per il supporto cartografico.

Si ringrazia la Provincia di Sassari per aver finanziato l'intero programma ed aver concesso l'utilizzo dei dati.

Bibliografia

DELOGU M.R., MOCCI A. (1995) – Contributo alla conoscenza dei popolamenti planctonici nel Golfo di Olbia (Sardegna Orientale). *Biol. Mar. Medit.,* **2** (2): 533-535.

DE MIRANDA RESTIVO M.A., DURANTE L., LECCA E., SERRA A., SERRA E. (1996) – Contributo alla conoscenza dei popolamenti zooplanctonici del Golfo di Cagliari (settore centrale). *Biol. Mar. Medit.,* **3** (1): 600-604.

DE MIRANDA RESTIVO M.A., SERRA E., MURGIA P., OLLA P., PISANO R. (1992) – Primi dati sulle biocenosi planctoniche del porto di Cagliari. *Oebalia,* (Suppl.) **17**: 347-350.

GUERRERO F., RODRIGUEZ V. (1998) – Estimates of secondary production in a co-existent group of *Acartia* species (Copepoda, Calanoida). *J. Plankton Res.,* **20** (2): 305-314.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1022-1025

L. Pane, L. De Nuccio, M. Bozzolasco*, G.L. Mariottini, E. Debbia*

Dipartimento di Biologia Sperimentale, Ambientale ed Applicata, Università di Genova,
Viale Benedetto XV, 5 - 16132 Genova, Italia.
*DI.SC.A.T. – Sezione di Microbiologia, Università di Genova, Genova, Italia.

STUDIO DELL'ASSOCIAZIONE ZOOPLANCTON-BATTERI IN UN'AREA NERITICA DEL GOLFO DI GENOVA (MAR LIGURE)

STUDY OF THE ZOOPLANKTON-BACTERIA ASSOCIATION IN A NERITIC ZONE OF THE GULF OF GENOVA (LIGURIAN SEA)

Abstract

The results of a study concerning the planktonic biocenosys and the association zooplankton–pathogenic bacteria in a coastal zone of the Gulf of Genova affected by wastewaters are reported. Copepods and cladocerans dominated in the mesozooplankton from August to December and in June and July respectively. In the plankton 64-200 μm sized the dominance of dinoflagellates was observed. As concerns pathogenic bacteria associated to zooplankton, the most frequent genera were Vibrio, Pseudomonas *and* Staphylococcus*.*

Key-words: *zooplankton, copepods, pathogenic bacteria,* Vibrio*, wastewaters.*

Introduzione

Negli ecosistemi marini i batteri si trovano liberi nell'acqua e adesi a diversi substrati; la colonizzazione dell'esoscheletro chitinoso dei copepodi costituisce per questi microrganismi una strategia di sopravvivenza utile per l'adattamento alle variazioni delle condizioni ambientali, per la loro diffusione nell'ambiente marino e per l'assunzione delle sostanze nutritive (Roszak e Colwell 1987, Pruzzo *et al.*, 1996, Tarsi *et al.*, 2000). È noto che l'esoscheletro e l'intestino dei copepodi sono abbondantemente colonizzati da batteri chitinolitici del genere *Vibrio* (Carli *et al.*, 1993, Montanari *et al.*, 1999), tra i quali è stata riscontrata anche la specie patogena per l'uomo *Vibrio cholerae* (Roszak e Colwell, 1987). Poiché gli organismi mesozooplanctonici possono costituire un serbatoio ed un veicolo di diffusione di batteri patogeni in mare (Huq *et al.*, 1984, Tarsi *et al.*, 2000), questo studio intende contribuire alla conoscenza dell'associazione batteri patogeni-plancton, nella frazione mesozooplanctonica e nel plancton di dimensioni comprese tra 64 e 200 μm, in una zona neritica antropizzata del Mar Ligure.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati mensilmente nel periodo giugno-dicembre 2001 in acque costiere antistanti Genova-Sturla influenzate dall'apporto di acque dolci e di acque reflue depurate. Sono state effettuate pescate orizzontali in superficie utilizzando un retino WP2 (200 μm di vuoto di maglia); il plancton di dimensioni 64-200 μm e l'acqua di mare sono stati campionati con bottiglia Niskin. In situ sono stati registrati, mediante sonda YSI 30, temperatura, pH e salinità dell'acqua. I campioni di mesozooplancton, trasportati in laboratorio a t=4 °C, sono stati suddivisi in due aliquote, utilizzate rispettivamente per l'analisi tassonomica del plancton, dopo fissazione in formalina al 4%, e per le analisi microbiologiche (test API20, Bio-Merieux Roma).

Per l'analisi del plancton di dimensioni 64-200 μm i campioni di acqua di mare sono stati prefiltrati con rete da 200 μm e successivamente filtrati con rete da 64 μm. Tale frazione del plancton è stata considerata in quanto è possibile reperire in essa organismi con esoscheletro chitinoso non campionabili con retino WP2. La frazione residua è stata filtrata su filtri a membrana da 0,22 μm (Millipore) per lo studio dei batteri liberi. Il plancton così frazionato è stato risospeso in 10 ml di acqua di mare sterile e suddiviso in due aliquote, di cui la prima, fissata in formalina al 4%, è stata utilizzata per l'analisi tassonomica del plancton e la seconda, insieme ai campioni filtrati (0,22 μm), è stata utilizzata per le analisi microbiologiche. La biodiversità dei copepodi è stata stimata con gli indici di Shannon-Weaver (H') e di Pielou (J).

Risultati

I copepodi sono risultati il gruppo dominante nel mesozooplancton, ad eccezione di giugno e luglio (Fig. 1) quando sono risultati prevalenti i cladoceri (353,5 ind/m^3 a giugno; 129,14 ind/m^3 a luglio). Tra i copepodi, le cui densità sono variate tra 32,9 ind/m^3 a luglio e 1936,6 ind/m^3 a settembre, le specie più rappresentative sono risultate *Paracalanus parvus*, *Clausocalanus arcuicornis, Acartia clausi* e *Centropages typicus*, per le quali si è riscontrato il massimo nel mese di settembre, rispettivamente con 705,8 ind/m^3, 597,28 ind/m^3, 126,7 ind/m^3 e 54,3 ind/m^3. La minima biodiversità si è osservata in agosto (H'=1,47; J=0,49), mentre valori più elevati si sono riscontrati in settembre (H'=2,51; J=0,79) e novembre (H'=2,21; J=0,85).

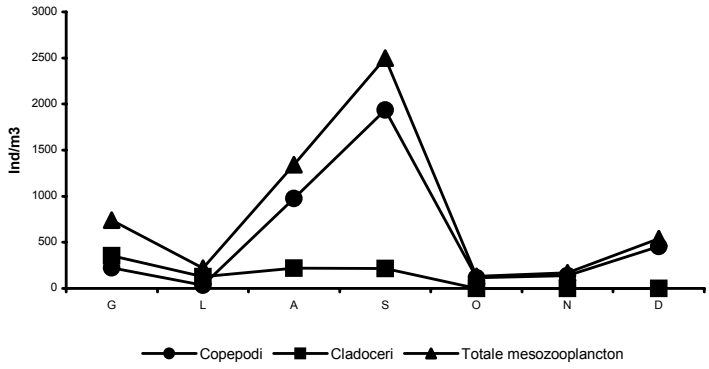


Fig. 1 - Densità del mesozooplancton totale, dei copepodi e dei cladoceri.
Abundance of total mesozooplankton, copepods and cladocerans.

Nell'ambito della frazione 64-200 μm lo zooplancton è risultato meno abbondante del fitoplancton in tutto il periodo esaminato con percentuali variabili tra il 9 (giugno) ed 46% (agosto). La componente zooplanctonica in questa frazione è risultata composta da acantari, radiolari, foraminiferi, tintinnidi e nauplii (di copepodi e di cirripedi); questi ultimi sono risultati presenti in tutto il periodo ad eccezione di dicembre (minimo 31,8% ad ottobre, massimo 75% a maggio). Nell'ambito della componente fitoplanctonica sono risultati dominanti i dinoflagellati. La carica batterica nell'acqua è variata tra

$6{,}0 \cdot 10^5$ CFU/ml (ottobre) e $1{,}4 \cdot 10^4$ CFU/ml (dicembre). I batteri associati al plancton di dimensioni 64-200 μm hanno mostrato un massimo in giugno ($4 \cdot 10^4$ CFU/ml) ed un minimo in ottobre ($2{,}8 \cdot 10^2$ CFU/ml); per quelli associati al mesozooplancton il massimo è stato registrato in giugno ($5{,}9 \cdot 10^4$ CFU/ml) ed il minimo in dicembre ($6{,}3 \cdot 10^2$ CFU/ml). In estate si è osservata uniformità della carica batterica nelle frazioni analizzate, mentre in autunno i batteri si sono localizzati soprattutto nell'acqua (Fig. 2). Tra i patogeni, *Pseudomonas* e *Vibrio* sono risultati i più frequenti (Tab. 1); *Vibrio alginolyticus* è stato riscontrato prevalentemente nell'acqua e sul mesozooplancton. Nei mesi estivi sono stati isolati anche *Vibrio hollisae* e *Vibrio vulnificus*. Nel plancton di dimensioni 64-200 μm i vibrioni sono stati isolati solo in estate. Nelle tre frazioni sono stati isolati frequentemente anche *Staphylococcus* e *Klebsiella*; più rari sono risultati *Campyobacter* e *Micrococcus*, assenti *Salmonella* e *Shigella*.

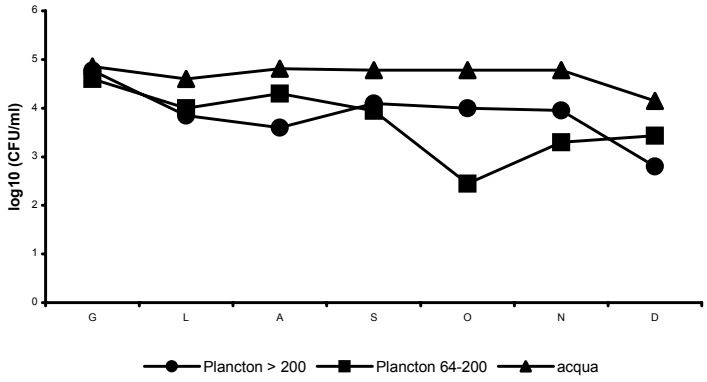


Fig. 2 - Carica batterica nell'acqua e nelle due frazioni planctoniche (mesozooplancton e plancton di dimensioni 64-200 μm).
Total count of culturable bacteria free in the sea water and associated with mesozooplankton and plankton 64-200 μm sized.

Conclusioni

I copepodi hanno costituito la frazione dominante del mesozooplancton esaminato, ad eccezione di giugno e luglio, quando si è riscontrata dominanza dei cladoceri (Carli e Sertorio, 1964, Della Croce, 1965; Carli *et al.*, 1994; Licandro e Ibanez, 2000). Si è confermata anche per il Mar Ligure la stretta associazione tra organismi mesozooplanctonici con esoscheletro chitinoso e batteri patogeni. Si è osservato inoltre che anche il plancton di dimensioni inferiori costituisce un substrato idoneo per l'adesione di batteri chitinolitici, quali *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp. e *Klebsiella* spp., e di altri patogeni.

Ringraziamenti

Si ringraziano il C.A. (CP) R. Pollastrini, il C.F.D. Capurso ed il personale della Sezione Ambiente della Capitaneria di Porto di Genova per la collaborazione nell'attività di ricerca.

Tab. 1 - Batteri patogeni riscontrati nell'acqua (A), nel mesozooplancton (B) e nel plancton di dimensioni 64-200 μm (C).

Pathogenic bacteria in the sea water (A) and associated with mesozooplankton (B) and plankton 64-200 μm sized (C).

	G			L			A			S			O			N			D		
	A	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*	*A*	*B*	*C*
Vibrio spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Enterobacter spp.	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+
Klebsiella spp.	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Campylobacter spp.	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micrococcus spp.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bibliografia

CARLI A., SERTORIO T. (1964) - Ricerche Planctologiche Italiane. III. Osservazioni sullo zooplancton raccolto nel Mare Ligure nel 1957-58 (superficie). *Boll. Pesca. Piscic. Idrobiol*., **26**: 61-76.

CARLI A., PANE L., CASARETO L., BERTONE S., PRUZZO C. (1993) - Occurence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian Sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fuvus* (Fischer, 1860). *Appl. Environ. Microbiol*., **59**: 1960-1962.

CARLI A., FRASCHETTI S., MAGNI P., MARIOTTINI G.L., PANE L., PRUZZO C., ROMAIRONE V. (1994) - A study of planktonic populations in relation to the eutrophication state of the water in a Ligurian Sea zone. Final reports on research projects dealing with eutrophication problems. *MAP Tech. Rep. Ser*., **78**: 37-52.

DELLA CROCE N. (1965) - Composizione del popolamento a copepodi dello zooplancton del Mar Ligure. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit*., **18**: 417-418.

HUQ A., WEST P.A., SMALL E.B., HUQ M.I., COLWELL R.R. (1984) - Influence of water temperature, salinity and pH on survival and growth of toxigenic *Vibrio cholerae* serovar 01 associated with live copepods in laboratory microcosms. *Appl. Environ. Microbiol*., **48**: 420-424.

LICANDRO P., IBANEZ F. (2000) - Changes of zooplankton communities in the Gulf of Tigullio (Ligurian Sea, Western Mediterranean) from 1985 to 1995. Influence of hydroclimatic factors. *J. Plankton Res*., **22**: 2225-2253.

MONTANARI P.M., PRUZZO C., PANE L., COLWELL R.R. (1999) - Vibrios associated with plankton in a coastal zone of the Adriatic Sea (Italy). *FEMS Microbiol. Ecol*., **29**: 241-247.

PRUZZO C., CRIPPA A., BERTONE S., PANE L., CARLI A. (1996) - Attachment of *Vibrio alginolyticus* to chitin mediated by chitin-binding proteins. *Microbiology*, **142**: 2181-2186.

ROSZAK D.B., COLWELL R.R. (1987) - Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol Rev*., **51**: 365-379.

TARSI R., PANE L., CARLI A., PRUZZO C. (2000) - *Vibrio* attachment to chitin containing surfaces: a survival strategy in the aquatic environment. *Recent Res. Devel. Microbiology*, **4**: 599-605.

Lavoro eseguito con contributo MURST (Cofinanziamento 2000).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1026-1031

I. Pecchiar, A. Bussani, M. Cabrini, M. Celio, S. Comisso,
C. Falconi, F. Tamberlich, S. Fonda Umani

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 - 34010 Trieste, Italia.

VARIAZIONE DELLA PRODUTTIVITÀ PRIMARIA E DELLA BIOMASSA AUTOTROFA IN RELAZIONE ALLE CARATTERISTICHE IDROLOGICHE DELLE MASSE D'ACQUA DEL GOLFO DI TRIESTE NEL 2001

PRIMARY PRODUCTION AND AUTOTROPHIC BIOMASS VARIABILITY RELATED TO THE HYDROLOGICAL FEATURES OF THE WATER MASSES OF THE GULF OF TRIESTE

Abstract

The role of the main environmental parameters characterising the photosynthetical processes in the different water masses of the Gulf of Trieste are related to the structure of the microphytoplankton community. Low values of primary production for chlorophyll a *unit show a trend to a reduced productivity system.*

Key-words: *primary production, environmental parameters, Gulf of Trieste.*

Introduzione

La determinazione dei fattori che maggiormente influenzano il processo fotosintetico negli ambienti marini rappresenta uno dei problemi cruciali nello studio della variabilità naturale della produttività di tali ecosistemi. Le caratteristiche del bacino Nord Adriatico, e più specificatamente del Golfo di Trieste, rendono ancora più difficile l'individuazione dei fattori maggiormente responsabili delle variazioni annuali della produttività primaria di quest'area. Infatti, la struttura idrologica passa da una completa instabilità nel periodo invernale ad una netta stratificazione verticale estiva (Celio *et al*., 2002) favorita dalle basse profondità, dall'apporto di acque dolci dei fiumi Isonzo e, in minor misura, del Timavo, e dalla marcata escursione termica annuale. In questo scenario si colloca di conseguenza una distribuzione variabile del regime dei nutrienti e della luce disponibile per l'attività fotosintetica, determinando così un sensibile adattamento fisiologico da parte dei produttori primari alle condizioni ambientali. Le poche informazioni bibliografiche sull'area in esame che considerano la risposta del popolamento microfitoplanctonico alle diverse condizioni della colonna d'acqua, evidenziano un andamento alquanto variabile della produttività primaria (Franco, 1984). Secondo Smetacek *et al.* (2002) "si devono conoscere gli alberi per capire la foresta" e quindi i popolamenti delle singole specie, il loro stato fisiologico e le cause delle loro fluttuazioni nel tempo e nello spazio in relazione alle condizioni ambientali. Scopo di questo lavoro è stimare il ruolo delle principali variabili chimico-fisiche che caratterizzano i processi fotosintetici nelle diverse masse d'acqua del Golfo di Trieste in relazione alla struttura della comunità microfitoplanctonica.

Materiali e metodi

Da gennaio a dicembre 2001, sono stati rilevati mensilmente in 8 stazioni nel Golfo di Trieste (Fig. 1) con sonde multiparametriche (Idronaut 316 e PNF300 Biospherical)

i seguenti parametri: temperatura, salinità, eccesso di densità, percentuale di irradianza PAR trasmessa nella colonna d'acqua, coefficiente di attenuazione dell'irradianza PAR e coefficiente di attenuazione della radianza ascendente (683 nm).

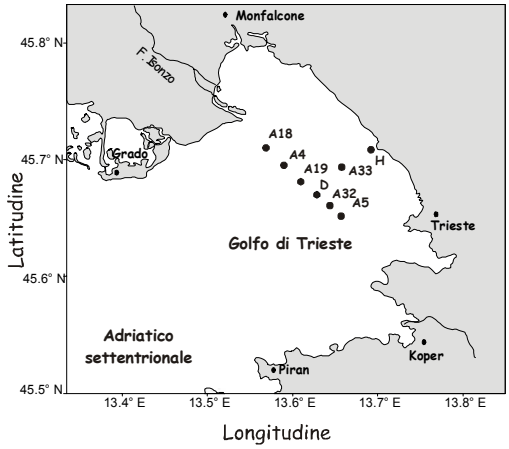


Fig. 1 - Stazioni di campionamento.
Sampling stations.

Nella stazione costiera H e in quella al largo D sono stati effettuati dei prelievi d'acqua con bottiglia Niskin (5l) per la valutazione dei parametri chimici e biologici: carbonio organico particellato (POC), azoto particellato (PN), rapporto C/N, fosforo ($P\text{-}PO_4$) e silicio disciolto ($Si\text{-}Si(OH)_4$), fosforo disciolto totale (TDP), azoto disciolto inorganico (DIN), concentrazione di clorofilla *a* (CHL. *a*), abbondanza fitoplanctonica (FP) ed è stato stimato il processo biochimico di produzione primaria.

Elaborazione statistica

Le caratteristiche idrologiche delle masse d'acqua sono state evidenziate attraverso l'analisi dei diagrammi T-S e della cluster analysis sui parametri rilevati. Questa analisi ha permesso di individuare le principali masse d'acqua caratteristiche del bacino e la loro evoluzione temporale. Nei mesi di gennaio, febbraio e marzo il bacino risulta costituito principalmente da un'unica massa d'acqua omogenea. In aprile, maggio e giugno si osserva un gradiente termico superficie-fondo di circa 7 °C e la presenza di due masse d'acqua: superficiale-intermedia e un'altra di fondo. Tale situazione permane in luglio, agosto e settembre con un massimo gradiente termico in luglio (10 °C) e un maggior sviluppo della massa d'acqua di fondo. In ottobre, novembre e dicembre la rottura della stratificazione termoalina favorisce la formazione di una nuova massa d'acqua omogenea. I maggiori apporti del fiume Isonzo sono stati osservati in gennaio, marzo e settembre, ma sempre limitati a valori modesti rispetto alla media annuale di 150 m^3/s (Olivotti *et al.,* 1986).

Ciascuna matrice delle masse d'acqua, definite con l'analisi dei diagrammi T-S e della cluster analysis, è stata poi trattata con l'analisi delle componenti principali (PCA) utilizzando, oltre alle variabili fisiche, anche i parametri chimici e biologici.

Ai gruppi di campionamenti evidenziati con il PCA sono stati associati i valori di produzione primaria allo scopo di valutarne la distribuzione in relazione ai gradienti dei parametri considerati.

Risultati

Gennaio, febbraio e marzo

I valori di temperatura più bassi sono stati registrati in marzo mentre quelli più elevati in gennaio. In generale la temperatura è stata di 2-3 °C superiore ai valori medi del periodo (Celio *et al.*, 2002). I nutrienti sono diminuiti da gennaio a marzo, mentre in febbraio la clorofilla *a* presenta il valore medio più elevato associato a quello del fitoplancton e della produzione primaria, ad indicare l'inizio della fioritura a gennaio (Tab. 1). Tale fioritura si sviluppa maggiormente a febbraio e decresce in marzo; il valore minimo di 117 del rapporto POC/CHL*a* del mese di febbraio può rappresentare una conferma di tale evoluzione (Rusch *et al*., 2000).

Aprile, maggio, giugno

In questo periodo è stato possibile effettuare il PCA solamente nella massa d'acqua

Tab. 1 - Valore medio dei parametri fisico-chimici e biologici.
Mean value of physico-chemical and biological parameters.

	Temp.	Sal.	% PAR	POC	PN	C/N	Fito Tot	CHL. *a*	$P\text{-}PO_4$	TDP	DIN	$Si\text{-}Si(OH)_4$	PROD.PRIM.
	°C			$\mu g\ L^{-1}$	$\mu g\ L^{-1}$		cell. L^{-1}	mg m^{-3}	µM	µM	µM	µM	mg C m^{-3} h^{-1}
GEN	11.26	37.58	13.33	205.20	44.28	5.63	399500	1.24	0.05	0.26	4.27	3.77	2.51
FEB	10.60	37.16	9.30	239.22	42.90	7.80	1153000	2.05	0.03	0.24	2.43	1.78	3.00
MAR	10.26	37.87	8.01	214.76	36.49	8.80	1014500	1.19	0.02	0.20	1.52	1.30	0.79

superficiale-intermedia, in quanto in quella di fondo i campionamenti sono risultati statisticamente in numero troppo esiguo. Nella massa d'acqua considerata si distinguono due gruppi (Tab. 2): il primo relativo ai campionamenti effettuati in aprile, il secondo comprendente principalmente quelli di giugno. I massimi di produzione primaria di 9.6 ± 3.7 mg C m^{-3} h^{-1} rilevati in aprile, sono sostenuti da piccole diatomee e rappresentano i valori più elevati di tutto il periodo in esame. Le basse concentrazioni di silicati e l'incremento del rapporto POC/CHL *a* (256) indicano il persistere della fase decrescente della fioritura primaverile. In maggio e giugno l'abbondanza e la produzione primaria della comunità decrescono notevolmente, mentre si osserva un lieve incremento dei silicati ed un cospicuo aumento del rapporto POC/CHL *a* (760).

Tab. 2 - Valore medio dei parametri fisico-chimici e biologici.
Mean value of physico-chemical and biological parameters.

	Temp.	Sal.	% PAR	POC	PN	C/N	Fito Tot	CHL. *a*	$P\text{-}PO_4$	TDP	DIN	$Si\text{-}Si(OH)_4$	PROD.PRIM.
	°C			$\mu g\ L^{-1}$	$\mu g\ L^{-1}$		cell. L^{-1}	mg m^{-3}	µM	µM	µM	µM	mg C m^{-3} h^{-1}
APR	12.97	36.04	12.62	276.03	55.19	10.28	852400	1.08	0.02	0.22	3.53	0.02	9.57
GIU	19.81	35.28	35.86	197.74	21.88	11.16	218600	0.26	0.06	0.19	3.06	2.12	0.65

Luglio, agosto, settembre

Durante il periodo estivo la massa d'acqua superficiale-intermedia è stata suddivisa in due gruppi principali ed un terzo gruppo con due soli campionamenti (Tab. 3). In generale la produzione primaria presenta valori relativamente più bassi (da 0.3 a 1.3 mg C m^{-3} h^{-1}) rispetto a quelli degli altri periodi; il valore più alto viene rilevato nello strato superficiale di luglio ed agosto, caratterizzato da valori relativamente elevati dei nutrienti. L'alto rapporto POC/CHL*a* (1243), relativo a questo strato, indica la presenza di abbondante particellato prevalentemente detritico. Il mese di settembre si distingue nettamente dagli altri due, soprattutto per una diminuzione della temperatura, un aumento della salinità e per un lieve incremento delle abbondanze del popolamento fitoplanctonico che risulta però poco produttivo. Nella massa d'acqua intermedia e di fondo non è possibile evidenziare gruppi per i campionamenti. In generale, i nutrienti si presentano elevati mentre la densità delle cellule autotrofe è molto bassa, situazione particolarmente evidente nelle quote più profonde, dove i silicati risultano elevati e la clorofilla *a* rilevata è a carico probabilmente delle frazioni autotrofe più piccole (< 10 μm).

Tab. 3 - Valore medio dei parametri fisico-chimici e biologici.
Mean value of physico-chemical and biological parameters.

	Temp.	Sal.	% PAR	POC	PN	C/N	Fito Tot	CHL. *a*	$P\text{-}PO_4$	TDP	DIN	$Si\text{-}Si(OH)_4$	PROD.PRIM.
	°C			μg L^{-1}	μg L^{-1}		cell. L^{-1}	mg m^{-3}	μM	μM	μM	μM	mg C m^{-3} h^{-1}
LUG	24.35	34.76	16.49	237.92	66.48	4.17	111800	0.39	0.06	1.52	5.66	3.24	0.86
AGO	25.14	34.93	56.19	360.37	80.94	5.98	324000	0.29	0.13	1.27	4.53	1.79	1.32
SETT	21.61	36.60	17.50	302.85	53.81	7.48	507000	1.08	0.11	0.85	2.50	2.20	0.30

Ottobre, novembre, dicembre

I campionamenti relativi al mese di ottobre si discostano marcatamente, a causa dei cospicui apporti isontini (media mensile 93 m^3/s; massimo 532 m^3/s), da quelli effettuati in novembre e dicembre (medie mensili pari a 38 e 4 m^3/s; massimi pari a 210 e 31 m^3/s). Da ottobre a dicembre si osserva un repentino abbassamento della temperatura, un modesto aumento della salinità ed un'accentuata diminuzione della concentrazione dei nutrienti e dell'abbondanza fitoplanctonica. In ottobre la comunità autotrofa, costituita soprattutto da piccole diatomee non determinabili e da nanoflagellati, non presenta la tipica fioritura tardo estiva/autunnale, benché i valori di clorofilla *a* siano in lieve aumento. Il rapido raffreddamento della colonna d'acqua influenza negativamente l'abbondanza delle microalghe e la loro produttività nei mesi successivi (Tab. 4).

Tab. 4 - Valore medio dei parametri fisico-chimici e biologici.
Mean value of physico-chemical and biological parameters.

	Temp.	Sal.	% PAR	POC	PN	C/N	Fito Tot	CHL. *a*	$P\text{-}PO_4$	TDP	DIN	$Si\text{-}Si(OH)_4$	PROD.PRIM.
	°C			μg L^{-1}	μg L^{-1}		cell. L^{-1}	mg m^{-3}	μM	μM	μM	μM	mg C m^{-3} h^{-1}
OTT	20.00	36.78	7.48	262.62	68.78	4.32	362000	1.48	0.37	1.07	5.44	9.52	N. D.
NOV DIC	12.47	37.75	13.24	133.29	30.42	6.05	150100	0.58	0.09	0.82	2.67	2.44	2.15

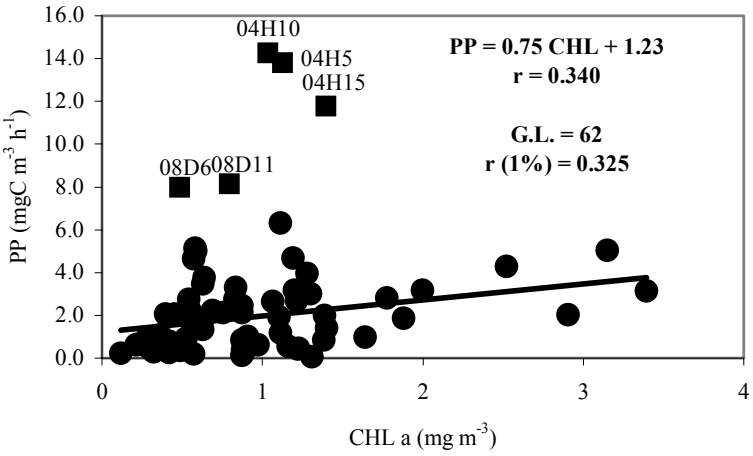


Fig. 2 - Distribuzione dei dati di produzione primaria (PP) in relazione alla concentrazione della clorofilla *a*.
Distribution of primary production data (PP) related to the concentration of Chlorophyll a.

La relazione tra clorofilla a e produzione primaria (Fig. 2), relativa ai dati di tutti i campionamenti eseguiti nel 2001, è descritta dalla regressione lineare: PP = 0,75 CHL + 1,23. Non sono state considerate cinque coppie di dati, in quanto presentavano valori anomali. La pendenza della curva presenta un valore di poco inferiore a quello medio riscontrato in ambiente marino (Gasol, 2000), ma decisamente inferiore a 2,84 rilevato nella zona costiera dell'Adriatico occidentale interessata da apporti fluviali del Po (Zoppini *et al*., 1995).

Conclusioni

L'applicazione dell'analisi statistica ai dati fisico-chimici ha permesso di stimare le principali variabili che influenzano il processo di produzione primaria nelle masse d'acqua del Golfo di Trieste. L'evoluzione annuale della biomassa e della produttività della componente autotrofa è controllata da fattori ambientali diversi. La fioritura plurispecifica si sviluppa in corrispondenza ad una buona disponibilità di nutrienti e di luce all'inizio della primavera (Cabrini *et al*., 2000), quando si registra il minimo del rapporto POC/CHL*a* (117). Tale rapporto aumenta gradualmente verso l'estate, indicando l'effetto della predazione, la senescenza della comunità ed il suo conseguente decadimento (rapporto POC/CHL*a* = 1243). In questo periodo, in presenza di una netta stratificazione termoalina, i nutrienti di origine fluviale, risultando poco abbondanti e confinati nello strato superficiale, non contribuiscono significativamente alla proliferazione algale ed anche i valori di produzione primaria si mantengono bassi. In autunno il brusco raffreddamento delle masse d'acqua incide negativamente sull'accrescimento e sull'attività fisiologica del popolamento.

In conclusione, il basso coefficiente angolare della retta di regressione tra produzione primaria e clorofilla *a* indica che il sistema sta evolvendo verso condizioni

di ridotta produttività per unità di clorofilla. La struttura della comunità autotrofa (Comisso *et al*., 2003) ha inoltre evidenziato la presenza di cellule microalgali più piccole rispetto ad anni precedenti (Fonda Umani *et al*., 1995), la sostituzione di fioriture primaverili monospecifiche con quelle plurispecifiche ed in estate la scomparsa dei tipici fenomeni di acque colorate (Sellner e Fonda Umani, 1999; Cabrini *et al*., 2000). Si potrebbe quindi supporre che l'ecosistema del Golfo di Trieste stia evolvendo da condizioni di eutrofia (Sellner e Fonda Umani, 1999) a condizioni di oligotrofia?

Ringraziamenti

Si ringraziano la dott.ssa Cinzia Comici per la collaborazione grafica e la dott.ssa Cinzia DeVittor per aver effettuato le analisi di clorofilla *a*.

Bibliografia

CABRINI M., COK S., PECCHIAR I. (2000) - Dinamica e struttura del fitoplancton nella fascia costiera del Golfo di Trieste. *Biol. Mar. Medit.*, **7** (1): 850-853.

CABRINI M., BUSSANI A., CELIO M., DIANA E., MOZETIC P., PECCHIAR I., FONDA UMANI S. (2002) - Variabilità spaziale e temporale della produzione primaria nelle acque costiere del Golfo di Trieste. *Biol. Mar. Medit*., **9** (1): 366-373.

CELIO M., COMICI C., BUSSANI A. (2002) - Thermohaline anomalies in the spring and early summer of 2000 in the Gulf of Trieste. *P.S.Z.N. Marine Ecology,* **23** (Suppl. 1): 101-110.

COMISSO S., PECCHIAR I., CABRINI M. (2003) - Evoluzione della diversità specifica nella comunità microfitoplanctonica del Golfo di Trieste (gennaio 2001 – gennaio 2002). *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 987-989.

FONDA UMANI S., YONG S. C., FEOLI E., CATALETTO B., CABRINI M., MILANI L. (1995) - Is it possible to identify any plankton succession in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea)? In: Eleftheriou *et al*. (eds), *Biology and Ecology of Shallow Coastal Waters*. 28 EMBS Symposium: 59-65.

FRANCO P. (1984) - Fattori influenti sulla produttività primaria dell'Adriatico settentrionale. *Boll. Oceanol. Teor. Appl.,* **2**: 125-140.

GASOL J.M. (2000) - Comparative analyses in aquatic microbial ecology: how far do they go? FEMS *Microbiology Ecology,* **31**: 99-106.

OLIVOTTI R., FAGANELJ J., MALEJ A. (1986) - Impact of organic pollutants on coastal waters, Gulf of Trieste*. Wat. Sci. Tech.,* **18**: 57-68.

RUSCH A., HUETTEL M., FORSTER S. (2000) - Particulate organic matter in permeable marine sands. Dynamics in time and depth. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **51**: 399-414.

SELLNER K.G., FONDA UMANI S. (1999) - Dinoflagellate Blooms and Mucilage Production. In: Malone T.C. *et al*. (eds), *Coastal and Estuarine Studies*. American Geophysical Union: 173-206.

SMETACEK V., MONTRESOR M., VERITY P. (2002) - Marine Productivity: footprints of the past and steps into the future. In: Williams P.J.le B. *et al*. (eds), *Phytoplankton Productivity* Blackwell Science: 350-369.

ZOPPINI A., PETTINE M., TOTTI C., PUDDU A., ARTEGIANI A., PAGNOTTA R. (1995) - Nutrients, standing crop and primary production in western coastal waters of the Adriatic Sea. *Estuarine*, *Coastal and Shelf Science*, **41**: 493-513.

Il presente studio è stato effettuato nell'ambito del progetto INTERREG II Italia-Slovenia, finanziato dalla Comunità Europea e dalla Regione Friuli Venezia Giulia - Direzione dell'Ambiente.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1032-1034

A. Penna, E. Bertozzini, M. Magnani, I. Fenoglio[1], B. Fubini[1], G. Bavestrello[2], C. Cerrano[3]

Centro Biologia Ambientale, Università di Urbino, Viale Trieste, 296 - 61100 Pesaro Urbino, Italia.
[1]Dip. Chimica Inorganica, Chimica Fisica e Chimica dei Materiali, Università di Torino, Italia.
[2]Istituto di Scienze del Mare, Università di Ancona, Italia.
[3]DIP.TER.IS, Università di Genova, Italia.

EFFETTI DI DIVERSE FONTI DI SILICE SULL'ACCRESCIMENTO CELLULARE DI DIATOMEE MARINE

EFFECTS OF DIFFERENT FORMS OF SILICA ON MARINE DIATOM GROWTH

Abstract

The growth rates of three species of marine diatoms, have been measured in the presence of different silica sources (crystalline and amorphous silica substrates). The growth rates of diatoms resulted different with each of the siliceous mineral substrates used in the experiments. All species grew better in the presence of silica crystalline substrates, in spite of their lower solubility in seawater; instead, diatoms appear partial unable to utilise amorphous biogenic silica.

Key-words: *biomineralization, diatoms, frustule, mineral substrate, silica metabolism.*

Introduzione

Le diatomee costituiscono la frazione predominante nella comunità fitoplanctonica a struttura silicea. Sono responsabili del 40% della produzione primaria totale in mare (Barnes e Mann, 1991) e tendono a consumare i fattori nutritivi limitanti, tra cui il silicio, a livello della zona fotica. Il silicio, nella sua forma polimerizzata come silice opale, costituisce la parete cellulare, o frustolo, delle diatomee e pertanto la sua biodisponibilità è un fattore chiave della riproduzione delle diatomee in ambiente marino. Il silicio è assorbito dalle diatomee nella forma predominante $Si(OH)_4$, acido silicico indissociato, a pH 8.0. Attualmente, poco è noto riguardo le possibili differenze del tasso di crescita di diatomee marine in funzione del tipo di substrato minerale siliceo, sebbene una diversa reattività dei sistemi biologici verso substrati silicei di origine biogenica o inorganica è già stata dimostrata (Bavestrello *et al*., 1995). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare la selettività di assorbimento di silicio di tre specie di diatomee marine (*Cylindrotheca fusiformis, Navicula* sp. e *Skeletonema costatum*) in presenza di differenti fonti di minerali silicei.

Materiali e metodi

Le tre specie di diatomee marine (*C. fusiforms* CBA2, *Navicula* sp. CBA4 e *S. costatum CBA1*) sono state mantenute in coltura nel terreno F/2 a 17±1 °C, con un ciclo luce:buio di 14:10 ore ed un'intensità luminosa di 100 $\mu E \times m^{-2} \times s^{-1}$. I tre ceppi algali sono stati incubati in colture di terreno F/2 artificiale in cui la fonte di silicio, a concentrazione di 356 µM, è stata fornita dai diversi substrati minerali silicei come silice cristallina (sabbia di quarzo, polveri di quarzo idrofilo e idrofobo) e biogenica (terra di diatomee e spicole di spugna). La crescita cellulare è stata determinata in termini di contenuto di clorofilla *a* della biomassa algale delle tre specie nel terreno di coltura. I valori rappresentano la media di 3 repliche ± 1 SD. Il valore medio di r^2 delle curve di

crescita è ≥ 0.94. Il contenuto di silicio disciolto è stato determinato secondo il metodo del molibdato (Strickland e Parsons, 1972). Il valore medio di r^2 delle curve di assunzione del silicio è ≥ 0.90. L'attività di solubilizzazione del silicio da parte dell'acido ascorbico e catecolo sui diversi substrati minerali silicei è stata determinata secondo il metodo di Fenoglio *et al.* (2000).

Risultati e conclusioni

Alcuni risultati ottenuti sono mostrati in Fig. 1. Sono state ottenute diverse curve di

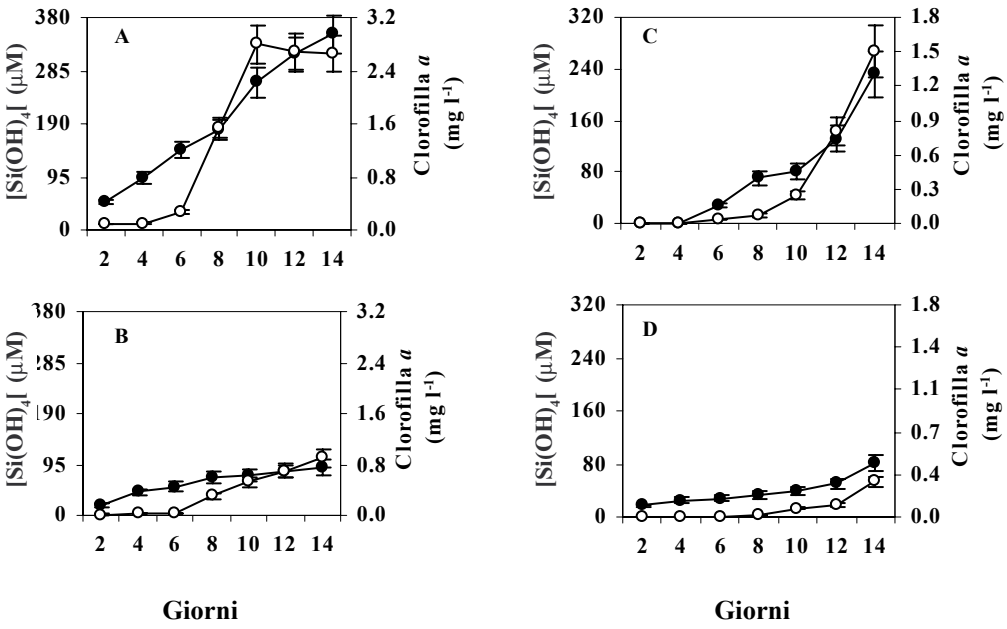


Fig. 1 - Crescita cellulare (○) e assunzione di silicio (•) di *S. costatum* CBA1 (A e B) and *C. fusiformis* CBA2 (C e D) in presenza di diverse fonti di silicio; (A) sabbia di quarzo, (B e D) terra di diatomee, (C) polvere di quarzo idrofobo.

Cell growth (○) and dissolved silica uptake (•) of S. costatum *CBA1 (A and B) and* C. fusiformis *CBA2 (C and D) under different silica supply conditions: (A) quartz sand, (B and D) diatomaceous earth, (C) hydrophobic quartz powder.*

crescita cellulare, in relazione al substrato siliceo e alla specie algale. Tutte le specie sono cresciute meglio in presenza di substrati silicei cristallini; *S. costatum* ha raggiunto i piu' alti valori di biomassa in presenza di sabbia di quarzo; mentre *C. fusiformis* e *Navicula* sp. (dati non riportati) hanno raggiunto i piu' alti valori di biomassa in presenza di polvere di quarzo idrofobo. Inoltre, *S. costatum* ha raggiunto la fase stazionaria di crescita prima, al decimo giorno, rispetto alle altre due specie, le quali tendono a raggiungere la fase stazionaria di crescita dopo il quattordicesimo giorno.

Tutte le specie algali hanno mostrato bassi livelli di crescita cellulare in presenza dei substrati silicei biogenici e sembra che la fase stazionaria non venga mai raggiunta. L'assorbimento del silicio da parte delle tre specie algali tende ad aumentare durante tutta la fase di crescita cellulare, in relazione al corrispondente andamento esponenziale della crescita cellulare delle diatomee.

I risultati di questo studio hanno messo in evidenza che tutte le diatomee marine hanno utilizzato meglio i substrati silicei cristallini di quelli amorfi. Si può ipotizzare che l'assunzione di silicio disciolto da parte delle diatomee sia mediato da un composto (acido ascorbico) che influenzi la dissoluzione del silicio dai vari substrati o faciliti il diretto assorbimento di questo a livello dell'interfaccia liquido/membrana cellulare. Infatti, l'acido ascorbico aumenta la quantità di silicio disciolto da parte di tutti i substrati silicei analizzati in questo studio (dati non riportati); in particolare la più alta solubilità di silicio è stata determinata con i substrati minerali cristallini, le polveri di quarzo idrofilo e idrofobo, rispetto ai substrati amorfi biogenici, terra di diatomee e spicole di spugna.

L'acido ascorbico, simile al catecolo, per il quale è stato recentemente dimostrato l'esistenza di complessi esa-cordinati tra silicio e la struttura planare del diolo (Kinrade *et al.,* 2001), esibisce anche esso una struttura planare 1,2 diolica, ed è stata ipotizzata la formazione di un complesso organo-siliceo tra acido ascorbico e silicio per spiegare l'incremento di solubilità del minerale siliceo in presenza di acido ascorbico (Fenoglio *et al.,* 2000). Un simile fenomeno è stato riscontrato nella marina demospongia *C. reniformis,* dove le interazioni dei pinacociti con sabbia di quarzo hanno prodotto una rapida dissoluzione dei grani di quarzo, mentre non è stata osservata alcuna dissoluzione in presenza di silice particellata biogenica amorfa (Bavestrello *et al.,* 1995).

In conclusione, le differenze nel tipo di substrato minerale siliceo possono avere un ruolo importante nell'ecologia della produttività primaria delle diatomee negli ecosistemi marini.

Bibliografia

BARNES R.S.K., MANN K.H. (1991) - *Fundamentals of Aquatic Ecology*. Blackwell Science, London: 29-34.

BAVESTRELLO G., ARILLO A., BENATTI U., CERRANO C., CATTANEO-VIETTI R., CORTESOGNO L., GAGGERO L., GIOVINE M., TONETTI M., SARÀ M. (1995) - Quartz dissolution by the sponge *Chondrosia reniformis* (Porifera, Demospongiae). *Nature,* **378**: 374-376.

FENOGLIO I., MARTRA G., COLUCCIA S., FUBINI B. (2000) - Possible role of ascorbic acid in the oxidative damage induced by inhaled crystalline silica particles. *Chem. Res. Toxicol.,* **13**: 2-6.

KINRADE S.F., SCHACH A.S., HAMILTON R. J., KNIGHT C.T.G. (2001) - NMR evidence of pentaoxo organosilicon complexes in diluted neutral aqueous silicate solution. *Chem. Comm.*: 1564-1565.

STRICKLAND J.D., PARSONS T.R. (1972) - A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Board. Can.,* **167**: 310 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1035-1037

S. Pigozzi*, M.A. Colangelo, F. Guerrini, R. Pistocchi, L. Boni

Università di Bologna, Centro Interdipartimentale di Ricerche per le Scienze Ambientali, CIRSA,
Via Tombesi dall'Ova, 55 - 48100 Ravenna, Italia.
*Centro di Ricerche Marine – Cesenatico, Italia.

DISTRIBUZIONE DI *DINOPHYTA* IN MEDITERRANEO

DINOFLAGELLATES' DISTRIBUTION IN THE MEDITERRANEAN SEA

Abstract

Dinoflagellate distribution was studied in samples collected from June to August 1994 in three different biogeographical areas of the Mediterranean Sea. About 80 species were identified and enumerated. Their abundances were analysed by multivariate and univariate techniques. Differences in community structure, density and diversity among the three basins were highlighted.

Key-words: *phytoplankton,* Dinophyta*, statistical analysis, Mediterranean Sea.*

Introduzione

Il Mar Mediterraneo mostra un'elevata diversità in tutti i compartimenti biotici. Un monitoraggio a grande scala sarebbe lo strumento più utile sia per approfondire la conoscenza sulle componenti biotiche e abiotiche che per comprenderne le interazioni. In particolar modo, un quadro descrittivo generale della distribuzione di *Dinophyta* in Mediterraneo avrebbe anche fini applicativi. Sono infatti in aumento le aree costiere dedicate alla molluschicoltura in cui la presenza di microalghe tossiche o potenzialmente tali, appartenenti in prevalenza a questa divisione, è motivo di grave allarme.

Materiali e metodi

I campioni sono stati prelevati a cura del Laboratorio di Biologia Marina e Pesca di Fano, durante una campagna di ricerca sulla conservazione dei tunnidi, dal 17/06/94 al 05/08/94. L'acqua è stata ottenuta tramite una pompa a portata variabile (25-44 L/min per 15-74 min) che pescava ad una profondità di 2,5m, concentrata su rete da 10μm e fissata con formalina al 5%. Il fitoplancton è stato osservato in 36 campioni provenienti da differenti stazioni distribuite in tutto il Mar Mediterraneo (in particolare al largo delle coste baleariche ed algerine nel Mediterraneo occidentale; delle coste pugliesi e greche nel Bacino Ionico; delle coste turche, israeliane ed egiziane nel Bacino Levantino) secondo il metodo Utermöhl mediante un microscopio Zeiss Axiovert 100. I dati biotici sono stati analizzati mediante "multidimensional scaling" non metrico (MDS), utilizzando come misura di similarità l'indice di Bray-Curtis (Clarke, 1993). I dati di abbondanza delle specie sono stati rappresentati mediante plots di k-dominanza (Warwick, 1993).

Risultati

Nei 36 campioni analizzati sono state identificate circa 80 specie di *Dinophyta*. Si tratta di cellule tecate e di dimensioni relativamente grandi (da 20 a più di 100 μm), il cui numero per specie in ogni campione era basso (da 20 a 35000 cell/m^3). Le specie ritrovate con maggior frequenza sono state: *Ceratium furca*, *Prorocentrum compressum*,

P. micans, *Protoperidinium steinii*. Nel Bacino Ionico e nel Mediterraneo occidentale esse sono specie dominanti e la differenza tra le due zone è determinata dalla loro diversa abbondanza. Nel Bacino Ionico si trovano inoltre alcune specie appartenenti all'ordine *Gonyaulacales* come *Gonyaulax polygramma*, *Ceratocorys gourreti* e *Oxytoxum scolopax*, che nei restanti campioni sono assenti o assumono comunque rilevanza minore. Il Bacino Levantino è invece prevalentemente caratterizzato dalla presenza di altre specie, quali *Podolampas palmipes* e *Alexandrium* spp. Queste variazioni di dominanza relativa e composizione specifica sono ben riassunte dal plot dell'MDS, in cui sono rappresentate tutte le stazioni dei tre bacini (Fig. 1). L'analisi del plot d'ordinamento permette di evidenziare un graduale trend di variazione di struttura di comunità attraverso il Mediterraneo, in cui i campioni sono disposti in una forma cosiddetta "a ferro di cavallo", con le stazioni del Bacino Ionico che occupano una posizione intermedia. C'è inoltre da notare come le stazioni del Bacino Levantino siano più disperse, indicando perciò una maggiore dissimilarità nella struttura di comunità, contrapposte al Mediterraneo occidentale in cui i punti sono più sovrapposti.

L'analisi delle curve di k-dominanza (qui non riportate), calcolate per le singole stazioni dei tre bacini, mostra come le comunità rinvenute nelle stazioni del Bacino Ionico siano meglio strutturate e con numero di specie elevato. Le comunità delle stazioni del Bacino Levantino sono invece caratterizzate da poche specie generalmente equidistribuite. Il Mediterraneo occidentale rappresenta una situazione intermedia.

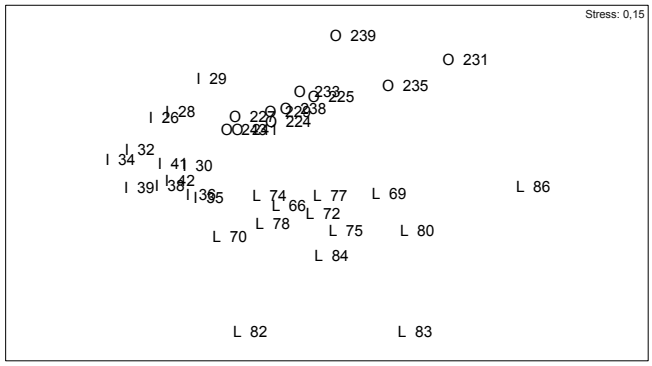


Fig. 1 - Plot dell'MDS effettuato sui 36 campioni di fitoplancton analizzati, in ciascuna stazione di ciascun bacino (O: occidentale; I: Ionico; L: Levantino).
MDS plot based on phytoplankton counts for 36 sampling sites in the Mediterranean Sea (O: Western Mediterranean; I: Ionian Sea; L: Levant Sea).

Conclusioni

Il lavoro svolto, tassonomico e statistico, ha messo in luce sostanziali differenze tra le associazioni di dinoflagellate indagate, a livello di densità degli organismi rinvenute, composizione specifica e strutturazione di comunità. Tutti e tre i bacini considerati partecipano ad un vero e proprio trend di variazione, che sarà oggetto di studi ulteriori per verificarne l'eventuale correlazione con parametri abiotici.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il prof. Piccinetti ed i suoi collaboratori del Laboratorio di Biologia Marina e Pesca di Fano per aver effettuato i prelievi.

Bibliografia

CLARKE K.R. *(1993)* - Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, **18**: 117-143.

WARWICK R.M. (1993) – Environmental impact studies on marine communities: Pragmatical considerations. *Australian Journal of Ecology*, **18**: 63-80.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1038-1042

M. Sartini, P. Belcari

Dipartimento Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
msartini@discat.unipi.it

LARVAE OF GADIFORMS IN THE SOUTHERN TUSCAN ARCHIPELAGO

LARVE DI GADIFORMI NELL'ARCIPELAGO TOSCANO MERIDIONALE

Abstract

The presence of Gadiforms larvae belonging to four different taxa was observed in the southern Tuscan Archipelago. The samples were collected during three ichthyoplankton cruises in March 1999 and March and June 2000. During the whole sampling period 60 larvae/10 m² of Gadiculus argenteus argenteus*, 204 larvae/10 m² of* Micromesistius poutassou*, 14 larvae/10 m² of* Trisopterus minutus capelanus *and 26 larvae/10 m² of* Phycis *spp. were collected. Most of larvae was concentrated in stations located between 100 and 200 m depth. Data on occurrence of other Gadiforms larvae* (Merluccius merluccius) *were already published.*

Key-words: *Gadiforms, fish larvae, distribution, abundance.*

Introduction

In the northern Tyrrhenian Sea the species belonging to the order of Gadiforms represent about 40% in number and 32% in weight of the trawl-fishery catches (Sartor *et al.*, 1990; Biagi *et al.*, 1991). Despite the numerous studies conducted on juveniles and adults of intensively exploited species of this order, scanty knowledge is available on their early life history. In this study it is analysed the larval distribution and abundance of four taxa belonging to the order of Gadiforms: the blue whiting *Micromesistius poutassou* (Risso, 1827), the poor cod *Trisopterus minutus capelanus* (Lacépède, 1800), the silvery cod *Gadiculus argenteus argenteus* (Guichenot, 1850) and the phycid hakes, *Phycis* spp. Data related to the occurrence of larvae of the European hake *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) were already published (Sartini *et al.*, 2002).

Materials and methods

In the southern Tuscan Archipelago, northern Tyrrhenian Sea, three ichthyoplankton cruises were carried out in March 1999 and March and June 2000. During each cruise, a minimum of 60 stations was studied, collecting a total of 210 samples. Larvae were sampled at different depths by means of oblique hauls, from the bottom to the surface. A Bongo net with 60 cm mouth diameter and 500 μm mesh size was used. Sampling methodology followed standard procedures (Smith & Richardson, 1977). Larvae of Gadiforms were identified according to morphological, morphometric and pigmentation features (D'Ancona, 1933). In addiction, the standard length (S.L., to the nearest 0.1 mm below) was measured. Larval abundance was standardised to the volume of filtered water at each station and was expressed as number of larvae/10 m² of sea surface (Smith & Richardson, 1977).

Results

The results of the analysis of the 210 samples are shown in Tab. 1.

Tab. 1 - Number, size range (mm) and abundance of larvae belonging to the four taxa investigated.
Numero, intervallo di taglia (mm) e abbondanza delle larve appartenenti ai quattro taxa indagati.

Scientific name	Number of sampled larvae	Size range (mm)	Abundance (larvae/10 m^2)
Gadiculus argenteus argenteus	14	2.23 – 5.61	min: 4 – max: 12
Micromesistius poutassou	48	2.09 – 16.56	min: 3 – max: 18
Trisopterus minutus capelanus	3	3.27 – 4.13	min: 4 – max: 5
***Phycis* spp.**	7	1.44 – 2.90	min: 3 – max: 5

Minimum and maximum abundance of *G. argenteus argenteus* larvae were recorded in March 2000. The larvae were found in stations mainly located between 50 and 200 m depth (Fig. 1A).

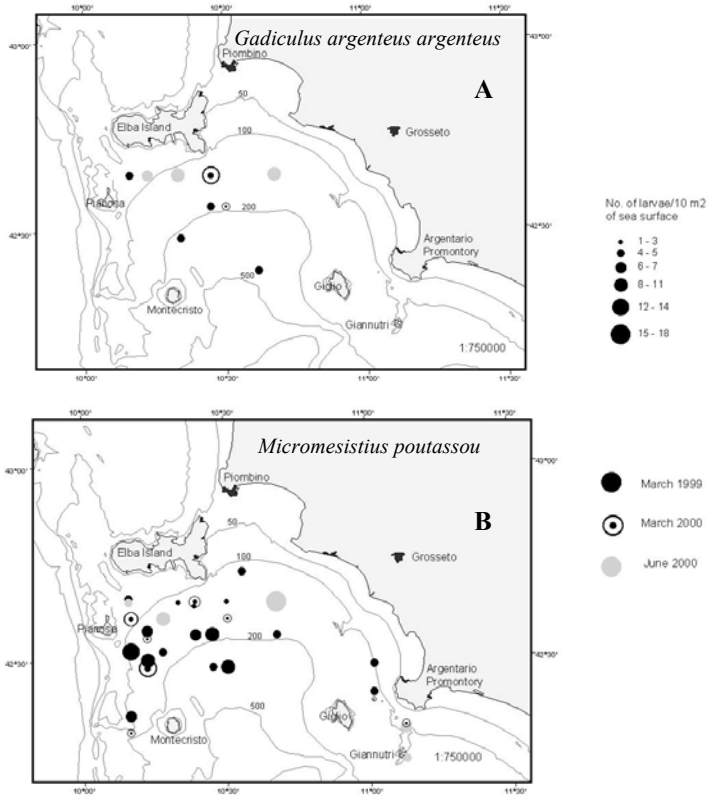


Fig. 1 - Distribution and abundance of larvae of *G. argenteus argenteus* (A) and *M. poutassou* (B), expressed as number/10 m^2 of sea surface, estimated for the three ichthyoplankton surveys.
Distribuzione e abbondanza delle larve di G. argenteus argenteus *(A) e* M. poutassou *(B), espresse come numero/10 m^2, stimata per le tre campagne ittioplanctoniche.*

The minimum abundance of *M. poutassou* was reported in all ichthyoplankton samplings, while the maximum abundance was recorded in June 2000 (Fig. 1B). Stations in which *M. poutassou* larvae were recovered were localised between 50 and 200 m depth, especially in the north-western part of the study area.

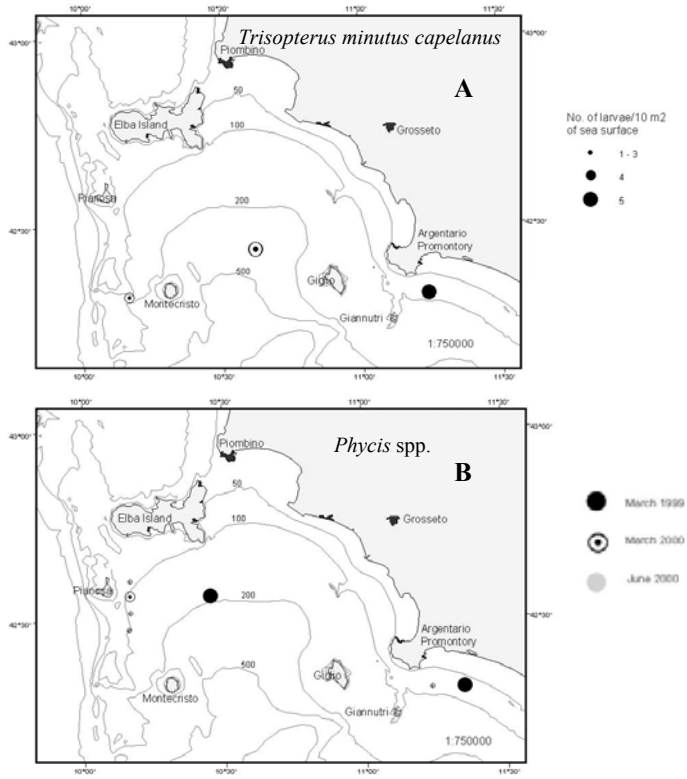


Fig. 2 - Distribution and abundance of larvae of *T. minutus capelanus* (A) and *Phycis* spp. (B), expressed as number/10 m^2 of sea surface, estimated for the three ichthyoplankton surveys.
Distribuzione e abbondanza delle larve di T. minutus capelanus *(A) e* Phycis spp. *(B), espresse come numero/10 m^2, stimata per le tre campagne ittioplanctoniche.*

Larvae of *T. minutus capelanus* and *Phycis* spp. were collected only in March samplings. In March 1999, larvae of *T. minutus capelanus* were found in one station, localised at the south of Argentario promontory on the bathymetry of 50 m. In March 2000, larvae were collected in two stations, the first between 100 and 200 m, close to Montecristo island, the second in the central part of the study area, between 200 and 500 m depth (Fig. 2A). The minimum abundance of *Phycis* spp. was recorded in March 2000 in stations located between 50 and 200 m depth, in the north-eastern part of the study area. Maximum abundance was recorded in march 1999 in two stations situated between 50 and 200 m depth (Fig. 2B).

Conclusions

Most of larvae of the four taxa analysed were distributed in stations located between 100 and 200 m depth as already observed for *M. merluccius* (Sartini *et al.*, 2002).

Findings of *G. argenteus argenteus* larvae in March are in agreement with the occurrence of the reproductive period, reported in December and January for the Mediterranean (Whitehead *et al.*, 1986; Cohen *et al.*, 1990). Existence of larvae of this species with similar abundances is reported for the Catalan Sea in April (Sabates, 1988). In the Tuscan Archipelago, *M. poutassou* presents a well defined reproductive period, from January to April, with a bulk in the months of January and February (Sbrana *et al*., 1998). Thus, findings of larvae in March was expected. Presence of larvae of *G. argenteus argenteus* and *M. poutassou* during the first week of June could be related to a delay in the maturation process, probably due to variations of environmental conditions. Recovery of larvae of *M. poutassou* is reported for the Catalan Sea in March and June as well (Sabates, 1990).

Presence of larvae of *T. minutus capelanus* and *Phycis* spp. in the southern Tuscan Archipelago is reported for the first time; in the Mediterranean Sea data on larvae of these species are very scarce (D'Ancona, 1933). The low number of *T. minutus capelanus* larvae could be due to the lack of samplings in the area where mature females are usually found, from 50 to 120 m depth along the Tuscany coasts (Biagi *et al*., 1992).

The scanty information about the larval development of the species belonging to the genus *Phycis*, *P. blennoides* and *P. phycis,* didn't allow to classify the larvae collected to the species level. In the study area, the presence of both species belonging to this genus was reported (Belcari & Biagi, 1999; Belcari & Sbrana, 1999).

References

BELCARI P., BIAGI F. (1999) – *Phycis blennoides*. In : Relini G., Bretrand J., Zamboni A. (eds), *Synthesis of the Knowledge on Bottom Fishery Resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). Biol. Mar. Medit.*, **6** (Suppl. 1): 189-196.

BELCARI P., SBRANA M. (1999) – *Phycis phycis*. In : Relini G., Bretrand J., Zamboni A. (eds.), *Synthesis of the Knowledge on Bottom Fishery Resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). Biol. Mar. Medit.*, **6** (Suppl. 1): 197-200.

BIAGI F., DE RANIERI S., SBRANA M. (1991) – Osteitti dei fondi molli dell'Arcipelago Toscano Meridionale. *Suppl. Ricerche Biologia Selvaggina*, **16**: 65-69.

BIAGI F., DE RANIERI S., VIVA C. (1992) – Recruitment, length at first maturity and feeding of poor-cod, *Trisopterus minutus capelanus*, in the northern Tyrrhenian Sea. *Boll. Zool*., **59**: 87-93.

COHEN D.M., INADA T., IWAMOTO T., SCIALABBA N. (1990) – FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. *FAO Fisheries Synopsis,* **125** (10): 442 pp.

D'ANCONA U. (1933) – Gadidae. In: Lo Bianco S. (eds), *Fauna and flora of the Bay of Naples 38: eggs, larvae and juvenile stages of Teleostei* (1969). Israel Program for Scientific Traslation Ltd., Jerusalem: 178-255.

SABATES A. (1988) – *Sistematica y distribucion espacio-temporal del ictioplancton de la costa catalana.* Ph. D. thesis, Univ. Barcelona: 558 pp.

SABATES A. (1990) – Distribution pattern of larval fish populations in the North Western Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **59**: 75-82.

SARTINI M., BELCARI P., DE RANIERI S. (2002) – Occurrence of eggs and larvae of European hake*, Merluccius merluccius* (L., 1758), in the northern Tyrrhenian Sea. *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 358-365.

SARTOR S., SBRANA M., VIVA C. (1990) – Gadiformes (Pisces, Osteichthyes) dell'Arcipelago Toscano meridionale: distribuzione e abbondanza. *Atti VI Convegno Ass. "Alessandro Ghigi", Mus. reg. Sci. nat. Torino*: 145-147.

SBRANA M., CHIERICONI V., BIAGI F. (1998) – Biologia riproduttiva e fecondità di *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826) del mar Tirreno settentrionale. *Biol. Mar. Medit*., **5** (2): 107-116.
SMITH P.E., RICHARDSON S. (1977) – Standard techniques for pelagic fish eggs and larval survey. *FAO Fish. Tech. Pap.*, **175**: 100 pp.
WHITEHEAD P.J., BAUCHOT M.L., HUREAU J.C., NIELSEN S., TORTONESE E. (eds) (1986) – Fishes of North-Eastern Atlantic and Mediterranean. *UNESCO*, **2-3**: 963 pp.

Data were collected in the framework of an European Community project targeted on the study of hake *juveniles* (EU Contract FAIR CT-97-3522 1988-2000).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1043-1045

S. Scarfì, L. Giuliano*, M. De Domenico, E. De Domenico, M.M. Yakimov*

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina, Salita Sperone, 31 98166 Messina, Italia.
*Istituto Sperimentale Talassografico, CNR, Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.

STUDIO DELLA SUCCESSIONE NATURALE DI POPOLAZIONI BATTERICHE IDROCARBUROCLASTICHE IN SEGUITO ALL'INTRODUZIONE DI PETROLIO GREZZO IN MICROCOSMO

HYDROCARBONOCLASTIC BACTERIA: STUDY ON MICROCOSMS

Abstract

Parallel sequential microcosms approaches were employed to evaluate the synergic action of crude oil-degrading marine microbial populations. The marine bacterial community structure evolution imposed by the presence of crude oil as single carbon source was also followed by means of T- RFLP analysis and by comparison with virtual T-RFLP to detected hydrocarbonoclastic bacteria.

Key-words: *hydrocarbonoclastic bacteria, microcosm, crude oil.*

Introduzione

I batteri idrocarburoclastici (HCB) sembrano essere i maggiori responsabili della bioremediation del petrolio in mare (Timmis *et al.,* 1998). In questo lavoro, per valutare l'azione sinergica dei ceppi batterici ai fini della degradazione del petrolio grezzo, sono state allestite in laboratorio due serie di microcosmi a partire da campioni provenienti da due aree portuali. Il lavoro si propone anche di seguire l'evoluzione della struttura della comunità microbica marina a seguito dell'esposizione a medio termine (3 mesi) al petrolio (Vekateswaran *et al.,* 1995).

Materiali e metodi

Per valutare l'azione sinergica dei ceppi batterici ai fini della degradazione del petrolio grezzo, sono stati creati in laboratorio dei microcosmi (contenenti terreni minimi minerali, cioè terreni che riproducono la composizione dell'acqua di mare però privi di sostanza organica all'infuori del petrolio grezzo, unica fonte di carbonio ed energia) in cui sono state inoculate popolazioni batteriche naturali provenienti dai campioni dei porti di Messina e di Milazzo. In particolare, gli esperimenti su microcosmi sono stati effettuati a partire dai campioni d'acqua (porto di Messina, POMES) e di sedimento (porto di Milazzo, POMIL).

Gli arricchimenti POMES e POMIL in petrolio sono stati utilizzati per creare 10 stock in glicerolo. Subaliquote degli stock (1 ml), conservate a –70 °C, sono state utilizzate per l'inoculo dei microcosmi e l'avvio della serie di esperimenti. In particolare, sia per POMES che per POMIL venivano effettuati due esperimenti

Nella prima serie (POMES/ POMIL BI, CI, DI, EI) l'inoculo dei vari microcosmi successivi era sempre costituito dallo stock iniziale in glicerolo. Nella seconda serie (POMES/ POMIL BII, CII, DII, EII) l'inoculo veniva effettuato con la comunità batterica proveniente dal microcosmo precedente. In entrambe le serie la fonte di carbonio era rappresentata dal petrolio residuo non degradato dalla comunità batterica del microcosmo precedente.

La crescita microbica all'interno dei microcosmi durante l'incubazione è stata monitorata mediante misure della densità ottica (OD, $\lambda = 600$ nm) allo spettrofotometro. L'esperimento veniva interrotto quando la curva di crescita batterica raggiungeva il plateau. Si procedeva, quindi, con l'inoculo di un nuovo microcosmo e con le analisi biomolecolari della diversità all'interno della coltura interrotta mediante estrazione del DNA genomico, amplificazione (PCR) dei geni del DNAr 16S, T-RFLP, clonaggio, RFLP e sequenziamento. In particolare, l'analisi preliminare di diversità è stata effettuata tramite T-RFLP (Liu *et al.*, 1997; Osborn *et al.,* 2000). I patterns ottenuti sono stati confrontati con quelli della T-RFLP virtuale disponibile su internet nel Data Bank RDP (Maidak *et al.,*1997). Inoltre, il petrolio residuo veniva estratto e analizzato tramite GC/MS. Il resto del petrolio veniva introdotto, quindi, nell'inoculo del microcosmo successivo. L'ultimo microcosmo della serie era quello caratterizzato dall'assenza di variazioni dei principali componenti idrocarburici al termine del periodo di incubazione.

Risultati e conclusioni

L'inoculo iniziale era caratterizzato da una larga percentuale di γ-*Proteobatteri* principalmente rappresentati da specie prettamente idrocarburoclastiche.

Dopo tre mesi risultava degradato il 95% degli idrocarburi alifatici. In particolare, una grande quantità di idrocarburi (33%), principalmente rappresentata da alcani (25% in meno rispetto al contenuto iniziale) veniva degradata dopo due settimane dall'inizio dell'esperimento (Fig. 1).

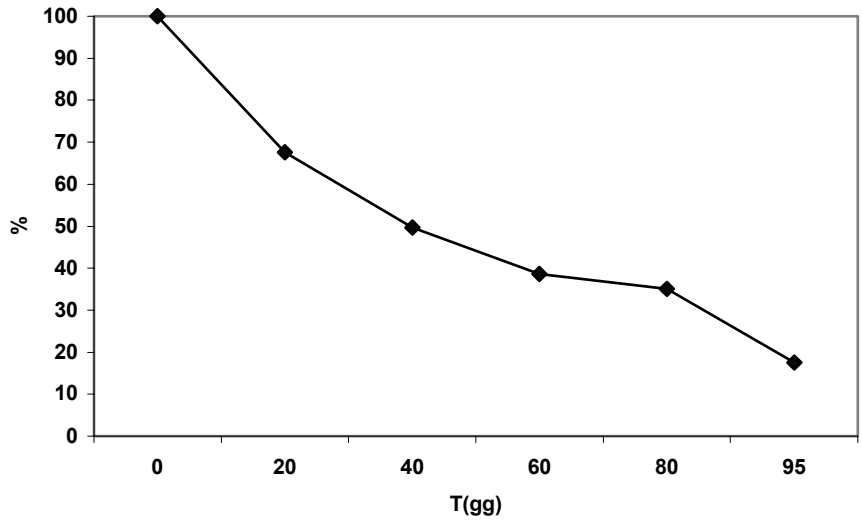


Fig. 1 - Concentrazione degli idrocarburi totali nei microcosmi POMES I in funzione del tempo.
Total hydrocarbons concentration in POMES I microcosms during experiment time.

I risultati della variazione strutturale delle comunità presenti, ottenuti mediante analisi T-RFLP, mostrano che i microcosmi intermedi (BI) erano caratterizzati dalla

comparsa di gruppi tassonomici di tipo *r*-strateghi (ascrivibili al gruppo di *Alkanivorax* secondo l'analisi virtuale dei risultati della T-RFLP) che non erano visibili nell'inoculo iniziale e che provocano una drastica diminuzione della diversità complessiva. In accordo con la scomparsa relativa delle diverse componenti idrocarburiche al termine di ogni esperimento, questi gruppi sembravano altamente specializzati nella degradazione degli alcani a media catena (C14-C16). Sia nei microcosmi del secondo esperimento POMES che in quelli POMIL, alcuni pattern T-RFLP sembravano ubiquitari e la loro abbondanza relativa subiva un incremento negli ultimi microcosmi. In accordo con l'analisi virtuale dei risultati T-RFLP, questi patterns erano sovrapponibili a quello caratteristico di *Thalassolitus* spp. In accordo anche con i dati chimici di scomparsa delle varie componenti idrocarburiche nella serie di esperimenti, ciò faceva supporre la selezione di specie idrocarburoclastiche a seguito della esposizione persistente della comunità microbica al petrolio. A supporto di tale ipotesi sono in corso le analisi delle sequenze di rDNA 16S amplificate a partire dal DNA genomico totale estratto dai vari microcosmi in successione.

Bibliografia

LIU W.T., MARSH T.L., CHENG H., FORNEY L.J. (1997) - Characterisation of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphism of genes encoding 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.,* **63**: 4516-4522.

MAIDAK B.L., OLSEN G.J., LARSEN N., OVERBEEK R., MCCAUGHEY M.J., WOESE C.R. (1997) - The RDP (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res*., **25**: 109-111.

OSBORN A.M., MOORE E.R., TIMMIS K.N. (2000) - An evaluation of terminal - restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. *Env Microb*., **2** (1): 39- 50.

TIMMIS K.T., YAKIMOV M.M., GOLYSHIN P.N. (1998) - Hydrocarbonoclastic Bacteria: novel marine bacteria that grow only on oil. *Scient. Annual Rep.*: 21-26.

VENKATESWARAN K., HARAYAMA S. (1995) - Sequential enrichment of microbial population exhibiting enhanced biodegradation of crude oil. *Can. J. Microbiol*., **41**: 767- 775.

Ricerca finanziata da: Università degli Studi di Messina e Istituto Sperimentale Talassografico CNR, Messina (Progetto CLUSTER).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1046-1050

M. Salerno, E. Sdrigotti

Laboratorio di Biologia Marina, Via A. Piccard, 54 - 34010 Trieste, Italia.
monicasalerno@libero.it

USO DELLE TRAPPOLE DI SEDIMENTAZIONE PER LA STIMA DEL FLUSSO ATTIVO DELLO ZOOPLANCTON NEL GOLFO DI TRIESTE (ADRIATICO SETTENTRIONALE)

THE USE OF SEDIMENT TRAP TO MEASURE ACTIVE FLUX OF MESOZOOPLANKTON IN THE GULF OF TRIESTE (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Abstract

The mesozooplankton actively entering the trap, called "swimmers", was investigated in the Gulf of Trieste from June 1998 to November 2000. The active flux evidenced a clear seasonal pattern with higher values in summer and lower in winter, showing also a marked interannual variability. The swimmers mainly consisted of Crustaceans and meroplankton which likely passively invaded the trap. The vertical flux appeared strongly affected by suspended mesozooplankton community, occurrence of mucous macroaggregates and by the water column trophic conditions.

Key-words: *sediment trap, swimmers, holoplankton, Gulf of Trieste.*

Introduzione

Le trappole di sedimentazione sono dei validi strumenti per lo studio non solo dei flussi passivi del particellato organico, ma anche dei flussi attivi degli "swimmers", organismi per lo più appartenenti al mesozooplancton, che vi penetrano grazie alle loro migrazioni verticali (Heiskanen, 1998; Michaels *et al.*, 1990; Seiler e Brandt, 1997; Steinberg *et al.*, 1998). Le pareti interne della trappola possono inoltre offrire un supporto solido per la colonizzazione degli stadi larvali e giovanili del macro e meiobenthos (meroplancton) (Baudo *et al.*, 1994; Shanks e Edmondson, 1990). Scopo del presente lavoro è quello di stimare i flussi attivi degli swimmers, mediante l'uso di una trappola di sedimentazione in un ambiente costiero, evidenziandone le eventuali variazioni quali-quantitative in relazione alle dinamiche trofico-funzionali della comunità planctonica e al verificarsi di eventi anomali nella colonna d'acqua.

Materiali e metodi

I campioni, fissati "*in situ*" con una soluzione al 4% di formaldeide, sono stati raccolti con una frequenza settimanale da giugno 1998 a novembre 2000 in una stazione costiera (45° 41' 51.954" N; 13° 42' 52.044" E) del Golfo di Trieste mediante una trappola cilindro-conica automatica Technicap PPS4/3 sita ad una profondità di 16 m, a 2 m dal fondo. Il sito di studio è caratterizzato da un accentuato idrodinamismo (1-3 cm s^{-1}) e da un sedimento di tipo pelitico. Gli swimmers sono stati conteggiati e determinati, per grandi gruppi tassonomici, su subcampioni previamente filtrati mediante un retino da 200 μm. Il flusso attivo degli swimmers è stato espresso come numero di individui per m^2 al giorno (ind. m^{-2} d^{-1}). Sui flussi attivi, mediati mensilmente, è stata effettuata una cluster analysis mediante l'applicazione dell'indice di similitudine di Bray-Curtis ed il metodo del legame completo, utilizzando il programma statistico PRIMER.

Risultati

L'andamento temporale dei flussi attivi, medi mensili (Fig. 1), presenta una spiccata variabilità stagionale riflettendo l'abbondanza della comunità mesozooplanctonica in colonna d'acqua come confermato dalla stretta correlazione tra quest'ultima variabile e l'abbondanza degli swimmers ($p < 0.01$; $r^2 = 0.70$; $n = 23$). I flussi attivi degli swimmers risultano confrontabili nei diversi periodi analizzati e dello stesso ordine di grandezza di quelli riportati da Shanks e Edmondson (1990) per una baia della Carolina del Nord e da Seiler e Brandt (1997) per il Nord Atlantico. Dalla distribuzione temporale è possibile individuare la presenza di due picchi di modesta entità nella primavera 1999 e 2000 (4.51 e 2.77×10^3 ind.m^{-2}d^{-1}) e due picchi più elevati nell'estate 1998 e 1999 (9.63 e 7.17×10^3 ind.m^{-2}d^{-1}). L'estate 2000 risulta invece caratterizzata da due massimi separati da un minimo relativo tra luglio e agosto. I flussi degli swimmers si riducono del 50% nel terzo anno evidenziando una netta variabilità interannuale. Particolarmente evidente è la drastica riduzione del flusso attivo nel giugno 2000, il cui scarso valore (0.22×10^3 ind.m^{-2}d^{-1}), comparabile a quelli invernali, è legato, probabilmente, alla comparsa delle mucillagini che, agendo da barriera, avrebbero ostacolato le migrazioni verticali degli swimmers inglobandoli all'interno degli aggregati. Il flusso attivo mostra a metà luglio 2000 una rapida ripresa dovuta prevalentemente ai copepodi di piccola taglia, soprattutto arpacticoidi, la cui presenza sarebbe verosimilmente legata alla deposizione del detrito organico derivante dalla disaggregazione degli ammassi mucillaginosi a cui risultano spesso associati (Seiler e Brandt, 1997; Steinberg *et al.*, 1998).

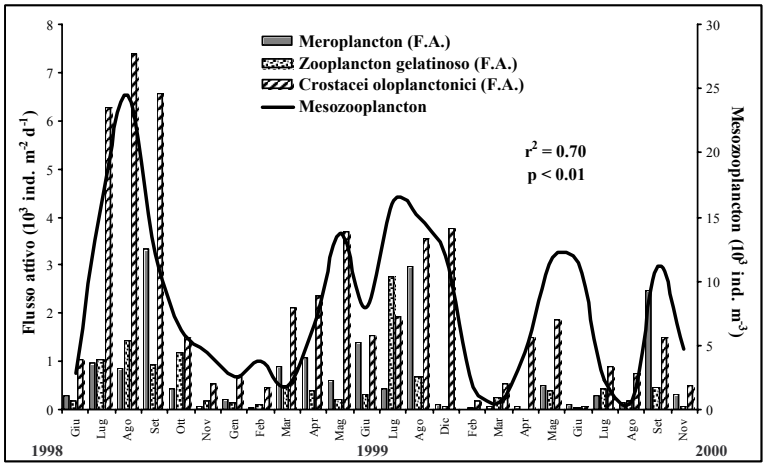


Fig. 1 - Andamento temporale delle componenti principali del flusso attivo (F.A.) in relazione alla comunità del mesozooplancton.

Temporal pattern of the active flux principal components (F.A.) in relation to the mesozooplankton community.

L'abbondanza degli swimmers diminuisce con un minimo relativo ad inizio agosto per poi riassestarsi a fine estate su valori tipici stagionali. Tra i taxa analizzati, i crostacei oloplanctonici costituiscono il gruppo dominante seguiti dallo zooplancton gelatinoso (Tunicata, Cnidaria e Chaetognatha vedi Steinberg *et al.*, 1998) soprattutto in autunno e

tardo inverno e dal meroplanton (Mollusca, Anellida, Malacostraca, Cirripedia, Nematoda ed Echinodermata) in estate. Dal dendrogramma di classificazione (Fig. 2) si possono distinguere quattro gruppi principali, tre dei quali appaiono chiaramente legati alle variazioni stagionali del flusso attivo, mentre il quarto, completamente separato dagli altri, risulta costituito esclusivamente dal campionamento relativo al mese di giugno 2000 (gruppo 1). Dei tre gruppi principali il numero 2 comprende quasi tutti i periodi invernali ad eccezione di dicembre 1999, il numero 3 include il periodo primaverile-estivo 1999, l'estate 1998 e luglio 2000, il numero 4 infine riunisce assieme all'agosto 2000 tutti i mesi autunnali e la primavera 2000. Il gruppo 1 comprende solo il mese di giugno 2000 probabilmente per la presenza di un flusso attivo quali-quantitativamente molto ridotto: i crostacei oloplanctonici (40%) sono rappresentati quasi esclusivamente da copepodi arpacticoidi (87%), la frazione dello zooplancton gelatinoso (15%) risulta costituita solo da tunicati e quella del meroplancton, dominante il flusso attivo (45%), da policheti e nematodi. La presenza di macroaggregati mucillaginosi potrebbe aver influito negativamente sia sull'abbondanza che sulla diversità specifica selezionando organismi che vivono strettamente associati al detrito organico e alla neve marina (Shanks e Edmondson, 1990; Steinberg *et al.*, 1998).

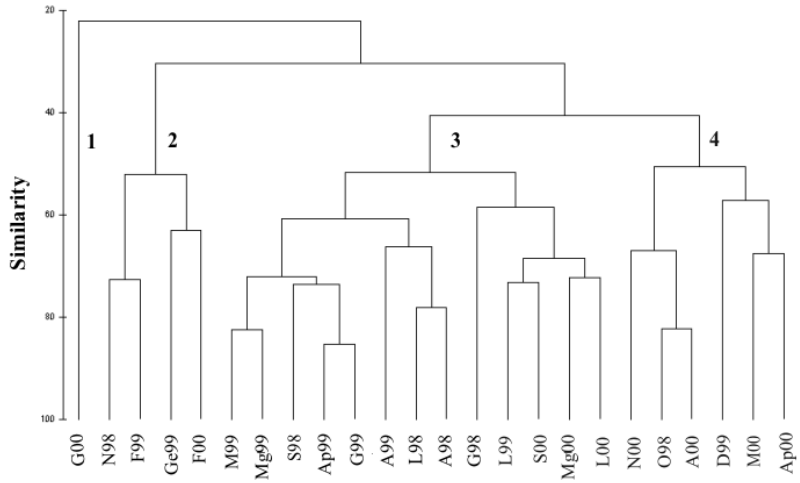


Fig. 2 - Dendrogramma di similitudine (indice di Bray-Curtis) basato sul metodo del legame completo tra i campioni mensili.
Dendrogram of similarity (Bray-Curtis index) based on complete linkage method between the monthly samples.

Il gruppo 2, comprendente le stagioni invernali, si contraddistingue per la chiara dominanza dei crostacei (61%) rappresentati quasi in egual misura da copepodi calanoidi, ciclopoidi e arpacticoidi. In particolare i ciclopoidi raggiungono in questo periodo il più elevato flusso relativo (36%). Lo zooplancton gelatinoso presenta inoltre il suo massimo contributo (21%) ed è affiancato dal meroplancton costituito quasi esclusivamente da malacostraci (74%).

Il gruppo 3 rappresentativo dei periodi estivi 1998 e 1999 e della primavera 1999 risulta caratterizzato sempre dalla netta prevalenza dei crostacei oloplanctonici (62%) soprattutto copepodi arpacticoidi e calanoidi, seguiti dal meroplancton e dallo zooplancton gelatinoso. I crostacei e il meroplancton appaiono altamente diversificati sebbene quest'ultimo presenti una netta dominanza di policheti (68%). Nell'ambito di questo gruppo luglio 2000 risulta indirettamente legato alle precedenti estati soltanto per la presenza di nematodi e per il maggior contributo di malacostraci rispetto agli echinodermi. Analogamente agli altri mesi estivi del 2000, il mese di luglio, si contraddistingue per la totale mancanza di chetognati che, seppur rari, registrano nelle precedenti estati considerevoli flussi attivi compresi tra 0.06 e 0.23×10^3 ind.$m^{-2}d^{-1}$.

Il gruppo 4, che riunisce i periodi autunnali e la primavera 2000, è contraddistinto dalla massima presenza di crostacei (71%) per lo più arpacticoidi (43%) e dall'assenza di cladoceri e di chetognati. Il meroplancton è costituito principalmente da malacostraci (45%) seguiti da policheti ed echinodermi. L'inclusione del mese di agosto 2000 potrebbe essere dovuta alla totale assenza di cladoceri e policheti nonché all'elevata presenza di tunicati. La mancanza dei cladoceri potrebbe essere dovuta ad un precedente effetto di disturbo degli aggregati mucillaginosi, mentre la comparsa di una fioritura a diatomee (Interreg II, 2001) e la totale scomparsa degli aggregati mucosi dalla colonna d'acqua avrebbero favorito lo sviluppo di un popolamento mesozooplanctonico più simile a quello primaverile-autunnale piuttosto che a quello estivo.

L'appartenenza dei periodi primaverili a due gruppi nettamente distinti è attribuibile a differenze sia quantitative che qualitative dei flussi attivi riconducibili all'instaurarsi di differenti condizioni trofiche nella colonna d'acqua. Le due primavere appaiono infatti caratterizzate da un tasso di predazione del mesozooplancton molto basso nel 1999 e decisamente elevato nel 2000 (Interreg II, 2001) suggerendo che nel primo caso la scarsa disponibilità di preda, dovuta alla fioritura di una diatomea alloctona poco "appetibile", avrebbe causato flussi attivi più elevati soprattutto a carico di copepodi erbivori in grado di utilizzare la trappola come sorgente alternativa di sostanza organica; nel secondo caso l'efficiente rimozione delle fioriture fitoplanctoniche da parte del mesozooplancton avrebbe determinato un minor flusso attivo favorendo comunque i copepodi ciclopoidi, per lo più onnivori e quindi meno selettivi, rispetto ai copepodi erbivori, capaci di competere meglio in colonna d'acqua (Seiler e Brandt, 1997). L'associazione della primavera 1999 con i periodi estivi è probabilmente attribuibile al mancato controllo da parte del mesozooplancton sulla fioritura fitoplanctonica che, sedimentando assieme agli essudati extracellulari, potrebbe aver favorito il flusso verticale di stadi larvali e giovanili di policheti, solitamente abbondanti in estate e strettamente associati a tali aggregati organici (Shanks e Edmondson, 1990).

Conclusioni

In conclusione la correlazione altamente significativa tra l'abbondanza del mesozooplancton in acqua ed il flusso attivo degli swimmers suggerisce che questi organismi entrano sistematicamente a far parte del particellato sedimentato e non in seguito a una mirata un'attività di pascolo, se non in alcuni periodi particolari (primavera), in disaccordo con altri autori (Seiler e Brandt, 1997). La presenza tra gli swimmers degli stadi non solo larvali ma anche giovanili della meio e macrofauna può essere infine dovuta alla capacità di colonizzare le pareti della trappola, al fenomeno della risospensione favorita in questo sito dall'elevato idrodinamismo oppure alla stretta associazione con il particellato organico. In accordo con precedenti autori (Shanks e Edmonson, 1990;

Steinberg *et al.*, 1998) tale componente entrerebbe perciò passivamente a far parte del materiale sedimentato in trappola e pertanto la sua collocazione all'interno degli "swimmers" potrebbe non essere del tutto corretta. L'impiego della trappola di sedimentazione è apparso, in questo studio, un valido metodo per stimare i flussi verticali del mesozooplancton, permettendo inoltre di ottenere importanti informazioni sugli effetti che le interazioni trofiche instauratesi nella colonna d'acqua e il manifestarsi di eventi anomali come le mucillagini possono produrre sulle dinamiche degli swimmers.

Ringraziamenti

Si ringraziano il responsabile scientifico del progetto dott. M. Giani, la dott. A. de Olazabal per la gentile concessione dei dati di mesozooplancton relativi alla colonna d'acqua, il dott. P. Rossin e il dott. C. Falconi per il supporto tecnico.

Bibliografia

BAUDO R., BIASCI G., PREVITALI L., TARTARI G. (1994) - Trappole di sedimentazione per ambienti acquatici. *Acqua-Aria*, **4**: 295-310.

HEISKANEN A.-S. (1998) - *Factors governing sedimentation and pelagic nutrient cycles in northern Baltic Sea*. Monographs of the Boreal Environment Research No. **8**: 80 pp.

INTERREG II, RELAZIONE FINALE (2001) - Direzione Regionale dell'Ambiente, LBM Trieste.

MICHAELS A.F., SILVER M.W., GOWING M.M., KNAUER G.A. (1990) - Cryptic zooplankton «swimmers» in upper ocean sediment traps. *Deep Sea Res.*, **37** (8): 1285-1296.

SEILER D., BRANDT A. (1997) - Seasonal occurrence of planktic Crustacea in sediment trap samples at free depth horizons in the Greenland Sea. *Pol. Biol.*, **17**: 337-349.

SHANKS A.L., EDMONDSON E.W. (1990) - The vertical flux of metazoans (holoplankton, meiofauna, and larval invertebrates) due to their association with marine snow. *Limnol. Oceanogr.*, **35**: 455-463.

STEINBERG D.K., PILSKALN C.H., SILVER M.W. (1998) - Contribution of zooplancton associated with detritus to sediment trap "swimmer" carbon in Monterey Bay, California USA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **164**: 157-166.

Il presente lavoro è stato condotto nell'ambito del progetto MAT finanziato dal Ministero dell'Ambiente attraverso l'ICRAM.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1051-1053

E. Balestri, F. Vallerini, F. Cinelli

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Via Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.

VARIABILITÀ SPAZIALE DI ALCUNE CARATTERISTICHE STRUTTURALI E MORFOLOGICHE IN *POSIDONIA OCEANICA*

SPATIAL VARIABILITY OF SEVERAL STRUCTURAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES IN POSIDONIA OCEANICA

Abstract

Variations in several structural and morphological features of Posidonia oceanica *(L.)* Delile *(Posidoniaceae) were examined at different spatial scales (from centimetres to kilometres) using a hierarchical sampling design. Results of analyses of variance showed significant differences at all the scales examined and in particular at the extreme scales. The results suggest that much attention should be devoted in future to the sampling design for more effective large scale and long - term monitoring programs.*

Key-words: Posidonia oceanica*, spatial variations.*

Introduzione

Posidonia oceanica, per la sua importanza ecologica e vulnerabilità a perturbazioni causate da varie attività antropiche è considerata un "indicatore" della qualità delle acque costiere (Pergent *et al*., 1995). Caratteristiche generali della prateria tra le quali la copertura, la densità, la biometria fogliare e la dinamica di accrescimento, sono comunemente utilizzate per monitorare la qualità dell'habitat costiero. Tuttavia, poco è conosciuto sull'esistenza di variazioni su scala spaziale di tali caratteristiche sebbene, recentemente, l'importanza della scelta di appropriate scale spaziali negli studi di monitoraggio e di valutazione di impatto sia stata ampiamente dimostrata (Underwood, 1994). In passato, l'attenzione è stata focalizzata sull'individuazione di variazioni su scala geografica (tra praterie; Marbà e Duarte, 1997) e su scala locale (tra diverse profondità all'interno della stessa prateria; Mazzella e Ott, 1984). Tuttavia, questa specie è esposta non solo a variazioni delle condizioni ambientali dovute a processi biogeografici e alla profondità, ma anche a considerevoli variazioni su piccola scala nella topografia, tipo di substrato, disponibilità di risorse, disturbo biologico e fisico. In questo lavoro sono state esaminate le variazioni di alcune caratteristiche morfologiche e strutturali di *P. oceanica* a diverse scale spaziali (da centimetri a chilometri), alla stessa profondità.

Materiali e metodi

Rizomi ortotropi di *P. oceanica* sono stati prelevati in settembre 1999 in tre località situate lungo la costa a sud di Livorno: Calafuria (43° 30'N, 10° 20'E), Rosignano Solvay (43°22'N, 10°26'E) e Cecina (43°18'N, 10°29'E). All'interno di ciascuna località, sono stati scelti, in modo casuale, tre siti separati fra loro alcune centinaia di metri. All'interno di ciascun sito sono state selezionate due aree alla profondità di circa 10 metri, separate alcune decine di metri tra loro. Quindi, all'interno di ciascuna

area sono stati posti cinque quadrati (25 × 25 cm) distanti alcuni metri l'uno dall'altro ed all'interno di ciascuno di essi sono stati prelevati 5 fasci di *P. oceanica*. In totale sono stati prelevati 450 fasci (5 fasci × 5 quadrati × 2 aree × 3 siti × 3 località). Sono state determinate le seguenti variabili: numero totale delle foglie e numero delle foglie adulte, intermedie e giovani per fascio; lunghezza delle foglie giovani, intermedie ed adulte (cm); indice di area fogliare (LAI). E' stata inoltre determinata la densità dei fasci (n° fasci/m^2) all'interno di ciascuna area mediante il posizionamento casuale di 5 quadrati (25 × 25 cm). I dati relativi alle variabili fenologiche sono stati analizzati mediante analisi della varianza a 4 vie con modello completamente gerarchizzato e con località, sito, area e quadrato come fattori random. I dati relativi alla densità dei fasci, sono stati analizzati mediante ANOVA a 3 vie. L'omogeneità delle varianze è stata valutata con il test *C* di Cochran procedendo, quando necessario, ad un'appropriata trasformazione dei dati (Underwood, 1997). Infine sono state calcolate le componenti della varianza associate a ciascuna scala spaziale.

Risultati

Complessivamente, per le variabili morfologiche sono state osservate differenze significative maggiori alle scale estreme, decine di chilometri (5 variabili su 7 analizzate) e metri (5 su 7), rispetto alle scale intermedie, centinaia di metri (4 su 7) e decine di metri (2 su 7; Fig. 1). Per quanto riguarda il numero delle foglie, il numero totale variava solo alla scala di centinaia di metri (Fig. 1A) mentre il numero delle adulte variava solo alla scala di metri (Fig. 1B), quello delle foglie intermedie variava alle scale di decine di chilometri, centinaia di metri e metri (Fig. 1C), quello delle foglie giovani variava alle scale di decine di chilometri e decine di metri (Fig. 1D). La lunghezza delle foglie adulte variava a tutte le scale considerate (Fig. 1E), la lunghezza delle foglie intermedie alle scale di decine di chilometri, centinaia di metri e metri (Fig. 1F) e quella delle foglie giovani variava solo alla scala di decine di chilometri (Fig. 1G). Per le variabili strutturali, il LAI variava alle scale di chilometri e centinaia di metri (Fig. 1H) e la densità dei fasci variava solo alla scala di centinaia di metri (2 su 2 analizzate; Fig. 1I). Tuttavia, l'analisi delle componenti della varianza ha dimostrato che in generale, ad eccezione che per la lunghezza delle foglie adulte, la fonte di variabilità più consistente risultava quella associata alla più piccola scala esaminata, tra piante per le variabili morfologiche e tra quadrati per le variabili strutturali (Fig. 1).

Conclusioni

L'indagine condotta dimostra che alcune delle caratteristiche morfo-strutturali impiegate nel monitoraggio delle praterie a *P. oceanica* variano a differenti scale spaziali alla stessa profondità. Sfortunatamente, la maggior parte degli studi effettuati finora deriva da risultati estrapolati dalle medie di pochi quadrati (1 m × 1 m, al massimo) e da campioni prelevati in pochi siti all'interno della prateria o lungo transetti a differenti profondità. E' stato ampiamente dimostrato che, in ambienti fortemente eterogenei, questo tipo di approccio non è in grado di fornire un'adeguata descrizione dei fenomeni esaminati in quanto può confondere variazioni su piccola e larga scala (Morrisey *et al*., 1992). I risultati di questo studio pertanto indicano che in futuri programmi di monitoraggio e di valutazione di impatto è necessario rivolgere maggiore attenzione al disegno di campionamento ed in particolare alle scale spaziali utilizzate.

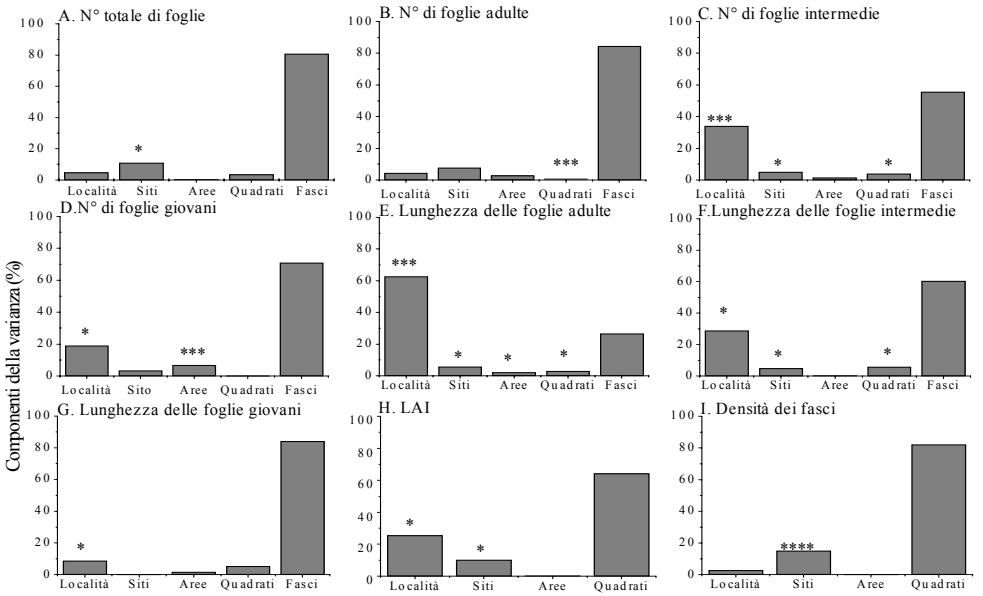


Fig. 1 - Risultati dell'analisi delle componenti della varianza relative alle variabili morfologiche (A-G) e strutturali (H-I) di *P. oceanica*. * = p< 0.05, ** = p< 0.01 ,*** = p< 0.001.

Results of analyses of components of variance performed on morphological (A-G) and structural (H-I) variables of P. oceanica*. * = p< 0.05, ** = p< 0.01 ,*** = p< 0.001.*

Bibliografia

MARBÀ E., DUARTE C. (1997) – Interannual changes in seagrass (*Posidonia oceanica*) growth and environmental change in the Spanish Mediterranean littoral zone. *Limnol. Oceanogr.,* **42** (5): 800-810.

MAZZELLA L., OTT J. (1984) – Seasonal changes in some features of *Posidonia oceanica* (L.) Delile leaves and epiphytes at different depths. In: Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A., Olivier J. (eds), *International workshop* Posidonia oceanica *beds*, G.I.S. Posidonie, Marseille/France: 119-127.

MORRISEY D.J., HEWITT L., UNDERWOOD A.J., STARK J. S. (1992) – Spatial variability in soft-sediment benthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., **81**: 197-204.

PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., BOUDOURESQUE C.F. (1995) – Utilisation de l'herbier à *Posidonia oceanica* comme indicator biologique de la qualité du milieu littoral en Méditerranée: Etat des connaissances. *Mesogée*, **54**: 3-29.

UNDERWOOD A.J. (1994) – On Beyond-BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbance*. Ecol. Appl*., **4** (1): 3-15.

UNDERWOOD A.J. (1997) – *Experiments in Ecology. Their Logical Design and Interpretation using Analysis of Variance.* Cambridge University Press: 504 pp.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1054-1056

R. Boscolo, O. Giovanardi

Istituto Centrale per la Ricerca Applicata al Mare, ICRAM,
Loc. Brondolo - 30015 Chioggia, Venezia, Italia.

INSEDIAMENTO DEL POLICHETE *POLYDORA CILIATA* NELLA CONCHIGLIA DELLA VONGOLA FILIPPINA *TAPES PHILIPPINARUM* (ADAMS & REEVE)

POLYDORA CILIATA *SETTLEMENT ON SHELLS OF THE MANILA CLAM* TAPES PHILIPPINARUM *(ADAMS & REEVE)*

Abstract

A preliminary study of Polydora ciliata *settlement on shells of the Manila clam* Tapes philippinarum *was made. The mud-worm produces U-shaped channels which are filled with compacted mud. Predominantly the worm settles around the siphon area and the host secretes calcite and conchiolin layers forming a blister to isolate the worm. The shells were damaged and perforated in three parts: in the two ends and in the U part of the burrow.*

Key-words: Polydora ciliata, Tapes philippinarum*, infestation, mud-worm.*

Introduzione

L'infestazione opportunistica da parte dei policheti spionidi del genere *Polydora* è da tempo nota per numerose specie di molluschi bivalvi e gasteropodi come ostriche, mitili, pettinidi, ecc. (Handley e Berquist, 1997, Bower *et al*., 1992; Caceres-Martinez *et al*., 1999; Liu e Hsieh, 2000). Segnalazioni su veneridi sono state riportate per le specie *Chione fluctifraga* in Messico (Caceres-Martinez *et al*., 1999) e *C. stutchburyi* in Nuova Zelanda (Read, 1975). *P. ciliata* vive all'interno di tubi a forma di U che si scava nelle conchiglie dell'ospite attraverso la combinazione di una soluzione acida, prodotta da delle speciali ghiandole, in grado di dissolvere il substrato e l'azione meccanica di setole allargate modificate sul 5° setigero in grado di raschiare il substrato.

In questo lavoro si riportano osservazioni preliminari sull'insediamento di *P. ciliata* nella vongola filippina *Tapes philippinarum* mantenuta in cultura off-shore.

Materiali e metodi

Uno stock di vongole *T. philippinarum* proveniente dalla Laguna di Venezia è stato posto in sospensione in un impianto di mitilicoltura situato a cinque miglia dalla costa in Adriatico settentrionale, per studi sul loro adattamento a tale condizione come possibile alternativa per l'ingrasso. Dall'inizio dell'esperimento (giugno 2000) sono stati campionati mensilmente pool di individui fino a luglio 2001. Con l'utilizzo di uno stereomicroscopio si è fatto uno studio preliminare sulla struttura architettonica scavata da *P. ciliata* all'interno della conchiglia e la conseguente risposta del bivalve a tale escavazione.

Risultati

I primi individui infestati sono stati osservati a tre mesi dall'inizio dell'esperimento (circa il 5%). Nei mesi successivi la percentuale d'infestazione è aumentata progres-

sivamente per arrivare ad un valore del 20% in luglio 2001 (Boscolo e Giovanardi, 2002).

Nella maggior parte degli individui osservati, il polichete occupa nella valva l'area dei sifoni, scavandosi un canalicolo a forma di U (Fig. 1A), perforando la conchiglia nelle due estremità finali della tana e nel punto ricurvo della U. Tutt'intorno alla tana si trova depositato il materiale di scarto prodotto dall'anellide (Fig. 1B). In risposta a ciò la vongola secerne una bolla in grado di isolare *P. ciliata* che a volte arriva a ricoprire l'intera zona dei sifoni (Fig. 1C). In Fig. 1D sono riportate le setole allargate modificate del quinto segmento di *P. ciliata*, intervallate da setole capillari lanceolate, che esplicano l'attività di escavazione.

Conclusioni

L'area prediletta da *P. ciliata* per il suo insediamento nella conchiglia di *T. philippinarum* è nella zona dei sifoni, in accordo con quanto hanno riportato Caceres-Martinez *et al*. (1999) per *C. fluctifraga*. Il principale danno provocato alla vongola consiste in un aumento della fragilità della conchiglia ed una probabile maggiore suscettibilità ad altre parassitosi e predazioni in quanto la conchiglia viene perforata in tre zone. Questo studio ha evidenziato come anche *T. philippinarum*, specie non comunemente parassitata dagli spionidi, sia risultata particolarmente vulnerabile all'infestazione opportunistica di *P. ciliata*.

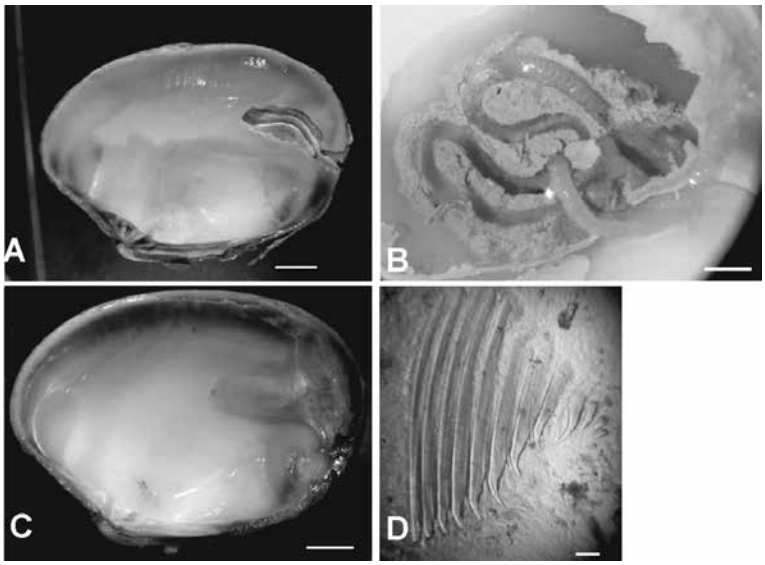


Fig. 1 - A) solco a forma di U scavato da *P. ciliata* nella conchiglia di *T. philippinarum*; B) tana con *P. ciliata* circondata dal materiale di rifiuto; C) bolla prodotta dalla vongola per isolare *P. ciliata*; D) setole allargate modificate del quinto setigero di *P. ciliata*. Barre: A, C, 0.5 cm; B, 0.5 mm; D, 50 µm.

A) the U-shaped tube bored by P. ciliata *in the shell of* T. philippinarum*; B) burrowing* P. ciliata *surrounded by detritus; C) blister secrete by the clam to isolate the worm; D) the enlarged modified setae on the 5th setiger of* P. ciliata*. Bars: A, C, 0.5 cm; B, 0.5 mm; D, 50 µm.*

Bibliografia

BOSCOLO R., GIOVANARDI O. (2002) - *Polydora ciliata* shell infestation in *Tapes philippinarum* Manila clam held out of the substrate in the Adriatic sea, Italy. *J. Invertebr. Pathol.,* **79**: 197-198.

BOWER S.M., BLACKBOURN J., MEYER G.R., NISHIMURA D.J.H. (1992) - Diseases of cultured Japanese scallops (*Patinopecten yessoensis*) in British Columbia, Canada. *Aquaculture*, **107**: 201-210.

CACERES-MARTÌNEZ J., TINOCO G.D., BUSTAMANTE M.L.U., GOMEZ-HUMARAN I.M. (1999) - Relationship between the burrowing worm *Polydora* sp. and black clam *Chione fluctifraga* (Showerby). *J. Shellfish Res*., **18** (1): 85-89.

HANDLEY S.J., BERQUIST P.R. (1997) - Spionid polychaete infestations of intertidal pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), Mahurangi Harbour, northern New Zealand. *Aquaculture*, **153**: 191-205.

LIU PJ., HSIEH HL. (2000) - Burrow architecture of the spionid polychaete *Polydora villosa* in the corals *Montipora* and *Porites*. *Zool. Stud*., **39** (1): 47-54.

READ G.B. (1975) – Systematics and biology of polydorid species (Polychaeta: Spionidae) from Wellington Harbour. *J. Royal Soc. New Zealand*, **5**: 395-419.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1057-1060

A. Cardona, M.G. Giacobbe[1], E. De Domenico, M.M. Yakimov[1]

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,
Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.
[1] Istituto Sperimentale Talassografico, CNR, Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.

BATTERI ENDOSIMBIONTI ASSOCIATI ALLA PRODUZIONE DI PSTs IN *ALEXANDRIUM MINUTUM* (DINOPHYCEAE)

ENDOSYMBIOTIC BACTERIA ASSOCIATED WITH PSTs PRODUCTION IN ALEXANDRIUM MINUTUM *(DINOPHYCEAE)*

Abstract

In the last years blooms of the dinoflagellate Alexandrium minutum *have been reported from marine and brackish environments of the Mediterranean Sea, including areas of shellfish farming in Italy. Moreover, it was shown that heterotrophic marine bacteria are an inherent part of the physical environmental of dinoflagellate, both in vitro and in vivo and may be considered as symbionts. They can play a role in the production of paralytic shellfish poisoning. Toxic isolates from different Ionian localities were analysed to identify the possible presence of bacteria associated with* A. minutum.

Key-words: *microorganisms, algal coltures, paralytic shellfish poisoning, molecular biology.*

Introduzione

I dinoflagellati sono microrganismi eucarioti talvolta implicati in HABs (Harmful Algal Blooms), sia in ambiente marino sia salmastro. I blooms algali oltre ad essere aumentati negli ultimi anni si sono diffusi in nuove aree geografiche dove il fenomeno era prima del tutto assente o, quantomeno, non era stato studiato. Una piccola percentuale di dinoflagellati è responsabile della produzione di biotossine le quali, concentrandosi nei molluschi filtratori, possono essere fonte di malattia nell'uomo. In particolare la specie *Alexandrium minutum*, rilevata anche lungo le coste italiane, è responsabile di fenomeni di PSP (Paralytic Shellfish Poisoning). Negli ultimi anni è stata formulata l'ipotesi che batteri marini associati con i dinoflagellati giochino un ruolo nella produzione di tossine paralizzanti (PSTs, Paralytic Shellfish Toxins) (Kodama *et al*., 1988; Doucette, 1995; Franca *et al*., 1996, Gallacher *et al.*, 1997). Le interazioni fra alghe e batteri sono state comunemente osservate e sono emerse relazioni importanti, sia in vitro che in vivo, tanto da parlare di batteri simbionti (Gallacher, Smith, 1999). Resta ancora da investigare la precisa relazione tra batteri e dinoflagellati nella produzione di tossine, in particolare determinando quali fattori ambientali ed elementi genetici sono coinvolti nel processo.

Materiali e metodi

Sono state utilizzate colture di *A. minutum* tossico mantenute in f/2 (Guillard, 1975) (gonyatutoxins: GTX4, GTX 1, GTX3, GTX2; dati gentilmente forniti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine - Cesenatico), di cui 3 isolate dal porto di Siracusa e 2 isolate dal Mar Piccolo di Taranto. Le colture sono state trattate allo scopo di renderle axeniche, mediante apposito processo (Alavi *et al.,* 2001 modificato). Dopo il trattamento sono state incubate in una camera climatica con ciclo di

12h:12h (Ciclo Light:Dark) e sono state monitorate periodicamente tramite inoculo in piastre con terreni classici (Marine Agar, Difco) e PCR. Le colture axeniche ottenute sono state lisate tramite omogenizzazione in condizioni di sterilità e un'aliquota è stata usata per effettuare l'estrazione del DNA genomico totale. Il DNA totale estratto dalle colture axeniche è stato amplificato con i primers universali 533F (5'-GTGCCA-GCMGCCGCGGTAA-3') e 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') e il prodotto, inserito in un vettore plasmidico, utilizzato per la creazione di una libreria di cloni. Lo screening della libreria di cloni è stato effettuato mediante RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorphism) e successivamente un clone per ogni gruppo è stato scelto per essere sequenziato.

Risultati

L'analisi preliminare della diversità nella libreria di cloni ottenuta da una coltura axenica di *A. minutum* ha permesso di individuare l'esistenza di 6 raggruppamenti di cloni. Le relazioni tassonomiche dei batteri associati con *A. minutum* sono dedotte

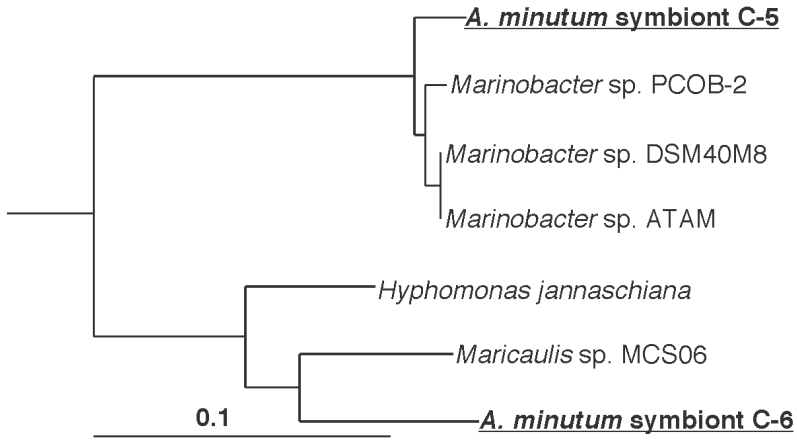


Fig. 1 - Affiliazioni filogenetiche relative ai cloni C-5 e C-6.
Phylogenetic affiliations of C-5 and C-6 clones.

dalla costruzione di alberi filogenetici basata sul confronto delle parziali sequenze analizzate dal 16S rDNA di ogni clone. Su questo confronto le sequenze dei cloni sembrano appartenere tutte alla sottoclasse α e γ dei Proteobatteri, ad esclusione del clone C-1 appartenente alla sottoclasse δ (Tab. 1). La sequenza del clone C-5 presenta il 97.7% di similitudine con la specie *Marinobacter* sp. PCOB-2 (Ogata *et al*., 1989); lo stesso è stato confermato essere produttore di PSTs secondo quanto riscontrato da altri autori, usando il mouse neuroblastoma bioassay (Maas *et al.,* 2001; non pubblicato). Le sequenze appartenenti al clone C-3 e C-4 sono affiliate al genere *Hyphomonas* noto per le associazioni alla superficie di altri organismi marini; la relazione fisica

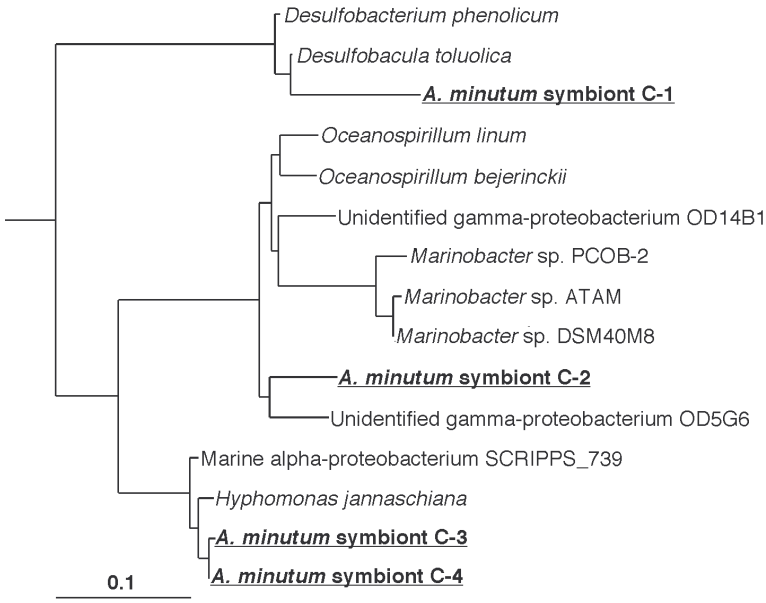


Fig. 2 - Affiliazioni filogenetiche relative ai cloni da C-1 a C-4, rientranti nelle sottoclassi α, γ e δ dei Proteobatteri.
Phylogenetic affiliations from clones C-1 to C-4, they belong to α,γ and δ Proteobacteria subdivision.

batteri/dinoflagellati potrebbe essere importante per la produzione di PSTs (Doucette e Powell, 1998). Le sequenze dei cloni C-3 e C-4 sono filogeneticamente simili anche alla sequenza di marine alpha - proteobacterium SCRIPPS_739, rinvenuto in colture di *A. tamarense* (Hold *et al.,* 2001).

Tab. 1 - Affiliazioni filogenetiche e percentuale di similitudine con l'organismo più simile.
Phylogenetic affiliation and similarity percentage.

CLONE	ORGANISMO PIÙ SIMILE	AFFILIAZIONE FILOGENETICA	PERCENTUALE DI SIMILITUDINE
C-1	*Desulfobacterium phenolicum*	δ-proteobatteri	93.1%
C-2	Unidentified γ-proteobacterium OD5G6	γ-proteobatteri	91.3%
C-3	*Hyphomonas jannaschiana*	α-proteobatteri	97.8%
C-4	*Hyphomonas jannaschiana*	α-proteobatteri	97.4%
C-5	*Marinobacter* sp. PCOB	γ-proteobatteri	97.7%
C-6	*Maricaulis* sp. MCS06	α-proteobatteri	89.7%

Conclusioni

Episodi di PSP sono ormai ben documentati lungo molte coste. Da quando il primo batterio capace di produzione autonoma di PSP è stato isolato, è stata elaborata l'ipotesi che i batteri siano coinvolti nella produzione di tossine. L'analisi delle sequenze della libreria di cloni ha identificato in questo studio batteri strettamente associati con dinoflagellati produttori di PSTs. Il risultato può essere ulteriormente sviluppato al fine di investigare la specifica relazione tra batteri e dinoflagellati in coltura, con particolare attenzione alla produzione di tossine.

Bibliografia

ALAVI M., MILLER T., ERLANDSON K., SCHNEIDER R., BELAS R. (2001) - Bacterial community associated with *Pfiesteria*-like dinoflagellate cultures. *Environmental Microbiology,* **3** (6): 380-396.

DOUCETTE G.J. (1995) - Interactions between bacteria and harmful algae : a review. *Nat. Toxins,* **3**: 65-74.

DOUCETTE G.J., POWELL C.L. (1998) - Algal-bacterial interactions : can they determine the PSP-related toxicity of dinoflagellate ? In: Reguera B., Blanco J., Fernandez M.L. and Wyatt T. (eds), *Harmful Algae*, Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO: 347-350.

FRANCA S., PINTO L., ALVITO P., SOUSA I., VASCONCELOS V., DOUCETTE G.J. (1996) - Studies on prokaryotes associated with PSP producine dinoflagellates. In: Yasumoto T., Oschima Y. and Fukuyo Y. (eds), *Harmful and Toxic Algal Blooms,* Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO: 347-350.

GALLACHER S., FLYNN K.J., FRANCO J.M., BRUEGGEMANN E.E., HINES H.B. (1997) - Evidence for Production of Paralytic Shellfish Toxins by Bacteria Associated with *Alexandrium* spp. (Dinophyta) in Culture. *Appl. Environ. Microbiol.,* **63**: 239-245.

GALLACHER S., SMITH E.A. (1999) - Bacteria and paralytic shellfish toxins. *Protist*, **150**: 245-255.

GUILLARD R.R.L. (1975) - Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate. In: Smith W.L. and Chanley M.H. (eds), *Culture of Marine Invertebrate Animals*, Plenum Press, New York: 29-60.

HOLD G.L., SMITH E.A., RAPPE M.S., MAAS E.W., MOORE E.R.B., STREMPL C., STEPHEN J.R., PROSSER J.I., BIRBECK T. H., GALLAGHER S. (2001) - Characterization of bacterial communities associated with toxic and non-toxic dinoflagellates: Alexandrium spp. and Scrippsiella trochoidea. *FEMS Microbiol. Ecol*., **37** (2): 161-173.

KODAMA M., OGATA T., SATO S. (1988) - Bacterial Production of Saxitoxin. *Agric. Biol. Chem*., **52** (4): 1075-1077.

OGATA T., KODAMA M., KOMARU K., SAKAMOTO S., SATO S., SIMIDU U. (1989) - Production of paralytic shellfish toxins by bacteria isolated from toxic dinoflagellates. In: Gran li E., Sundstrom B., Edler L., Anderson D.M. (eds), *Toxic marine phytoplankton*. Elsevier, Amsterdam: 311-315.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1061-1063

S. Casellato

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Colombo, 3 - 35121 Padova, Italia.

LE COLLEZIONI STORICHE PER CONFRONTARE LA BIODIVERSITA' PASSATA CON QUELLA PRESENTE: IL CASO DELLE COLLEZIONI MARINE DELLA STAZIONE IDROBIOLOGICA DI CHIOGGIA

UTILITY OF HISTORICAL COLLECTIONS FOR A COMPARISON BETWEEN THE PAST AND PRESENT BIODIVERSITY: THE MARINE COLLECTION OF THE HYDROBIOLOGICAL STATION OF CHIOGGIA

Abstract

The historical collection of marine fauna stored at the Stazione Idrobiologia di Chioggia is very important as documentary source to make comparison with the actual situation in the Adriatic Sea and to assess the decreasing biodiversity in the last century. These collection, unfortunately negliged in the last thirty years, origined from the first nucleus of the Stazione Zoologica di S. Andrea at Trieste, in the nineteenth century.

Key-words: *historical collections, marine biodiversity, Adriatic Sea.*

Introduzione

Le collezioni storiche di animali e vegetali conservate nei musei naturalistici e nei dipartimenti universitari sono preziose oggi più che mai perché rappresentano una fonte documentaria insostituibile per confronti con lo stato presente che vede, nella quasi totalità degli ecosistemi del globo terrestre, una progressiva quanto accelerata riduzione della biodiversità dei viventi. La I.U.C.N. (International Union Conservation Nature) ha denunciato lo spaventoso declino della biodiversità animale e vegetale negli ambienti terrestri (soprattutto in relazione al problema della deforestazione e della frammentazione degli habitats) e degli ambienti marini (in conseguenza dell'inquinamento delle acque).

Un declino globale che è stato calcolato intorno al 35% delle specie esistenti dal 1970 al 1995. Il WWF internazionale, combinando gli indici di estinzione di ecosistemi terrestri e marini ha denunciato la perdita di circa un terzo delle loro risorse viventi nell'arco di una generazione umana.

Materiali e metodi

Le collezioni conservate presso la Stazione Idrobiologica di Chioggia

Il nucleo originale di queste collezioni risale alla seconda metà dell'800, faceva parte dell'allora Stazione Zoologica di S. Andrea istituita a Trieste nel 1875. Tali collezioni furono trasportate alla fine della prima guerra mondiale a Rovigno nell'allora Istituto Italo-Germanico di Biologia Marina. Qui si arricchirono di numerosissimi reperti delle crociere oceanografiche nel Mare Adriatico a cavallo tra le due guerre. Tra il 1943 e il 1944 vennero fortunosamente trasportate, insieme alla loro scaffalatura, a Venezia. Vennero dapprima collocate negli scantinati dell'Istituto di Studi Adriatici e poi nel Museo di Storia Naturale di quella città, dove per un certo tempo, vennero esposte al pubblico.

A guerra finita, la sala del museo che le ospitava venne fatta sgomberare e le collezioni finirono ammassate in casse nei locali della Fondazione Canonica fino al 1968, quando finalmente si ritenne di dar loro una più consona collocazione. La Stazione Idrobiologia di Chioggia, dell'Università di Padova, diretta allora da Armando Sabbadin, apparve essere la sede più adatta.

Purtroppo, nei vari spostamenti, molti materiali sono andati perduti (come un bellissimo esemplare di pesce "palla") o si sono rovinati. Dei 1600 preparati che Aristocle Vatova portò in Italia, solo un migliaio si ritrovarono nella Stazione di Chioggia. Non vi giunsero mai invece, i numerosi preparati microscopici montati su vetrino dallo stesso Eduard Gräffe della Stazione Zoologica di Trieste.

Nel 1971 fu Giorgio Marcuzzi ad esaminare con molta attenzione il materiale catalogandolo e recuperandolo nei casi necessari, con la sostituzione dei vasi o dei fissativi, con la trascrizione dei nomi su nuove etichette, controllando nel contempo la classificazione, con l'aiuto di esperti dell'epoca (Marcuzzi, 1972). Erano allora circa un migliaio le specie animali marine della collezione e 26 le specie vegetali, la quasi totalità di queste era stata raccolta nel Nord-Adriatico. Sono ben distinguibili le provenienze, poiché anche quando manca l'indicazione della località di raccolta è la data riportata che individua perfettamente la separazione del periodo triestino (fino al 1919) cui appartiene il 42% dei materiali, da quello di Rovigno, con il rimanente 58% dei preparati.

Risultati e conclusioni

L'elevato numero di specie soprattutto tra i Policheti erranti, i Gasteropodi, i Bivalvi, i Decapodi e i Teleostei (Tab. 1) testimoniano di una alta biodiversità del Mare Adriatico nella seconda metà dell'800 e nella prima metà del '900. Alcune di queste specie non sono più segnalate da anni nelle raccolte Nord-adriatiche. Molte sono specie a pericolo di estinzione, citate tra le specie marine e salmastre protette in Italia.

Purtroppo, lo stato presente della collezione risente oggi di un lungo periodo di incuria. Dal censimento di Marcuzzi all'inizio degli anni '70 è passato troppo tempo senza che un serio intervento (al di là dei rabbocchi del fissativo) consentisse una sistemazione definitiva della collezione, che la salvaguardasse nel tempo e la valorizzasse come importante materiale documentario. Ad una recente verifica molti altri preparati sono andati distrutti, per la perdita del fissativo, o per rottura dei materiali più fragili, in seguito ad occasionali spostamenti, in occasione di temporanee e parziali esposizioni al pubblico, a Chioggia.

L'interesse per la collezione si è riacutizzato solo recentemente all'interno di iniziative perseguite dal Centro Interdipartimentale Musei dell'Università di Padova (Casellato, 1996), oggi trasformato in Centro Museale d'Ateneo (CAM). La nostra speranza è quella di riuscire a recuperare ciò che resta oggi della collezione. Sono andati perduti i 26 taxa vegetali segnalati da Marcuzzi nel 1972 (Tab. 1). La collezione a Rovigno comprendeva anche il famoso "Herbarium Vatuense" contenente circa 2570 taxa di fanerogame ed alghe portato nell'Erbario Centrale dell'Università di Firenze (Zavodnik *et al*., 2001). Il numero delle specie animali è oggi ridotto rispetto agli anni '70 e il materiale tutto è a serio rischio se non si definisce una collocazione definitiva adatta e non si prevede una cura continua dei preparati. Se così non sarà, saremo costretti ad ammettere che non c'è solo il problema della diminuizione della biodiversità degli ecosistemi naturali ma anche quella delle collezioni storiche museali.

Tab. 1 - Elenco delle specie marine vegetali ed animali della collezione storica.
Animal and vegetal marine species of the historical collection.

	Trieste	Rovigno		Trieste	Rovigno
	n° taxa	n° taxa		n° taxa	n° taxa
PORIFERI	24	9	MOLLUSCHI		
CELENTERATI			Placofori	3	3
Idrozoi	4	5	Gasteropodi	36	109
Scifozoi	5	0	Scafopodi	0	3
Antozoi	0	11	Cefalopodi	1	8
CTENOFORI	2	5	Bivalvi	20	110
PLATELMINTI	4	4	BRIOZOI	10	1
TREMATODI	4	0	FORONOIDEI	0	1
CESTODI	6	0	CHETOGNATI	1	0
NEMERTINI	8	10	ENTEROPNEUSTI	1	1
NEMATODI	4	0	ECHINODERMI		
ACANTOCEFALI	1	0	Crinoidei	1	1
SIPUNCULOIDEI	2	3	Oloturoidei	9	12
ECHIUROIDEI	3	0	Echinoidei	4	5
POLICHETI	49	127	Asteroidei	6	2
IRUDINEI	3	1	Ofiuroidei	2	7
MIZOSTOMIDI	0	1	TUNICATI		
CROSTACEI			Ascidiacei	9	7
Copepodi	3	1	Taliacei	3	0
Fillopodi	0	1	CICLOSTOMI	1	0
Cirripedi	2	5	SELACEI	16	2
Misidiacei	6	3	TELEOSTEI	93	30
Cumacei	0	1	GANOIDEI	1	0
Leptostraci	0	1	RETTILI	1	0
Stomatopodi	1	3	MAMMIFERI	1	0
Anfipodi	6	0			
Isopodi	4	5	Rodofite	11	6
Decapodi	56	63	Clorofite	4	

Bibliografia

CASELLATO S. (1996) –Collezioni floro-faunistiche marine della Stazione Idrobiologica di Chioggia. In: Gregolin C. (ed), *I Musei le Collezioni scientifiche e le Sezioni antiche delle biblioteche*, Università degli Studi di Padova, Padova: 87-89.

MARCUZZI G. (1972) –Le collezioni dell'ex Istituto di Biologia Marina di Rovigno conservate presso la Stazione Idrobiologica di Chioggia. *Atti e Mem. dell'Accademia Patavina di Scienze, Lettere ed Arti*, **94** (2): 1-219.

ZAVODNIK D., ZAVODNIK N., IVESA L. (2001) –The 110th Anniversary of the Marine Research Station at Rovinj (Adriatic Sea, Croatia). Reference Collections. *Nat. Croat*., **10** (1): 53-60.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1064-1068

N. Cingolani, A. Santojanni, S. Colella, F. Donato

Istituto di Ricerche sulla Pesca Marittima, IRPEM - CNR
Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.
cingolani@irpem.an.cnr.it

MONITORAGGIO DELLA PESCA SPORTIVA DA NATANTE NEI MARI ITALIANI

MONITORING OF RECREATIONAL FISHERIES IN ITALIAN SEAS

Abstract

The present study forms the initial basis for the application of an integrated data collection system for recreational fisheries in the Eastern and Central Mediterranean.

Key-words: *recreational fishing statistics, fishing effort, catch/effort.*

Introduzione

La pesca sportiva praticata in mare da natante è largamente diffusa nei mari italiani. La conoscenza del fenomeno è utile in un contesto di razionale gestione delle risorse ittiche, nonché di risoluzione dei conflitti tra pescatori professionali e non (Cingolani *et al*., 1998). L'obiettivo di una ricerca Italia-Grecia condotta nel corso del 2001, su finanziamento dell'Unione Europea, è stato il disegno e l'applicazione di un sistema integrato per la raccolta dati sulla pesca sportiva in Mediterraneo. Nel presente lavoro sono mostrati alcuni dei risultati ottenuti nel corso di questa ricerca.

Materiali e metodi

Nel corso dell'anno 2001, sono stati raccolti ed analizzati dati in relazione ai numerosi aspetti di quest'attività di pesca: catture, sforzo di pesca, connotazione sociale del pescatore sportivo, costi dell'attività di pesca e conflitti con i pescatori professionali. Nell'ambito della stessa ricerca è stato realizzato un pacchetto software, denominato STARFISH-RF, per la gestione sistematica dei dati raccolti sulla base di questionari utilizzati in interviste dirette (Cingolani e Coppola, 1998).

Sono stati intervistati 84 pescatori sportivi distribuiti in diverse regioni italiane (Veneto, Liguria, Toscana, Lazio, Marche, Sicilia). Sono state effettuate due serie di interviste allo scopo di conoscere i parametri "stabili" (es. caratteristiche dell'imbarcazione) e le stime di valori annuali (es. numero di uscite in mare), rispettivamente. Mediante la seconda serie di interviste si è cercato di ottenere stime più accurate di alcuni parametri, come ad esempio le catture per uscita in mare, raccogliendo il dato mensile da aprile ad agosto. Ognuno degli 84 pescatori è stato intervistato una prima volta nell'ambito della prima serie di interviste e, successivamente, in relazione alla seconda serie, una volta al mese da aprile ad agosto, ovvero circa altre cinque volte.

Risultati

Nel corso della prima serie di interviste, effettuata su base annuale, più del 30% dei pescatori sportivi (83 risposte su 84) ha dichiarato di effettuare in un anno tra le 40 e

le 60 uscite in mare. Tale valore sale a quasi il 60% se si considera l'intervallo di 20-60 uscite; un 5% effettua più di 120 uscite all'anno (Fig. 1). L'imbarcazione utilizzata ha lunghezza compresa tra 3.5 e 7 metri in circa il 70% dei casi; i valori di lunghezza più elevati risultano essere intorno ai 14 metri (Fig. 2). Il 50% delle imbarcazioni ha potenza motrice non superiore ai 50 kW, ma in alcune di esse questo valore può arrivare a superare i 500 kW (Fig. 3).

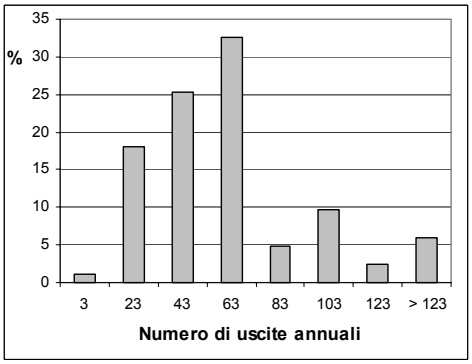


Fig. 1 - Percentuale dei pescatori sportivi in funzione del numero di giornate di pesca annuali, su base annuale.
Percentage of recreational fishermen as a function of the number of annual fishing trips, on annual basis.

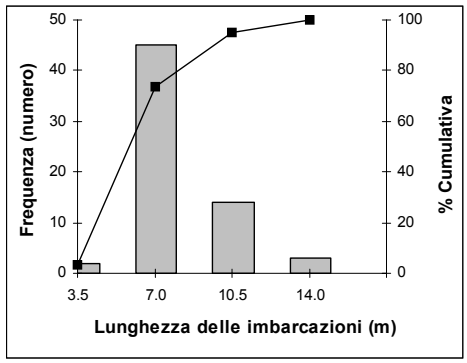


Fig. 2 - Distribuzione di frequenza della lunghezza (m) delle imbarcazioni utilizzate dai pescatori sportivi.
Frequency (numbers) distribution of the length (metres) of recreational fisherman vessels.

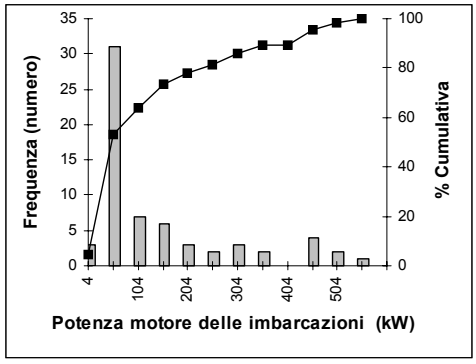


Fig. 3 - Distribuzione di frequenza della potenza del motore delle imbarcazioni utilizzate dai pescatori sportivi.
Frequency (numbers) distribution of the engine power (kW) of recreational fisherman vessels.

Sempre sulla base della prima serie di interviste, gli attrezzi da pesca maggiormente impiegati risultano essere la canna e il bolentino: nel 50% delle uscite in mare totali annuali viene utilizzato uno dei due attrezzi, mentre nel 35% viene praticata la traina

d'altura e sotto costa e nell'8% il "tuna fishing" (Tab. 1). L'utilizzo di uno specifico attrezzo rispetto ad un altro (esempio il "tuna fishing") influenza, come ben noto, l'andamento del valore medio della cattura (Cingolani *et al*., 1999; Gartside *et al*., 1999).

Tab. 1 - Percentuale di uscite di pesca in funzione dell'attrezzo usato dai pescatori sportivi, su base annuale.
Percentage of fishing trips as a function of the gear used by recreational fishermen, on annual basis.

NOME ATTREZZO	%
Canna da natante	32.6
Traina sotto costa	21.3
Bolentino	18.3
Traina d'altura	13.4
"Tuna fishing"	7.7
Parangale o Palangaro	3.7
Arpione	2.8
Trappola (Nasse)	0.3
Totale	**100**

Considerando la distribuzione di frequenza calcolata sulla base dei dati raccolti mensilmente (seconda serie di interviste), circa il 60% del campione di pescatori sportivi realizza catture comprese tra 0.7 e 2.7 kg per uscita di pesca (Fig. 4). Nella stessa figura è riportata, per confronto, la distribuzione ottenuta utilizzando i dati raccolti su base annuale (prima serie di interviste).

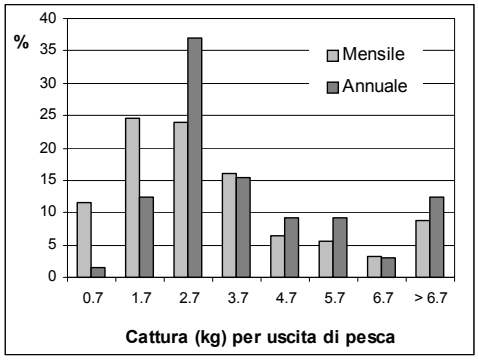


Fig. 4 - Distribuzione di frequenza (%) delle catture (kg) per uscita di pesca e per pescatore sportivo, sia su base annuale che mensile.
Frequency distribution (%) of the catch (kg) per fishing trip per recreational fishermen, calculated using data collected on both monthly and annual basis.

Sulla base della prima serie di interviste, circa il 40% dei pescatori sportivi (65 risposte su 84) ha realizzato in un anno una cattura non superiore a 100 kg. Per contro, un altro 40% ha pescato quantità comprese tra 100 e 300 kg e più del 15% ha pescato

oltre 300 kg, con un valore massimo osservato pari a 1000 kg (Fig. 5). Sempre in relazione alle catture, sono presenti con maggiore frequenza, *Scomber scombrus*, *Pagellus* spp., *Thunnus* spp., *Boops boops*, *Seriola dumerili*, *Diplodus annularis* (Tab. 2) (Cingolani *et al*., 2001).

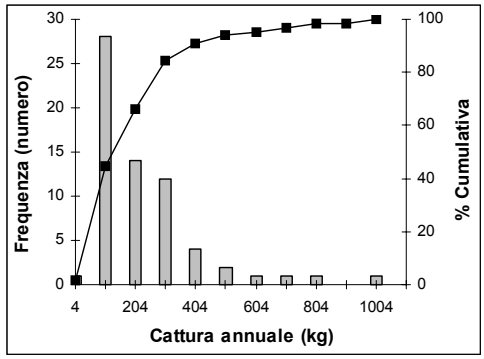


Fig. 5 - Distribuzione di frequenza (numero) delle catture annuali (kg) per pescatore sportivo, su base annuale.
Frequency (numbers) distribution of the annual catch (kg) per recreational fisherman, on annual basis.

Tab. 2 - Ricorrenza delle specie nelle catture dei pescatori sportivi, su base annuale.
Species frequently fished by recreational fishermen, on annual basis.

NOME SCIENTIFICO	NOME ITALIANO	N	%
Scomber scombrus	Sgombro	23	18.9
Pagellus spp.	Pagello	13	10.7
Thunnus spp.	Tunnidi (escluso il Tonno Rosso)	11	9.0
Boops boops	Boga o Boba o Vopo	8	6.6
Seriola dumerili	Ricciola	7	5.7
Diplodus annularis	Sparaglione o Carlino	7	5.7
Sarda sarda	Palamita	6	4.9
Thunnus thynnus	Tonno Rosso	6	4.9
Lithognatus mormyrus	Mormora	6	4.9
Dicentrarchus labrax	Spigola	6	4.9
Trachurus spp.	Suro	4	3.3
Dentex spp.	Dentice	3	2.5
Oblada melanura	Occhiata	3	2.5
Coryphaena hippurus	Corifena o Lampuga	3	2.5
Thunnus alalunga	Alalunga	2	1.6
Xiphias gladius	Pesce Spada	2	1.6
Diplodus spp.	Saraghi (vari)	2	1.6
Belone belone	Aguglia	1	0.8
Trigla lucerna	Gallinella o Cappone	1	0.8
Labridae	Labridi (vari)	1	0.8
Sparus auratus	Orata	1	0.8
Sciaenidae	Ombrina, Corvina	1	0.8
Serranidae	Serranidi di grossa taglia	1	0.8
Octopus spp.	Polpi	1	0.8
Sepia officinalis	Seppia	1	0.8
Alopias vulpinus	Pesce Volpe	1	0.8
Trachinotus ovatus	Leccia Stella	1	0.8
Totale		**122**	**100**

Conclusioni

Il presente studio ha consentito di identificare i parametri necessari per una compiuta descrizione del fenomeno della pesca sportiva da natante e di verificarne sul campo l'effettiva possibilità di raccolta. Inoltre, è stato possibile testare il pacchetto software (STARFISH-RF) sviluppato nel corso della ricerca, al fine di gestire ed elaborare i dati sulla pesca sportiva.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Dr. Pierluigi Penna per aver contribuito alla realizzazione del pacchetto software "STARFISH-RF" per la gestione dei dati.

Bibliografia

CINGOLANI N., COPPOLA S. (1998) - Reference Manual for STARFISH Implementation - Statistical Recorders. *Final Report on European Community Funded Project EC XIV/94/036*: 106 pp.

CINGOLANI N., COPPOLA S.R., GAROFALO G., BELARDINELLI A. (1998) - Sampling System for the Collection of Fishery Statistics. *Final Report on European Community Funded Project EC XIV/94/036*: 117 pp.

CINGOLANI N., SANTOJANNI A., BELARDINELLI A., COLELLA S., DONATO F., PENNA R., SDOGATI C. (1999) - Sport fishery in Eastern Mediterranean (Greece & Italy): parameter estimates, linkages and conflict with professional fisheries - Italy Section. *Final Report to the Commission of the European Communities, EU 96/018*: 448 pp.

CINGOLANI N., SANTOJANNI A., COLELLA S., DONATO F., PENNA P. (2001) - "Sport fisheries" in Eastern and Central Mediterranean: Design, implementation and economic evaluation of an integrated monitoring system - Italy Section. *Final Report to the Commission of the European Communities, EU 00/003*: 244 pp.

GARTSIDE D.F., HARRISON B., RYAN B.L. (1999) - An evaluation of the use of fishing club records in the management of marine recreational fisheries. *Fish. Res.*, **41**: 47-61.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1069-1071

E. Coluccia, S. Salvadori, R. Cannas, A.M. Deiana

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 - 09126 Cagliari, Italia.

STUDIO DEI CROMOSOMI MITOTICI E MEIOTICI DI *PALINURUS MAURITANICUS* (CRUSTACEA, DECAPODA)

STUDY OF MITOTIC AND MEIOTIC CHROMOSOMES OF PALINURUS MAURITANICUS *(CRUSTACEA, DECAPODA)*

Abstract

We studied the mitotic and meiotic chromosomes of Palinurus mauritanicus *(Decapoda, Palinuridae). C and fluorochrome banding allowed to localize and characterize constitutive heterochromatin. Supernumerary chromosomes have been identified, their presence could account for the interindividual numeric variability observed.*

Key-words: *marine crustaceans, cytogenetics, meiosis, mitosis.*

Introduzione

L'aragosta rosa, *Palinurus mauritanicus* Gruvel, 1911, è presente in Mediterraneo e, rispetto all' aragosta comune *Palinurus elephas,* più studiata e commercialmente più importante, vive a maggiori profondità (tra 180 e 600 m). Nell'ambito di uno studio sulle caratteristiche citogenetiche e molecolari delle aragoste mediterranee abbiamo studiato i cromosomi mitotici e meiotici di *Palinurus mauritanicus.* L'applicazione di tecniche di bandeggio C e con fluorocromi è stata di grande utilità per la comprensione della morfologia dei cromosomi e delle figure meiotiche, per la caratterizzazione dell'eterocromatina e per l'identificazione dei cromosomi soprannumerari. I dati ottenuti sono stati inoltre confrontati con quelli riportati per *P. elephas* (Salvadori *et al*., 1995).

Materiali e metodi

Gli esemplari di *P. mauritanicus* (6 maschi) sono stati pescati nei mari circostanti la Sardegna fra le batimetriche di 150 e 600 metri. I preparati cariologici, ottenuti dal tessuto testicolare e dall'epatopancreas, e il bandeggio C sono stati ottenuti secondo Deiana *et al*. (1996a); il bandeggio con CMA_3 e DAPI secondo Schweizer (1976). Le sezioni istologiche di tessuto testicolare sono state ottenute secondo Deiana *et al.* (1996b).

Risultati

Il complemento cromosomico di *P. mauritanicus* è stato studiato mediante l'analisi di mitosi spermatogoniali e somatiche e metafasi della prima e seconda divisione meiotica (Fig. 1a). E' stata riscontrata una notevole variabilità numerica interindividuale, che non ha permesso di stabilire il numero cromosomico caratteristico della specie. Il numero diploide è compreso tra 113 e 130.

Il bandeggio C ha permesso di localizzare l'eterocromatina costitutiva nella regione centromerica o paracentromerica di molti cromosomi. Nelle metafasi meiotiche I sono

evidenziabili alcuni piccoli cromosomi non appaiati, in numero variabile fino a 8 negli individui studiati, identificabili come cromosomi soprannumerari o cromosomi B, asinaptici ed eterocromatici (Fig. 1b). L'esame di sezioni istologiche di tessuto testicolare evidenzia l'anomalo comportamento meiotico di tali cromosomi (Fig. 1c).

Il trattamento con il fluorocromo cromomicina A_3 (CMA_3), che si lega al DNA ricco in GC, ha evidenziato bande fluorescenti prevalentemente centromeriche (Fig. 1d); il trattamento con il fluorocromo DAPI, che si lega al DNA ricco in AT, ha evidenziato una brillante fluorescenza in estese regioni cromosomiche prevalentemente paracentromeriche o pericentromeriche (Fig. 1e); inoltre interi piccoli cromosomi appaiono brillantemente fluorescenti dopo colorazione con CMA_3 e poco colorati con il fluorocromo DAPI (frecce in Fig. 1d).

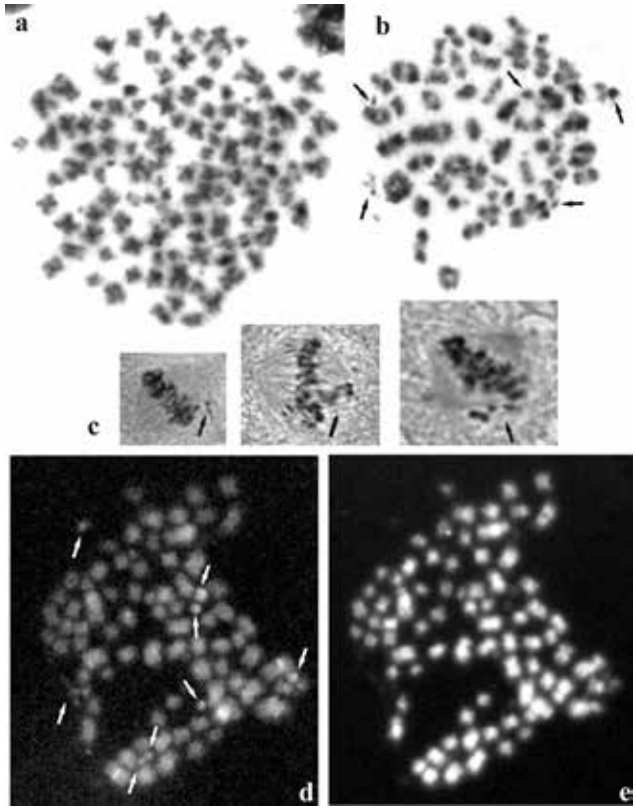


Fig. 1 - a) metafase mitotica somatica dopo colorazione di Wright; b) metafase meiotica I dopo bandeggio C, le frecce indicano i cromosomi B; c) sezione istologica di testicolo; sono visibili cromosomi in ritardo metafasico. Colorazione sequenziale con CMA_3 (d), e DAPI (e), le frecce indicano i cromosomi fluorescenti in d) e scuri in e).

a) somatic mitotic metaphase after Wright's staining; b) meiotic metaphase I after C-banding, arrows indicate B chromosomes; c) testis histological section shows metaphase delay of the B chromosomes. CMA_3 (d) and DAPI (e) sequential staining, arrows indicate chromosomes fluorescent in d) and dark in e).

Conclusioni

Le conoscenze sulla cariologia dei Crostacei Decapodi sono scarse: della famiglia Palinuridae, su un totale di 46 specie (Holthuis, 1991), sono note le dimensioni del genoma di 6 specie (Coluccia *et al*., 1999) e di sole 3 specie è stato descritto il complemento cromosomico (Nakamura *et al*., 1988; Salvadori *et al*., 1995).

Dal confronto con *P. elephas*, la specie più studiata dal punto di vista citogenetico, si osserva che le due specie si differenziano sia per il numero cromosomico (2n = 138-150 in *P. elephas*; Salvadori *et al*., 1995) che per la quantità di DNA (6,29 pg in *P. mauritanicus* e 8,53 in *P. elephas*; Coluccia *et al*., 1999). In entrambe le specie è stata riscontrata variabilità interindividuale del numero di cromosomi e la presenza di cromosomi soprannumerari, che possono rendere conto di tale variabilità. Tali cromosomi hanno caratteristiche simili nelle due specie: sono di piccola dimensione, eterocromatici e presentano anomalo comportamento meiotico. La presenza di ampie bande eterocromatiche ricche in AT, brillantemente fluorescenti dopo colorazione con DAPI, potrebbe giustificare la maggiore percentuale di basi AT nel genoma delle due specie rispetto agli altri Palinuridi (Coluccia *et al.,* 1999). In entrambe le specie sono inoltre presenti piccoli cromosomi interamente fluorescenti dopo colorazione con CMA_3.

Bibliografia

COLUCCIA E., CANNAS R., DEIANA A.M., MILIA A., SALVADORI S., LIBERTINI A. (1999) – Dimensioni del genoma e contenuto in basi Adenina-Timina in cinque specie di Palinuridae (Crustacea Decapoda). *Biol. Mar. Medit.*, **6** (1): 688-691.

DEIANA A.M., COLUCCIA E., MILIA A., SALVADORI S. (1996a) – Supernumerary chromosomes in *Nephrops norvegicus* (Crustacea, Decapoda). *Heredity*, **76**: 92-99.

DEIANA A.M., ADDIS P., COLUCCIA E., DAVINI M.A., MILIA A., SERRA D., SALVADORI S. (1996b) – Dati preliminari sulla biologia di *Gnathophis mistax* (Del.) (Osteichthyes, Anguilliformes). *Biol. Mar. Medit.*, **3** (1): 544-547.

HOLTHUIS L.B. (1991) - FAO Species Catalogue, Marine lobsters of the world - FAO Fisheries Synopsis N° 125, **13**: 91-165.

NAKAMURA H.K.. MACHII A., WADA K.T., AWAI M., TOWNSLEY S.J. (1988) - A check list of Decapod chromosomes (Crustacea). *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture,* **13**: 1-9.

SALVADORI S., COLUCCIA E., MILIA A., DAVINI M.A., DEIANA A.M. (1995) - Studio sulla cariologia di *Palinurus elephas* Fabr. (Crustacea, Decapoda). *Biol. Mar. Medit.*, **2** (2): 581-583.

SCHWEIZER D. (1976) - Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. *Chromosoma*, **58**: 307-320.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1072-1074

F. Meneghetti, C. Nasci, P. Penzo, L. Da Ros

Istituto di Biologia del Mare, C.N.R., Castello 1364/A - 30122 Venezia, Italia.

INDICI BIOLOGICI DI STRESS IN POPOLAZIONI DI *TAPES PHILIPPINARUM* DELLA LAGUNA DI VENEZIA

BIOLOGICAL STRESS INDICES IN POPULATIONS OF TAPES PHILIPPINARUM *FROM THE VENICE LAGOON*

Abstract

A biomarker approach has been used to evidence acute effects on the target species Tapes philippinarum *due to two different fishing systems, free fishing and aquacolture, in the Lagoon of Venice. The overall results obtained by determining a number of indices of generic stress (neutral red retention time, reburrowing time, condition index, total body burden for the protozoan parasite* Perkinsus *sp.) indicated better conditions for bred than for natural populations, even though the former were more heavily parasitised.*

Key-words: *neutral red retention time, condition index, reburrowing rate,* Tapes philippinarum*, Venice Lagoon.*

Introduzione

Per una valutazione indiretta dello stato di benessere di due popolazioni di *Tapes philippinarum* della laguna di Venezia sottoposte a diverso impatto da pesca (S. Angelo: pesca libera; Chioggia: venericoltura), sono stati applicati, a livello cellulare e organismico, alcuni indici biologici di stress generico: tempo di ritenzione del rosso neutro, indice di condizione, test di riaffossamento. Negli stessi molluschi bivalvi si è inoltre determinato il carico totale del protozoo parassita *Perkinsus* sp. per valutarne contemporaneamente le possibili interferenze con la capacità di risposta delle vongole allo stress ambientale.

Materiali e metodi

Su campioni stagionali di vongole (taglia commerciale), raccolti con rasca manuale nel periodo autunno 2000 – estate 2001, sono state eseguite le seguenti analisi: il tempo di ritenzione del rosso neutro (NRR) che misura il livello di destabilizzazione della membrana lisosomiale (Lowe e Pipe, 1994); l'indice di condizione (IC) che fornisce una misura efficace dello stato fisiologico degli organismi (Lucas e Benninger, 1985); il test del riaffossamento (RT) che valuta il tempo impiegato dagli organismi a riaffossarsi una volta ricollocati in acquari provvisti di idoneo sedimento (Phelps, 1989). Il carico totale del protozoo parassita *Perkinsus* sp. che fornisce una misura quantitativa del livello d'infezione (Bushek *et al*., 1994). Per l'analisi statistica dei dati si sono utilizzati il test di Kruskall-Wallis (NRR, IC, carico di *Perkinsus*) e di Gehan – Wilcoxon (test del riaffossamento).

Risultati

Come si può osservare in Tab. 1, i tempi di ritenzione del rosso neutro sono risultati più omogenei nel corso dell'anno per i campioni di S. Angelo (9,5-21 min.), mentre

in quelli di Chioggia è evidenziabile un trend stagionale con valori significativamente più alti in autunno (43 min.) e più bassi in estate (13,5 min.). Per quanto riguarda il confronto tra le due aree il tempo di ritenzione è risultato significativamente più alto a Chioggia in autunno ($H=11,25$; $p<0,001$) e in inverno ($H=4,73$; $p<0,05$). L'indice di condizione nei campioni di S. Angelo ha mostrato un chiaro andamento stagionale con valore minimo in inverno (IC=3,16) e massimo in estate (IC=6,31). Analoga situazione si è registrata a Chioggia con il massimo (IC=7,36) in primavera. L'indice ha assunto generalmente valori statisticamente maggiori nell'area di Chioggia (aut. $H=6,694$ $p<0,01$; inv. $H=19,410$ $p<0,001$; prim. $H=30,738$ $p<0,001$) eccetto per il campione estivo (Tab. 1). E' stata evidenziata una minor capacità di riaffossamento per gli esemplari provenienti da S. Angelo rispetto a quelli di Chioggia (RT_{50}: 60-75 vs 25-35 minuti); solo in autunno non si sono registrate differenze significative. Le variazioni temporali registrate in ciascuna stazione sono apparse erratiche piuttosto che legate alla stagionalità (Tab. 1). Relativamente alla concentrazione di *Perkinsus* sp. non sono state riscontrate variazioni stagionali nei campioni di S. Angelo, mentre a Chioggia si osserva un minimo in inverno e valori statisticamente superiori rispetto a S. Angelo nelle altre stagioni (rispettivamente aut. $H=4,806$ $p<0,05$; prim. $H=5,491$ $p<0,05$; est. $H=11,063$ $p<0,001$), con valore massimo nell'estate 2001 (5,4 log hypnospores /g wwt).

Tab. 1 - Valori medi (± errore standard) degli indici nei campioni stagionali di *T. philippinarum*. NRR: S.A. vs Ch: aut. ***, inv. *, prim. n.s, est. n.s. (test di Kruskall-Wallis) IC: S.A. vs Ch: aut. **, inv. ***, prim. ***, est. n.s. (test di Kruskall-Wallis) Carico di *Perkinsus*: S.A. vs Ch: aut. *, inv. n.s., prim. *, est. *** (test di Kruskall-Wallis) Riaffossamento S.A. vs Ch.: aut. n.s., inv. ***, prim. **, est. *** (test di Gehan-Wilcoxon): Legenda: * = $p < 0.05$; **= $p < 0,01$; *** = $p < 0.001$; n.s.= non significativo. RT50: tempo richiesto per il riaffossamento del 50% del campione. I.C.: (peso secco delle parti molli libero da ceneri/peso secco della conchiglia) x 100.

Average (±standard error) index values in the seasonal samples of T. philippinarum*. NRR: S.A. vs Ch: Autumn. ***, Winter *, Spring n.s, Summer n.s. (Kruskall-Wallis test) IC: S.A. vs Ch: Autumn **, Winter ***, Spring ***, Summer n.s. (Kruskall-Wallis test)* Perkinsus *body burden: S.A. vs Ch: Autumn *, Winter n.s., Spring *, Summer *** (Kruskall-Wallis test) Reburrowing: S.A. vs Ch.: Autumn n.s., Winter ***, Spring **, Summer *** (Gehan-Wilcoxon test): Legend: * = $p < 0.05$; **= $p < 0,01$; *** = $p < 0.001$; n.s.= not significative. RT50: time required for reburrowing of 50% of the samples. I.C.: (ash-free dry weight of meat/dry weight of shell) x 100.*

	Tempo di ritenzione N=10 (min.±err.st.)		**Indice di condizione** N=30 (media ±err.st.)		**Carico di *Perkinsus*** N=10 (log(hyp./gwwt)± err.st.		**RT 50** N=10 (min.)	
campioni	**S. Angelo**	**Chioggia**	**S. Angelo**	**Chioggia**	**S. Angelo**	**Chioggia**	**S. Angelo**	**Chioggia**
autunno 00	9,5±1,17	43±8.98	4,28±0,117	4,86±0,168	3,56±0,31	4,68±0,32	50	45
inverno 01	9±1,25	23±4,78	3,16±0,102	4,04±0,152	2,96±0,24	3,15±0,25	70	35
primavera 01	18,5±5,53	19,5±5,35	5,55±0,119	7,36±0,203	3,66±0,31	4,84±0,34	75	35
estate 01	21±4,93	13,5±2,36	6,31±0,142	6,06±0,161	3,46±0,30	5,39±0,29	60	25

Conclusioni

Gli indici biologici di stress valutati complessivamente hanno evidenziato come la popolazione di *T. philippinarum* proveniente dall'area di allevamento di Chioggia

si trovi in migliori condizioni rispetto a quella dell'area della laguna centrale di S. Angelo. Infatti, l'indice di condizione, i tempi di ritenzione del rosso neutro e, in particolare, le velocità di riaffossamento hanno mostrato valori medi più elevati nei campioni di Chioggia. Il minor livello di benessere della popolazione di *Tapes* proveniente da S. Angelo potrebbe essere stato determinato sia da stress ambientali legati alle caratteristiche chimico-fisiche di quest'area, prospiciente la zona industriale di Marghera, sia da stress meccanico dovuto all'intensa attività di pesca qui praticata con draghe meccanizzate. Alcune caratteristiche dell'area di Chioggia, come l'elevata densità di vongole e la salinità (registrate in quest'area durante il periodo di campionamento) potrebbero invece essere responsabili dell'elevato carico di *Perkinsus*. In letteratura, infatti, è riportato come questi fattori, assieme all'alta temperatura, possano favorire lo sviluppo e il livello dell'infezione (Chu e Greene, 1989; Park e Choi, 2001). Le risposte biologiche valutate in questo studio attraverso gli indici di stress non sembrano essere state influenzate dall'elevato numero di parassiti, che in alcuni individui hanno raggiunto valori di $1\text{-}3\times10^6$ cellule *Perkinsus*/g wwt. Nonostante questa specie sia risultata particolarmente resistente, non bisogna sottovalutare la possibilità del verificarsi di fenomeni anche diffusi di mortalità, determinati da possibili aumenti improvvisi del livello di infezione.

Bibliografia

BUSHEK D., FORD S.E., ALLEN JR S.K. (1994) - Evolution of methods using Ray's fluid thioglycollate medium for diagnosis of *Perkinsus marinus* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica. Annual Review of Fish Diseases,* **4**: 201-217.

CHU F-L.E., GREENE K.H. (1989) - Effect of temperature and salinity on in vitro culture of the oyster pathogen, *Perkinsus marinus* (Apicomplexa: Perkinsea). *J. Jnvertebrate Pathol*., **53**: 260-268.

LOWE D.M., PIPE R.K. (1994) - Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussels digestive cells: an *in vitro* study. *Aquat. Toxicol*., **30**: 357-365.

LUCAS A., BENNINGER P.G. (1985) - The use of physiological condition indices in marine bivalve acquacolture. *Aquaculture*, **44**: 187-300.

PARK K.I., CHOI K.S. (2001) - Spatial distribution of the protozoan parasite *Perkinsus* sp. found in the manila clams, *Ruditapes philippinarum*, in Korea. *Aquaculture,* **203**: 9-22.

PHELPS H.L. (1989) - Clam burrowing bioassay for estuarine sediment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*., **43**: 838-845.

La ricerca è stata finanziata dalla comunità europea nell'ambito del progetto dgxiv-impacto (2001-2003).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1075-1078

S. Desantis, M. Labate, F. Minniti*, G.M. Labate, A. Cefali*, R. Bruno*

Laboratorio di Anatomia Comparata e Citologia, Dipartimento di Zoologia, Università di Bari,
Via E. Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.
*Dip. Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina, Italia.

LOCALIZZAZIONE IMMUNOISTOCHIMICA DELLE CELLULE AD MSH NELL'IPOFISI DI PESCE SPADA (*XIPHIAS GLADIUS* L.)

IMMUNOISTOCHEMICAL DETECTION OF MSH CELLS IN THE PITUITARY OF SWORDFISH (XIPHIAS GLADIUS L.)

Abstract

Pituitary MSH cells were immunohistochemically localized in the teleost fish Xiphias gladius *L. using anti-αMSH polyclonal serum. MSH cells were found mainly in the pars intermedia (PI) and scarsely in the PD. The the density of MSH cells showed difference related to sex and size of specimens.*

Key-words: *swordfish, pituitary, MSH, immunohistochemistry.*

Introduzione

L'adenoipofisi dei pesci teleostei produce otto differenti tipi di ormoni. Ai derivati dalla proopiomelanocortina (POMC) appartengono gli ormoni melanotropo (MSH) e adrenocorticotropo (ACTH). Nei teleostei, così come negli altri animali a sangue freddo, il ruolo fisiologico dell'MSH è correlato con la regolazione dei cambiamenti del colore della pelle quale adattamento all'ambiente (Baker *et al*., 1984) o in risposta a condizioni di stress (Wendelaar Bonga, 1997). Allo scopo di fornire nuove utili informazioni sulla funzione della ghiandola ipofisaria del pesce spada (*Xiphias gladius* L.), in questo studio vengono descritti i risultati di ricerche immunoistochimiche sulla individuazione e localizzazione delle cellule a MSH nell'ipofisi di campioni differenti per sesso e taglia.

Materiali e metodi

Le ipofisi di quattro esemplari pescati nello Stretto di Messina (due maschi di Kg. 9 e 22 catturati in giugno e settembre, e due femmine di Kg 70 e 71 catturate in Luglio) sono state fissate in paraformaldeide fredda al 4% diluita in tampone fosfato 0.1 M (pH 7.2), disidratate in etanolo ed incluse in Paraplast. Sezioni di 5 μm di spessore, dopo essere state sparaffinate ed idratate, sono state colorate con ematossilina-eosina e con diastasi-PAS. L'immunolocalizzazione delle cellule secernenti MSH è stata ottenuta mediante incubazione con anticorpo primario policlonale anti α-MSH (1:10 in PBS) (Chemicon, Temecula, CA) e successiva rivelazione dell'immunocomplesso con il sistema avidina-biotina-perossidasi (ABP) (Vector, Burlingame, CA).

La specificità dell' immunoreazione è stata valutata con le seguenti prove: 1) sostituzione dell'anticorpo primario con siero normale di capra; 2) omissione dell'anticorpo primario; 3) adsorbimento dell'anticorpo primario con l'antigene MSH.

Risultati

L'ipofisi di *Xiphias gladius* L. ha aspetto ovoidale, dorsalmente appiattito, con la parte anteriore più assottigliata all'estremità. La neuroipofisi (NI) si interdigita in tutte

le regioni dell'adenoipofisi che mostra i tre tipici compartimenti dei pesci teleostei: pars intermedia (PI), pars distalis rostrale (PDR) e pars distalis prossimale (PDP).

La colorazione con Ematossilina-Eosina ha evidenziato la presenza di cellule eosinofile disposte a palizzata attorno alle interdigitazioni della neuroipofisi oppure sparse attorno ai vasi o nell'interstizio di tutta l'adenoipofisi. La PAS reazione preceduta dall'incubazione con diastasi ha colorato cellule non eosinofile interstiziali e/o perivascolari identificate in precedenti studi (Labate *et al*., 2001; Minniti *et al*., 2000) come cellule gonadotrope e/o tireotrope.

L'anticorpo anti α-MSH ha immunoreagito soprattutto con cellule presenti nella PI (Fig. 1a), distribuite in grossi gruppi interstiziali (Fig. 1b) o, talvolta, perivascolari, e con alcune cellule interposte tra quelle disposte a palizzata lungo le interdigitazioni della neuroipofisi (Fig. 1c) mentre ha evidenziato rarissime cellule nella PDP (Fig. 1a). Le cellule interstiziali hanno mostrato forma rotondeggiante (Fig. 1b) con diametro medio di 8.5 ± 1.37 μm, mentre le cellule disposte lungo le interdigitazioni della NI (Fig. 1c) hanno mostrato forma allungata di lunghezza media crescente con l'aumentare della taglia: a) 14 ± 1,67 μm per l'animale di Kg 9, b) 16,5 ± 1,9 μm per l'animale di Kg 22, c) 20,5 ± 1,98 μm per gli animali di Kg 70 e 71. La densità numerica delle cellule immunoreattive è sembrata decrescere con l'aumento della taglia dei campioni. Purtroppo, il ridotto numero degli esemplari esaminato non ha permesso di sottoporre ad una valutazione statistica tale risultato.

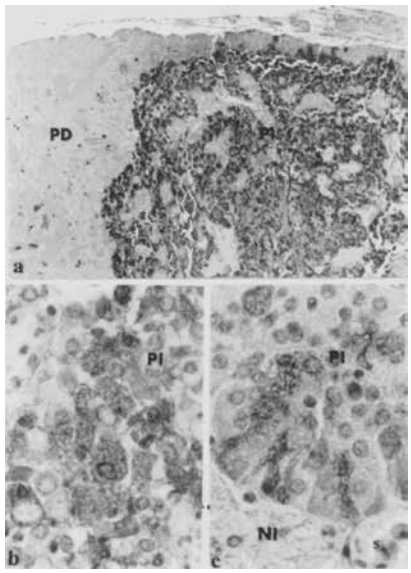


Fig. 1 - Sezioni di ipofisi di *Xiphias gladius* L. colorate con anticorpo anti α-MSH (marrone) e contrastate con ematossilina (blu). a) Sezione parasagittale mostrante l'abbondanza di cellule α-MSH positive (ir) nella pars intermedia (PI) rispetto alla pars distalis (PD); b) cellule interstiziali α-MSH-(ir) della PI; c) cellule α-MSH-(ir) interposte tra cellule a palizzata in prossimità della neuroipofisi (NI). s, sinusoide. *a, c × 176; b, × 44; d, 352.*

Sections from pituitary of Xiphias gladius *L. immunostained with α-MSH serum (brown) and counterstained with Hematoxylin (blue). a) Parasagittal section showing the abundance of MSH cells in pars intermedia (PI) than in pars distalis (PD); b) interstitial α-MSH cells in the PI; c) α-MSH cells among negative cells located close to the neurohypophysial tissue (NI); s, sinusoid. a, c × 176; b, × 44; d, × 352.*

Conclusioni

Le cellule a MSH nell'ipofisi di *Xiphias gladius* sono state localizzate principalmente nella PI, mostrando la tipica distribuzione osservata nella maggior parte dei teleostei finora investigati: *Aequidens pulcher* (Munro, 1985), *Poecilia latipinna* (Batten, 1986), *Dicentrarchus labrax* (Cambrè *et al*., 1986), *Sparus aurata* (Quesada *et al*., 1988), *Barbus barbus* (Toubeau *et al*., 1991), *Solea senegalensis* (Rendón *et al*., 1997), *Thalassoma duperry* (Parhar *et al*., 1998), mentre la presenza di poche cellule anti α-MSH positive sparse nella PD è stata osservata solo in *Seriola dumerilii* (García-Hernandez *et al*., 1996) e in *Diplodus sargus* (Segura-Noguera *et al*., 2000).

Poiché l'ACTH ed l'MSH derivano dal processamento differenziale della POMC, la sequenza aminoacidica dell' α-MSH è identica ai primi 13 aminoacidi dell'ACTH (Follénius e Dubois, 1980; Dores, 1990). Questo può spiegare la cross-reattività con alcune cellule ad ACTH immunolocalizzate in un precedente studio (Desantis *et al*., 2001), però la specificità della reazione per l'MSH è confermata dalla presenza di poche cellule α-MSH positive nella PD rispetto alle numerose cellule ad ACTH. La maggiore presenza di cellule melanotrope nel campione sessualmente immaturo (Kg 9) rispetto a quelli maturi (maschio di Kg 22 e femmine Kg 70-71) è in accordo con i risultati trovati in altri teleostei (Shreibman *et al*., 1973; Ferrandino *et al*, 2000). Ciò sembra correlato alla maggiore dispersione della melanina con la maturazione sessuale (Baker *et al*., 1984). Purtroppo, data l'esiguità numerica del campione esaminato, non è stato possibile verificare statisticamente quanto osservato.

Bibliografia

BAKER B.I., WILSON J.F., BOWLEY T.J. (1984) – Changes in pituitary and plasm levels of MSH in Teleosts during physiological colour changes. *Gen. Comp. Endocrinol*., **55**: 142-149.

BATTEN T.F.C. (1986) – Immunocytochemical demonstration of pituitary cell types in the Teleost *Poecilia latipinna*, by light and electron microscopy. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **63**: 139-154.

CAMBRÉ M.L., VERDONCK W., OLLEVIER F., VANDESANDE F., BATTEN T.F.C., KÜHN E.R. (1986) – Immunocytochemical identification and localization of the different cell types in the pituitary of the Seabass *(Dicentrarchus labrax). Gen. Comp. Endocrinol.,* **61**: 368-375.

DESANTIS S., LABATE M., MINNITI F., CEFALI A., BRUNO R., CIRILLO F., LABATE G.M. (2002) - Localizzazione immunoistochimica delle cellule ad ACTH nell'ipofisi di pesce spada (*Xiphias gladius* L.). *Biol. Mar. Medit.*, **9** (1): 866-869.

DORES R.M. (1990) – The proopiomelanocortin family. In: Epple A., Scanes C.G., Stetson M.H. (eds), *Progress in Comparative endocrinology*, Wiley-Liss, New York: 22-27.

FERRANDINO I., PICA A., GRIMALDI M.C. (2000) – Immunohistochemical detection of ACTH and MSH cells in the hypophysis of the hermaphroditic teleost, *Diplodus sargus*. *Eur. J. Histochem.,* **44**: 397-406.

FOLLENIUS E., DUBOIS M.P. (1980) – Localization of anti-ACTH, anti-MSH, and anti-α-endorphin reactive sites in the fish pituitary. In: Jutisz M., McKerns K.W. (eds*), Synthesis and release of adenohypophyseal hormones*, Plenum Publishing Corporation: 197-208.

GARCÍA-HERNÁNDEZ M.P., GARCÍA-AYALA A., ELBAL M.T., AGULLEIRO B. (1996) – The adenohypophysis of Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso, 1810): an immunocytochemical study. *Tissue & Cell*., **28** (5): 577-585.

LABATE M., DE SANTIS S., MINNITI F., CEFALI A., BRUNO R., LABATE G.M. (2001) - Immunolocalizzazione delle cellule gonadotrope nel pesce spada. *Biol. Mar. Medit.*, **8** (1): 829-832.

MINNITI F., DESANTIS S., CORRIERO A., CEFALI R., BRUNO R., DE METRIO G., LABATE M. (2000) – Studio preliminare sulle cellule gonadotrope di pesce spada (*Xiphias gladius* L.). *Biol. Mar. Medit*., **7** (1): 906-909.

MUNRO A.D. (1985) – The structure of the adenohypophysis of *Aequidens pulcher* (Teleostei, Cichlidae). *Gen. Comp. Endocrinol.,* **60**: 215-226.

PARHAR Y.S., NAGAHAMA Y., GRAU E.G., ROSS R.M. (1998) – Immunocytochemical and ultrastructural identification of pituitary cell types in the protogynous *Thalassoma duperrey* during adult sexual ontogeny. *Zool. Sci.,* **15**: 263-276.

QUESADA J., LOZANO M.T., ORTEGA A., AGULLEIRO B. (1988) – Immunocytochemical and ultrastructural characterization of the cell types in the adenohypophysis of *Sparus aurata* L. (Teleost). *Gen. Comp. Endocrinol.,* **72**: 209-225.

RENDÓN C., RODRIGUEZ-GOMEZ F.J., MUNOZ-CUETO J.A., PINUELA C., SARASQUETE C. (1997) – An immunocytochemical study of pituitary cells of the Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup 1858). *Histochem J*., **29**: 813-822.

SCHREIBMAN M.P., LEATHERLAND J.F., MCKEOWN B.A. (1973) – Functional morphology of the Teleost pituitary gland. *Amer. Zool*., **13**: 719-742.

SEGURA-NOGUERA N.M., LAÍZ-CARRIÓ M.P., MARTÍN DEL RÍO, MANCERA J.M. (2000) – An imunocytochemical study of the pituitary gland of the white seabream (*Diplodus sargus*). *Histochem. J*., **32**: 733-742.

TOUBEAU G., POILVE A., BARAS E., NONCLERCQ D., DE MOOR S., BECKERS J.F., DESSY-DOIZE C., HEUSON-STIENNON J.A. (1991) – Immunocytochemical study of cell type distribution in the pituitary of *Barbus barbus* (Teleostei, Cyprinidae). *Gen. Comp. Endocrinol.,* **83**: 35-47.

WENDELAAR-BONGA S.E. (1997) – The stress respons in fish. *Physiol. Rev*., **77**: 591-625.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1079-1082

G. Di Carlo, M. Toccaceli*

Queen Mary and Westfield College, University of London, E1 4NS London, U.K.
*C.R.E.A., Soc. Coop., Via Guardione, 30 - 90139 Palermo, Italia.

THE ROLE OF THE ENZYME CARBONIC ANHYDRASE IN THE TEMPERATE SEAGRASS SPECIES: *ZOSTERA NOLTII* HORNEMANN

RUOLO DELL'ENZIMA ANIDRASI CARBONICA IN ZOSTERA NOLTII *HORNEMANN*

Abstract

This work investigates on the presence of extracellular CA in Zostera noltii*, using the fluorescence monitoring system. The effect of the inhibitor AZ on* Z. noltii *quantum yield of PSII and non-photochemical quenching were studied at different light intensities. Results show that photosystem II activity was inhibited and non-photochemical quenching raised. It can be concluded that the mechanisms of* HCO_3^- *acquisition in* Z. noltii *is dependent on extracellular carbonic anhydrase*

Key-words: *acetazolamide, carbonic anhydrase, non-photochemical quenching, seagrasses,* Zostera noltii.

Introduction

Zostera noltii is a common seagrass species in northwest Europe and in the Mediterranean. This species is generally found in the intertidal zone in the continent as well as in the UK. *Z. noltii* experiences twice daily exposure to air and disturbance of the sediment by tidal waters (Grant, 1983), and during the winter it is subjected to strong wind, waves and freezing air temperatures. Previous work reported that both *Z. marina* (Beer and Renhberg 1997) and *Z. noltii* (Di Carlo unpublished data) utilise bicarbonate as the carbon source for photosynthesis, even though they take up CO_2 when exposed to air. At present atmospheric CO_2 levels, in fact, the uncatalyzed rate of interconversion of CO_2 to HCO_3^- is 10^4 times slower than the biological flux that takes place via CO_2 fixation by the primary CO_2 fixing enzyme, ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) (Falkowski & Raven, 1997). Marine organisms which utilize HCO_3^- as the main carbon source posses the metalloenzyme carbonic anhydrase (CA), even if recent research has shown that some marine plants (including seagrasses) may either dehydrate HCO_3^- by proton excretion (Hellblom *et al*., 2001), or take up the ion directly (Beer and Rehnberg, 1997). The mechanism of HCO_3^- acquisition *Z. noltii* is thought to be dependent on extracellular/surface bound CA. This work investigates on the presence of extracellular CA in *Z. noltii,* using the Fluorescence Monitoring System (FMS). This is a non-intrusive method which allows to estimate the photosynthetic potential as fluorescence changes reflect primarily the state of Photosystem II. Thus, two main types of quenching, photochemical (q_p) and non-photochemical (NPQ), can be studied (Schreiber *et al*., 1994).

Materials and methods

Z. noltii plants were collected in the North Thames Estuary at Leigh-on-Sea, Essex (UK) (513203N, 03729E). The presence of external CA was evaluated using acetazolamide (AZ), which acts on the on net oxygen release and on the effective quantum yield

of PSII. The effects of AZ have been tested previously as an indicator of bicarbonate use in microalgae and seagrasses (Beer, 1996). Fluorescence measuring was carried out with the Hansatech Fluorescence Monitoring System (FMS, HANSATECH INSTRUMENTS, 1997). This is an laboratory pulse amplitude modulated fluorometer which measures quantum yields of photosystem II (PSII) as well as NPQ, which is an alternative expression of the extent of non-photochemical quenching. The inhibitor solution was prepared adding 2.22 mg. of AZ to 10 ml of ethanol to give a final AZ concentration of 50 μM. The experiment was carried out at pH 8.5, buffered using Bicine. Three strips for each replicate of *Z. noltii* leaves (5 in total) were placed in Eppendorf tubes and dark adapted for 10 min. Fluorescence was then measured recording NPQ and ΦP (= (Fm-F0)/Fm) values at different PAR irradiance (55, 550 μmol m^{-2} s^{-1}). An alcohol control (conc. = 50 μM) was carried out to test whether the inhibition was due to ethanol effects on the leaves. The addition of the inhibitors decreased *Z. noltii* initial fluorescence level. Fo is the fluorescence yield following the dark adaptation, when all the PS II reaction centres and electron acceptor molecules are fully oxidised, hence open for photochemistry. Fo is measured at the beginning of an experiment, when only the modulating bean is illuminated. If Fo is monitored during dark incubation in AZ treatment, it is possible to see how Fo decreases from 331.6 in the control treatment to 67.3 in the AZ treatment.

Results

The effect of AZ on *Z. noltii* effective quantum yield of PSII is shown in Fig. 1, where PSII under AZ treatment is compared to PSII values of the control treatment. PS II lowers significantly from 0.21 of the control at low light (55 pfd) to 0.18 under AZ. At 550 pfd the control treatment has a PSII value of 0.04, whilst AZ treatment lowers to 0.02 ($F = 117.33$; $P = 0.000$; $df = 2$). NPQ showed to be similarly affected by AZ. NPQ lowers significantly from 1.04 in the control to 0.5-0.6 under AZ at 55 pfd (Fig. 2) ($F = 127.33$; $P = 0.000$; $df = 2$). As light increases, NPQ also increases up to 3.77 in the control set, but it remains lower (2.06) as the inhibitor is added to seawater.

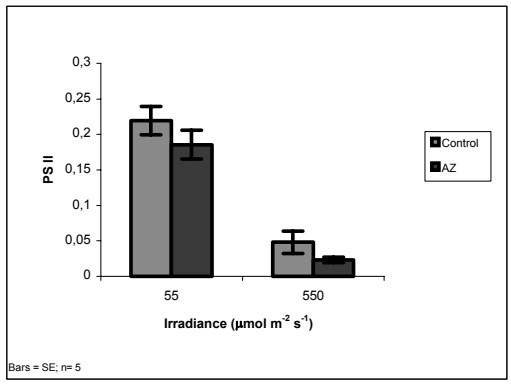


Fig. 1 - Effect of AZ on *Zostera noltii* quantum yield of photochemistry in PSII.
Effetto dell'acetazolamide (AZ) sul fotosistema II. AZ inibisce l'azione dell'anidrasi carbonica (CA) che catalizza la conversione da HCO_3^- a CO_2.

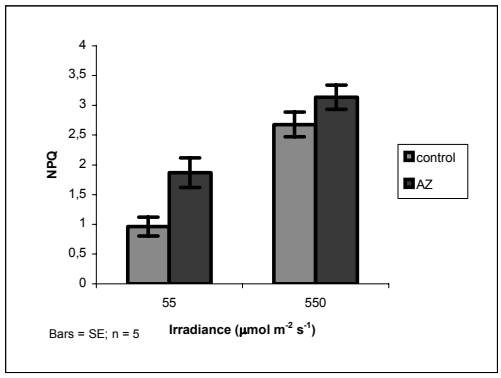


Fig. 2 - Effect of CA inhibitor AZ on *Zostera noltii* non-photochemical quenching.
Variazione del "quenching" non-fotosintetico in Zostera noltii *dopo l'aggiunta dell'inibitore enzimatico acetazolamide (AZ).*

Conclusions

It can be concluded that the mechanisms of HCO_3^- acquisition in *Z. noltii* is dependent on extracellular carbonic anhydrase as evidenced by the inhibition of photosynthesis, and the increase in NPQ, by the membrane impermeable inhibitor AZ. Carbonic anhydrase catalyses the conversion of HCO_3^- to CO_2 which then diffuses into the cells (Badger & Price, 1994; Hellblom *et al*., 2001). The impermeable sulphonamide inhibitor acetazolamide (AZ) decreases the affinity of photosynthesis for external inorganic carbon (Ci), in particular at alkaline pH where HCO_3^- is the dominant form of Ci. *Z. noltii* showed a high response to CA inhibition by AZ at both low and high light (55 and 550 pfd). Photosystem II activity was inhibited and non-photochemical quenching raised. *Zostera noltii* utilises HCO_3^- for photosynthesis and that CO_2 contributes only marginally under the same conditions (Di Carlo, unpublished data). There are two possible pathways in the DIC utilisation mechanism, which are a) extracellular dehydration to form CO_2 prior to DIC uptake, and b) direct transport of the anion. Due to the slow diffusion of CO_2 in water, the enzyme carbonic anhydrase (CA) must catalyse the former reaction. These findings accord with the supposition that *Z. noltii* might rely partially on CO_2 uptake, being emerged for long periods of time.

Acknowledgements

The authors wish to thank Mrs. Brenda Thake for her ideas and comments. We are grateful to Jo Nicholls for oxygen electrode data and to Prof. R. Phillips for the photographs. Finally we acknowledge Dr. Rob Hughes, Dr. Jenny Schmid-Araya, Mr. Chris Simms, Miss Alice Sparrow and Mr. Paul Fletcher.

References

BADGER M.R., PRICE G.D. (1994) - The role of carbonic anhydrase in photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.,* **45**: 369-392.

BEER S. (1996) - Photosynthetic utilisation of inorganic carbon in *Ulva*. *Scientia Marina*, **60** (Suppl. 1): 125-128.

BEER S., REHNBERG J. (1997) - The Acquisition of Inorganic Carbon by the Seagrass *Zostera marina*. *Aq. Bot.,* **56**: 277-283.

FALKOWSKI P.G., RAVEN J.A. (1997) - *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell Science, Oxford.

GRANT J. (1983). The relative magnitude of biological and physical sediment reworking in a intertidal community. *J. Mar. Res.,* **41**: 673-689.

HANSATECH INSTRUMENTS (1997) - *Hansatech Fluorescence Monitoring System User Manual*. Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, England.

HELLBLOM F., BEER S., BIORK M., AXELSSON L. (2001) - A buffer sensitive inorganic carbon utilisation system in *Zostera marina*. *Aq. Bot.,* **69**: 55-62.

SCHREIBER U., BILGER W., NEUBAUER C. (1994) - Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecol. Studies,* **100**: 49-70.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1083-1085

V. Figus, J. Culurgioni, R. De Murtas, G. Canestri Trotti*

Dip. Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.
vfigus@vaxca1.unica.it
*Dip. Biol. Animale e dell'Uomo, Università di Torino, Torino, Italia.
giorgio.canestri@unito.it

NEMATOPSIS AND *PERKINSUS* INFECTIONS IN *TAPES* (*RUDITAPES*) *DECUSSATUS* (L.) (BIVALVIA: VENERIDAE) FROM ST. GILLA LAGOON (SARDINIA, WESTERN MEDITERRANEAN)

INFEZIONI DA PERKINSUS *E* NEMATOPSIS *IN* TAPES (RUDITAPES) DECUSSATUS *(L.) (BIVALVIA: VENERIDAE) NELLA LAGUNA DI S.TA GILLA (SARDEGNA, MEDITERRANEO OCCIDENTALE)*

Abstract

Samples of Tapes (Ruditapes) decussatus *(L.) (Bivalvia: Veneridae) from St. Gilla lagoon (Cagliari) were examined monthly and by size, from January to September 2001, for protozoan parasites (genera* Nematopsis *and* Perkinsus*). Out of 264 examined specimens, 242 (91.7%) were found infected by* Nematopsis *sp. oocysts and 259 (98%) by* Perkinsus *sp. hypnospores. This study has been developed for the first time in Sardinian waters where this bivalve is still actively fished.*

Key-words: Tapes decussatus*,* Nematopsis, Perkinsus*, protozoan parasites, Sardinia.*

Introduction

The grooved carpet shell *Tapes* (*Ruditapes*) *decussatus* (L.) (Bivalvia: Veneridae) is still actively fished, in shallow waters of St. Gilla lagoon (Sardinia). Despite its economic importance, data concerning its parasitic fauna have not previously been reported in Sardinian waters. The aim of this preliminary study is to verify the presence of possible infections by *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Porosporidae) and *Perkinsus* sp. (Apicomplexa: Perkinsidae).

Materials and methods

Monthly samples of *T. decussatus*, of commercial size (21-60 mm), from St. Gilla lagoon were parasitologically examined from January to September 2001. Sections (1 cm^2) of mantle, gill and intestinal tissues were squashed between glass slides and examined microscopically for gregarine oocysts of genus *Nematopsis*; mantle and gill fragments of the same specimens were also placed in Fluid Thyoglicollate Medium (Ray, 1952) and examined microscopically after 10 days for the presence of *Perkinsus* sp. hypnospores. Prevalence and its 95% confidence interval (CI) and density (evalued on the basis of the mean number of parasites in 10 microscope fields at 400× per tissue sample) and its ± standard error (SE), have been calculated monthly and in relationship to bivalve size (Tab. 1, 2) according to Bush *et al*. (1997).

Results and conclusions

Results are reported in Tab. 1 and 2. Oocysts of *Nematopsis* sp., measuring 8.3-12.2 × 5.6-7.8 μm and irregularly distributed (1 to 35 per microscope field), were observed

in the intestinal epithelium of 242 specimens out of 264 *T. decussatus*. Higher prevalence was observed in spring months and in August, while mean density appears related to seasonal temperature variations, with lower value in February and higher in July. Referring to host size, higher prevalence was found in 41-45 mm shells and the lower in 36-40 mm shells, in which however was observed the higher density.

Tab. 1 - Prevalence % (95% C I) and Density (± S E) of *Nematopsis* sp. and *Perkinsus* sp. infections in *Tapes decussatus* from St. Gilla lagoon.
Prevalenza % (95% C I) e densità (± E S) delle infezioni da Perkinsus *sp. e* Nematopsis *sp. in* Tapes decussatus *della laguna di S. ta Gilla.*

month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Total
examined specimens	37	25	36	24	38	36	22	10	36	264
Nematopsis sp. P % (95% CI)	94.6 (81.7-100)	84.0 (64.2-95.9)	75.0 (57.9-87.8)	100 (86.6-100)	100 (91.1-100)	100 (90.8-100)	81.8 (60.2-95.2)	100 (73.2-100)	91.7 (77.5-98.9)	91.7 (87.6-94.7)
Density (SE)	2.9 (0.8)	0.7 (0.1)	5.6 (0.8)	6.3 (0.9)	7.5 (0.8)	8.9 (1.1)	10.8 (1.3)	8.1 (2.3)	6.0 (0.9)	6.2 (0.4)
Perkinsus sp. P % (95% CI)	100 (90.8-100)	100 (87.0-100)	100 (90.6-100)	100 (86.6-100)	100 (91.1-100)	88.9 (73.9-97.3)	100 (85.5-100)	90.0 (58.3-100)	100 (90.6-100)	98.0 (95.5-99.4)
Density (SE)	5.8 (0.7)	9.4 (1.4)	17.7(2.4)	15.0 (2.2)	11.5 (1.7)	5.9 (1.5)	11.1 (3.1)	11.8 (3.9)	16.1 (2.9)	11.6 (0.8)

Tab. 2 - Prevalence % (95% C I) and Density (± S E) of *Nematopsis* sp. and *Perkinsus* sp. infections in *Tapes decussatus* from St. Gilla lagoon valued referring to host size.
Prevalenza % (95% C I) e densità (± E S) delle infezioni da Nematopsis *sp. e* Perkinsus *sp. in* Tapes decussatus *della laguna di S.ta Gilla in relazione alla taglia dell'ospite.*

Shell size in mm	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	>45
Examined specimens	12	50	82	80	31	9
Nematopsis sp. P%(95% CI)	91.7 (63.6-100)	94.0 (83.3-99.3)	90.2 (81.5-95.7)	88.8 (79.6-94.7)	100 (89.3-100)	88.9 (55.1-100)
Density (SE)	4.0±1.5	4.7±0.7	7.2±0.7	8.3±0.8	6.3±1.1	4.2±1.3
Perkinsus sp. P % (95% CI)	100 (76.5-100)	100 (93.0-100)	98.8 (93.3-100)	95.5 (87.5-98.9)	100 (89.3-100)	100 (71.1-100)
Density (SE)	13.1±3.9	11.2±1.5	11.9±1.5	10.0±1.3	14.4±2.4	12.5±3.6

Out of 264 examined specimens, 259 were found infected by *Perkinsus* sp. hypnospores, identified by their round-shaped bodies, measuring about 15.3 to 40.1 μm, irregularly distributed on gills tissue (2 to 70 parasites per microscope field). The mean prevalence % (CI) of *Perkinsus* sp. infection was almost constantly high, with lower values in June and August. Mean density appears not related with temperature, showing lower values in January and June. Size 36-40 mm shells showed lower values of prevalence and density.

This is the first report of the presence of *Nematopsis* sp. infections in *T. decussatus* from Italian waters; previous researches on *Nematopsis* sp. infections in 86 specimens of *T. decussatus* from Marina di Ravenna (Ravenna) proved negative (Canestri Trotti *et al*., 1998).

Values of prevalence referring to *Perkinsus* sp. infection in *T. decussatus*, already observed by Breber (1992) in Italian waters, are clearly higher than those reported by Rubini *et al*. (1996) in Italy (the highest prevalence was 62%), while they are more

similar to prevalences recorded in grooved carpet shells living in Atlantic waters (Almeida *et al*., 1999).

This preliminary study suggests the importance of an accurate monitoring of *Nematopsis* sp. and *Perkinsus* sp. infections in *T. decussatus*, as done on other Veneridae clams (Berrilli *et al*., 2000; Canestri Trotti *et al*., 2000) from Italian Adriatic Sea. In relationship with the possibility of negative ecological and economic consequences referring to the potential pathogenicity of these organisms (Azevedo & Cachola, 1992; Almeida *et al.*, 1999) the monitoring should be done periodically.

References

ALMEIDA M., BERTHE F., THÉBAULT A., DINIS M.T. (1999) - Whole clam culture as a quantitative diagnostic procedure of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams *Ruditapes decussates. Aquaculture*, **177**: 325-332.

AZEVEDO C., CACHOLA R. (1992) - Fine structure of the apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of the marine bivalves molluscs. *Diseases of Aquatic Organism*, **14**: 69-73.

BERRILLI F., CESCHIA G., DE LIBERATO C., DI CAVE D., ORECCHIA P. (2000) - Parasitic infections of *Chamelea gallina* (Mollusca, Bivalvia) from commercially exploited banks of the Adriatic Sea (Italy). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.,* **20** (5): 199-205.

BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.M., SHOSTAK ALLEN W. (1997) - Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al*. revisited. *Journal of Parasitology*, **83** (4): 575-583.

BREBER P. (1992) - An account of the acclimatisation of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve) syn. *Tapes semidecussatus* Reeve (Mollusca; Bivalviae; Venerinae), in Italian waters. Atti Congresso di Parma, 1990. *Lavori S.I.M.*, **24**: 47-52.

CANESTRI TROTTI G., BACCARANI E.M., PAESANTI F. (1998) - Gregarine del genere *Nematopsis* (Apicomplexa: Porosporidae) in molluschi bivalvi del Mare Adriatico. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, **23**: 58-65.

CANESTRI TROTTI G., BACCARANI E.M., PAESANTI F., TUROLLA E. (2000) – Monitoring of infections by Protozoa of the genera *Nematopsis, Perkinsus* and *Porospora* in the smooth venus clam *Callista chione* from North-Western Adriatic Sea (Italy). *Dis. Aquat. Org.,* **42** (1): 157-161.

RAY S.M. (1952) - A Culture Technique for the Diagnosis of Infections with *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier in Oysters. *Science,* **116**: 360-361.

RUBINI S., CAPPELLARO H., ALESSI A., BADINI L., CAMPANINI A., MARZADORI F. (1996) - *Perkinsus* sp. nei bivalvi dal Reno a Cesenatico. *Laguna,* **1**: 25-31.

Interreg 2000; MURST 60%.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1086-1092

P. Fornasiero, A. Campanelli, F. Grilli, M. Marini

Istituto di Ricerche sulla Pesca Marittima, CNR, Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.

VARIAZIONI SPAZIO-TEMPORALI DELLE CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE NEL NORD ADRIATICO NELL'ESTATE 2001

SPATIAL AND TEMPORAL BIOCHEMICAL VARIATION IN THE NORTHERN ADRIATIC SEA DURING SUMMER 2001

Abstract

Two oceanographic cruises were carried out in June and September 2001 in the northern Adriatic sea. The space-time biochemical variation are observed, coupling dissolved oxygen with fluorescence, nutrients, irradiance and Po river inputs. Chlorophyll a *and dissolved oxygen surface layer distribution showed the influence of Po river inputs and of solar irradiance. The mineralization processes caused hypoxia phenomenon, in late summer, on Po plume area bottom layer.*

Key-words: *dissolved oxygen, chlorophyll* a*, nutrients, irradiance, river outflow.*

Introduzione

Il nord Adriatico riceve notevoli inputs di acqua dolce dai fiumi settentrionali, i quali tendono ad incrementare lo stato trofico del sistema (Zoppini *et al*., 1995); di questi apporti il 50% è dovuto al contributo del fiume Po (UNESCO, 1978). Durante l'estate la distribuzione della clorofilla *a*, dell'ossigeno e dei nutrienti è condizionata anche dalla stratificazione della colonna d'acqua, dall'irradianza, dal consumo biologico di nutrienti, dalla mineralizzazione, sia nello strato superficiale sia sul fondo (Degobbis, 1990; Zoppini *et al*., 1995; Zavatarelli *et al*., 1998; Degobbis *et al*., 2000). Nelle altre stagioni, quando non c'è stratificazione, si osserva una maggiore omogeneità nella distribuzione dei parametri biochimici lungo la colonna d'acqua.

Nel presente lavoro vengono presi in considerazione l'ossigeno disciolto, la fluorescenza *in situ* e quella misurata dal satellite, le concentrazioni di nutrienti, insieme all'irradianza e alle portate del Po, allo scopo di osservare le variazioni spazio-temporali di tali parametri nell'ecosistema del nord Adriatico (profondità <80 m).

Materiali e metodi

Le due crociere oceanografiche, denominate JOINT1 (22-28/06/01) e JOINT2 (25/09-03/10/01), si sono svolte lungo 9 transetti posti nell'area settentrionale dell'Adriatico, da Numana (An) a Chioggia (Ve), dall'Italia alla Croazia, per un totale di 61 stazioni, campionate in JOINT1 (Fig. 1A) e 84 in JOINT2 (Fig. 1B). In entrambe le crociere sono stati misurati diversi parametri: temperatura, salinità, clorofilla *a* (fluorescenza *in situ*), irradianza, ossigeno disciolto e nutrienti. Lungo la colonna d'acqua sono state misurate la temperatura e la salinità con una sonda CTD (SBE9/11plus), la fluorescenza con un fluorimetro della Sea Tech (modello LS6000) e l'irradianza con un sensore PAR (Photosynthetically Available Radiation), modello QSP-200L della Biospherical Instruments Inc. I campioni per le analisi chimiche sono stati prelevati da bottiglie Niskin a quote opportune in base al profilo di temperatura e salinità. L'ossigeno disciolto è stato direttamente determinato a bordo secondo Winkler (1888), con metodo

potenziometrico; i nutrienti (silicati, nitrati, nitriti, ammonio, ortofosfati) sono stati analizzati con Autoanalyzer secondo la metodologia di Strickland e Parsons (1968).

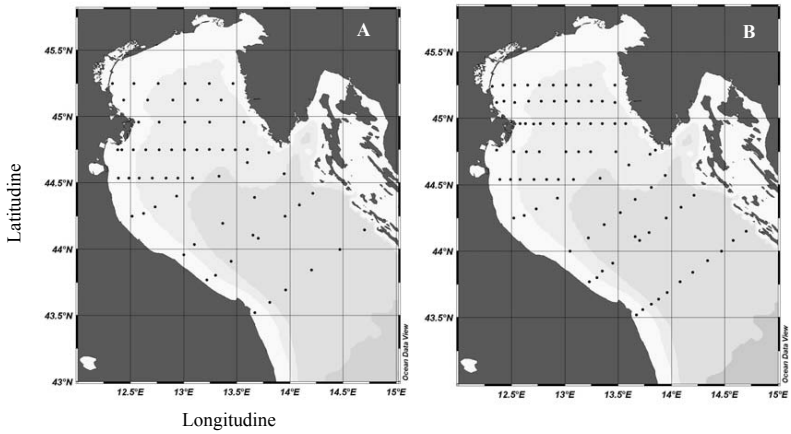


Fig. 1 - Mappa dei transetti (da Nord a Sud: Chioggia, Adige, Punta Maestra, Po di Goro, Ravenna, Cesenatico, Fano, Senigallia, Numana), eseguiti durante le crociere JOINT1 (A) e JOINT2 (B).

Transect map (from Northern to Southern: Chioggia, Adige, Punta Maestra, Po di Goro, Ravenna, Cesenatico, Fano, Senigallia, Numana) during JOINT1 and JOINT2 cruises.

Risultati

Durante la prima crociera, effettuata all'inizio dell'estate, il bacino del nord Adriatico presenta uno strato superficiale saturo d'ossigeno, con valori molto alti di saturazione (118%, e.s.=2,9) nel versante italiano, tra il transetto di Po di Goro e quello di Cesenatico. L'area compresa tra questi due transetti è attraversata da una massa d'acqua più calda (23,5 °C, e.s.=0,1), meno salata (32,8 psu, e.s.=0,3) e meno densa (22,1 kg/m^3, e.s.=0,3) rispetto al resto del bacino, con una concentrazione media di clorofilla *a* pari a 3,1 µg/l (e.s.=0,5), di azoto totale inorganico pari a 3,1 µmol/l (e.s.=0,3), di silicati pari a 2,4 µmol/l (e.s.=0,7) e di ortofosfati pari a 0,14 µmol/l (e.s.=0,01).

Nello strato superficiale del versante croato, a sud della penisola istriana, si nota invece una massa d'acqua più fredda (22,9 °C, e.s.=0,2), più salata (37,9 psu, e.s.=0,1), meno satura d'ossigeno (104%, e.s.=2) rispetto al versante italiano e particolarmente povera sia di clorofilla *a* (0,2 µg/l, e.s.=0,3) sia di azoto inorganico totale (0,8 µmol/l, e.s.=0,4) sia di ortofosfati (0,08 µmol/l, e.s.=0,01).

In generale le concentrazioni di nutrienti sono scarse in tutto il bacino rispecchiando una tipica oligotrofia estiva, sebbene i valori siano più elevati rispetto ai dati del Dataset ABCD.2 (Zavatarelli *et al*., 1998); gli unici incrementi di azoto totale inorganico, di silicati e di clorofilla *a*, rispettivamente con concentrazioni medie pari a 4,4 µmol/l (e.s.=1,1), a 3,9 µmol/l (e.s.=1,9) e a 5,4 µg/l (e.s.=0,8), si registrano nell'area più costiera del Po, influenzata dalle abbondanti portate del fiume, confermate sia dai dati di salinità delle stazioni più costiere sia dai dati delle portate del Po (Magistrato del Po). Nello strato superficiale dell'intero bacino i nutrienti, a causa del bilancio tra

l'immissione fluviale ed il consumo biologico, non si correlano significativamente con la salinità, mentre la clorofilla *a* diminuisce all'aumentare della salinità secondo un modello esponenziale (n=61, P<0,01, Fig. 2), confermando l'influenza degli apporti fluviali per la trofia nel sistema Adriatico (Zoppini *et al*., 1995). Inoltre, sempre in superficie, l'ossigeno disciolto è correlato positivamente con la clorofilla *a*, secondo un modello esponenziale ($Y=0{,}001e^{0{,}06X}$ $R^2=0{,}37$; n=58, P<0,01).

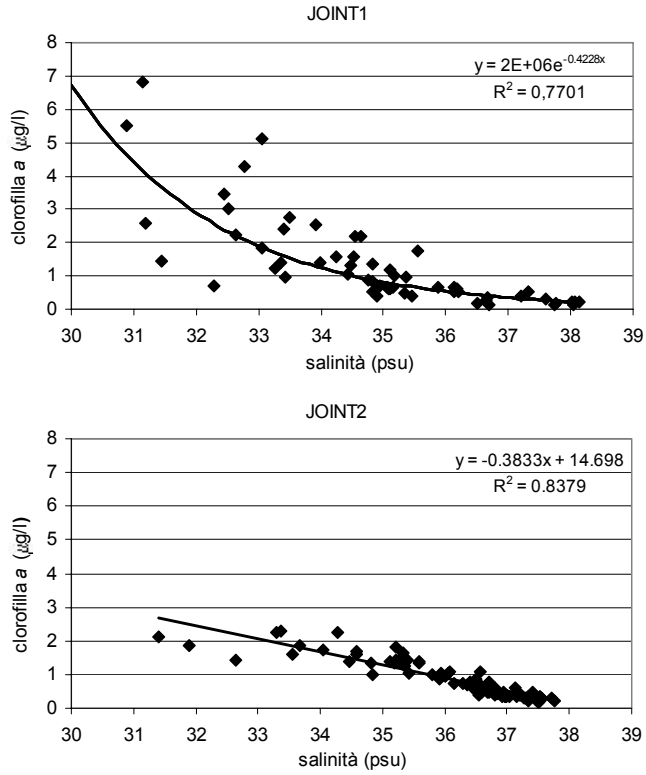


Fig. 2 - Correlazione tra la salinità (psu) e la clorofilla *a* (fluorescenza *in situ*) nello strato superficiale del nord Adriatico, nel giugno 2001 (in alto) e nel settembre 2001 (in basso).
Correlation between salinity (psu) and chlorophyll a *(fluorescence in situ) in the surface layer, in the Northern Adriatic Sea, in June 2001 (up) and September 2001 (down).*

Nello strato di fondo si osserva un naturale decremento della saturazione d'ossigeno rispetto alla superficie, dovuto alla stratificazione termica: esso è marcato solo nelle stazione costiere di Fano (50%) ed in quelle del largo di Po di Goro e Cesenatico (57-70%), dove è stata riscontrata una relazione lineare positiva tra AOU (in µmol/l) e i silicati (r=0,91, n=9, P<0,01, Fig. 3). Nella colonna d'acqua e sul fondo la clorofilla *a* non è più in relazione né con la saturazione d'ossigeno né con la salinità.

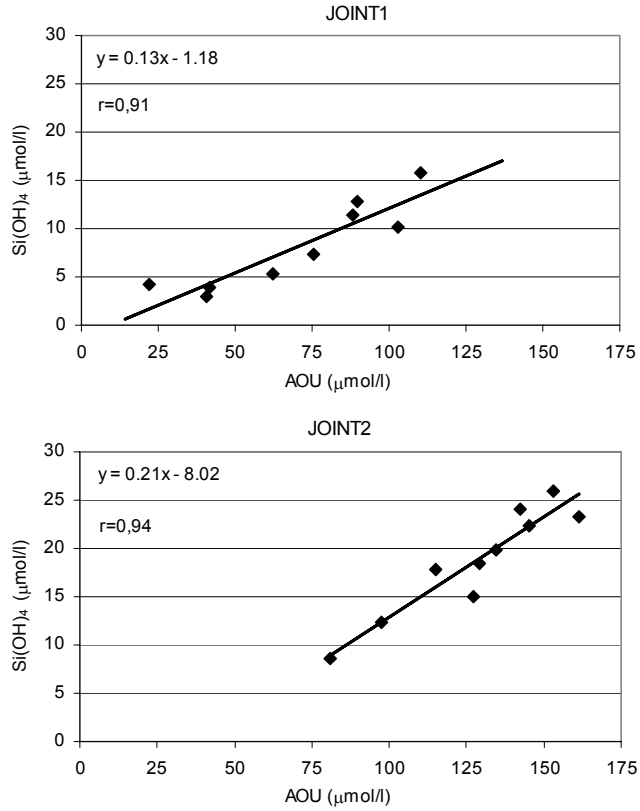


Fig. 3 - Correlazione tra AOU e silicati sul fondo delle stazioni ipossiche (al largo della foce del Po) nelle due crociere.
Correlation between AOU and silicates in the hypossic stations (offshore the Po estuary) in both cruises.

Durante la seconda crociera, alla fine dell'estate, si osserva una diminuzione della saturazione d'ossigeno e della clorofilla *a* in superficie, in particolare nell'area sottostante la foce del Po, fino al transetto di Cesenatico. La diminuzione d'ossigeno lungo la colonna d'acqua può essere interpretata come un effetto di una circolazione semi-chiusa e di un'alta stabilità verticale della colonna d'acqua fortemente stratificata durante l'estate (Franco *et al*., 1982). Tali decrementi di clorofilla *a* e ossigeno inoltre potrebbero essere giustificati da una generale diminuzione della produzione primaria causata dalla minore irradianza (espressa in $\mu E/cm^2sec$) rispetto al periodo estivo, mediamente del 69±21% nei primi 5 m della colonna d'acqua, relativi a 6 stazioni (Tab. 1). La diminuzione della clorofilla *a* nel sistema è legata anche alla diminuzione delle portate del Po rispetto all'inizio dell'estate: tra il 20 e il 26/06/02 la portata media è stata di 1603 m^3/sec, tra il 24 e il 30/09/02 è stata di 1239 m^3/sec. Nello strato superficiale si osserva una correlazione lineare negativa tra la clorofilla *a* e la salinità ($r=0,91$, $n=84$, $P<0,01$, Fig. 2).

Tab. 1 - Dati di irradianza nei primi 5 m della colonna d'acqua di 6 stazioni, in entrambe le crociere.
Irradiance data in the upper 5 m layer of 6 stations, in both cruises.

Coordinate stazioni (lat. – long.)	Profondità (m)	Irradianza, $\mu E/cm^2sec$ (JOINT1)	Irradianza, $\mu E/cm^2sec$ (JOINT2)	diminuzione di irradianza (%)
MC04	1	3999	214	95
(43,910-13,443)	2	2090	153	93
	3	1557	121	92
	4	1285	97	92
	5	1088	80	93
MC12	1,5	1751	613	65
(44,333-14,087)	2	1485	552	63
	3	1202	433	64
	4	1091	350	68
	5	939	285	70
B06	1	4652	1798	61
(44,400-12,935)	2	2167	1344	38
	3	1612	999	38
	4	1404	667	53
	5	1131	477	58
B13	1	3871	1827	53
(44,650-12,935)	2	2249	1688	25
	3	1912	1130	41
	4	1656	943	43
	5	1399	792	43
E06	1	4246	1348	68
(44,958-12,769)	2	2232	889	60
	3	1752	605	65
	4	1305	415	68
	5	1161	293	75
C10	1	2122	128	94
(45,249–12,759)	2	2055	100	95
	3	1558	81	95
	4	1263	63	95
	5	1038	54	95

Un decremento della saturazione d'ossigeno al fondo, pari ad un 22%, al largo di fronte alla foce del Po (tra il transetto dell'Adige e di Ravenna), risulta correlato con alte concentrazioni di silicati (18,8 µmol/l, e.s.=1,7) e di azoto totale inorganico (5,4 µmol/l, e.s.=0,5), determinate da un'intensa attività di mineralizzazione ($r=0,94$, $n=10$, $P<0,01$ per i silicati, Fig. 3; $r=0,75$, $n=10$, $P<0,05$ per i sali d'azoto). Sempre in quest'area, inoltre, il decremento d'ossigeno risulta correlato con l'incremento dei silicati tra giugno e settembre ($r=0,96$, $n=10$, $P<0,01$).

Per rendere più complete le informazioni sulla distribuzione della clorofilla *a* nel nord Adriatico sono stati confrontati i dati di clorofilla *a* registrati dal satellite (www.me.sai.jrc.it) con quelli della clorofilla *a* misurati *in situ* con il fluorimetro, sia nel mese di giugno sia nel mese di settembre 2001. Dall'analisi della correlazione, basata sull'elaborazione di 59 coppie di dati risulta una correlazione lineare positiva

tra le misure del satellite e del fluorimetro (Fig. 4). A conferma di questa interessante osservazione sarà necessario ampliare il set di dati con misurazioni relative ad altre crociere effettuate in altre stagioni.

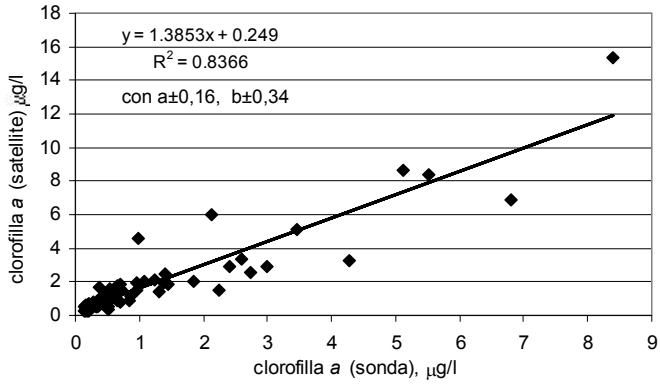


Fig. 4 - Correlazione tra la clorofilla *a*, registrata dal satellite e misurata *in situ*, su 59 stazioni (giugno e settembre 2001). Sono riportati gli intervalli di confidenza del coefficiente angolare (a) e dell'intercetta (b) al 95%.

Correlation between chlorophyll a*, recorded by satellite and by fluorimeter in situ, on 59 stations (June and September 2001). The regression line slope (a) and intercept (b) range with 95% confidence limit are showed.*

Conclusioni

L'analisi dei dati raccolti nel nord Adriatico nell'estate 2001 conferma anche l'importanza delle portate del Po e dell'irradianza nella regolazione delle concentrazioni superficiali di clorofilla *a*. Per quanto riguarda la stima di clorofilla *a*, i dati rilevati da satellite sono risultati dello stesso ordine di grandezza delle misure *in situ*, quindi coerenti per una loro integrazione ai fini dello studio della variabilità biochimica nel bacino Adriatico.

Lo studio dell'andamento temporale dell'ossigeno e dei nutrienti nello strato del fondo nell'area al largo della foce del Po (transetto Adige-Ravenna) evidenzia un'ipossia come effetto di un maggior consumo d'ossigeno e quindi di una maggiore attività di mineralizzazione.

Ringraziamenti

Si ringraziano i due referees anonimi per le osservazioni ed i commenti utili alla discussione dei dati.

Bibliografia

DEGOBBIS D. (1990) - A stoichiometric model of nutrient cycling in the northern Adriatic Sea and its relation to regeneration processes, *Marine Chemistry*, **29**: 235-253.

DEGOBBIS D., PRECALI R., IVANCIC I., SMODLAKA N., FUKS D., KVEDER S. (2000) - Long-term changes in the northern Adriatic ecosystem related to anthropogenic eutrophication. *Int. J. Environment and Pollution*, **13** (1-6): 495-533.

FRANCO P., JEFTIC Lj., MALANOTTE-RIZZOLI P., MICHELATO A., ORLIC M. (1982) - Descriptive model of the northern Adriatic. *Oceanologica Acta*, **5**: 379-389.

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R. (1968) - A practical handbook of seawater analysis. *Bullettin Fisheries Research* Board of Canada, **167**: 1-312.

UNESCO (1978) – Meeting of National Committee for the International Hydorbiological Programme of mediterranean Countires, Rome 9-12/10/78. IMP/MED/1.

ZAVATARELLI M., RAICICH F., BREGANT D., ARTEGIANI A., RUSSO A. (1998) - Climatological biogeochemical characteristics of the Adriatic. *Journal of marine sistem*, **18**: 227-263.

ZOPPINI A., PETTINE M., TOTTI C., PUDDU A., ARTEGIANI A., PAGNOTTA R. (1995) - Nutrients, standing crop and primary production in western coastal waters of the Adriatic sea. *Estuarine, Coastal and shelf science,* **41**: 493-513.

Le ricerche sono state eseguite grazie ai contributi erogati dal Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (SINAPSI: Seasonal, INterannual and decAdal variability of the atmosPhere, oceanS and related marIne ecosystems), e dal Ministero dell'Ambiente (MAT: progetto di monitoraggio e studio sui processi di formazione delle Mucillagini nell'Adriatico e nel Tirreno).

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1093-1097

F. Garibaldi, G. Relini

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale, DIP.TE.RIS., Università di Genova,
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.

NOTE SUL RUOLO DI *CONCHODERMA VIRGATUM* (CRUSTACEA, LEPADIDAE) COME EPIBIONTE DEL PESCE SPADA, *XIPHIAS GLADIUS* L., IN MAR LIGURE

NOTE ON THE ROLE OF CONCHODERMA VIRGATUM *(CRUSTACEA, LEPADIDAE) EPIBIONT ON THE SWORDFISH* XIPHIAS GLADIUS *L., IN THE LIGURIAN SEA*

Abstract

The uncommon settlement of clusters of the pedunculate cirriped Conchoderma virgatum *on the bill of the swordfish,* Xiphias gladius*, is described in the Ligurian Sea and possible influence on the feeding of fish discussed. Some remarks on growth and reproduction of* C. virgatum *are reported.*

Key-words: Conchoderma virgatum*, epibiosis*, Xiphias gladius, *Mediterranean*.

Introduzione

Scopo della presente nota è quello di descrivere il possibile ruolo della presenza sul pesce spada del Mar Ligure del Cirripede toracico peduncolato *Conchoderma virgatum* (Spengler, 1790). Si tratta di una specie pelagica a larghissima distribuzione geografica, preferenzialmente di acque tropicali e/o temperate; il ritrovamento in acque fredde del Nord Atlantico è da mettere in relazione esclusivamente agli spostamenti dell'ospite (Beckett, 1968).

Esso si insedia sui più svariati substrati, dagli organismi marini alle carene della navi e alle boe, con preferenza per i soggetti in movimento; a differenza delle specie del genere *Lepas, C. virgatum* si trova raramente su oggetti flottanti (Roskell, 1969). Questo peduncolato è stato trovato su numerosi pesci, sia relativamente lenti come *Diodon hystrix* L., *Mola mola* (L.), *Cetorhinus maximus* (Gunnerus), sia buoni nuotatori come *Istiophorus platypterus* (Shaw e Nodder), *Tetrapturus audax* Philippi, *Xiphias gladius* L., *Isurus oxyrinchus* Rafinesque. L'insediamento avviene normalmente su parti dure dei pesci o su ectoparassiti, come ad esempio i Copepodi del genere *Pennella.* E' stato trovato anche su Cetacei, tartarughe, serpenti di mare, granchi pelagici, ecc. (per i riferimenti bibliografici si rimanda a Balakrishnan, 1969; Eckert ed Eckert, 1987; Beckett, 1968; Hastings, 1972).

Materiali e metodi

I campioni esaminati provengono da pesci spada prelevati durante le ricerche svolte in Mar Ligure sui grandi pelagici nell'ambito della legge 41/82. Le osservazioni e la raccolta dei campioni sono state effettuate direttamente a bordo o allo sbarco delle unità professionali che utilizzano il palamito di superficie per la pesca del pesce spada nel porto di Sanremo, Mar Ligure Occidentale, nel periodo estivo-autunnale degli anni tra il 1996 ed il 2001. Durante il periodo in esame sono stati rilevati 5455 pesci spada:

l'eventuale presenza di *C. virgatum* è stata annotata assieme alla sua localizzazione, alla misura ed al peso del pesce ospite. I Cirripedi presenti sulle quattro spade massivamente colonizzate sono stati contati per ottenere una stima della densità e misurati per la creazione di distribuzioni taglia/frequenza (come misura di riferimento si è presa l'altezza del capitolo).

Risultati

Se non si considera la presenza su Copepodi ectoparassiti appartenenti al genere *Pennella,* in quanto il dato statistico è alterato dal costume dei pescatori di strappare tali parassiti prima dello sbarco in banchina, nell'arco di sei anni di ricerca sono stati rinvenuti solamente 26 pesci spada colonizzati da *C. virgatum,* pari allo 0,48% del totale osservato (Tab. 1). Essi occupano un intervallo di taglia compreso tra 72 e 163 cm LJFL, ma per la maggior parte (n=18) sono rappresentati da esemplari giovani, appartenenti alle prime due classi d'età.

Tab. 1 - *C. virgatum* epibionte di pesci spada in Mar Ligure. In parentesi il numero di Cirripedi.
C. virgatum *settled on swordfish of the Ligurian Sea. The number of Cirripeds in parenthesis.*

Anno	**N° pesci spada osservati**	**N° pesci spada colonizzati da *C. virgatum***	**Localizzazione**		
			spada	mandibola	*Pennella* sp.
1996	462	6	4 (1117)	2 (2)	1 (3)
1997	888	3	2 (3)	1 (1)	2 (5)
1998	1078	5	4 (6)	1 (1)	2 (7)
1999	878	7	7 (10)	0	8 (21)
2000	922	2	2 (2)	0	0
2001	1227	3	2 (2)	1 (1)	1 (4)
TOTALE	**5455**	**26**	**21 (23)**	**5 (5)**	**14 (40)**

Generalmente la colonizzazione è limitata ad un piccolo numero di cirripedi per ogni pesce, ma durante l'estate-autunno 1996 sono stati rinvenuti 4 casi eccezionali di colonizzazione massiva, con elevatissimi valori di densità, localizzata sul rostro di altrettanti giovani esemplari di pesce spada, tutti appartenenti alla classe d'età 1+ (Tab. 2).

In tre casi si tratta principalmente di cirripedi adulti, con altezza del capitolo fino a 20,1 mm) che per la maggior parte presentano nella cavità palleale un grande numero di embrioni allo stadio naupliare, a diverso grado di sviluppo, che fanno pensare ad una colonizzazione avvenuta già da alcuni mesi; nell'ultimo caso, al contrario, sono prevalenti esemplari di piccola taglia (altezza del capitolo a partire da 2 mm), insediati da poco tempo (Fig. 1).

I pesce spada ospiti invece apparivano in stato di "sofferenza": infatti se confrontati con la regressione taglia/peso della popolazione del Mar Ligure, tutti si posizionano molto al di sotto della curva, a testimoniare uno stato di forte deperimento (Fig. 2).

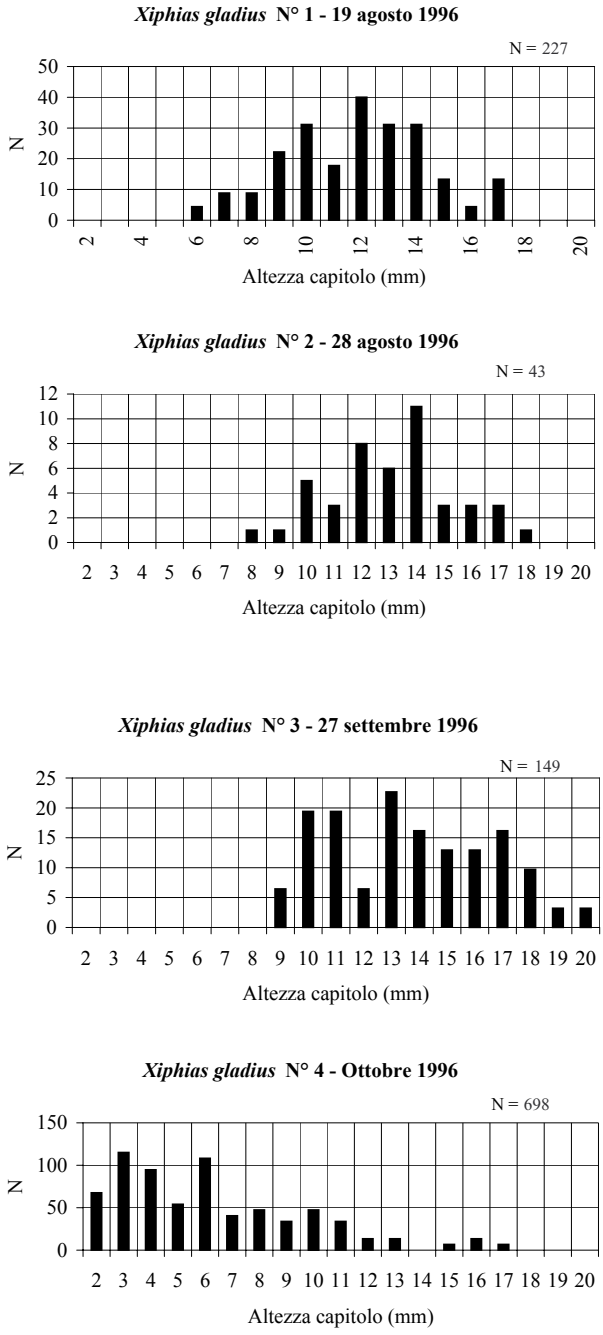


Fig. 1 - Distribuzioni taglia/frequenza dei *C. virgatum* sulle 4 spade massivamente colonizzate.
Size/frequency distributions of C. virgatum *on the 4 swordfish heavily settled by Cirripeds.*

Tab. 2 - Caratteristiche dei 4 pesci spada massivamente colonizzati.
Characteristics of 4 swordfish heavily settled by Cirripeds.

Pesce spada	Data	LJFL (cm)	Peso (kg)	N° *C. virgatum*	Area colonizzata cm^2	N/cm^2
1	19/08/96	85	4,5	227	46,25	4,9
2	28/08/96	74	2,3	43	31,92	1,3
3	27/09/96	85	4,3	149	44,1	3,4
4	ottobre-96	82	3,0	698	56,25	12,4

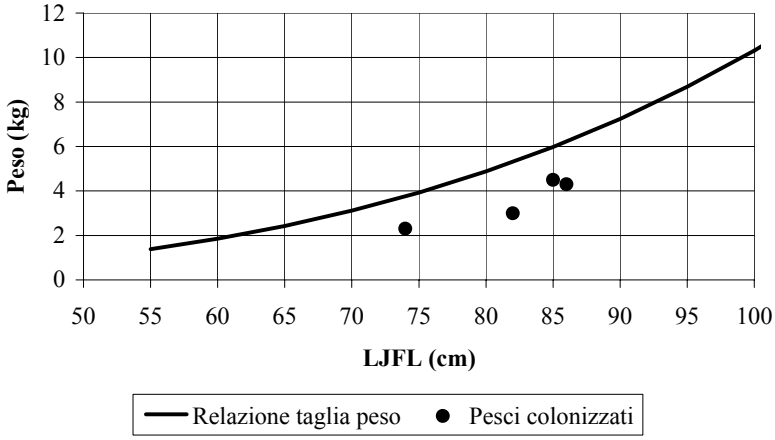


Fig. 2 - Posizione dei 4 pesci spada (•) in confronto alla relazione taglia peso della popolazione in Mar Ligure.
The 4 swordfish heavily settled (•) against the size/weight relationship of the Ligurian Sea population.

Conclusioni

La presenza di *C. virgatum* su pesce spada in Mar Ligure non è molto frequente (0,48%). Anche prendendo in considerazione la colonizzazione mediata da ectoparassiti del genere *Pennella*, la percentuale sarebbe vicina al 1%. Un dato analogo è segnalato da Beckett (1968) per il pesce spada dell'Atlantico occidentale.

In disaccordo con i dati atlantici è invece il riferimento alle dimensioni dei pesci colonizzati: mentre in Mar Ligure sono principalmente giovani di 1-2 anni, in Atlantico sembrano essere soprattutto i pesci di dimensioni maggiori ad essere colonizzati.

Si può tentare a questo punto una stima dell'età a partire dalle dimensioni degli individui, per stabilire da quanto tempo si siano insediati sulle spade. L'accrescimento giornaliero dell'altezza del capitolo in *C. virgatum* è stato stimato da numerosi autori: i valori oscillano tra 0,1 e 1,9 mm al giorno. MacIntyre (1966) riporta un tasso di crescita di 1,17 mm/giorno (taglia massima 20 mm), mentre uno studio svolto da Eckert

e Eckert (1987) su *C. virgatum* insediati su tartarughe che periodicamente venivano a deporre sulla spiaggia, quindi con misure ripetute nel tempo, fornisce un valore medio di accrescimento di 0,34 mm/giorno del capitolo: l'individuo più grande trovato era 16,7 mm con una età stimata di 60-70 giorni. Per quanto riguarda il presente campione, considerando valido un tasso di crescita medio di 0,34 mm/giorno, l'età dovrebbe variare da pochi giorni fino ad un massimo di 50-60 giorni per gli individui più grandi (20,1 mm).

Inoltre in Mar Ligure, sulla base degli individui osservati sul pesce spada, sembra che la comparsa delle lamine ovigere e quindi il raggiungimento della maturità sessuale, si abbia ad una taglia superiore a 8 mm. Similmente, gli individui maturi secondo Eckert e Eckert (1987) sono più grandi di 8,8 mm di altezza del capitolo, mentre per MacIntyre (1966) devono raggiungere almeno 11 mm.

Il rostro è uno strumento fondamentale per le attività di predazione del pesce spada. La colonizzazione massiva da parte di *C. virgatum*, oltre a procurare notevoli danni alla struttura ossea della spada nel punto di insediamento, va ad interferire soprattutto con le caratteristiche idrodinamiche e con le possibilità di alimentazione del pesce, da cui deriva il notevole effetto di "dimagrimento" realizzatosi nell'arco di soli 2 mesi.

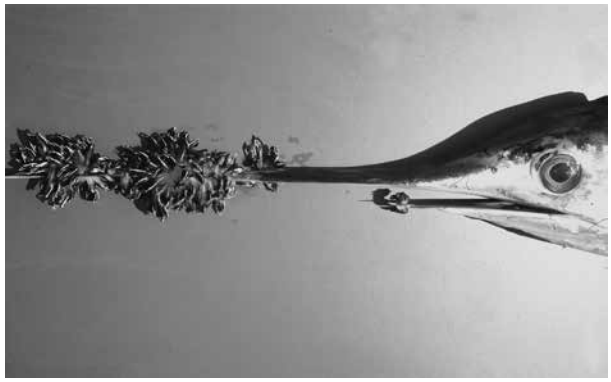


Fig. 3 - *C. virgatum* insediati sul rostro del pesce spada n°1 della Tab. 2.
C. virgatum *settles on the rottrin of swordfish n°1 Tab. 2.*

Bibliografia

BALAKRISHNAN K.P. (1969) – Observations on the occurrence of *Conchoderma virgatum* (Spengler) (Cirripedia) on *Diodon hystrix* Linnaeus (Pisces). *Crustaceana,* **16**: 101-103.

BECKETT J.S. (1968) – New records of the barnacle, *Conchoderma virgatum*, in the northwest Atlantic. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **25**: 1207-1210.

ECKERT L.K., ECKERT S.A. (1987) – Growth rate and reproductive condition of the barnacle *Conchoderma virgatum* on gravid leatherback sea turtles in Caribbean waters. *J. Crust. Biol*., **7** (4): 682-690.

HASTINGS R.W. (1972) - The barnacle, *Conchoderma virgatum* (Spengler), in association with the isopod, *Nerocila acuminata* Schioedte and Meinert, and the orange filefish, *Alutera schoepfi* (Walbaum). *Crustaceana,* **22** (3): 274-278.

MACINTYRE R.J. (1966) – Rapid growth in stalked barnacles. *Natura*, **212**: 637-638.

ROSKELL J. (1969) – A note on the ecology of *Conchoderma virgatum* (Spengler, 1790) (Cirripedia, Lepadomorpha). *Crustaceana*, **16** (1): 103-104.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1098-1100

V.M. Giacalone, G. D'anna, C. Pipitone, G. Di Stefano

IRMA–CNR, Laboratorio di Biologia Marina, Via G. da Verrazzano, 17
91014 Castellammare del Golfo, Trapani, Italia.

METODOLOGIA DI MARCATURA DEL SARAGO MAGGIORE, *DIPLODUS SARGUS* (L., 1758), CON ETICHETTE ESTERNE "T-BAR"

TAGGING METHOD FOR WHITE SEA BREAM, DIPLODUS SARGUS *(L., 1758), WITH EXTERNAL "T-BAR" TAGS*

Abstract

This paper reports a tagging procedure for juveniles of white sea bream (Diplodus sargus)*, with "T-bar" tags. A total of 105 fish (total length 135 ± 11 mm) were observed in aquarium for 60 days after tagging. Tagging mortality and tag retention rate were respectively 15% and 100%. Light blue, green and white tags were the most distinguishable by an underwater observer laying at 5 m from the tags.*

Key-words: *tagging,* Diplodus sargus*, T-bar, dart-style tag, NW Sicily.*

Introduzione

La marcatura delle specie ittiche è uno strumento indispensabile per seguire gli spostamenti degli individui, studiare l'uso dell'habitat e valutare l'efficienza dei ripopolamenti in mare (Sanchez-Lamadrid, 2001; Chauvet *et al.*, 1992; Sheaves *et al.*, 1999). Le etichette, o *tag*, sono tra i sistemi di marcatura più utilizzati specialmente negli studi che necessitano di un rapido riconoscimento *in situ* degli individui senza dover ricorrere alla loro cattura. Le etichette denominate "T-bar" sono particolarmente efficaci quando è necessario marcare un numero elevato di pesci (anche di piccole dimensioni) e poterli riconoscere in immersione (Nielsen, 1992; Parker *et al.*, 1998). In una recente iniziativa di ripopolamento ittico con giovanili di sarago maggiore nel Golfo di Castellammare (Sicilia Nord-occidentale), è stato deciso di marcare tutti gli individui (circa 7000) prima del rilascio in mare in tre siti, allo scopo di verificare l'efficienza del ripopolamento (Giacalone *et al.*, 2001). Nell'ambito del progetto è stata effettuata una serie di esperimenti preliminari per mettere a punto una valida metodologia di marcatura del sarago.

L'esigenza di utilizzare la tecnica del censimento visivo degli animali marcati ha reso necessaria l'individuazione di tre colori del *tag* facilmente distinguibili sott'acqua.

Materiali e metodi

105 saraghi (LT media 135 ± 11 mm) sono stati marcati e stabulati in acquario per 60 giorni di osservazione durante i quali sono stati registrati i dati sulla mortalità degli individui marcati e sulla ritenzione del *tag*.

Particolare attenzione è stata prestata sia alla scelta del punto d'inserzione che all'angolo di penetrazione del *tag* inserendolo circa 5 mm sotto la pinna dorsale, tra il 3° ed il 4° radio pinnario procedendo contro-scaglia e con un angolo massimo di 45° rispetto al corpo dell'animale. Durante l'operazione di impianto del *tag*, i pesci sono stati prima narcotizzati con 2-fenossietanolo (0,2 ml/l) quindi trasferiti in una vasca dotata di un diffusore collegato ad una bombola di ossigeno.

Per la scelta dei colori del *tag* si è ricorsi all'osservazione di sagome di sarago marcate con *tag* di cinque diversi colori nei siti di rilascio. Due operatori subacquei si ponevano a distanze di 1, 3 e 5 metri annotando il grado di visibilità per ogni colore.

Risultati

Dopo 60 giorni di osservazione degli esemplari marcati in acquario, il tasso di mortalità da marcatura è risultato pari al 15%, mentre la ritenzione del t-bar tag è stata del 100%.

A seguito delle prove effettuate in immersione sul sito di rilascio dei pesci, i colori maggiormente distinguibili fino a 5 metri dai due operatori subacquei sono risultati celeste, bianco e verde.

Conclusioni

Gli esperimenti eseguiti hanno consentito di produrre una valida metodologia di marcatura di piccoli sparidi. La scelta precisa del punto di inserzione si è rivelata particolarmente adatta per gli individui della taglia considerata, in quanto il *tag* non va ad interferire con i movimenti estensori della pinna dorsale. Inoltre, l'estremità libera del *tag* viene ad essere poco coinvolta nei movimenti della porzione caudale dell'animale durante il nuoto.

L'uso di un diffusore di ossigeno è stato molto utile per consentire ai pesci marcati di riprendere rapidamente le normali attività fisiologiche, annullando gli effetti dell'anestesia.

Infine, i risultati ottenuti in termini di ritenzione del *tag* o di mortalità degli individui marcati trovano conforto in altre esperienze di marcatura con "T-bar" (Szedlmayer e Howe, 1995; Winner *et al.*, 1998).

La scelta dei colori del *tag* ha reso possibile il rapido riconoscimento *in situ* degli esemplari marcati.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano: il personale dell'IRMA–CNR di Castellammare del Golfo, l'impianto di acquacoltura "Ittica Mediterranea" di Petrosino (TP), i dott.ri G. De Cordova e P. Pepe per l'aiuto fornito nelle operazioni di marcatura

Bibliografia

CHAUVET C., LASSERRE G., BACH P., BESSEAL L. (1992) - Resultats d'une experience de marquage de trois especes de poisson cotiers du golfe du Lion: *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata* et *Liza aurata. Cybium*, **16**: 3-11.

GIACALONE V.M., D'ANNA G., DE CORDOVA G., BADALAMENTI F., PIPITONE C. (2001) - Iniziativa di *restocking* del sarago maggiore *Diplodus sargus* (L., 1758) e tecniche di monitoraggio in un'area protetta con strutture artificiali nel Golfo di Castellammare. *NTR-IRMA*, **63**: 24 pp.

NIELSEN L.A. (1992) - *Methods of marking fish and shell fish.* American Fisheries Society, Bethesda: 208 pp.

PARKER N., GIORGI A.E., HEIDINGER R.C., JESTER D.B. JR., PRINC E.D., WINANS G.A. (1998) – *Fish Marking Techniques*. American Fisheries Society, Bethesda: 879 pp.

SANCHEZ-LAMADRID A. (2001) - Effectiveness of four methods for tagging juveniles of farm-reared gilthead sea-bream, *Sparus aurata*, L. *Fish. Manag. Ecol.*, **8**: 271-278.

SHEAVES M.J., MOLONY B.W., TOBIN A.J. (1999) - Spawining migrations and local movements of a tropical sparid fish. *Mar. Biol.*, **133**: 123-128.

SZEDLMAYER S.T., HOWE J.C. (1995) - An evaluation of six marking methods for age-0 red drum, *Sciaenops ocellatus. Fish. Bull.*, **93**: 191-195.

WINNER B.L., MCMICHAEL R.H. JR., BRANT L.L. (1998) - Evaluation of small T-anchor and dart tags for use in marking hatchery-reared juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus. Fish. Bull.*, **97**: 730-735.

Lavoro eseguito con contributo del M.I.P.A.F.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1101-1104

L. Kozinkova, C. Ennas *, S. Giuliani *, D. Pellegrini *

Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata - CIBM,
Viale N. Sauro, 4 - 57127 Livorno, Italia.
*I.C.R.A.M., Roma, Italia.

VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DEI GAMETI DI *PARACENTROTUS LIVIDUS* (LAMARCK) UTILIZZANDO $CU(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ COME TOSSICO DI RIFERIMENTO SU ANIMALI STABULATI E NON STABULATI

EVALUATION OF PARACENTROTUS LIVIDUS *(LAMARCK) GAMETS QUALITY USING* $CU(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ *AS REFERENCE TOXICANT ON INDIVIDUALS MAINTAINED IN AQUARIA AND COLLECTED* IN SITU

Abstract

Sea urchin Paracentrotus lividus *gamete's sensitivity to* $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ *was tested by the acute toxicity bioassay (spermiotoxicity test). The spermiotoxicity test was performed compairing animals maintained in glass aquaria for at least 7 days with animals collected in situ. The* EC_{50} *was evaluated after sperms exposition to* $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ *as reference toxicant, in each of test group. The results show that maintained in aquaria animals sensibility to the toxicant was lower than the collected in situ ones. Moreover, as for maintained in aquaria animals a lower variability in values of* EC_{50} *was observed.*

Key-words: *sea urchin, toxicity test, reference toxicant,* EC_{50}.

Introduzione

Il riccio di mare è notoriamente utilizzato come organismo test in ecotossicologia (Dinnel *et al*., 1987). I suoi gameti grazie alla loro elevata sensibilità alle sostanze tossiche possono essere usati come indicatori della presenza di inquinanti nelle acque marine (Chapman, 1995).

In questo studio sono state condotte delle prove di spermiotossicità con organismi della specie *Paracentrotus lividus*, ampiamente diffusa in tutto il Mediterraneo. In questa zona l'animale è attivo sessualmente solo nei mesi del periodo invernale e primaverile (ottobre-maggio).

In particolare si è voluta confrontare, applicando il test di spermiotossicità, la sensibilità ad un tossico di riferimento di gameti ottenuti da organismi stabulati con quelli prelevati in natura, con i quali è stato eseguito il saggio di spermiotossicità in giornata.

Gli esperimenti sono stati condotti nell'arco di circa due anni, durante i quali si è visto una generale lieve diminuzione della sensibilità da parte degli organismi stabulati in acquario. Inoltre si può per ora affermare che la stabulazione in acquario contribuisce ad un'uniformità di risposta biologica nei confronti del tossico.

Materiali e metodi

Gli organismi presi in esame sono stati raccolti in una zona lontana da potenziali fonti di inquinamento, ad 1-1,5 m di profondità. Gli animali raccolti sono stati trasportati in contenitori di plastica, sommersi nella stessa acqua del sito di prelievo e coperti con uno strato di carta bibula umida per minimizzare lo stress del trasporto.

La stabulazione degli organismi è stata effettuata in acquari di vetro (20-30 individui per 100 litri).

L'intensità della luce è stata mantenuta costante a 42-46×10³Lux, poichè non sono stati riscontrati vantaggi nell'applicazione di un fotoperiodo. Periodicamente sono state controllate le variabili principali quali la temperatura (16 ± 1 °C), la salinità (34-38‰), il pH (7,8-8,2), l'ammoniaca e i nitrati.

I ricci sono stati alimentati, *ad libitum*, due volte alla settimana, con un misto di macroalghe e *Parapeneaus longirostris*.

Il tempo di stabulazione è variato da un minimo di 7 giorni ad un massimo di 4 mesi (necessario per poter eseguire gli esperimenti anche nel periodo estivo).

Allo scopo di effettuare il test di spermiotossicità, l'emissione dei gameti è stata provocata tramite iniezione di KCl 1M nella cavità celomatica degli organismi. Lo sperma è stato raccolto a secco e conservato a 4 °C. La raccolta delle uova è stata effettuata a umido in un becher. Le uova sono state raccolte e lavate tre volte e conservate a 18 °C. Gli spermatozoi sono stati conteggiati nella camera di Thoma e diluiti in acqua di mare pochi minuti prima di eseguire il test.

L'allestimento del test prevedeva quattro diluizioni di $Cu(NO_3)\cdot 3H_2O$ (16, 32, 46, 64 µg/l), ed un controllo in acqua di mare filtrata, tutto da eseguire in tre repliche. Gli spermatozoi sono stati esposti per un'ora ai campioni, dopodiché sono state aggiunte le uova. Dopo 20 minuti il test è stato bloccato mediante l'aggiunta di formalina. In ogni camera test sono state inserite 200 uova e spermatozoi in un rapporto di 1:15000. Al microscopio sono state conteggiate le percentuali di fecondazione in ciascun campione. I risultati riferiti al tossico sono stati normalizzati rispetto al controllo mediante la correzione di Abbott. Con i dati corretti è stato calcolato il valore di EC_{50} con il programma Spearman-Kaber (versione 1,5).

Risultati

Nella Tab. 1 sono riportati i valori ottenuti eseguendo il test di spermiotossicità con organismi non stabulati. Nella Tab. 2 si riportano i dati relativi agli animali stabulati.

Tab. 1 - Valori di EC50 degli organismi non stabulati. *Range* di EC50:16,76-42,93 µg/l.
EC50 values of specimens collected in the field. Range *EC50:16,76-42,93 µg/l.*

Data di esecuzione del saggio	EC50 (µg/l)	Limite fiduciale inferiore (µg/l)	Limite fiduciale superiore (µg/l)
24/01/01	17,21	12,40	23,90
05/02/01	42,93	37,21	49,52
24/04/01	21,77	20,15	23,53
18/11/01	16,76	13,80	20,35
03/12/01	21,77	18,68	25,38
10/12/01	20,36	16,82	24,65
17/12/01	19,76	16,15	24,17
14/01/02	33,57	29,01	36,02
06/02/02	20,36	16,75	24,76
05/03/02	27,13	24,63	29,88
03/04/02	33,51	27,05	39,58

Tab. 2 - Valori di EC50 degli organismi stabulati. *Range* di EC50: 26,40-37,96 µg/l.
EC50 values of specimens maintained in aquaria. Range *EC50: 26,40-37,96 µg/l.*

Data di esecuzione del saggio	EC50 (µg/l)	Limite fiduciale inferiore (µg/l)	Limite fiduciale superiore (µg/l)
14/02/01	36,44	31,69	41,91
23/03/01	28,44	25,44	31,79
06/06/01	30,46	26,02	35,66
04/07/01	33,34	31,27	35,66
19/07/01	26,40	23,62	29,51
12/12/01	27,61	20,82	36,61
09/01/02	29,45	25,07	34,60
22/01/02	37,96	31,98	45,05
21/01/02	35,99	32,92	39,36
14/02/02	34,53	31,58	37,75
12/04/02	29,45	25,07	34,60

Nella Fig. 1 i risultati sono messi a confronto.

Le prove sono state eseguite all'interno del periodo riproduttivo dell'animale in natura. Stabulando gli animali, si è ottenuto un allungamento del periodo riproduttivo fino al mese di luglio, in cui, i valori di EC_{50}, rientrano nel *range* di accettabilità.

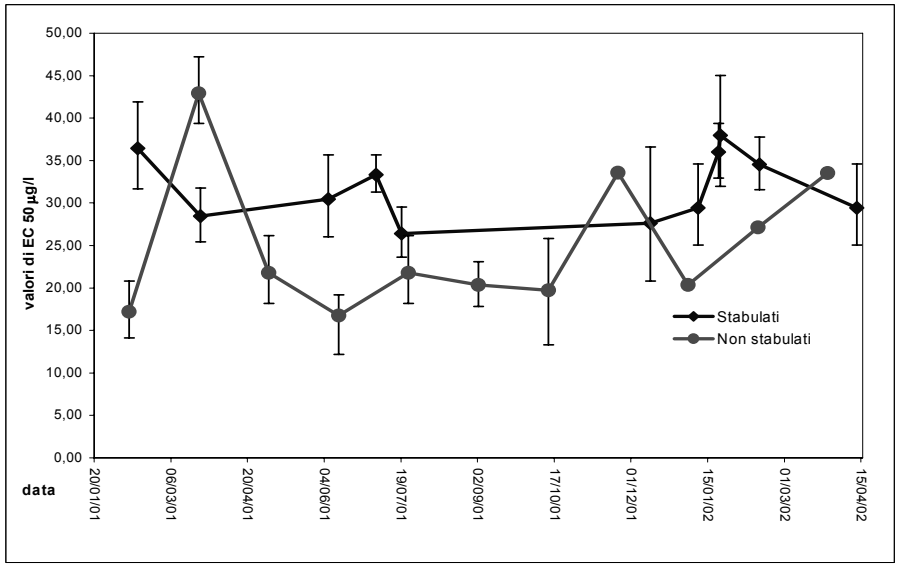


Fig. 1 - Valori di EC50 (µg/l) ottenuti in due anni di studio.
EC50 values (µg/l) obtained in two years of studies.

Conclusioni

La messa a punto delle condizioni di stabulazione ha portato ad un miglioramento della qualità dei gameti e ad una lieve diminuzione della sensibilità al tossico, con risposte più uniformi nel tempo. Si è visto invece che se gli organismi vengono usati immediatamente dopo la raccolta, si possono ottenere risposte falsamente positive poichè gli inquinanti presenti nelle sostanze da testare vengono ad interagire con organismi già debilitati, mentre potrebbero non avere effetto su organismi direttamente in campo. La stabulazione consente di ridurre la variabilità dei numerosi fattori ambientali e consente di superare lo stress dovuto alla raccolta e al trasporto.

Infine, i risultati ottenuti nel periodo estivo aprono buone prospettive per provare a prolungare ulteriormente il periodo riproduttivo del riccio di mare *Paracentrotus lividus.*

Bibliografia

CHAPMAN G.A. (1995) - Sea urchin sperm cell test. In: Rand G.M. (ed), *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment.* 2nd Ed., Taylor and Francis, Bristol, PA: 189-205.

DINNEL P.A., LINK J.M., STOBER Q.J. (1987) - Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*., **16**: 23-32.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1105-1107

M. Licciano, L. Stabili*, R.A. Cavallo*, A. Giangrande

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università di Lecce,
Via Prov. le Lecce-Monteroni - 73100 Lecce, Italia.
*Istituto Sperimentale Talassografico "A. Cerruti", C.N.R., Taranto, Italia.

PROVE DI STABULAZIONE PER LA VALUTAZIONE DELLA CAPACITA' DI ACCUMULO MICROBIOLOGICO CON IL SABELLIDE FILTRATORE *SABELLA SPALLANZANII* (ANNELIDA: POLYCHAETA)

PRELIMINARY STUDIES ON THE FILTER-FEEDERS SABELLA SPALLANZANII *(ANNELIDA: POLYCHAETA) STARVATION AND MICROBIOLOGICAL ACCUMULATION*

Abstract

Different bacterial groups concentration determined in starved individuals of Sabella spallanzanii *(Annelida: Polychaeta) was compared to that reported for the immediately processed specimens and sea water from both sampling site and starvation aquarium. A microbial accumulation in worm homogenates was enhanced for some bacterial groups whilst other ones were removed.*

Key-words: *microbial accumulation,* Sabella spallanzanii*, Ionian Sea.*

Introduzione

Numerosi studi, condotti allo scopo di valutare la capacità di accumulo microbiologico da parte di diversi organismi marini, hanno evidenziato come varie specie di filtratori possano svolgere un ruolo importante nel processo di autodepurazione delle acque. Gli Anellidi Policheti sono in genere ancora poco studiati contrariamente ad altri gruppi di simile importanza biologica. In particolare, gli studi relativi al processo di filtrazione nella famiglia *Sabellidae* risultano molto scarsi e riguardano principalmente l'anatomia della corona branchiale. Il presente lavoro rappresenta uno studio preliminare relativo alla capacità di accumulo microbiologico di *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791), un filtratore tubicolo tipico di ambienti eutrofici come le aree portuali, per il quale gli aspetti qualitativi e quantitativi del processo di filtrazione sono ancora quasi completamente sconosciuti.

Materiali e metodi

Individui adulti di *S. spallanzanii* sono stati prelevati nel Mar Grande di Taranto e trasferiti in laboratorio, dove sono stati suddivisi in due sets di 10 individui ciascuno: il primo set è stato posto a stabulare per 48 h in un acquario precedentemente allestito con acqua di mare sterile (T = 18 °C; Sal. = 37‰), mentre i restanti 10 individui (policheti di partenza) erano immediatamente prelevati, estratti dai tubi ed omogenati per 90 sec. L'omogenato è stato quindi filtrato con garza sterile ed opportunamente diluito con soluzione fisiologica sterile per procedere alla ricerca qualitativa e quantitativa dei batteri accumulati. La stessa procedura è stata adottata, allo scadere delle 48 h, anche per i vermi stabulati. Sono stati, inoltre, prelevati campioni d'acqua sia dal biotopo di campionamento dei policheti sia dall'acquario di stabulazione. Tutti i campioni sono stati analizzati per valutare i seguenti parametri batteriologici: conta microbica totale a

37 °C, mediante diluizioni scalari e semina per inclusione in Plate Count Agar (PCA); conta dei batteri eterotrofi marini, mediante diluizioni scalari e semina per spread plate su Marine Agar (MA); streptococchi fecali e coliformi totali e fecali, mediante la metodica MPN (Most Probable Number) riportata negli Standard Methods; vibrioni, seminando il campione di acqua o di polpa in acqua peptonata e successivamente su piastre di TCBS agar (Difco) più 2% NaCl.

Risultati

La concentrazione dei batteri negli omogenati degli animali di partenza risultava superiore a quella riscontrata nell' ambiente marino per i coliformi totali (Fig. 1), i batteri ambientali (Fig. 2), i vibrioni (Fig. 3) e la conta microbica a 37 °C (Fig. 4).

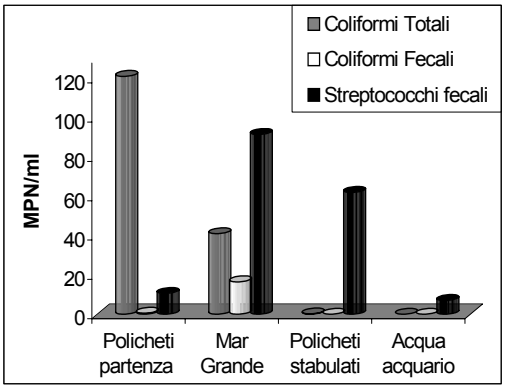


Fig. 1 - Indicatori di inquinamento microbiologico.
Pollution microbial indicators.

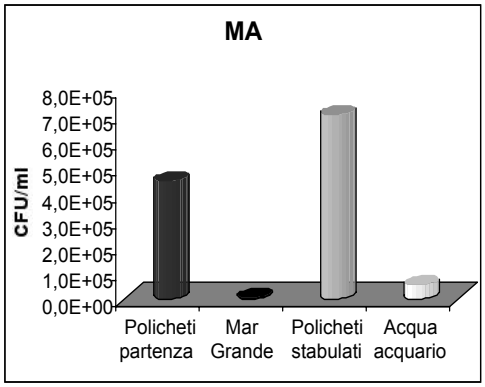


Fig. 2 - Analisi quantitativa della flora batterica eterotrofa.
Quantitative analysis of the culturable heterotrophic bacteria.

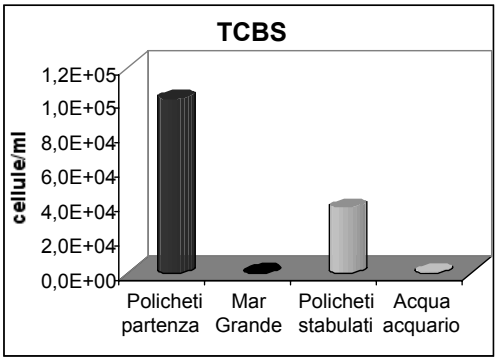


Fig. 3 - Analisi quantitativa dei vibrioni.
Vibrios quantitative analysis.

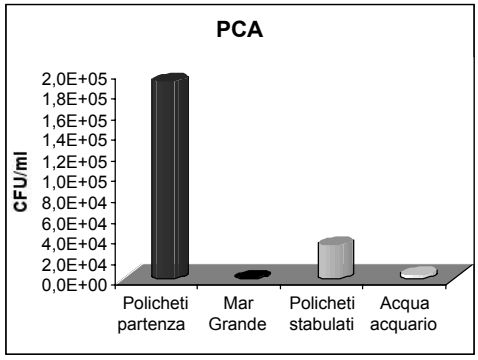


Fig. 4 - Conta batterica totale a 37 °C.
Bacterial total count (37 °C).

La concentrazione dei vibrioni e dei batteri totali a 37 °C si riduceva nell'omogenato dei policheti stabulati rispetto a quella degli animali di partenza (Figg. 3 e 4). Al contrario, aumentava la densità dei batteri ambientali (Fig. 2) e degli streptococchi fecali (Fig. 1). I coliformi fecali risultavano completamente assenti nell'omogenato degli animali stabulati mentre erano presenti sia nel sito di campionamento, sia nell'omogenato degli animali non stabulati (Fig. 1). La concentrazione dei batteri nell'acquario di stabulazione risultava sempre minore di quella riscontrata nell'omogenato degli animali stabulati mentre, nello stesso acquario, i coliformi totali e fecali erano assenti (Fig. 1).

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno evidenziato in *S. spallanzanii* una notevole capacità di accumulo microbiologico di varie delle categorie batteriche esaminate rispetto all'ambiente marino, confermando la possibilità di impiego di questa specie come biorimediatore di acque contaminate, costituendo un vero e proprio "filtro biologico". Tuttavia, gli animali riescono a digerire o comunque a rimuovere la maggior parte dei batteri dopo la stabulazione. Particolarmente interessante è risultata la completa assenza nell'omogenato degli animali stabulati di coliformi fecali la cui presenza era stata invece rilevata sia nel biotopo di campionamento sia nell'omogenato degli animali non stabulati. Al contrario, è stata riscontrata una notevole resistenza degli streptococchi fecali ai processi di degradazione batterica operati da *S. spallanzanii* ed anche la capacità di questi batteri Gram-positivi di moltiplicarsi all'interno degli animali. In relazione a ciò, i nostri risultati sono in accordo con quanto precedentemente osservato da diversi autori secondo i quali la maggiore o minore resistenza esibita dai diversi ceppi batterici nei confronti dei processi di degradazione operati da metazoi in ambiente acquatico, sembrerebbe essere associata alla morfologia e ultrastruttura delle cellule batteriche (Plante e Mayer, 1994; Prieur *et al*., 1990). E' stato, infatti, dimostrato che i batteri Gram-positivi sono in genere molto più resistenti dei Gram-negativi ai processi digestivi in molti invertebarti marini (Plante e Mayer, 1994; Plante e Shriver, 1998). Allo stato attuale non sono ancora ben chiari i meccanismi fisiologici attuati dalle varie specie e dai policheti in particolare per degradare i batteri, sebbene la produzione di muco e il movimento ciliare, così come la sintesi di sostanze antibatteriche, sembrerebbero essere determinanti (Canicattì e D'Ancona, 1990).

Bibliografia

CANICATTÌ C., D'ANCONA G. (1990) - Biological protective substances in *Marthasterias glacialis* (Asteroidea) epidermal secretion. *J. Zool. Lond.,* **222**: 445-454.

PLANTE C.J., SHRIVER A. (1998) - Differential lysis of sedimentary bacteria by *Arenicola marina*: examination of cell wall structure and exopolimeric capsules as correlates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* **229**: 35-52.

PLANTE C.J., MAYER L.M. (1994) - Distribution and efficiency of bacteriolysis in the gut of *Arenicola marina* and three additional deposit feeders. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **109**: 183-194.

PRIEUR D., MEVEL G., NICOLAS J.L., PLUSQUELLEC A., VIGNEULLE M. (1990) - Interaction between bivalve molluscs and bacteria in the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. A. Rev.,* **28**: 277-352.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1108-1111

A. Lo Giudice, L. Michaud, A. Allegra, V. Bruni

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,
Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.
vivia.bruni@unime.it

BATTERI PSICROTROFI PROVENIENTI DA HABITAT DIVERSI DEL MARE DI ROSS (BAIA TERRA NOVA, ANTARTIDE)

PSYCHROTROPHIC BACTERIA ISOLATED FROM VARIOUS HABITATS OF THE ROSS SEA (TERRA NOVA BAY, ANTARCTICA)

Abstract

Samples of superficial microfilm, sediments by sedimentation traps, mollusk fecal pellets and intestinal content of two Antarctic fishes were collected at Terra Nova Bay (Antarctica) during the XIII Oceanographic Cruise in the 1997-1998 Antarctic Summer. Fifty-three aerobic heterotrophic cultivable bacterial strains were isolated from these different habitats and their morphological, physiological and biochemical characteristics were analyzed. Phenotypic tests have led to their identification at the genus level.

Key-words: *psychrotrophic marine bacteria, phenotypic characterization.*

Introduzione

Nel corso di precedenti indagini (Bruni *et al.*, 1999; Maugeri *et al.*, 1991, 1996) erano stati caratterizzati fenotipicamente ceppi batterici isolati solo da campioni d'acqua del Mare di Ross, mentre lo studio di cui si riferiscono i risultati è stato condotto su ceppi isolati da habitat marini diversi (film superficiale, sedimenti da trappole di sedimentazione, fecal pellet di mollusco e contenuto intestinale di due specie di pesci). Lo scopo di questo lavoro è stato, pertanto, quello di ampliare le conoscenze attuali sulla comunità batterica vitale e coltivabile dell'ambiente marino Antartico, analizzando dal punto di vista fenotipico ceppi batterici eterotrofi provenienti dal Mare di Ross (Baia Terra Nova).

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 53 ceppi di batteri eterotrofi, vitali e coltivabili, isolati su Marine Agar 2216 (Difco) da campioni di fecal pellet di mollusco, di sedimento (da trappole di sedimentazione), di contenuto intestinale di *Cygnodraco mawsoni* e *Trematomus bernacchii* e di film superficiale (20 micron), prelevati a Baia Terra Nova durante la XIII Spedizione Italiana in Antartide (Estate Antartica 1997-98).

I ceppi batterici in esame sono stati sottoposti ad un insieme di analisi di tipo morfologico, fisiologico e biochimico utilizzando metodiche classiche. Per tutti i test effettuati, dove non specificato altrimenti, l'incubazione è stata condotta alla temperatura di 12 °C per un periodo di tre settimane.

Per quanto riguarda i test morfologici sono state effettuate la reazione al Gram e la colorazione di spore e flagelli (Leifson *et al.,* 1964). Gli isolati sono stati sottoposti a prove di crescita in Marine Broth (Difco) alle temperature di +4 °C, +20 °C e +30 °C per un periodo di incubazione di 21 giorni. È stata testata l'idrolisi di sostanze complesse quali chitina (Brisou *et al.*, 1964) e agar (Vera *et al.*, 1998). L'attività lipolitica (Sierra, 1957) è stata valutata su Tween 80 alle stesse condizioni adottate per la crescita

in Marine Broth. È stata saggiata la sensibilità a due antibiotici (Penicillina G e Polimixina B) ed un vibriostatico (O/129). Le principali caratteristiche biochimiche sono state studiate utilizzando i sistemi miniaturizzati API 20E e API 20NE. La capacità di utilizzare il glucosio è stata valutata sul terreno proposto da Lemos *et al.* (1985).

L'identificazione fino a livello di genere dei 53 ceppi batterici isolati è stata condotta sulla base dello schema tassonomico di Oliver (1982) per i batteri Gram negativi e della chiave proposta da Dainty *et al.* (1979) per quelli Gram positivi.

Risultati

I batteri Gram negativi a forma di bastoncello sono risultati predominanti (85%). Il 30% era dotato di motilità per presenza di un flagello polare. Il 45% dei ceppi batterici esplicava attività lipolitica su Tween 80, l'11,3% attività chitinolitica e il 26,5% agarolitica. Quest'ultima attività era attribuibile principalmente ai ceppi isolati dal film superficiale. Il 68% dei ceppi batterici era in grado di idrolizzare l'esculina, mentre il 26,4% la gelatina. I substrati maggiormente assimilati sono stati il malato ed il glucosio. Soltanto dal contenuto intestinale di *T. bernacchii* sono stati isolati ceppi fermentanti il glucosio.

L'analisi dei dati fenotipici ha consentito di giungere all'identificazione dei ceppi batterici in esame appartenenti ad otto generi distinti (Tab. 1).

Tab. 1 - Numero di generi batterici per tipologia di campione.
Number of bacterial genera for each kind of sample.

Genere	Tot	*Sedimenti*	*Film superficiale*	*Fecal pellet*	*Cygnodraco mawsoni*	*Trematomus bernacchii*
Pseudomonas	16	3	8	0	1	4
Micrococcus	8	0	8	0	0	0
Moraxella	7	2	2	2	1	0
Aeromonas	6	0	0	0	0	6
Cytophaga	6	1	5	0	0	0
Acinetobacter	5	0	4	0	1	0
Xanthomonas	4	0	3	1	0	0
Flexibacter	1	1	0	0	0	0
Totale	53	7	30	3	3	10

È stata confermata la predominanza del genere *Pseudomonas*, assente solamente nei campioni di fecal pellet. Il genere *Micrococcus* è stato isolato unicamente dai campioni di film superficiale. Ceppi di *Aeromonas* spp. sono stati ottenuti soltanto dal contenuto intestinale del *T. bernacchii*.

Conclusioni

I batteri isolati erano prevalentemente psicrotrofi (Morita, 1975). È noto, infatti, che gran parte degli attuali procarioti antartici crescano meglio a temperature più elevate

rispetto a quelle che caratterizzano il loro ambiente naturale.

Appare confermata la predominanza di ceppi batterici appartenenti al genere *Pseudomonas*, rilevata anche nel corso di precedenti indagini (Bruni *et al.*, 1999; Maugeri *et al.*, 1991).

L'abbondanza di ceppi del genere *Micrococcus* nei campioni di film superficiale è probabilmente legata alla tipologia del campione. Infatti, è ben noto come il film superficiale sia più ricco di cellule batteriche Gram positive e, peraltro, pigmentate come protezione nei confronti delle radiazioni solari (Singleton e Boyd, 1992).

L'attività lipolitica è stata rinvenuta in una percentuale più bassa rispetto a quella registrata nel corso delle precedenti indagini (Bruni *et al*., 1999; Maugeri *et al*., 1996). Da sottolineare che, al contrario, è stata isolata una percentuale maggiore di ceppi batterici chitinolitici (11,3%) e agarolitici (26,5%), questi ultimi decisamente più abbondanti nel film superficiale. L'idrolisi della chitina riveste notevole importanza ecologica trattandosi di un biopolimero che, essendo il costituente principale dell'esoscheletro dei crostacei, è presente in notevoli quantità nell'ecosistema marino Antartico dove il krill è abbondante.

Sono stati isolati soltanto 6 ceppi batterici fermentanti il glucosio (*Aeromonas* spp.), tutti derivanti da campioni del contenuto intestinale di *T. bernacchii*. Ciò potrebbe essere dovuto alle condizioni di anaerobiosi che si possono riscontrare in alcuni tratti del canale digerente.

L'indagine condotta ha consentito di ottenere importanti ed ulteriori informazioni sulle caratteristiche metaboliche e fisiologiche dei ceppi antartici e di arricchire la Collezione del Museo Nazionale dell'Antartide "Felice Ippolito", la cui banca di batteri marini ha sede a Messina.

Pur consapevoli che le ricerche sulla caratterizzazione fenotipica di batteri coltivabili sono sottoposte al giorno d'oggi a frequenti critiche poiché vengono considerate poco oggettive e obsolete, è nostra opinione che esse rappresentino ancora un metodo valido per verificare le potenziali capacità biochimiche e fisiologiche batteriche, le quali rivestono notevole importanza nella comprensione del funzionamento di un ecosistema.

Bibliografia

BRISOU J., TYSSET C., DE RAUTLIN A., DE LA ROY Y., CURCIER R., MOREAU R. (1964) - Etude sur la chitinolyse a milieu marin. *Ann. Inst. Pasteur,* **106**: 469-478.

BRUNI V., GUGLIANDOLO C., MAUGERI T., ALLEGRA A. (1999) - Psychrotrophic bacteria from a coastal station in the Ross Sea (Terra Nova Bay, Antarctica) – *Microbiologica,* **22**: 357-363.

DAINTY R.H., SHAW B.G., HARDING C.D., MICHANE S. (1979) - The spoilage of Vacuum-packed beef by cold tolerant bacteria. In: Russel A.D., Fuller R. (eds), *Cold tolerant microbes in spoilage and the environment*, Academic Press inc.: 83-100.

LEIFSON E., COSENZA B.L., MURCHELANO R., CLEVERDON R.C. (1964) - Motile marine bacteria. I. Techniques, ecology and general characteristic. *J. Bacteriol.,* **87**: 652-666.

LEMOS M.L., TORANZO A.E., BARRJA J.L. (1985) - Modified medium for the oxidation-fermentation test in the identification of marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.,* **49**: 1541-1543.

MAUGERI T.L., BRUNI V., ACOSTA POMAR M.L.C. (1991) - On the characteristics of the microflora in Terra Nova Bay waters (Antarctica). *Microbiologica,* **14**: 55-64.

MAUGERI T.L., GUGLIANDOLO C., BRUNI V. (1996) - Heterotrophic bacteria in the Ross Sea (Terra Nova Bay, Antarctica). *Microbiologica,* **19**: 67-76.

MORITA R.Y. (1975) - Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.,* **39** (2): 144-167.

OLIVER J.D. (1982) - Taxonomic scheme for the identification of marine bacteria. *Deep Sea Res.,* **29** (6A): 795-798.

SIERRA G. (1957) - A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **23**: 15 pp.

SINGLETON F.L., BOYD R.F. (1992) - Microbiologia delle acque. In: Boyd R.F. (ed), *Microbiologia generale*, Medical Books: 609-637.

VERA J., ALVAREZ R., MURANO E., SLEBE J.C., LEON O. (1998) - Identification of a marine agarolytic *Pseudoalteromonas* isolate and characterization of its extracellular agarase. *Appl. Environ. Microbiol.,* **64** (11): 4378-4383.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1112-1114

A. Pederzoli, B. Parisini, A. Gambarelli, A. Spano'*, L. Mola

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia, Via Campi, 213/D
41100 Modena, Italia.
*Azienda ittica Valle Figheri, Lova, Venezia, Italia.

LOCALIZZAZIONE ISTOCHIMICA E IMMUNOISTOCHIMICA DELL'OSSIDO NITRICO NEL TRATTO DIGERENTE IN SVILUPPO DI *DICENTRARCHUS LABRAX*

HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF NITRIC OXIDE IN THE DEVELOPING GUT OF DICENTRARCHUS LABRAX

Abstract

In this study we present the occurrence of nitric oxide in the gut during the first larval phases in Dicentrarchus labrax *(Osteichtyes). The histochemical and immunohistochemical tests were carried out in 3, 8, and 24 days and 5 months old specimens.*

Key-words: *teleosts, development, gut, nitric oxide.*

Introduzione

Nell'ambito di indagini sulla comparsa e distribuzione di molecole regolative durante lo sviluppo dell'apparato digerente di spigola (*Dicentrarchus labrax*), abbiamo preso in considerazione la localizzazione dell'ossido nitrico (NO), il cui possibile ruolo regolativo nello sviluppo è stato studiato prevalentemente nei mammiferi. Abbiamo utilizzato sia la metodica istochimica per l'evidenziazione della NADPH-diaforasi, enzima considerato indicativo della presenza di NO e spesso utilizzato come marker, sia quella immunoistochimica per l'evidenziazione della NO sintasi (NOS), enzima che catalizza la produzione di NO, nella sua forma costitutiva nervosa (nNOS). Oltre che su esemplari a pochi giorni dalla schiusa, le indagini sono state condotte anche su regioni dell'intestino di giovani per verificare eventuali differenze nella distribuzione dell'ossido nitrico.

Materiali e metodi

Le condizioni di allevamento sono le seguenti: fotoperiodo con 24 ore di luce nei primi 12 giorni, salinità del 40 per mille nei primi 12 giorni, portata gradualmente al 30 per mille in sette giorni, temperatura di 16-18 °C. L'alimentazione è costituita da rotiferi arricchiti dal 5° al 16° giorno e da *Artemia* appena schiusa dal 10° giorno in poi. Sono state utilizzate larve a 3, 8 e 24 giorni dalla schiusa (rispettivamente 3, 6, e 10 mm circa) e tratti di intestino di animali di 5 mesi. Il materiale è stato in parte fissato in paraformaldeide 4% in PB, crioprotetto in PB più 25% di saccarosio per una notte e tagliato al criostato in sezioni di 14-16 μm di spessore, in parte fissato in Bouin, incluso in paraffina e tagliato in sezioni di 7 μm. Per l'evidenziazione immunoistochimica della nNOS è stato utilizzato un antisiero da coniglio contro la NOS1 (H-299) umana (Santa Cruz Biotecnology, Inc., USA) alla diluizione di 1:150. L'incubazione in camera umida è durata 40 ore a 4 °C. Dopo incubazione con anticorpo secondario (da capra anti coniglio) biotinilato (Dako A/S Denmark) per 30' e con il kit ABC

(Vector, Burlingame, CA) per 45', la perossidasi è stata evidenziata con diaminobenzidina (Sigma, St. Louis, USA). Il controllo delle reazioni è stato effettuato omettendo l'anticorpo primario e sostituendolo con siero normale da capra o con PBS 0,1 M (pH 7,4). Per la ricerca dell'attività diaforasica l'incubazione è stata condotta a temperatura ambiente per 4 ore secondo la metodica di Li e Furness (1993) utilizzando una miscela incubante con 0,25 mg/ml di Nitro BT, 1 mg/ml di NADPH e 0,2% di Tx100 in tampone TRIS 0,1 M a pH 7,6. Il controllo è stato eseguito omettendo il substrato dal mezzo di incubazione.

Risultati

Sia negli esemplari di 3 e 8 che in quelli di 24 giorni la NADPH-diaforasi è abbondantemente distribuita in tutte le cellule epiteliali e nelle terminazioni nervose della muscolatura intestinale, per l'intero tubo digerente (Fig. 1a). Negli stessi stadi larvali è presente immunoreattività per la nNOS, localizzata anch'essa nell'epitelio e nelle terminazioni nervose della parete intestinale (Fig. 1b). Nel complesso la positività della reazione immunoistochimica risulta meno intensa ma più definita rispetto a quella per la reazione istochimica. Nell'intestino di giovani sia l'attività enzimatica per la NADPH-diaforasi che l'immunoreattività per la nNOS scompaiono dall'epitelio e rimangono localizzate in neuroni e fibre nello spessore della parete.

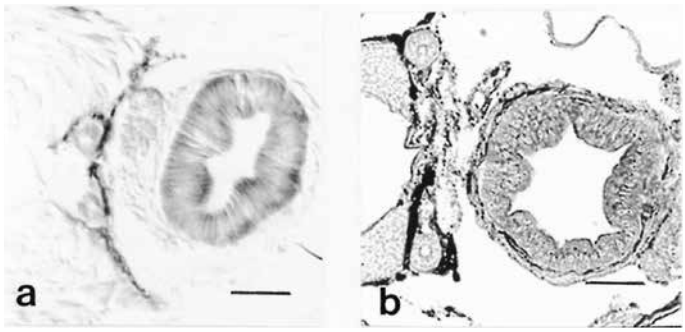


Fig. 1 - Microfotografie del tubo digerente in sviluppo di esemplari a 24 giorni dalla schiusa di *Dicentrarchus labrax* (L.). Barre = 50 μm. a) Sezione trasversale del tratto subterminale; reazione istochimica per la NADPH diaforasi. b) Sezione trasversale del tratto subterminale; reazione immunoistochimica con anticorpi anti-nNOS (1: 150).

Light microphotografs of developing gut of 24 days old specimens of Dicentrarchus labrax *(L.). Bars = 50 μm. a) Transversal section of subterminal region; histochemical reaction for the NADPH diaphorase. b) Transversal section of subterminal region; immunohistochemical reaction with antibodies anti nNOS (1: 150).*

Conclusioni

La positività della reazione immunoistochimica per la nNOS, meno intensa ma più definita rispetto a quella per la reazione istochimica per la NADPH diaforasi, concorda con l'opinione di Tracey *et al*. (1993) secondo la quale tutte le NOS conosciute sono NADPH diaforasi ma la NOS rappresenta solo una frazione della totale attività diaforasica cellulare.

In base ai nostri dati possiamo affermare che l'NO è presente nel sistema nervoso gastroenterico di larve di spigola già tre giorni dopo la schiusa. Il ruolo fisiologico attribuito a tale molecola nel controllo inibitorio della motilità intestinale, noto per teleostei adulti (Olsson e Holmgren, 2001), viene quindi assunto fin dai primi stadi di sviluppo.

La scomparsa dell'ossido nitrico dall'epitelio al termine dello sviluppo larvale suggerisce un ruolo regolativo nei processi di sviluppo e maturazione dell'apparato digerente, fin'ora noto solo per alcuni organi di mammiferi (Solhaug *et al*., 2000; Belai e Burnstock, 2000).

Bibliografia

BELAI A., BURNSTOCK G. (2000) – Pattern of distribution and co-localization of NOS and ATP in the myenteric plexus of human fetal stomach and intestine. *Neuroreport*, **11**: 5-8.

LI Z.S., FURNESS J.B. (1993) - Nitric oxide synthase in the enteric nervous system of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Arch. Histol. Cytol*., **56**: 185-193.

OLSSON C., HOLMGREN S. (2001) – The control of gut motility. *Comp. Biochem. Physiol*.,128A: 481-503.

SOLHAUG M.J., DONG X.Q., ADELMAN R.D., DONG K. W. (2000) – Ontogeny of neuronal nitric oxide synthase, NOS I, in the developing porcine kidney. *Am. J. Physiol*., **278**: 1453-1459.

TRACEY W.R., NAKANE M., POLLICK J.S., U. FORSTERMANN U. (1993) - Nitric oxide synthases in neuronal cells, macrophages and endothelium are NADPH diaphorases, but represent only a fraction of total cellular NADPH diaphorase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **195**: 1035-1040.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1115-1118

V. Piazza, M. Faimali, S. Geraci

CNR – Istituto di Scienze Marine (ISMAR), Via De Marini, 6 – 16100 Genova, Italia.

SETTLEMENT OF *BALANUS AMPHITRITE* (CRUSTACEA, CIRRIPEDIA) AS A POSSIBLE BEHAVIOURAL PARAMETER IN AN ALTERNATIVE TOXICOLOGICAL ASSAY

L' INSEDIAMENTO DI LARVE DI BALANUS AMPHITRITE *(CRUSTACEA, CIRRIPEDIA) COME UN POSSIBILE PARAMETRO COMPORTAMENTALE IN TEST TOSSICOLOGICI ALTERNATIVI*

Abstract

Settlement inhibition of Balanus amphitrite *(Darwin, 1854) is employed in antifouling research. This work investigates about the possibility of using this assay as a behavioural end-point in toxicological studies. The effect of chemically different substances on settlement rate has been evaluated and, where possible, its sensitivity compared with other behavioural parameters.*

Key-words: *larval settlement, toxicology,* Balanus amphitrite*, heavy metals, pesticides.*

Introduction

Settlement inhibition bioassay, using cypris larvae of *Balanus amphitrite* (Darwin, 1854), is commonly employed in the efficacy screening of antifouling compounds. The test is relatively short, simple and utilizes one of the key life-stages of an ecologically important shore species. Barnacles have a world wide geographical distribution, besides they can be easily reared in laboratory, reproduce continuously throughout the year and have a short life developmental cycle (6-7 days or less to obtain the cyprids, which is the competent larval stage of barnacles). Some authors investigated about a possible use of settlement as a behavioural end-point in toxicological studies concerning substances belonging to different chemical tipologies (Wu *et al.,* 1997; Zhang & Xuelei, 2002). Settlement process of *Balanus amphitrite* larvae, however, appears to be very complex, and its mechanisms are not yet well known. Aim of this work is to verify if different classes of compounds have the capability of influencing settlement. In order to evaluate the sensitiveness of this behavioural alteration, EC50 values were compared with data taken from literature.

Materials and methods

Barnacle culture

Larvae were obtained from laboratory- reared adult barnacles (collected in Genoa harbour). Cyprids were filtered and maintained in filtered (0.22 μm) natural sea-water for 5 days (5 old cyprids) at 6 °C prior to their use in settlement assay (Rittschof *et al.*, 1992).

Toxic solutions

We tested six different compounds belonging to three classes: two heavy metals ($HgCl_2$ and $CdCl_2$), two carbamates (Carbaryl and Methomyl) and two organophos-

phates (Diazinon and Pirimiphos). All test solutions were prepared in filtered (0.22 μm) natural sea-water at 37‰. Selected concentrations were 0.01-0.1-1-10 μg·ml^{-1}, for heavy metals three additional concentrations were tested (0.05-0.5-5 μg·ml^{-1}).

Settlement test

Settlement tests were performed by adding 15-20 cyprids to the 25-well-plates containing 4 ml of different test solutions. The plates were incubated at 28 °C for 72 h in a 16:8 L:D life-cycle. The settlement percentage was determined by counting settled larvae every 24 hours (end-point after 72 hours). Each experiment was performed in 4 replicates.

Statistical analysis

One-way ANOVA followed by SNK test has been performed to detect significant effects, compared to the control, of the used toxic concentrations on settlement,. EC50 values have been calculated by using the Probit method for $CdCl_2$. As regards $HgCl_2$, Methomyl and Diazinon our data did not fit the Probit model so a polynomial regression model was applied to determine the EC50s, as suggested by Charoy *et al*. (1995).

Results

All compounds (except Carbaryl) influence settlement rate, in different ways (Fig. 1). Both heavy metals inhibit settlement: $HgCl_2$ presents an highly significant difference respect to controls (SNK test, $\alpha = 0.01$) at 0.1 and 0.5 μg·ml^{-1} and at 1 μg·ml^{-1} it completely inhibits settlement. $CdCl_2$ shows a significant difference from the control only at 5 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.05$) and 100% settlement inhibition is reached at 10 μg·ml^{-1}. Carbaryl does not influence settlement in a significant way in the range of tested concentrations (SNK test), while Methomyl shows a significant increase of settlement rate at 0.1 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.05$) and a highly significant inhibition at 10 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.01$). As regards organophosphates, settlement rate for larvae treated with Diazinon shows a significant increase at 0.01 and a significant inhibition at 10 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.05$) and a highly significant increase both at 0.1 and 1 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.01$). Pirimiphos inhibits settlement in a highly significant way only at 10 μg·ml^{-1} (SNK test, $\alpha = 0.01$), while at lower concentrations its effect on cyprids' behaviour is not significant.

Tab. 1 - EC50 values calculated for our experiment and EC50 values taken from literature.
Valori di EC50 calcolati in questo lavoro e valori di EC50 trovati in letteratura.

		$CdCl_2$	**$HgCl_2$**	**Methomyl**	**Diazinon**
		(μg/ml)	(μg/ml)	(μg/ml)	(μg/ml)
This work	EC50 (96 h) *B. amphitrite*	2.17	0.09	3.4	7.5
Other works	EC50 (9h) *T. pyriformis*	3	2	–	–
	EC50(15min) *V. fischeri* (microtox)	8.3	0.11	–	–
	EC50 (72h) *P. lividus*	5.5 – 18.3	0.02 – 0.05	–	–
	EC50 (96h) *C. gigas*	–	–	>140	0,8

Conclusions

Our results show that tested compounds differently influence settlement behaviour of *B. amphitrite* larvae. A comparison between EC50s calculated in this work and EC50 values of the same compounds utilized in different toxicological assays found in literature has been made, in order to evaluate the sensitivity of this test (Tab. 1). Concerning heavy metals, it is evident for both compounds an inhibitory effect on settlement rate, even if $HgCl_2$ seems to be more toxic than $CdCl_2$. The EC50 value for $CdCl_2$ calculated in our experiment (2.17 $\mu g \cdot ml^{-1}$) is lower than values reported in other works: for example the effect of Cadmium on proliferation rate of the protozoan *Tetrahymena pyriformis* (Elliot, 1973) gives an EC50 of 3 $\mu g \cdot ml^{-1}$ (Bogaerts *et al*., 2001). In the same work it is also reported the EC50 value for the Microtox test (8.3 $\mu g \cdot ml^{-1}$), that uses the photobacterium *Vibrio fischeri* (Beijerinck, 1889). Another work (Office of Pesticide Programs, 2000) reports the influence of this compound on development of the sea-urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), and the EC50 value is in a range between 5.5 and 18.3 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

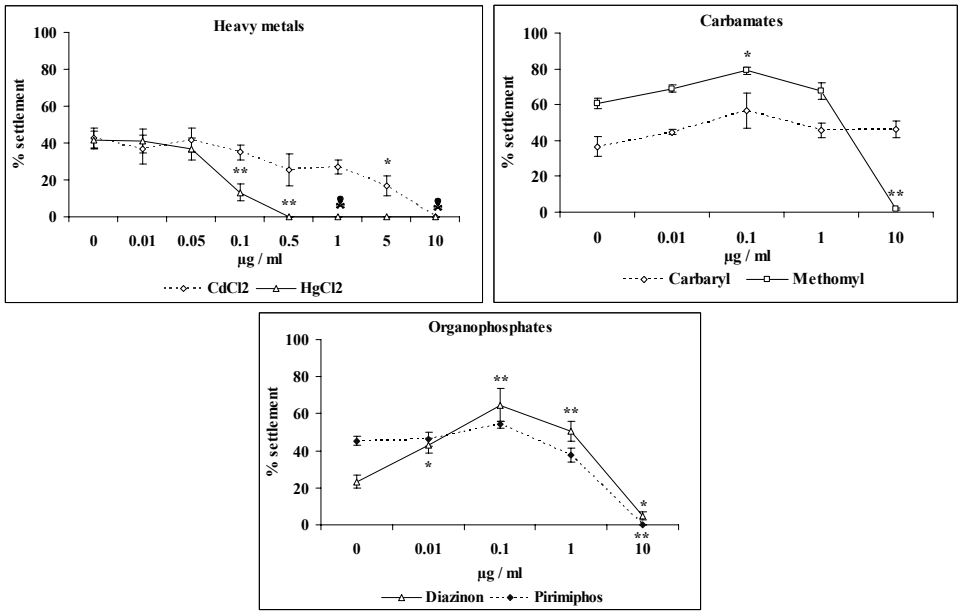


Fig. 1 - Settlement percentage after 72 h. * = significant difference compared to the control (SNK test, α=0.05);
** =highly significant difference compared to the control (SNK test, α=0.01). Bars indicate Standard Error (N=4).

*Percentuale di insediamento dopo72 h. * = differenza significativa rispetto al controllo (SNK test, α=0.05);*
*** = differenza altamente significativa rispetto al controllo (SNK test, α=0.01). Le barre indicano l'Errore Standard (N=4).*

As regards $HgCl_2$, our EC50 value was 0.09 $\mu g \cdot ml^{-1}$, and the EC50 values for the above-mentioned works are very similar; for heavy metals this test shows therefore a

good sensitivity. As regards Methomyl and Diazinon, we have observed that both compounds show an increase in settlement rate at low doses and a decrease at high doses, and are characterized by a typical hormetic dose-response curve. Many biological systems, at low levels of toxicity, display an overcompensation response to disruptions in homeostasis, which results in the apparent low-dose stimulation component of the response curve. At higher concentrations the system often shows a more limited capacity for a compensatory response, usually insufficient to return to control values (Calabrese *et al*., 2001). Our EC50 values for these compounds have been compared with those of an assay assessing the intoxication of *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) after 96 h of treatment. The comparison between our result and values from literature shows a good sensitivity only for Methomyl. Pirimiphos shows a statistically different settlement rate only at 10 µg/ml, and a weak increase at 0.1 µg/ml (not statistically different from control, SNK test); its trend cannot therefore be considered biphasic. In conclusion all toxic compounds (except Carbaryl) have an effect on settlement rate of cypris larvae. Heavy metals show an inhibitory effect, and their EC50 values are similar to those found in literature; on the other hand the different responses shown by the other compounds evidence how settlement rate can change. We can therefore conclude that settlement assay seems to have a good sensitivity and could be proposed as a valid behavioural parameter in toxicology, even if the response of some substances, with a significant increase of settlement at low doses and a decrease at higher doses (hormetic phenomenon) underline that further studies are needed to evaluate the possibility of using this test as an ecotoxicological end-point.

References

BOGAERTS P., BOHATIER J., BONNEMOY F. (2001) – Use of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis* for the assessment of toxicity and quantitative structure-activity relationships of xenobiotics: comparison with the Microtox test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **49**: 293-301.

CALABRESE E.J., BALDWIN L.A. (2001) – Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, **22** (6): 285-291.

CHAROY C.P., JANSSEN C.R., PERSOONE G., CLEMENT P. (1995) – The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. I. The use of automated trajectometry for determining sublethal effects of chemicals. *Aquatic Toxicology*, **32**: 271-282.

OFFICE OF PESTICIDE PROGRAMS (2000) – Environmental Effects Database (EEDB). Environmental Fate and Effects Division, U.S. EPA, Washington D.C.

RITTSCHOF D., CLARE A.S., GERHART D.J., SISTER AVELIN MARY, BONAVENTURA J. (1992) – Barnacle *in vitro* assays for biologically active substances: toxicity and setlement inhibition assays using mass cultured *Balanus amphitrite amphitrite* Darwin. *Biofouling*, **6**: 115-122.

ZHANG, XUELEI (2002) – Metamorphosis of benthic invertebrate larvae: a sensitive indicator for detection of changes in marine environmental quality. *The Scientific World Journal*, **2**: 492-496.

WU R.S.S., LAM P.K.S., ZHOU B. (1997) – A settlement inhibition assay with cyprid larvae of the barnacle *Balanus amphitrite*. *Chemosphere*, **35** (9): 1867-1874.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1119-1123

A. Picollo, F. De Novellis[2], M. Costa[1], C. Lasagna[2], F. Palumbo[2], S. Bava, D. Verardi[1]

DIP.TE.RIS. Università di Genova, C.so Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
[1]R.S.T.A. S.c.r.l., Italia.
[2]A.M.G.A. S.p.A., Genova, Italia.

VALUTAZIONE QUALITATIVA DI SEDIMENTI PORTUALI: PROPOSTA METODOLOGICA ATTRAVERSO UN INDICE INTEGRATO

QUALITATIVE EVALUATION OF HARBOUR SEDIMENTS: A METHODOLOGICAL PROPOSAL THROUGH AN INTEGRATED APPROACH

Abstract

Harbour sediments are characterized by different physical composition and contaminant levels. The present study was carried out in Genoa Harbour (Italy). A monitoring program of sediments was started in 2000. Monitoring activities included in situ sediment sampling, benthos analysis, metal concentration. A complete Index of Harbour Sediment Quality (HSQI) have been calculated by using the Reference to Ratio techniques.

Key-words: *heavy metals, sediment quality, harbours, environmental indicators, benthos.*

Introduzione

I sedimenti giocano un ruolo chiave come accumulatori di contaminanti di origine antropica ed è ormai evidente dalla letteratura che per la loro valutazione deve essere adottato un approccio di tipo integrato (Chapman, 1992; Chapman, 1996; Chapman e Mann, 1999). Il presente lavoro costituisce un tentativo di valutare attraverso un indice integrato la qualità dei sedimenti del Porto di Genova.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati nei due periodi di monitoraggio (ottobre 2000-aprile 2001) con una benna Van Veen (da 15 litri) eseguendo tre repliche per ciascuna stazione (Fig. 1) e impiegando in via sperimentale la tecnica del Sediment Profile Imaging supportata dal riscontro di carote di sedimento prelevate prima dell'apertura della benna. Le stazioni sono state posizionate in un'area (di circa 0,2 Km^2) interna al Porto di Genova particolarmente critica dal punto di vista del carico organico (è presente lo scarico di un impianto di depurazione di acque civili). Le analisi condotte sui campioni sono state di tipo "Chimico" (Cd, Cr, Hg, Cu, Ni, Zn, Pb, Mn, Al) e "Biologico" (Organism Sediment Index e sostanza organica).

L'Organism Sediment Index (OSI) mette in relazione la profondità di inversione del potenziale Redox (che è la zona di contatto tra lo strato superficiale chiaro e ossigenato con quello sottostante anossico e scuro) con la presenza/assenza di comunità bentoniche di organismi bioturbatori. In accordo con il modello proposto da Rhoads e Germano (1982) si è proceduto a classificare i sedimenti seguendo le indicazioni degli autori.

Per realizzare l'aggregazione (ottenuta attraverso sommatoria) dei valori misurati si è deciso di adottare l'approccio dettato dalla comunicazione della Commissione Europea al Consiglio e al Parlamento Europeo sulle "Direzioni per l'UE sugli Indicatori Ambientali e sulla Contabilità Nazionale Verde (COM (94) 670 def., 21/12/94)" da

cui si è preso spunto per realizzare il software Dashboard utilizzato dagli autori per la rappresentazione sintetica delle analisi effettuate. I parametri sono stati raggruppati in due sub-indici: "Metalli" e "Biologia". A tutti gli elementi considerati gli autori hanno deciso di fornire lo stesso peso. I dati sono stati successivamente rielaborati utilizzando il software Dashboard (V. 8.5) del Joint Research Centre della Commissione Europea (Centro di Ispra).

Attraverso questo programma è stato possibile:

-realizzare una classificazione dei punti utilizzando la tecnica RtoR (Reference to Ratio)

-visualizzare un quadro sintetico della situazione

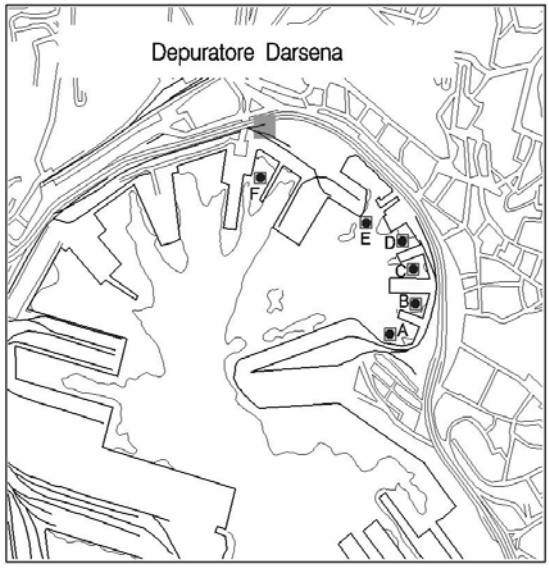


Fig. 1 - Punti di campionamento nel porto di Genova.
Sampling station in Genoa harbour.

Risultati

I risultati analitici dei metalli, i valori percentuali della sostanza organica e l'indice OSI sono riportati in Tab. 1.

Gli autori sono consapevoli che sarebbe necessaria una rete di punti più estesa per parlare di qualità dei sedimenti portuali dell'intera area portuale; inoltre la componente ecotossicologica riveste un ruolo fondamentale nella valutazione complessiva, ma i test con *Vibrio fischeri* (Beijerinck, 1889) effettuati sia sull'elutriato che sull'acqua interstiziale sono stati tentati in via sperimentale solo su due stazioni e non sono stati considerati nel presente lavoro anche perché la variabilità delle analisi è risultata troppo elevata.

Tab. 1 - Valori misurati nelle stazioni di campionamento (i numeri 1 e 2 associati ad ogni stazione rappresentano rispettivamente la prima e seconda campagna di campionamento avvenute rispettivamente il 25/10/2000 ed il 30/04/01, i valori di concentrazione dei metalli sono espressi in mg/Kg).

Values of chemical and biological parameters mesured in the sampling stations during the two study periods (Metals concentration is expressed in mg/Kg).

Anno	Stazioni	Al	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Hg	Sost. Org.(%)	OSI
2000	**A1**	11957	5,2	114	330	324	59	566	895	10,7	5	2
	B1	13087	3,9	101	270	309	51	369	641	5,7	6,2	-6
	C1	12772	5,3	109	627	328	61	478	898	5,6	7	-10
	D1	13433	3,3	65	208	244	47	314	479	3,5	1,1	-6
	F1	6578	3	72	79	567	42	307	308	0,51	5,8	-4
	E1	10559	6	149	1930	301	60	848	1159	13,7	4,6	2
2001	**A2**	13064	2,4	104	284	399	60	564	835	5,8	10	2
	B2	15898	3,1	107	377	289	62	713	1030	7,2	9	-6
	C2	14908	1,2	74	310	248	53	540	681	5,4	11,5	-10
	D2	14370	1,3	64	233	266	49	423	518	3,9	10	-6
	F2	13501	4,3	151	659	364	64	782	1325	16,2	9,1	-4
	E2	12084	0,94	108	157	365	42	259	366	2,5	6,8	-4

L' "Harbour Sediment Quality Index" ha permesso di osservare una situazione abbastanza stazionaria nei due periodi di campionamento (Tab. 2). La rappresentazione sintetica con l'ausilio del software Dashboard (Fig. 2) permette di visualizzare chiaramente sia lo stato della qualità nei due periodi di campionamento che l'andamento temporale dei parametri misurati nelle singole stazioni.

Tab. 2 - Valori dell'indice HSQI.

HSQI Values.

Harbour Sediment Quality Index 2000

Rank	Punti	Stazione
1	603	D1
2	553	A1
3	492	E1
4	453	F1
5	239	B1
6	32	C1

Harbour Sediment Quality Index 2001

Rank	Punti	Stazione
1	779	E2
2	576	A2
3	528	D2
4	368	B2
5	347	C2
6	272	F2

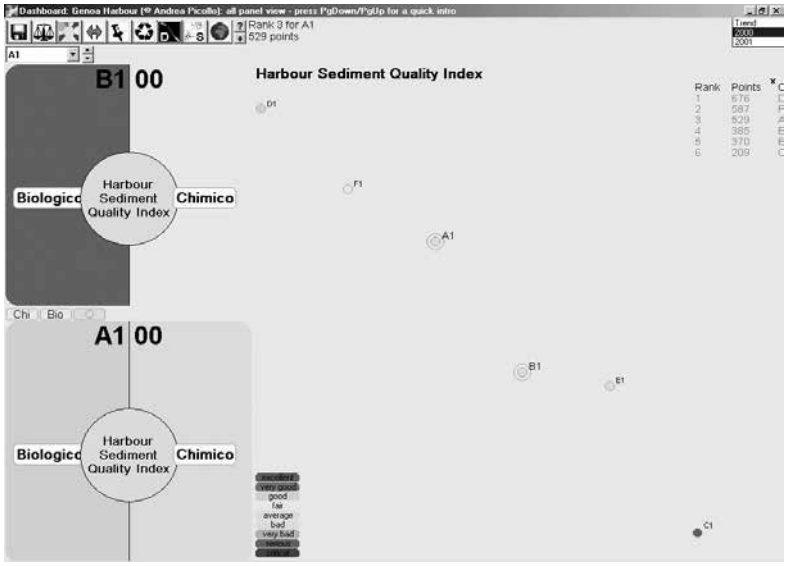


Fig. 2 - Rappresentazione dei risultati con il software Dashboard.
Dashboard Software Outputs.

Le stazioni B, C, ed F sono risultate quelle con un valore qualitativo globale meno soddisfacente dovuto probabilmente agli apporti di origine antropica e allo scarso idrodinamismo che ha favorito l'instaurarsi di frequenti condizioni di scarsa ossigenazione all'interfaccia acqua-sedimento.

Conclusioni

L' "Harbour Sediment Quality Index" è un tentativo di elaborare un indice integrato di sintesi, che fornisca un quadro chiaro anche per i non addetti ai lavori e uno strumento di ausilio ai "decision makers". Questo indice deve essere usato come strumento per una più facile esposizione e comunicazione dello stato ambientale delle Aree Portuali senza precludere ove necessario analisi più approfondite e di maggior dettaglio.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Genova Acque S.p.A., la Servizi Ecologici del Porto di Genova e l'Autorità Portuale di Genova.

Bibliografia

CHAPMAN P.M. (1992) - Sediment Quality Triad Approach. In: United States Environmental Protection Agency (eds), *Sediment Classification Methods Compendium*, Report no. EPA 823-R-92-006.Washington DC: 10.1-10.18.

CHAPMAN P.M. (1996) - Presentation and interpretation of Sediment Quality Triad data. *Ecotoxicology*, **5**: 327-339.

CHAPMAN P.M., MANN G.S. (1999) - Sediment Quality Values (SQVs) and Ecological Risk Assessment (ERA). *Mar. Pollut. Bull.*, **38**: 339-344.

RHOADS D.C., GERMANO J.D. (1982) - Characterization of organism sediment relations using sediment profile imaging; are efficient method of Remote Ecological Monitoring of the Seafloor (REMOTS System). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **8**: 115-128.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1124-1128

L. Pignataro, N. Bigongiari*, D. Pellegrini

Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.
* CIBM, Livorno, Italia.

APPROFODIMENTI METODOLOGICI PER L'ESECUZIONE DEL SAGGIO BIOLOGICO CON *BRACHIONUS PLICATILIS*

METHODOLOGICAL IMPROVEMENTS FOR THE BIOASSAY WITH BRACHIONUS PLICATILIS

Abstract

The Italian recent law concerning waters (D.lg. 258/2000) considers bioassays as a very important tool to assess the quality of water and sediment. Brachionus plicatilis *(O. F. Muller, 1786 - Rotatoria, Brachionidae) is a specie frequently used in bioassays. In order to demonstrate the suitability of this organism in ecotoxicological test, some experiments were carried out after some modifications of the standard procedure.*

Key-words: Brachionus plicatilis*, toxicity test, EC50.*

Introduzione

Un saggio biologico prevede l'esposizione di specie-test a varie matrici, in condizioni di laboratorio, allo scopo di valutarne gli eventuali effetti tossici.

Il rotifero *Brachionus plicatilis* è una specie utilizzata nei saggi biologici (Sneel e Persoone, 1989) per la valutazione della tossicità di matrici liquide marine e generalmente viene seguito il protocollo standard elaborato da ASTM (ASTM E1440-91). Prove preliminari effettuate su campioni di sedimento portuale hanno evidenziato una discriminazione della tossicità da parte di *B. plicatilis* più debole ma più costante rispetto ad altre specie-test impiegate per testare i medesimi sedimenti (Francese, com. pers.). Al fine di verificare la reale applicabilità di *B. plicatilis* nei saggi biologici, sono state condotte alcune prove di conferma su sedimenti portuali, in parallelo ad altre specie-test, ed alcuni esperimenti volti ad aumentarne la sensibilità ed eventualmente ottimizzare il protocollo metodologico impiegato.

Materiali e metodi

Nove campioni di sedimento portuale contaminato sono stati saggiati da una batteria di specie-test comprendente oltre al rotifero *B. plicatilis,* anche l'anfipode *Corophium orientale* (tossicità acuta e cronica) e l'echinoderma *Paracentrotus lividus* (fecondazione e sviluppo) secondo le metodiche riportate in Bigongiari *et al*., 2001 e Arizzi Novelli *et al*., 2001. Il saggio con *C. orientale* è stato eseguito sul sedimento tal quale*,* mentre *P. lividus* e *B. plicatilis* sono stati eseguiti sull'elutriato ottenuto mantenendo in agitazione per 1 h a temperatura ambiente un'aliquota di sedimento umido diluito in acqua di mare naturale (1:4 peso secco/volume). La metodologia per *B. plicatilis* prevede la schiusa delle cisti in una soluzione di H_2O di mare e H_2O distillata con salinità pari a 20‰, termostatata a 25° C con luce continua (1000-4000 lux) per 28-30 ore. Dopo la schiusa, circa 50 organismi vengono acclimatati (per almeno 1 h) alla salinità del test (35‰) in pozzetti con un volume di 0,7 ml per il controllo (acqua

di mare filtrata) e per la matrice da testare a varie diluizioni (100%, 50%, 25%). Il controllo e le varie diluizioni vengono successivamente testati utilizzando 30 individui (5 organismi per 6 repliche, in pozzetti da 0,3 ml ciascuna). Gli organismi vengono poi incubati a 25 °C al buio per 24 h (per la valutazione della tossicità acuta) e 48 h (per la valutazione della tossicità a più lungo termine), infatti attualmente i conteggi a 48 h h sono considerati validi (Persoone com. pers.). Al termine del test gli individui sono classificati come vivi o morti.

Al fine di ottimizzare le procedure metodologiche sono state eseguite anche ulteriori prove con due tossici di riferimento: il Cr ($K_2Cr_2O_7$) ed il Cu ($CuCl_2$). Le prove sono state condotte introducendo le seguenti modifiche:

1) *Adattamento osmotico*: è stato eseguito in un contenitore da 30 ml contenente acqua di mare naturale filtrata. In questo modo l'acclimatazione degli organismi alla salinità a cui deve essere eseguito il test viene eseguita nella soluzione di controllo e non nelle varie diluizioni della matrice da testare. Per evitare il rischio di una possibile diluizione della matrice da testare nei pozzetti per il test (0,3 ml) si è effettuato un passaggio intermedio attraverso pozzetti di 0,7 ml.

2) *Esposizione alla luce*: l'incubazione degli organismi anziché avvenire al buio per 24 h e 48 h è stata realizzata alla luce.

3) *Temperatura*: è stata eseguita una prova dove sia la temperatura per la schiusa delle cisti sia la temperatura del test è stata aumentata di 5 °C (T = 30 °C).

La sensibilità di ogni metodica è stata valutata mediante la stima della EC50.

Risultati e conclusioni

I risultati ottenuti dalla batteria di saggi biologici (Tab. 1) evidenziano elevati livelli di tossicità (particolarmente tossicità cronica) per la maggior parte dei campioni saggiati con *C. orientale* mentre per *P. lividus* si nota una tossicità acuta assente o bassa in quasi tutti i campioni ed una tossicità più evidente nelle prove sullo sviluppo. I risultati del saggio con *B. plicatilis* (Fig. 1) mostrano una mortalità molto bassa, soprattutto nel test a 24 h, che non consente di determinare un valore di EC50. Le mortalità registrate nel saggio a 48 h presentano valori leggermente più alti ma tali comunque da non permettere la stima di una EC50 e si osserva anche un aumento della mortalità nei controlli. I risultati ottenuti suggeriscono una minore sensibilità di *B. plicatilis* rispetto alle altre due specie testate anche se dovranno essere approfonditi i criteri di valutazione in considerazione delle risposte misurate.

Tab. 1 - Giudizio di tossicità dei saggi biologici con *P. lividus* e con *C. orientale.*
Toxicity evaluation for P. lividus *and* C. orientale *bioassays.*

Campione	***P. lividus*** (fecondazione)	***C. orientale*** (tox acuta)	***P. lividus*** (sviluppo)	***C. orientale*** (tox cronica)
B1	Molto alta	Alta	Molto alta	Molto alta
B2	Assente	Bassa	Alta	Molto alta
B3	Assente	Assente	Bassa	Molto alta
Ca	Bassa	Alta	Media	Molto alta
Cb	Bassa	Alta	Molto alta	Molto alta
Pa	Assente	Alta	Molto alta	Molto alta
Pb	Bassa	Molto alta	Bassa	Molto alta
Sa	Alta	Media	Molto alta	Molto alta
Sb	Bassa	Alta	Alta	Molto alta

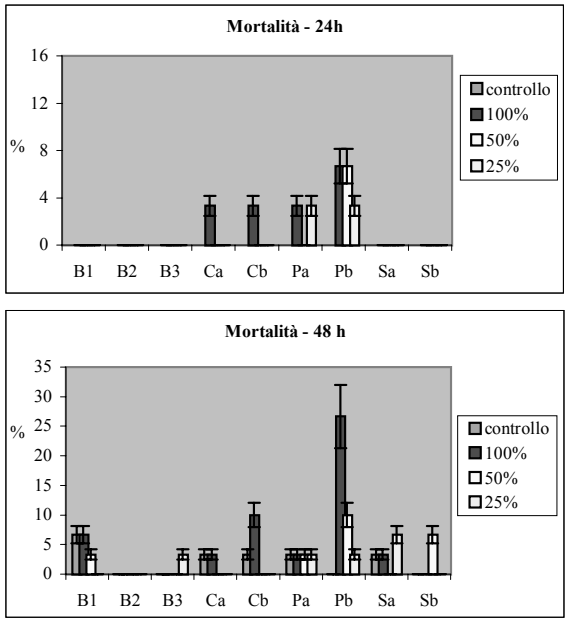


Fig. 1 - Risultati del saggio biologico 24 h e 48 h effettuati sui campioni analizzati.
Results of the 24 h and 48 h bioassy, for the analvzed samples.

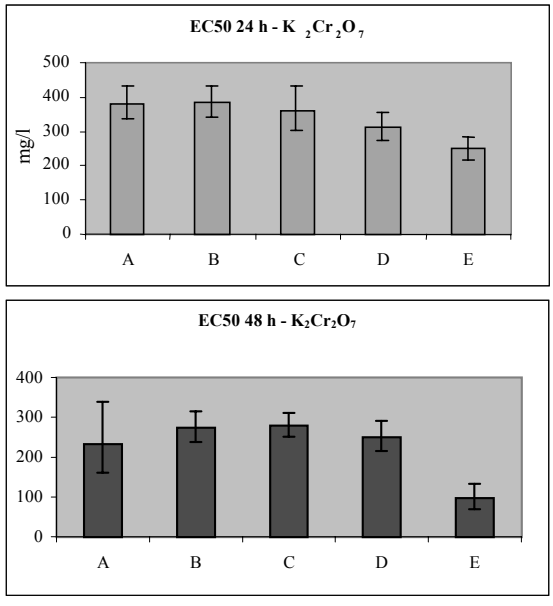


Fig. 2 - Valori di EC50 a 24 h e 48 h nei diversi metodi effettuati per il $K_2Cr_2O_7$.
EC50 ($K_2Cr_2O_7$) values obtained in 24 h and 48 with the different methods.

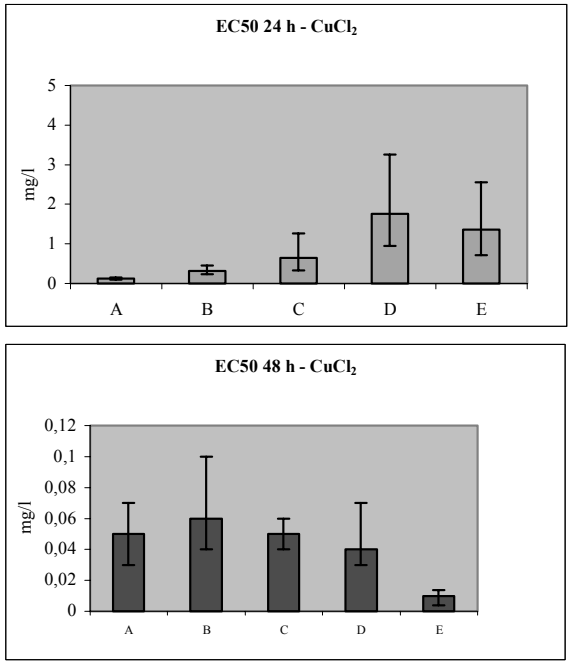


Fig. 3 - VAlori di EC50 a 24 h e 48 h nei diversi metodi effettuati per il $CuCl_2$.
EC50 ($CuCl_2$) values obtained in 24 h and 48 h with the different methods.

LEGENDA
Sigle dei metodi impiegati nei test con $K_2Cr_2O_7$ e $CuCl_2$.
Abbreviations for each method used in tests with $K_2Cr_2O_7$ and $CuCl_2$.

Metodo impiegato	**Tipologia di prova**
Protocollo standard	A
Adattamento osmotico in acqua di mare	B
Esposizione alla luce	C
Adattamento osmotico + esposizione alla luce	D
Temperatura: 30 °C	E

I risultati delle prove effettuate con i tossici di riferimento sono riportati nelle Figg. 2 e 3. Per quanto riguarda il Cr le modifiche apportate al protocollo non si differenziano rispetto alla metodologia standard ad eccezione della prova con la temperatura a 30 °C (prova E) che presenta una maggiore sensibilità sia a 24 h (EC50 = 247,7 mg/l) che a 48 h (EC50=96,5 mg/l). Per il Cu si osserva che la prova con migliore sensibilità a 24 h è stata quella standard ma anche il metodo B (adattamento osmotico) presenta bassi valori di EC50 (0,12 mg/l e 0,32 mg/l rispettivamente). A 48 h risulta essere più idoneo il metodo E (EC50=0,0074 mg/l). Le tipologie di prova C e D non mostrano, sia per il Cr che per il Cu sia a 24 h che a 48 h, differenze rispetto alla metodologia standard. Riguardo al metodo B si può sottolineare che non si osservano differenze rispetto alla

sensibilità espressa dalla metodologia standard, si ritiene tuttavia che questa modifica debba essere sempre attuata poichè rende il saggio più pratico e veloce ma anche più opportuno in quanto gli organismi sono adattati in soluzioni non contaminate. Si nota inoltre, che i valori di EC50 a 48 h per il Cu, con qualsiasi metodologia impiegata ma soprattutto con la metodologia E, sono inferiori a quelli ritrovati con *Paracentrotus lividus* (Kozinkova *et al.*, 2002) per lo stesso metallo. Si può ipotizzare, quindi, che questo organismo possa essere più adatto per la valutazione della tossicità a più lungo termine in considerazione dei più bassi valori di EC50 a 48 h.

In definitiva, nonostante sia necessario proseguire gli approfondimenti iniziati, considerato che per verificare la tossicità di una matrice ambientale è opportuno impiegare organismi ecologicamente differenti, i risultati ottenuti non escludono la possibilità dell'impiego di *B. plicatilis* all'interno di una batteria di saggi biologici.

Bibliografia

ARIZZI NOVELLI A., VOLPI GHIRARDINI A., GIULIANI S., FALUGI C., PAGANO G., IACCARINO M. (2001) - Valutazione della tossicità di acque e sedimenti costieri con gameti e embrioni di specie autoctone di ricci di mare utilizzando metodiche differenziate. *Biol. Mar. Medit*., **8** (2): 41-59.

BIGONGIARI N., BRAIDA T., PASTERIS A. (2001) - Saggio biologico con l'anfipode *Corophium orientale*: metodiche ed esempi di applicazione ai sedimenti marini. *Biol. Mar. Medit*., **8** (2): 60-71.

KOZINKOVA L., ENNAS C., GIULIANI S., PELLEGRINI D. (2002) - Valutazione della qualità dei gameti di *Paracentrotus lividus* utilizzando $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ come tossico di riferimento su animali stabulati e non stabulati. *Biol. Mar. Medit*., **10** (2): 1101-1104.

SNELL T.W., PERSOONE G. (1989). - Acute toxicity bioassay using rotifers. I. A test for brackish and marine environments with *Brachionus plicatilis*. *Aquatic toxicology Ed. Elsevier*, **14**: 65-80.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1129-1132

A. Quaglia, D. Minelli, A. Giuliani, L. Dipietrangelo, L. Villani

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università degli Studi di Bologna,
Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.

CONNESSIONI OLFATTORIE SECONDARIE NELL'ENCEFALO DI *ANGUILLA ANGUILLA* (OSTEICHTHYES, ACTINOPTERYGII)

SECONDARY OLFACTORY CONNECTIONS IN THE BRAIN OF ANGUILLA ANGUILLA *(OSTEICHTHYES, ACTINOPTERYGII)*

Abstract

The fluorescent carbocyanine dye DiI has ben used to retrogradely label the neuronal connections between forebrain and midbrain in the Anguilla anguilla*. The present results basically confirm previous observations in other actinopterygian fishes, cartilaginous fishes and land vertebrates, thus demonstrating a highly conserved anatomical pattern of the telencephalo-mesencephalic connections in the evolution of the vertebrate brain.*

Key-words: Anguilla anguilla*, telencephalon, habenular nuclei, tracing secondary olfactory connections.*

Introduzione

Le proiezioni che collegano il telencefalo olfattivo (rinencefalo) al mesencefalo permettono, nei Vertebrati acquatici, il trasferimento degli impulsi olfattivi ai centri preposti allo svolgimento delle attività riflesse legate alla vita istintiva per la conservazione dell'individuo e della specie. Una delle più importanti vie di collegamento tra queste aree nervose è rappresentata dalle connessioni tra il rinencefalo, i nuclei delle abenule ed il nucleo interpeduncolare mesencefalico (Nieuwenhuys *et al.,* 1998). Questo sistema si presenta nell'evoluzione dei Vertebrati come una delle strutture più conservate dell'encefalo sia per quanto concerne i collegamenti anatomici sia per il pattern dei neurotrasmettitori utilizzati nelle diverse vie nervose. Sono però state osservate differenze nelle linee evolutive pesci ossei-pesci cartilaginei (Giuliani *et al.,* 2002) ed una complessità maggiore nel passaggio dalla vita acquatica alla vita terrestre. Nella presente ricerca abbiamo voluto studiare questo sistema di connessioni nella linea evolutiva dei pesci ossei, utilizzando esemplari dell'Anguillide *Anguilla anguilla*, che vive parzialmente in acqua marina e che è evolutivamente più primitivo del Ciprinide *Carassius auratus* (Villani *et al.,* 1996) e del Salmonide *Oncorhyncus mykiss* (Yanez e Anadon, 1996).

Materiali e metodi

Sono stati utilizzati esemplari adulti di *Anguilla anguilla* (40 cm) che dopo anestesia (tricainemethanesulphonate MS 222- Sigma, 200 mg/l) sono stati perfusi con paraformaldeide 4% in tampone fosfato. Alcuni encefali prelevati sono stati poi inclusi in paraffina e le sezioni colorate con Giemsa.

Per lo studio delle proiezioni nervose è stato utilizzato il colorante fluorescente indocarbocianina (DiI, Molecular Probe) che diffondendo lungo il doppio strato fosfolipidico delle membrane delle cellule nervose, permette la marcatura anterograda e retrograda dei neuroni interessati. Piccoli cristalli di DiI sono stati inseriti nei nuclei delle abenule e nel nucleo interpeduncolare degli encefali fissati in paraformaldeide.

Dopo 30-40 giorni gli encefali sono stati sezionati e le sezioni sono state osservate con microscopio Zeiss equipaggiato con filtri per la rodammina e fotografate.

Risultati e conclusioni

I risultati ottenuti dopo l'applicazione di DiI hanno permesso di identificare i seguenti sistemi di proiezione:

-una connessione diretta telencefalo-interpeduncolare proveniente da neuroni del nucleo del setto dell'area ventrale del telencefalo (Fig. 1);

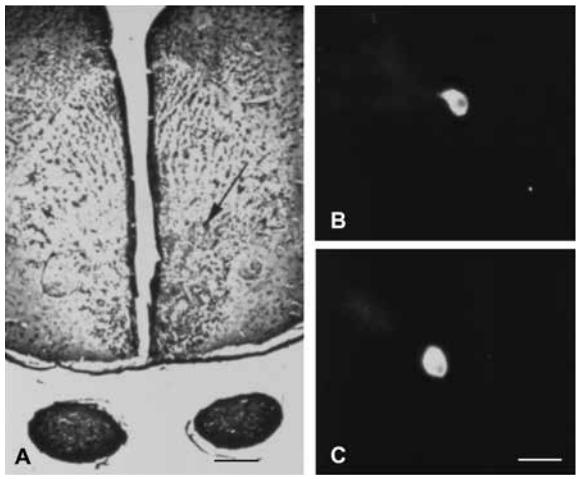


Fig. 1 - Sezione di telencefalo (A); la freccia indica l'area centrale (omologa al nucleo del setto) dove compaiono i neuroni fluorescenti (B-C) dopo inserzione di Dil nelnucleo interpeduncolare.

Telencephalon (A); arrow points at the area ventralis (omologous of mammalian septum). B and C: fluorescent neurons observed in the area ventralis after Dil insertion in the IPN.
Bars: A=150 μm, B-C=20 μm

-connessioni telencefalo-abenulari provenienti da neuroni della parte dorsale dell'area ventrale del telencefalo, dal nucleo entopeduncolare e dai neuroni dell'area preottica (Fig. 2);

-una proiezione talamo-abenulare proveniente dalla zona del tubercolo posteriore;

-una connessione abenulo-interpeduncolare (Fig. 3).

I risultati da noi ottenuti dimostrano che nell'Anguillide *Anguilla anguilla* sono presenti alcune proiezioni tra nuclei telencefalici, nuclei abenulari diencefalici e nuclei mesencefalici (Fig. 4). La fluorescenza dei neuroni della porzione dorsale dell'area ventrale telencefalica dopo marcatura dei nuclei abenulari conferma che questa area può essere omologata al nucleo del setto dei Vertebrati terrestri (Northcutt e Braford, 1987). Questi risultati concordano sostanzialmente con quanto precedentemente osservato nei più evoluti Euteleostei: nel Ciprinide *Carassius auratus* (Villani *et al.,* 1996) e nel Salmonide *Oncorhynchus mykiss* (Yanez e Anadon, 1996*)*. Anche nei pesci

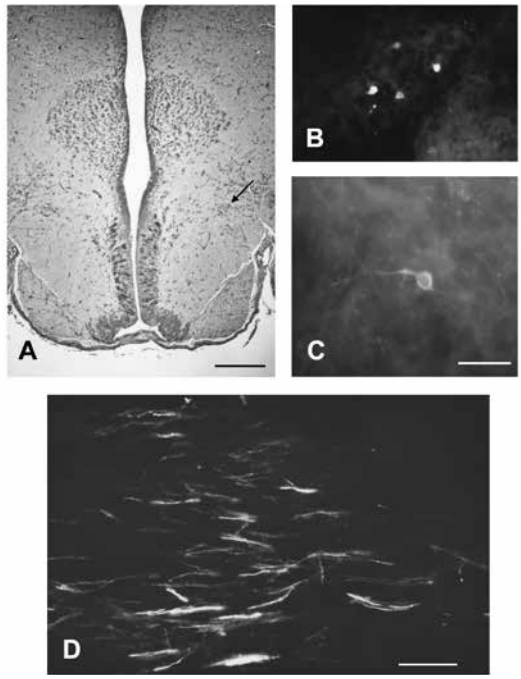


Fig. 2 - Sezione del telencefalo (A). La freccia indica il nucleo entopeduncolare. Dopo marcatura delle abenule appaiono fluorescenti neuroni nel nucleo entopeduncolare (B), del nucleo preottico(C) e fibre del tratto telencefalo-abenulare (D).

Telencephalon at the level of entopeduncolarnucleus (arrow) (A). Retrograde labeling shows fluorescent cell bodies in the entropeduncolar nucleus (B), preoptic area (C) and fibers of the telencephalo-habenular tract.

Bars: A= 350 μm, B-C = 50 μm, D= 20 μm

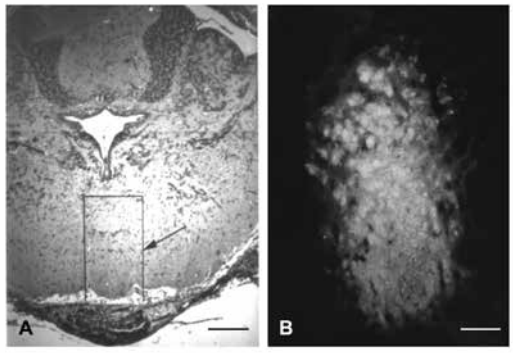


Fig. 3 - Sezione del nucleo interpeduncolare (A) che mostra la fluorescenza delle fibre provenienti dalle abenule (B).

Mesencephalon at the level of IPN (A). After insertion of DiI, fluorescent terminals are seen in the IPN.

Bars: A= 350 μm, B= 100 μm

cartilaginei, nonostante una rilevante asimmetria dei nuclei abenulari, si osservano cospique proiezioni telencefaliche dall'area del setto, dall'area preottica e dal nucleo entopeduncolare, mentre un' altra importante proiezione alle abenule proviene dalla parte dorsale del pallio (Giuliani *et al.,* 2002). E' confermata nell'anguilla la massiccia proiezione abenule-nucleo interpeduncolare ed anche la proiezione diretta telencefalo-nucleo interpeduncolare già osservata nel carassio (Villani *et al.,* 1996) e presente nei Mammiferi (Villani, 1996). Questi dati confermano che questo sistema di connessioni risulta particolarmente conservato nell'evoluzione dei pesci ossei e non subisce modificazioni apprezzabili nei pesci d'acqua dolce ed in quelli marini.

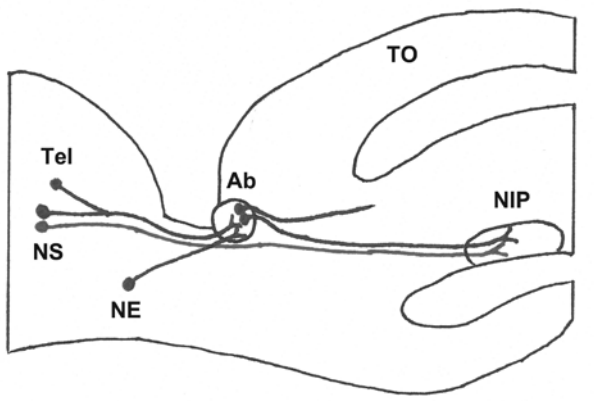


Fig. 4 - Schema riassuntivo delle proiezioni olfattorie telencefalo-abenulo-interpeduncolari nell'anguilla. Ab: abenule; NE: nucleo entopeduncolare; NIP nucleo interpeduncolare; NS: nucleo del setto; Tel: telencefalo; TO: tetto ottico.

Schematic driving that sumarizes the projections between telencephalo-habenulae and IPN. Ab: habenulae; NE: nucleus entopeduncularis; NIP: nucleus interpeduncularis; NS: nucleus septi; Tel: telencephalon, TO: tectum opticum.

Bibliografia

GIULIANI A., MINELLI D., QUAGLIA A., VILLANI L. (2002) – Telencephalo-habenulo-interpeduncolar connections in the brain of the shark *Chiloscyllium arabicum*. *Brain Res*., **926**: 186-190.

YANEZ J., ANADON R. (1996) – Afferent and efferent connections of the habenula in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): an indocarbocyanine dye (DiI) study. *J. Comp. Neurol*., **372**: 529-543.

NIEUWENHUYS R., TEN DONKELAAR H.J., NICHOLSON C. (1998) – The central nervous system of Vertebrates. *Springer- Verlag Berlin, Heidelberg*, **2**: 760-1524.

NORTHCUTT R.G., BRAFORD M.R. (1987) – New observations on the organization and evolution of the telencephalon of actinopterygian fisches. In: Ebbenson S.O.E (ed), *Comparative Neurology of the telencephalon*. Plenum Press, New York: 41-98.

VILLANI L. (1996) – The septointerpeduncolar projection in the rat: tracing with the carbocyanine dye DiI. *Brain Res. Bull*., **40**: 279-282.

VILLANI L., ZIRONI I., GUARNIERI T. (1996) – Telencephalo-habenulo- interpeduncolar connections in the goldfish: a DiI study. *Brain Behav. Evol*., **48**: 205-212.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1133-1135

L. Rinaldi, A. Grimaldi, G. Tettamanti, G. Terova, M. Saroglia, R. Valvassori, M. de Eguileor

Università degli Studi dell'Insubria, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Via Dunant, 3 - 21100 Varese, Italia.

I LIVELLI DI OSSIGENO INFLUENZANO L'ORGANIZZAZIONE STRUTTURALE DELLE BRANCHIE IN *DICENTRARCHUS LABRAX*

OXYGEN LEVEL INFLUENCES THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF GILLS IN DICENTRARCHUS LABRAX

Abstract

The aim of this work was to study the effect of oxygen level on the gill structure of farmed fish. Sea bass (Dicentrarchus labrax)*, were exposed during two month to three different oxygen partial pressures, corresponding to 65/70% (mild hypoxia), 90/100% (normoxia) and 120/140% (mild hyperoxia) of the saturation in water, respectively. Preliminary results cleary describe specific differences, according to the three different* PO_2 *conditions. Among the most significative descriptors are the size and extension of lamellae, their apical morphology and the structure of pillar cells. In addition, in gill epithelial cells, the vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is potentiate by hypoxia.*

Key-words: *fish, oxygen.*

Introduzione

I meccanismi di adattamento dei pesci allevati con tecnologia intensiva, alle condizioni di ossigenazione mediante la tecnica dell'ossigeno liquido sono stati scarsamente studiati (Hughes e Morgan, 1973) malgrado ci siano dati che rivelano gli indubbi vantaggi di natura zootecnica (ben noti ai produttori) (Saroglia *et al*., 2000).

Nel presente studio si vuole approfondire la conoscenza sull'effetto delle differenti pressioni parziali dell'ossigeno sul tessuto branchiale. La sperimentazione comprende l'esposizione cronica per due mesi di spigola a regimi di lieve ipossia (65-75% saturazione), di normossia (90-100% saturazione) e iperossia limitata (120-140% saturazione).

Materiali e metodi

Il tessuto branchiale di dieci esemplari di spigola di giovane età esposti a 65-75%, 90-100%, 120-140% di saturazione di ossigeno è stato studiato da un punto di vista morfologico (microscopia ottica ed elettronica) e immunocitochimico. Il tessuto è stato fissato in glutaraldeide 2%, postfissato con tetrossido di osmio, disidratato ed incluso in resina Epon-Araldite; le sezioni semifini per la microscopia ottica (0,7 μm) sono state raccolte su vetrino e colorate con violetto di genziana e fucsina basica. Le sezioni fini per la microscopia elettronica a trasmissione (80 nm) sono state raccolte su retini di rame e contrastate con acetato di uranile e citrato di piombo (Milloning, 1976).

Per lo studio immunoistochimico il tessuto è stato fissato in paraformaldeide 4%-glutaraldeide 0,2%, disidratato e incluso in paraffina. Le sezioni (7 μm) sono state incubate con l'anticorpo policlonale anti-VEGF (concentrazione 1:20) per 1 ora e con un anticorpo secondario anti-Rabbit coniugato con TRITC (concentrato 1:50) per 1 ora.

Risultati

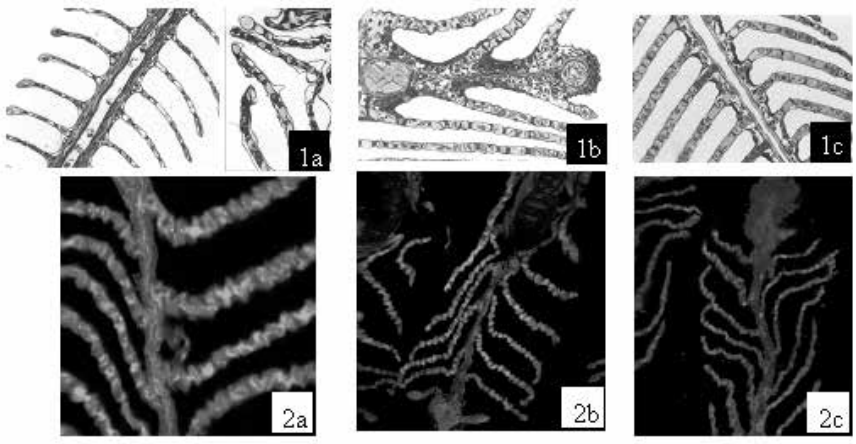
I risultati preliminari indicano un quadro abbastanza specifico riconducibile ad ognuna delle tre condizioni. Alcuni fra gli elementi più significativi soggetti ad alterazioni sono l'estensione e le dimensioni delle lamelle secondarie, la morfologia dell'estremità apicale delle stesse e l'organizzazione strutturale delle cellule pilastro.

In condizioni di normossia le lamelle branchiali risultano allineate ed ordinate con calibro costante e le cellule pilastro presentano la tipica forma a clessidra (Fig. 2a).

Nel caso di ipossia il primo carattere che si perde è l'organizzazione regolare ed ordinata sia delle lamelle che dei filamenti branchiali. Le cellule pilastro si distendono restringendo il calibro dei vasi; le estremità apicali si rigonfiano e l'epitelio esterno si distacca (Fig. 1a).

Nel caso di iperossia l'unica differenza rispetto alla normossia è a carico delle cellule pilastro che sembrano contrarsi aumentando il volume dei vasi (Fig. 3a).

I primi risultati di immunoistochimica evidenziano una differente espressione del Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) nelle tre diverse condizioni. In condizioni di ipossia e di normossia il VEGF è abbondantemente espresso (Fig. 2a e 2b), mentre in iperossia è debolmente espresso (Fig. 2c).



Figg. 1a - Ipossia: le lamelle secondarie sono distorte, ridotte di volume. 1b) Nomossia: le lamelle secondarie sono ben distese e allineate. 1c) Iperossia: le lamelle presentano una struttura regolare.

1a) Hypoxia: secondary gill lamellae are disorganized with a reduced volume. 1b) Normoxia: secondary gill lamellae are regular. 1c) Hyperoxia: secondary gill lamellae are regular.

Figg. 2a - Ipossia: il VEGF è abbondantemente espresso dall'endotelio branchiale. 2b) Normossia: il fattore VEGF è espresso dell'endotelio branchiale. 2c) Iperossia: le cellule endoteliali esprimono il fattore in quantità minima.

2a) Hypoxia: endothelial cells express much VEGF. 2b) Normoxia: endothelial cells express VEGF. 2c) Hyperoxia: there is poor expression.

Conclusioni

I primi dati relativi all'analisi morfologica di tessuto branchiale prelevato da spigole (mantenute nelle diverse condizioni sopradescritte) fanno ipotizzare una correlazione

fra l'estensione, la dimensione, l'espansione dell'apice delle lamelle branchiali, la modificazione delle cellule pilastro e la variazione di saturazione di ossigeno.

I dati, anche se saranno necessarie ulteriori conferme, sono avvallati dalla risposta immunoistochimica.

Bibliografia

HUGHES G., MORGAN M. (1973) - The structure of fish gills in relation to their respiratory function. *Biol. Rev.,* **48**: 419-475.

MILLONING G. (1976) - *Laboratory Manual of Biological Electron Microscopy*. Mario Saviolo, Vercelli: 67 pp.

SAROGLIA M., CECCHINI S., TEROVA G., CAPUTO A., DE STRADIS A. (2000) - Influence of environmental temperature and water oxygen concentration on gas diffusion distance in sea bass (*Dicentrarchus labrax,* L.). *Fish Physiol. Biochem.*, **23**: 55-58.

La seguente ricerca è stata finanziata nell'ambito del V Piano Triennale della Pesca ed Acquicoltura, legge 41/82, Direzione Generale della Pesca, Ministero per le politiche Agricole e Forestali.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1136-1137

A. Ungaro, A.R. Rossi*, S. De Innocentiis, E. Miggiano, S. Livi, C. Andreoli, E. Gornung*, D. Crosetti, L. Sola*

ICRAM - Central Institute for Marine Research, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italy.
* Dept. Animal & Human Biology, Univ. of Rome "La Sapienza", Rome, Italy.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF MEDITERRANEAN MUGILIDS: ALLOZYMES AND MTDNA SEQUENCES DATA

ANALISI FILOGENETICA DEI MUGILIDI MEDITERRANEI: DATI ALLOZIMICI E DI SEQUENZE DI MTDNA

Abstract

Mediterranean mullet species have been widely studied through morphological, biochemical and molecular markers, however their phylogenetic relationships still remain unclear, one of the main doubts concerning the monophyly of the three species of Liza*. To further investigate on this topic, gene-enzyme systems and sequences of partial 16S rRNA mitochondrial gene were analysed.*

Key-words: *grey mullet, allozyme, mtDNA, 16S, parametric bootstrap.*

Introduction

The family Mugilidae groups 14 genera and 64 good species (Thomson, 1997). In the Mediterranean six mugilid species, *Chelon labrosus, Liza aurata, L. ramada*, *L. saliens*, *Mugil cephalus*, *Oedalechilus labeo*, are commonly found. Phylogenetic relationships among these species have been recently investigated through non-morphological characters, such as chromosomal (Gornung *et al.,* 2001), biochemical (Papasotiropoulos *et al.,* 2001) and molecular markers (Caldara *et al*., 1996). Nevertheless, the monophyly of the genus *Liza* and its relationships with the other genera remains uncertain. To further investigate on this topic, allozyme and mitochondrial DNA sequence data were used to infer Mediterranean grey mullet phylogeny and a parametric bootstrap analysis was performed on 16S mtDNA sequence data to specifically investigate the monophyly of the genus *Liza*.

Materials and methods

A total of 180 mullet specimens, were sampled along the East and West coasts of Italy for allozyme analysis. A subset of three individuals for each species was analysed by means of sequencing of mitochondrial DNA.

Allozymes were detected by horizontal starch-gel electrophoresis, and a total of 35 *loci*, were resolved.

Total DNA was extracted and purified from frozen muscle and fragments of about 600 base pairs (bps) of the mitochondrial gene for the 16S rRNA were amplified by PCR and sequenced.

Phylogenetic relationship among the Mediterranean grey mullets both from allozyme frequencies and DNA sequences were inferred through Neighbor Joining (NJ) trees generated from distance matrices. Maximum parsimony tree(s) (MP) were also produced from sequences, using piranha as outgroup. The parametric bootstrap method (Huelsenbeck et al, 1996) was used to test the *a priori* hypothesis of the genus *Liza* monophyly against our molecular reconstructed phylogeny.

Results

Four allozymes *loci* showed no variation, while the remaining 31 were variable among the six species. The number of diagnostic *loci* in species pairwise comparison ranged from 12 (34%) to 24 (68.6%). Nei's genetic distance (Nei, 1972) ranged from $D=0.465$ (*L. aurata* vs *L. ramada*) to $D=1.305$ (*C. labrosus* vs *M. cephalus*).

For 16S mtDNA a total of 73 variable sites were identified in the 10 different haplotypes observed. The number of base substitutions within species ranged from 0 (*L. saliens*, *C. labrosus*, *O. labeo*) to 1 (*L. aurata, L. ramada*, *M. cephalus*), and the maximum number of different haplotypes (3) was detected in *M. cephalus*.

In the NJ tree based on allozyme data, a main clusters including all the *Liza* species plus *C. labrosus*, and a subcluster formed by *L. ramada* and *L. aurata* are quite well supported by the bootstrap values. Both in NJ and MP trees based on mtDNA a similar topology is identifiable, with a *Liza-C. labrosus* cluster, but with no sub-branching pattern supported within the *Liza-C. labrosus* clade.

The parametric bootstrap analysis allowed to reject the null hypothesis of *Liza* monophyly ($p<0.01$).

Conclusions

Both sets of data identify a main cluster including all the Mediterranean *Liza* species plus *C. labrosus.* The close relationship between the genera *Chelon* and *Liza* has been reported from a variety of authors. As an example, Schultz (1946) included in the genus *Chelon* all the species later reported by Thomson (1997) as *Liza.*, and Ingham (1985) considered *Chelon* as derived from one of the three assemblages within *Liza* genus. Our data indicate that Mediterranean *Liza* is are not a monophyletic group and suggest to reconsider the systematics of this genus taxon on the light of the two putative subgenera previously proposed, i.e. *Liza* "*sensu strictu*" and *Protomugil* (revised by Thomson, 1997) and/or on the light of the monophyly of the *Liza-C. labrosus* clade. On a broader scale, the taxonomic status of the about 20 remaining species of *Liza* and of the only other recognised *Chelon* species (*C. bispinosus*) needs to be investigated.

References

CALDARA F., BARGELLONI L., OSTELLARI L., PENZO E., COLOMBO L., PATARNELLO T. (1996) - Molecular phylogeny of grey mullets based on mitochondrial DNA sequence analysis: evidence of differential rate of evolution at the intrafamily level. *Mol. Phylogenet. Evol*., **6** (3): 416-424.

GORNUNG E., CORDISCO C.A., ROSSI A.R., DE INNOCENTIIS S., CROSETTI D., SOLA L. (2001) - Chromosomal evolution in Mugilidae: karyotype characterization of *Liza saliens* and comparative localization of major and minor ribosomal genes in the six Mediterranean mullets. *Mar. Biol*., **139** (1): 55-60.

HUELSENBECK J.P., HILLIS D.M., JONES R. (1996) - Parametric bootstrapping in molecular phylogenetics: applications and performance. In: Ferraris J.D., Palumbi S.R. (eds), *Molecular Zoology*: *Advances Strategies and Protocols.*, Wiley-Liss, New York: 19-45.

NEI M. (1972) - Genetic distances between populations. *Amer. Nat*., **106**: 283-292.

ORTÌ G., MEYER A. (1997) - The radiation of Characiform fishes and the limits of the resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Syst. Biol*., **46** (1): 75-100.

PAPASOTIROPOULOS V., KLOSSA-KILIA E., KILIAS G., ALAHIOTIS S. (2001) - Genetic divergence and phylogenetic relationships in grey mullets (Teleostei: Mugilidae) using allozyme data. *Biochem. Genet*., **39** (5-6): 155-168.

SCHULTZ L.P. (1946) - A revision of the genera of mullet, fishes of the family Mugilidae with descriptions of three new genera. *Proc. Unit. Stat. Natl. Mus*., **96**: 377-395.

THOMSON J.M. (1997) - The Mugilidae of the world. *Mem. Queensl. Mus*., **41**: 457-562.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1138-1139

M. Zedda, L. Corda, P. Manca[1], S. Gadau[2], G. Lepore, V. Farina

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Sassari, Via Vienna, 2 - 07100 Sassari, Italia.
[1]Dip. Ingegneria del Territorio, Università di Cagliari, Italia.
[2]Dip. Biotecnologie, Università di Teramo, Italia.

CONCHIGLIE MARINE PROVENIENTI DA UNA LOCALITA' DELL'ETA' DEL BRONZO IN SARDEGNA

SEA SHELLS FROM A BRONZE AGE SITE IN SARDINIA

Abstract

An archaeozoological study was carried out following excavations of a nuragic area and led to the identification of several Mammalian bone and dental fragments. Moreover, 54 shell remains were dug up, that were possibly employed for feeding by the local settlement during the Bronze Age. The commonest species was Cardium edule *L., followed by* Ostrea edulis *L.*, Cardium tuberculatum *L.*, Mytilus galloprovincialis *Lamk and* Spisula subtruncata *Da Costa*.

Key-words: *shells, archaeology, Sardinia.*

Introduzione

Nel mondo antico le conchiglie sono state oggetto di interesse, raccolta e trasporto verso località spesso molto distanti dal mare. Il rinvenimento di conchiglie negli scavi archeologici è attestato in numerose località preistoriche europee dove venivano impiegate come strumenti per la decorazione della ceramica, oggetti di ornamento, come pendagli e vaghi di collane, e spesso deposte intenzionalmente come elementi di corredo funerario (Clark e Piggott, 1991). La loro presenza in depositi di resti di pasto testimonia inoltre il consumo dei molluschi marini a fini alimentari. Lo studio delle caratteristiche morfologiche unito al riscontro di eventuali tracce di lavorazione consente di approfondire la conoscenza della storia biologica delle varie specie e di valutare il ruolo che questi animali ricoprivano nell'economia delle popolazioni del passato.

Materiali e metodi

Il materiale malacologico qui descritto proviene dal nuraghe S.Pauli di Villamassargia (Cagliari). Si tratta di un nuraghe bilobato che dista 40 chilometri dal mare ed il cui scavo ha restituito centinaia di reperti di origine animale, interpretabili come resti di pasto consumati dalla locale comunità protostorica (II e I millennio a.C.). I resti riferibili a mammiferi erano rappresentati da ossa e denti appartenuti ad animali domestici (ovi-caprini, suini e bovini) e selvatici (cervi, cinghiali, volpi e prolaghi) che testimoniano come l'economia del sito si basava sull'allevamento e sulla caccia. Oltre a resti di mammiferi ed un esiguo numero di ossa di uccelli, erano presenti anche numerose conchiglie marine, sulle quali si è proceduto alla determinazione tassonomica ed al rilevamento morfometrico (Chaix e Méniel, 1987).

Risultati

Sono stati identificati 54 resti di conchiglie tutte riconosciute a livello di specie. La specie numericamente prevalente era *Cardium edule* L., presente con 49 valve, di

cui 39 integre. Sono stati anche identificati un frammento di *Cardium tuberculatum* L., 2 valve sinistre di ostrica (*Ostrea edulis* L.), una valva di cozza (*Mytilus galloprovincialis* Lamk) ed un frammento di *Spisula subtruncata* Da Costa (Fig. 1). L'esame delle superfici esterna ed interna delle varie valve, non ha evidenziato la presenza di segni di origine antropica come tagli, graffi e scalfitture eseguite al fine di poter accedere al loro interno, la qual cosa sembrerebbe escludere che i molluschi venissero consumati crudi.

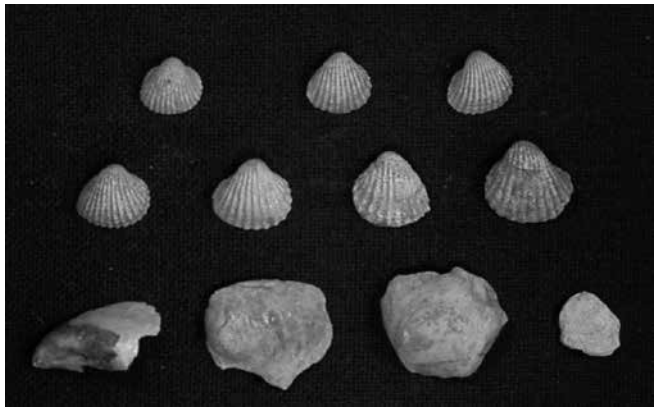


Fig. 1 - Alcune conchiglie rinvenute nello scavo del nuraghe S. Pauli. Nelle prime due file in alto alcune valve di *Cardium edule* L.; nella fila in basso da sinistra a destra: una valva di *Mytilus galloprovincialis* Lamk, due valve di *Ostrea edulis* L. ed un frammento di *Spisula subtruncata* Da Costa.

Shells found during excavation at nuraghe S. Pauli. Upper rows: valvae of Cardium edule *L.; lower row from left to right: valva of* Mytilus galloprovincialis *Lamk, two valvae of* Ostrea edulis *L. and a fragment of* Spisula subtruncata *Da Costa.*

Conclusioni

I risultati di questa indagine consentono di mettere in evidenza l'importanza dei molluschi nell'alimentazione delle genti nuragiche. Questo aspetto è ancora più interessante se si considera che il loro consumo avveniva anche in località che distavano parecchi chilometri dal mare. Per quanto riguarda la raccolta, si può desumere che essa avvenisse sia lungo litorali sabbiosi, costituenti l'habitat dei generi *Cardium* e *Spisula*, sia sulle scogliere nel caso di *Ostrea* e *Mytilus* (Perosino, 1963; Palombi e Santarelli, 1979). La mancanza in tutte le conchiglie, a differenza di molte ossa esaminate, di segni di bruciature indicatrici di cottura alla fiamma, suggerirebbe che il consumo delle loro carni avveniva in seguito a bollitura.

Bibliografia

CHAIX L., MENIEL P. (1996) - *Eléments d'Archéozoologie*. Ed. Errance, Paris.
CLARK G., PIGGOTT S. (1991) - *Le società preistoriche*. Mondadori, Milano: 419 pp.
PALOMBI A., SANTARELLI M. (1979) - *Gli animali commestibili dei mari d'Italia*. Hoepli, Milano: 448 pp.
PEROSINO S. (1963) - *La Pesca*. De Agostini, Novara: 411 pp.

Lavoro eseguito con il contributo della Fondazione Banco di Sardegna.

Biol. Mar. Medit. (2003), 10 (2): 1140-1141

M. Zedda, P. Manca[1], L. Corda, G. Lepore, S. Gadau[2], V. Farina

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Sassari, Via Vienna, 2 - 07100 Sassari, Italia.
[1]Dip. Ingegneria del Territorio, Università di Cagliari, Italia.
[2]Dip. Biotecnologie, Università di Teramo, Italia.

STUDIO SULLE OSTRICHE (*OSTREA EDULIS* L.) CONSUMATE NELLA KARALIS ALTO-MEDIEVALE (IV-VI SEC. D.C.)

OYSTERS (OSTREA EDULIS L.) *FROM THE EARLY MEDIEVAL KARALIS (4TH – 6TH CENTURY A.D.)*

Abstract

The archeological excavations carried out in the district of "Marina" in Karalis dug up buildings from the 4th and 6th Century A.D. Animal bones were found that were supposed to be food remains. In addition, a high number of shells were discovered, the most of them belonging to Ostrea edulis *L. (Ostreidae). This study has allowed to evaluate the importance of sea molluscs in human feeding of early Medieval Karalis.*

Key-words: *oyster, archaeology.*

Introduzione

Le carni dei lamellibranchi appartenenti alla famiglia *Ostreidae* furono apprezzate a fini alimentari sin dalla notte dei tempi. Tali molluschi furono ricercati e consumati già in età preistorica (Müller-Karpe, 1992), i Romani furono i primi ad allevarli e il loro commercio ed impiego a fini alimentari proseguì in età medievale (Perosino, 1963).

Il presente lavoro descrive le conchiglie marine rinvenute nel corso dello scavo di un'area archeologica prospiciente il porto di Cagliari che ha riportato alla luce strutture murarie e ambienti della città alto-medioevale (IV-VI sec. d.C.).

Materiali e metodi

Il materiale malacologico oggetto del presente studio risultava costituito da 52 reperti rinvenuti insieme a migliaia di resti scheletrici e dentari di mammiferi interpretabili come resti di pasto. I reperti sono stati ripuliti dalle incrostazioni argillose e in alcuni casi consolidati con collanti vinilici. Lo studio è stato condotto secondo le tecniche dell'archeozoologia (Chaix e Méniel, 1996). L'esame delle conchiglie è consistito nel riconoscimento tassonomico e, per quanto riguarda i Lamellibranchi, l'integrità dei resti ha consentito, in un elevato numero di casi, la misurazione dell'altezza delle valve, rappresentata dalla distanza tra la cerniera ed il margine della valva (D'Angelo e Gargiullo, 1981).

Risultati

Tra le specie riconosciute quella presente con un maggior numero di resti (76%) è risultata *Ostrea edulis* L., presente con 40 valve di cui 29 sinistre e 11 destre (Fig. 1). Le valve (sinistre o destre) di ostrica si presentavano con profilo notevolmente irregolare e con un'altezza media di circa 50 mm. Le altre specie riconosciute sono state: *Glycymeris glycymeris* L. con 4 resti (8%), *Cardium edule* L. con 3 resti (6%), seguite

da *Coralliophila meyendorffi* Calcara, *Coralliophila babelis* Requien, *Spondylus gaederopus* L., *Patella ferruginea* Gmelin e *Cerithium vulgatum* Bruguière rappresentate da un unico resto (2%). L'esame delle valve dei Lamellibranchi ha evidenziato la presenza di qualche graffio e scalfittura in pochi esemplari di ostrica, verosimilmente praticati al fine di poter accedere alle carni degli animali crudi.

Fig. 1 - Alcune valve di *Ostrea edulis* L. rinvenute nello scavo: al centro una valva destra e ai lati due valve sinistre.
Some valvae of Ostrea edulis *L. found in the excavation: a right valva in the middle and two valvae by the side.*

Conclusioni

Lo studio condotto sul materiale malacologico induce a ritenere che i molluschi marini ricoprivano un ruolo importante nella dieta della comunità cagliaritana altomedioevale. Risulta anche degna di interesse la notevole varietà delle specie riscontrate, sicura testimonianza della pregevole biodiversità dell'ambiente marino dell'epoca nel Golfo degli Angeli. Il rilevamento di valve di ostrica dalle dimensioni non particolarmente grandi suggerisce inoltre che questi bivalvi venivano raccolti con una certa assiduità, non lasciando loro il tempo di crescere ulteriormente. La presenza di qualche segno di disarticolazione delle valve di ostrica induce a ritenere infine che queste venissero consumate crude, a differenza delle altre specie.

Bibliografia

CHAIX L., MENIEL P. (1996) - *Eléments d'Archéozoologie*. Ed. Errance, Paris: 112 pp.
D'ANGELO G., GARGIULLO S. (1981) - *Guida alle conchiglie mediterranee*. Fabbri, Milano: 224 pp.
MÜLLER-KARPE H. (1992) - *Storia dell'età della pietra*. Mondadori, Vicenza: 516 pp.
PEROSINO S. (1963) - *La pesca*. De Agostini, Novara: 411 pp.

Lavoro eseguito con il contributo della Fondazione Banco di Sardegna.