



Università
Ca' Foscari
Venezia

**Scuola Dottorale di Ateneo
Graduate School**

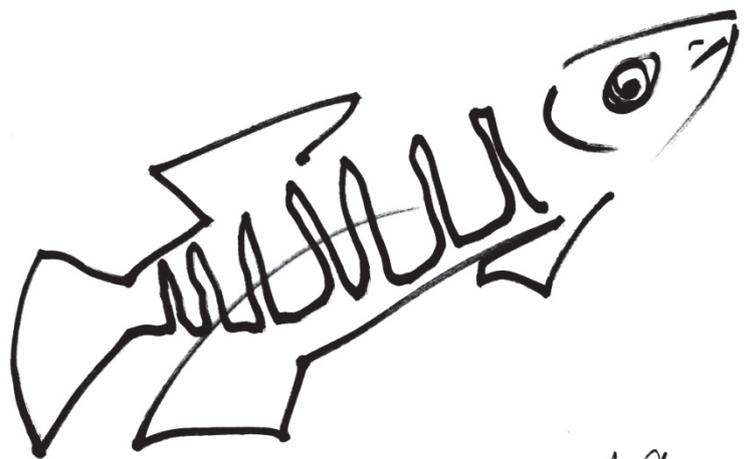
**Dottorato di ricerca
in Scienze Ambientali
Ciclo XXV
Anno di discussione 2013**

***Genetica, Ecologia e Comportamento di un Biomonitoratore
della Variabilità di Sistemi Acquatici di Transizione***

**SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE DI AFFERENZA: BIO/07
Tesi di Dottorato di Francesco Cavarro, matricola 787006**

**Coordinatore del Dottorato
Prof. Gabriele Capodaglio**

**Tutore del Dottorando
Prof. Stefano Malavasi**



del

1. Introduzione	p. 1
2. 2. Materiali e metodi	
2.1 La specie oggetto di studio	p. 9
2.2 Siti di campionamento	p. 10
2.3 Attività di campionamento	p. 12
2.4 Attività di laboratorio	p. 14
2.5 Analisi dei dati	p. 17
3. Risultati	
3.1 Microscala	
3.1.1 Eco-etologia riproduttiva	p. 21
3.1.2 Cicli riproduttivi semi-lunari	p. 25
3.1.3 Sviluppo embrionale	p. 26
3.1.4 Uso dell'habitat	p. 28
3.2 Mesoscala	
3.2.1 Genetica di popolazione	p. 35
3.2.2 Demografia di popolazione	p. 37
3.2.3 Life history riproduttiva	p. 51
3.2.4 Morfometria	p. 55
3.2.5 Bandeggio	p. 56
3.3 Macroscala – Genetica di popolazione	p. 59
4. Discussione	
4.1 Microscala	p. 63
4.2 Mesoscala	p. 67
4.3 Macroscala	p. 72
5. Conclusioni	p. 75
6. Bibliografia	p. 77
7. Produzione scientifica	p. 91
8. Appendice	p. 93

1. Introduzione

Le specie appartenenti al vasto gruppo dei killifish (Actinopterygii: Cyprinodontiformes) sono caratterizzate da piccola taglia e breve ciclo vitale. Il termine *kill*, letteralmente fosso (dall'olandese antico) designa corpi idrici di modeste dimensioni, da pozze temporanee a piccoli fiumi ed estuari, che sono habitat d'elezione per questi pesci. Queste specie hanno evoluto particolari adattamenti ad ambienti salmastri e d'acqua dolce caratterizzati da ridottissima profondità, elevata instabilità e marcate fluttuazioni spazio-temporali dei parametri ambientali (Kroll, 1984).

In relazione alla relativa comodità sperimentale legata alla piccola taglia e al breve ciclo vitale, alcune specie di killifish, appartenenti alle famiglie Ciprinodontidae e Fundulidae, vengono ormai da tempo utilizzate nel monitoraggio ambientale e negli studi concernenti gli adattamenti alle pressioni ambientali che caratterizzano particolari sistemi acquatici: le modificazioni ambientali, sia naturali che antropiche, causano spesso degli effetti stressanti nei pesci (Adams, 1990), che possono essere rilevati analizzando lo stato delle popolazioni naturali. Ad esempio negli USA, la specie *Fundulus heteroclitus* (insieme ad alcuni congenerici) è largamente utilizzata nel monitoraggio ambientale, non solo in un contesto ecotossicologico, ma anche nella valutazione delle modificazioni cui sono soggetti determinati sistemi acquatici, quali ad esempio i sistemi a salt marsh, anche nell'ambito di progetti di conservazione e ripristino degli habitat stessi (Zhou e Weis, 1998; Weis *et al.*, 2001; Bacanskas *et al.*, 2004; Wassenberg e Di Giulio, 2004; Shaughnessy *et al.*, 2007). Questi organismi sono stati anche il target di studi mirati a correlare struttura genetica e demografica delle popolazioni con le variazioni delle pressioni ambientali, sia naturali che antropogeniche (Bush e Weis, 1983; Leblanc *et al.*, 1997; Meyer e Di Giulio, 2003; Roark *et al.*, 2005). Molti di questi studi sono stati effettuati su popolazioni residenti in lagune ed estuari.

I sistemi acquatici di transizione rivestono un ruolo fondamentale nel funzionamento degli ecosistemi marini. Essi costituiscono, da un lato, una componente fondamentale per il funzionamento della fascia costiera, dall'altro, un importante elemento di carattere economico, principalmente in relazione allo sfruttamento delle risorse presenti; tutto ciò li rende da sempre soggetti ad una elevata pressione antropica (Kennish, 2002; Airoidi e Beck, 2007).

Negli ambienti acquatici di transizione italiani è presente un'unica specie di ciprinodontide, *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821), che svolge il suo intero ciclo vitale in questi habitat, profilandosi dunque come un tipico residente estuarino. Tra le guild rappresentate nella comunità lagunare, quella dei residenti estuarini è la più indicata per poter essere utilizzata come indicatore delle condizioni ambientali (Bortone *et al.*, 2005). Recentemente la specie è stata ad esempio utilizzata come sentinella per l'analisi di impatti antropici sulle lagune costiere Mediterranee (Messaoudi *et al.*, 2009; Kessabi *et al.*, 2010, 2012; Mosesso *et al.*, 2012). La distribuzione geografica e il legame con gli habitat di transizione, unitamente alla relativa sedentarietà e scarsa

mobilità, sono infatti causa di una naturale frammentazione delle popolazioni di *A. fasciatus* e di un loro relativo isolamento (Ferrito *et al.*, 2007). Ciò determina l'adattamento delle singole popolazioni alle condizioni locali, e la loro conseguente differenziazione sia da un punto di vista morfologico che da un punto di vista genetico (Ferrito *et al.*, 2003).

Il presente progetto, pertanto, intende esplorare la possibilità di utilizzare *Aphanius fasciatus* quale "biomonitor" (*sensu* Polgar, 2009) delle variazioni ambientali alle quali i sistemi barenicoli della laguna di Venezia sono soggetti, investigando le risposte adattative della specie alle pressioni ambientali, a livello di struttura genetica, demografia delle popolazioni, tratti di life history e comportamento, articolando le analisi su differenti scale spaziali (fig. 1).

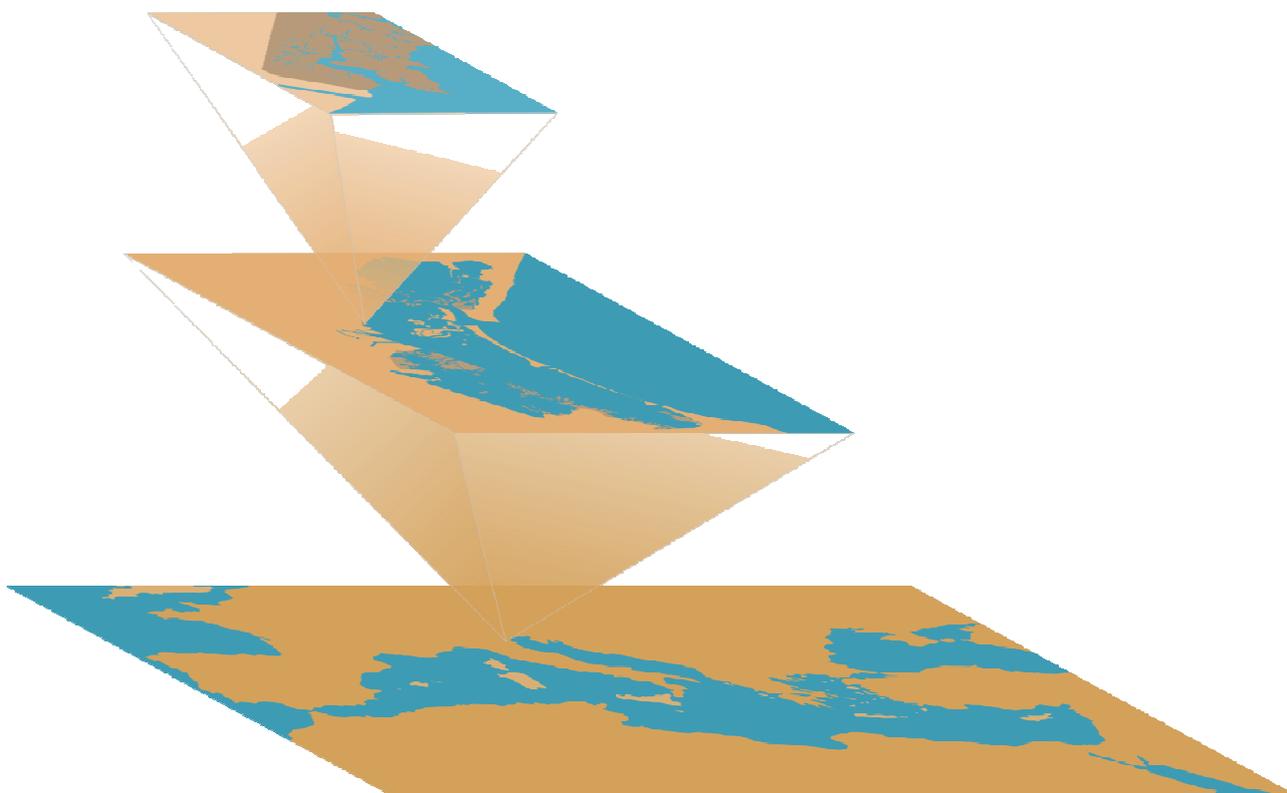


Figura 1. Lo studio dei differenti aspetti caratterizzanti la genetica, l'ecologia e il comportamento di *A. fasciatus* saranno affrontati su tre differenti scale spaziali: a livello mediterraneo, comprendendo quindi gran parte dell'areale di distribuzione della specie, a scala di bacino lagunare, in questo caso la laguna di Venezia, ed infine a livello di micro-habitat

In questo contesto, gli aspetti concernenti la variabilità di tratti fenotipici, quali tratti di life histories o tratti comportamentali, sono infatti piuttosto carenti nella letteratura corrente, così come le informazioni sulle popolazioni alto-adriatiche, ed in particolare su quelle del più esteso ambiente di transizione mediterraneo, la laguna di Venezia. Con una superficie di circa 540 km², è un'area caratterizzata da acque basse, salmastre, con una profondità media di circa un metro; l'intera superficie è attraversata da una fitta rete di canali con profondità variabile. La laguna appare così costituita da un complesso mosaico di habitat acquatici. Dal punto di vista della

comunità neotonica, questi possono essere raggruppati in tre grandi categorie: ampie distese di acque libere, con scarsa profondità, collocate nella fascia tidale/subtidale, praterie a fanerogame marine e habitat a barene (Franco *et al.*, 2006).

Quest'ultima tipologia di habitat sta scomparendo rapidamente dal paesaggio lagunare (Molinaroli *et al.*, 2009), a causa dell'azione combinata di molteplici fattori, tra cui la crescita relativa del livello medio del mare, la diminuzione degli apporti sedimentari portati dai fiumi, il moto ondoso. Come in molti ambienti costieri, così nella laguna di Venezia si sono infatti concentrate col tempo numerose attività umane, determinando intense pressioni sugli habitat naturali. A partire dagli inizi del secolo scorso, alle conseguenze delle trasformazioni fisiche dei secoli passati, si sono sommati gli effetti derivanti da una crescente pressione antropica, sia direttamente sulla laguna che indirettamente nell'area di gronda, ma anche da attività legate alla pesca, al porto commerciale e al polo chimico-industriale, che hanno determinato diverse tipologie di impatti.

Lavori pregressi hanno evidenziato come, in laguna di Venezia, *A. fasciatus* sia un elemento caratterizzante la comunità ittica dei sistemi barenicoli (Franco *et al.*, 2006; Franzoi *et al.*, 2010), ambienti ricchi di risorse e al contempo caratterizzati da un'elevata variabilità nelle condizioni ambientali, protetti a livello europeo dalla direttiva "Habitat" (92/43/CEE). Questa tipologia di habitat riveste infatti un ruolo fondamentale dal punto di vista conservazionistico (Franco *et al.*, 2006), ospitando importanti comunità vegetali ed animali. Anche *A. fasciatus* risulta inserito nell'allegato II di questa direttiva, come "specie animale di interesse comunitario la cui conservazione richiede la designazione di zone speciali di conservazione".

Di conseguenza, lo studio approfondito della bio-ecologia di questa specie potrebbe fornire gli strumenti necessari anche ad una corretta gestione del suo habitat. *A. fasciatus* potrebbe cioè fungere da specie ombrello (Zacharias e Roff, 2001), attraverso la cui protezione si raggiungerebbero obiettivi conservazionistici di più ampio respiro, in grado di comprendere altre specie, sia animali che vegetali, anche di interesse economico.

Considerando l'ampia estensione della laguna di Venezia e la varietà dei suoi sistemi barenicoli, si ipotizza che la specie si strutturi in un complesso mosaico di sub-popolazioni, più o meno interconnesse, e che tali popolazioni possano aver evoluto adattamenti e risposte alle variabili condizioni locali, in linea con alcuni risultati emersi per altri ambienti acquatici di transizione (Leonardos *et al.*, 1996; Leonardos e Sinis, 1999; Angeletti *et al.*, 2006).

L'utilizzo di *A. fasciatus* come biomonitor della variabilità degli ambienti acquatici di transizione consisterà quindi nel valutare le risposte e gli adattamenti della specie alle differenti condizioni degli ambienti di transizione. Le indagini su questo modello di studio saranno articolate su tre differenti scale spaziali.

A livello di micro-scala, saranno approfonditi i tratti comportamentali relativi alla riproduzione e all'utilizzo dell'habitat, accanto alla descrizione dello sviluppo embrionale della specie.

Su scala lagunare, oltre ad indagare la genetica di popolazione di *A. fasciatus* utilizzando per la prima volta in contemporanea due differenti segmenti di DNA mitocondriale, verranno analizzati tratti di life history legati alla demografia e alla riproduzione della specie, unitamente alla variabilità fenotipica basata sulla morfometria e la pigmentazione. Per fare ciò, sono state individuate quattro stazioni all'interno della laguna di Venezia (fig. 2), che si differenziano fra loro per collocazione geografica e struttura. I quattro siti differiscono in particolare per il livello di confinamento, i parametri chimico-fisici dell'acqua e la struttura dell'habitat, in modo da rappresentare l'ampio spettro di variabilità che caratterizza gli ambienti di transizione. Si tratta, in particolare, di due barene naturali (Campalto e Conche) e di due canalizzazioni artificiali (Alberoni e Vignole).



Figura 2. Le quattro stazioni di campionamento scelte all'interno della laguna di Venezia. Una descrizione più dettagliata dei siti è riportata nella sezione dei materiali e metodi

La struttura genetica di *A. fasciatus* sarà indagata anche su scala mediterranea. L'utilizzo dei due differenti marcatori genetici consentirà di confrontare le popolazioni nord adriatiche con quelle analizzate in precedenti lavori, fornendo un più ampio quadro della struttura filogenetica della specie, che comprenderà così gran parte del suo areale di distribuzione.

Vengono di seguito presentati nel dettaglio gli obiettivi del lavoro suddivisi per aree tematiche.

Eto-ecologia riproduttiva

Nelle regioni temperate la maggior parte dei pesci si riproduce seguendo un ciclo di sviluppo delle gonadi annuale (Lam, 1983; Bye, 1984), influenzato principalmente dalla temperatura, sia che la riproduzione avvenga in un singolo momento, con il rilascio di una grande quantità di gameti, sia che questa risulti frazionata in deposizioni multiple lungo un periodo di tempo più o meno lungo. In questo caso, oltre alla temperatura, possono contribuire allo stimolo della maturazione delle gonadi altri fattori, quali il fotoperiodo, la disponibilità di substrati idonei alla deposizione, le fasi lunari e i cicli tidali (Lam, 1983; Bye, 1984; Stacey, 1984; Taylor, 1984). Fra le numerose specie di pesci che popolano le zone costiere e gli ambienti di transizione, molte sono quelle che si riproducono in ambienti intertidali (Hsiao *et al.*, 1996), allo scopo di rilasciare le uova in un ambiente con una minore pressione predatoria da parte di altri organismi acquatici (Demartini, 1999; Martin *et al.*, 2004). In letteratura si trovano numerosi esempi, in almeno nove ordini per un totale di 26 famiglie (Demartini, 1999), tra i quali spiccano Ateriniformi (Thomson e Muench, 1976; Middaugh, 1981; Conover e Kynard, 1984; Conover e Heins, 1987; Conover, 1992) e Ciprinodontiformi (DeMartini, 1999; Taylor, 1999). Il costo per una maggior probabilità di sopravvivenza della prole determina però, necessariamente, degli adattamenti ad un ambiente più instabile, che comporta, in particolare, maggiori stress fisiologici. Spesso queste specie esibiscono cicli riproduttivi semilunari come adattamento all'ambiente tidale (Petersen *et al.*, 2010), sfruttando quindi i ritmi mareali per deporre le uova in zone normalmente emerse, quando queste vanno soggette a sommersione durante le alte maree di sizigie.

Tra i vertebrati, nell'ambito dell'etologia riproduttiva, i pesci (Actinopterygii) spiccano per l'ampia gamma di pattern comportamentali (Taborski, 2001). Molto diffuse risultano, tra questi, tattiche riproduttive alternative, messe in atto da maschi che non posseggono, temporaneamente o in via definitiva, le caratteristiche necessarie per monopolizzare una femmina e portarla a riprodursi. L'adozione di queste tattiche risulta favorita dalla presenza, nella maggior parte delle specie di pesci, di fecondazione esterna, che rende più difficile la monopolizzazione di una femmina e la contemporanea esclusione dei possibili competitori da parte del maschio dominante (Taborski, 1999). In molte specie di teleostei in cui i maschi competono aggressivamente per le femmine, alcuni maschi, in genere i più piccoli, adottano quindi comportamenti o pattern di colorazione che imitano le femmine, in modo da avvicinarsi alle coppie in riproduzione e fecondare, di nascosto dal maschio dominante, le uova (Gonçalves *et al.*, 1996). Tattiche alternative di questo tipo sono state riscontrate in 140 specie di pesci appartenenti a 28 famiglie (Taborski, 1998); queste strategie appaiono particolarmente diffuse tra i ciprinodontiformi (Godin, 1995; Plath *et al.*, 2007; Morris *et al.*, 2008; Hurtado-Gonzales *et al.*, 2009).

L'ecologia comportamentale di *A. fasciatus* relativa alla riproduzione verrà affrontata analizzando i dati relativi all'investimento riproduttivo dei pesci raccolti nei quattro siti scelti all'interno della laguna di Venezia. Gli aspetti più strettamente etologici, come ad esempio i moduli comportamentali coinvolti nelle fasi di corteggiamento e deposizione, la presenza di tattiche alternative e i ritmi di riproduzione semi-lunari, verranno approfonditi con osservazioni sperimentali in acquario.

Uso dell'habitat

Gli ambienti estuarini sono caratterizzati da una morfologia estremamente eterogenea (Irlandi e Crawford, 1997), in cui le condizioni ambientali, strutturali e non, che contraddistinguono i differenti habitat, presentano variazioni intense anche su piccole scale spaziali. Trattandosi di ambienti fortemente influenzati dalle maree, gli organismi che li popolano sono costretti ad adeguarsi ai cicli tidali. Il comportamento migratorio, in relazione alla marea, è stato descritto per molte specie nectoniche, in particolare nelle aree barenicole lungo le coste atlantiche nord-americane ed europee (Kneib e Wagner, 1984; Rozas *et al.*, 1988; Gibson, 2003; Teo e Able, 2003; Hampel *et al.*, 2003; Hampel e Cattrijsse, 2004). I bordi vegetati di barene e canali, in particolare, costituiscono un microhabitat di notevole importanza per la comunità nectonica (Baltz *et al.*, 1993; Rozas e Zimmerman, 2000; Meyer e Posey, 2009). Questi habitat vengono spesso utilizzati come aree di pascolo (Rountree e Able, 2007); grazie all'elevata torbidità e alla protezione fornita dalla vegetazione emersa, queste zone offrono anche rifugio sia dai predatori aerei che da quelli acquatici, presenti in acque più profonde (Cattrijsse *et al.*, 1994; Baltz *et al.*, 1998; Rozas e Zimmerman, 2000).

Per approfondire l'utilizzo dei differenti microhabitat da parte di *A. fasciatus* saranno adottate due metodologie differenti. Nelle due barene naturali i campionamenti verranno stratificati secondo un gradiente che dall'esterno della barena procede verso l'interno, mentre nelle pozze più interne verrà utilizzata una trappola a caduta. Nella stazione artificiale di minori dimensioni (Vignole), mancando un gradiente spaziale lineare, l'utilizzo dei differenti microhabitat sarà invece indagato mediante l'utilizzo di bottiglie di campionamento.¹

Demografia di popolazione

La ricchezza trofica, il rifugio offerto dai predatori e la funzione di *nursery* sono tra i principali fattori che determinano l'importanza degli ambienti di transizione nei confronti della comunità nectonica (Kneib, 1987; McIvor e Odum, 1988; Rozas *et al.*, 1988; Cattrijsse e Hampel, 2006). È noto come gli estuari, e le zone barenicole in particolare, siano ambienti estremamente produttivi (Halpin, 1997), con acque poco profonde caratterizzate spesso da una elevata torbidità (Sheaves, 2001): queste aree rappresentano degli habitat importanti sia per le specie residenti che per quelle migratrici (Paterson e Whitfield, 2003; Jin *et al.*, 2010; Green *et al.*, 2009). Le comunità ittiche che popolano questi ambienti si trovano però a dover fronteggiare l'elevata variabilità, nel tempo e nello spazio, che contraddistingue questi habitat. Gli effetti di questa variabilità si riflettono così sulle singole popolazioni, che si differenziano tra loro sotto differenti aspetti demografici.

¹ L'utilizzo dell'habitat non verrà invece approfondito ad Alberoni, vista la generale banalità strutturale presentata da questo canale artificiale.

I campionamenti mensili delle quattro popolazioni di *A. fasciatus* studiate permetteranno di raccogliere informazioni circa la loro struttura e composizione per taglia ed età. In questo modo sarà possibile evidenziare le dinamiche attuate dalla specie in risposta a differenti condizioni ambientali, anche attraverso la stima dei tassi di crescita e della produzione secondaria.

Plasticità fenotipica e bandeggio

La plasticità fenotipica, ovvero la capacità di un organismo di esprimere differenti fenotipi partendo da un unico genotipo in risposta alle pressioni ambientali (West-Eberhard, 2003), è stata dimostrata per varie specie di pesci (Smith e Skulason, 1996; Alexander e Adams, 2000; Adams *et al.*, 2003; Langerhans *et al.*, 2003; Andersson *et al.*, 2005, 2006; Baker *et al.*, 2005; Power *et al.*, 2005; Ruehl e DeWitt, 2005; Kerschbaumer e Sturmbauer, 2011). Questa variabilità può esprimersi principalmente attraverso variazioni nell'espressione dei tratti demografici e di life history, ma anche di alcuni tratti somatici e, più in generale, della sagoma complessiva di un organismo. La morfometria geometrica, utilizzando direttamente le coordinate di alcuni punti (landmark), permette di quantificare queste modificazioni complessive nella sagoma che sarebbe troppo complesso, se non impossibile, descrivere e quantificare attraverso la misurazione di precise parti del corpo come avviene nella morfometria tradizionale (Kerschbaumer e Sturmbauer, 2011).

In moltissime specie di ciprinodontiformi, la presenza di bande verticali sui lati del corpo è un pattern ricorrente in molte specie, così come è diffuso il dimorfismo sessuale, con i maschi in genere più colorati e di minori dimensioni (Newmann, 1907). I pigmenti corporei organizzati in bande, strisce o macchie hanno da sempre attirato l'attenzione degli ittiologi per due ragioni principali: sono originati da complessi processi ontogenetici ma risultano anche controllati dall'interazione tra selezione naturale e selezione sessuale. Dal punto di vista della selezione sessuale, le bande verticali possono rivestire, ad esempio, un ruolo importante nell'attrarre il partner sessuale o nell'allontanare i rivali, come è stato dimostrato in vari studi per i pesci appartenenti al genere *Xiphophorus* (Morris *et al.*, 1995; Morris *et al.*, 2001; Morris *et al.*, 2007; Fisher *et al.*, 2009; Robison e Morris, 2010). In termini di selezione naturale, la presenza di bande verticali può invece favorire il mimetismo in habitat complessi ed eterogenei, come nel caso di *G. aculeatus* (Greenwood *et al.*, 2011).

Il numero di bande può inoltre variare fra i due lati del corpo, determinando quindi nell'animale un certo grado di asimmetria. L'asimmetria fluttuante, definita come la deviazione casuale dalla simmetria bilaterale (Van Valen, 1962), è stata proposta da diversi autori come un modo per definire la "qualità" di una popolazione animale (Møller e Swaddle, 1997) o per quantificare l'impatto di stress ambientali (Clarke, 1995). Nella sua review, Allenbach (2011) ha analizzato 81 lavori scientifici sull'asimmetria fluttuante nei pesci, pubblicati tra il 1966 e il 2009, evidenziando come questa possa rappresentare anche un utile strumento nella valutazione dello stress ambientale, naturale o derivante da attività umane.

Le quattro differenti popolazioni lagunari di *A. fasciatus* saranno analizzate, focalizzando l'attenzione sui tratti di life history, in particolare quelli legati alla riproduzione, e sulle diversità morfometriche. I risultati potranno così essere interpretati alla luce delle pressioni ambientali in grado di influenzare tali tratti.

Il bandeggio sui lati del corpo, che caratterizza diversamente entrambi i sessi di *A. fasciatus*, verrà invece analizzato allo scopo di verificare l'esistenza di differenti pattern nei due sessi, cercando di spiegarne il significato evolutivo. Il conteggio del numero di bande potrà poi servire a valutare il grado di asimmetria fluttuante in relazione al sito di provenienza.

Genetica

La naturale frammentarietà degli ambienti di transizione, e il conseguente isolamento geografico delle popolazioni di *A. fasciatus*, hanno fatto della specie un modello per numerosi studi genetici, in termini di flussi genici fra popolazioni e di relazioni fra struttura genetica e parametri ambientali (Maltagliati, 1998, 1999; Maltagliati *et al.*, 2003; Triantafyllidis *et al.*, 2007; Pappalardo *et al.*, 2008). L'analisi della struttura genetica delle popolazioni di *A. fasciatus* ha permesso di identificare una marcata differenziazione geografica delle popolazioni, mentre alcuni aspetti della struttura genetica sono serviti per rilevare stress ambientali o specifici adattamenti rispetto a certi parametri, quali ad esempio temperatura e salinità (Maltagliati, 2002; Cimmaruta *et al.*, 2003; Angeletti *et al.*, 2010).

In questo ambito verrà indagata la struttura genetica delle popolazioni lagunari di *A. fasciatus* attraverso l'utilizzo di DNA mitocondriale. Per la prima volta verranno utilizzati, nel medesimo studio, due differenti segmenti di DNA mitocondriale, che permetteranno di inserire l'alto Adriatico nel più ampio contesto dell'areale mediterraneo della specie, confrontando in questo modo i dati ottenuti con tutti quelli disponibili dalla bibliografia esistente.

2. Materiali e metodi

2.1 La specie oggetto di studio

Aphanius fasciatus (Valenciennes, 1821) (Actinopterygii, Cyprinodontidae) è un piccolo ciprinodontide euritermo ed eurialino diffuso negli ambienti di transizione delle coste del Mediterraneo centro-orientale, ma in grado di spingersi anche in acque dolci (Lo Duca e Marrone, 2009) o iperaline (Leonardos e Sinis, 1999). Questa specie risulta infatti tollerante ad un ampio range di escursione di parametri come temperatura (5-39° C) e salinità (0-180 ppt) (Triantafyllidis *et al.*, 2007). È un pesce gregario, spesso osservabile in gruppi numerosi che possono comprendere diverse centinaia di individui. Appartiene alla guild dei residenti estuarini (Franzoi *et al.*, 2010), compiendo l'intero ciclo vitale in estuari e lagune costiere. La riproduzione avviene in primavera, con la deposizione, da parte delle femmine, di numerosi batch di uova, relativamente di grandi dimensioni, che vengono fatti aderire alla vegetazione sommersa (Leonardos e Sinis, 1998). All'incubazione non segue una fase di dispersione planctonica, ma dall'uovo schiudono delle larve demersali. Considerate le ridotte dimensioni, e nonostante possa raggiungere la maturità sessuale già nel primo anno di vita (Leonardos e Sinis, 1998), *A. fasciatus* è una specie piuttosto longeva, che può raggiungere i 7 anni di vita. Onnivoro, si ciba in prevalenza di piccoli invertebrati, alghe e diatomee (Leonardos, 2008). La specie presenta un accentuato dimorfismo sessuale (fig. 3).

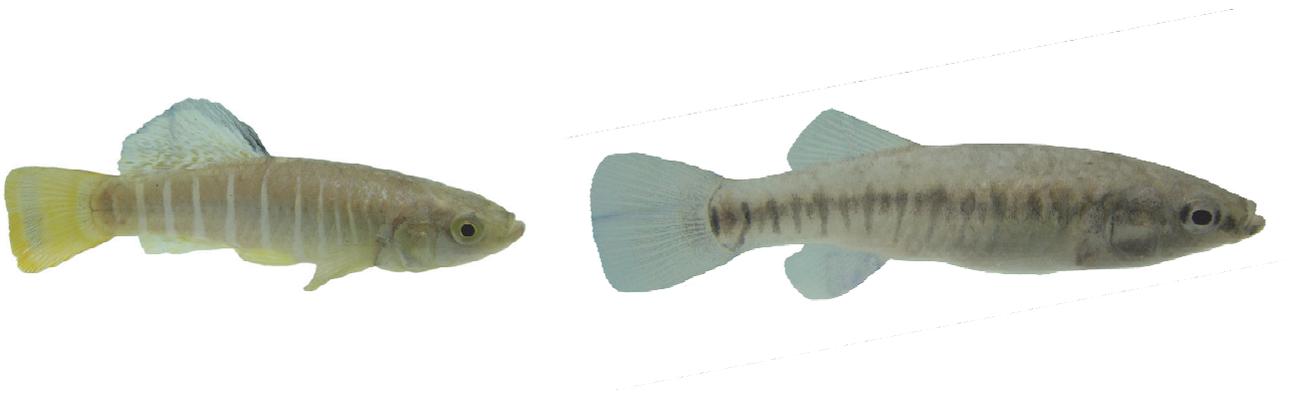


Figura 3. Esemplare maschio (a sinistra) e femmina (a destra) di *A. fasciatus*

I maschi hanno una colorazione di fondo da bruno chiaro a grigio-azzurro scuro, con 4-12 sottili bande verticali biancastre. Le pinne dorsale, caudale e anale sono di colore giallo-arancio. La pinna dorsale può presentare il margine anteriore nero, mentre una barra nera può essere presente, verticalmente, nella porzione distale della pinna caudale. La colorazione delle bande e delle pinne risulta comunque molto variabile, a seconda della stagione, intensificandosi durante il periodo riproduttivo. Le femmine, più grandi dei maschi, sono di colore grigio chiaro, con 4-25 sottili bande nere e con le pinne perlopiù trasparenti.

2.2 Siti di campionamento

All'interno della laguna di Venezia (fig. 4) sono state individuate quattro stazioni (vedi introduzione) distribuite tra i diversi sotto-bacini lagunari, con caratteristiche strutturali e di complessità dell'habitat fortemente differenziate (fig. 5).

Alberoni (AL; 45°20'20" N, 12°18'45" E)

La stazione, situata in prossimità della bocca di porto di Malamocco, nel bacino centrale della laguna di Venezia, è costituita da un canale artificiale, della profondità massima di circa 2 m, che circonda ad anello il forte degli Alberoni. La connessione tra il canale e la bocca di porto garantisce un regolare scambio mareale e conferisce al sito caratteristiche chimico-fisiche prettamente marine. Il fondale risulta coperto da uno spesso strato di macroalghe (principalmente *Ulva rigida* C. Agardh, 1822 e *Ulva laetevirens* Areschoug, 1854, pleustofitiche).

Campalto (CA; 45°28'47" N, 12°18'7" E)

Il sito comprende un complesso sistema di ghebi, con fondale spoglio, all'interno del sistema barenicolo di Passo Campalto, nel bacino nord della laguna di Venezia. L'area di campionamento si colloca nella fascia intertidale, andando soggetta a prosciugamento durante le fasi di bassa marea.

Conche (CO; 45°14'41" N, 12°12'51" E)

Questa stazione è collocata all'interno di un vasto sistema barenicolo nel bacino sud della laguna di Venezia, prospiciente la bocca di porto di Chioggia. Come a CA, il fondale è nudo e l'area risulta fortemente influenzata dai cicli tidali.

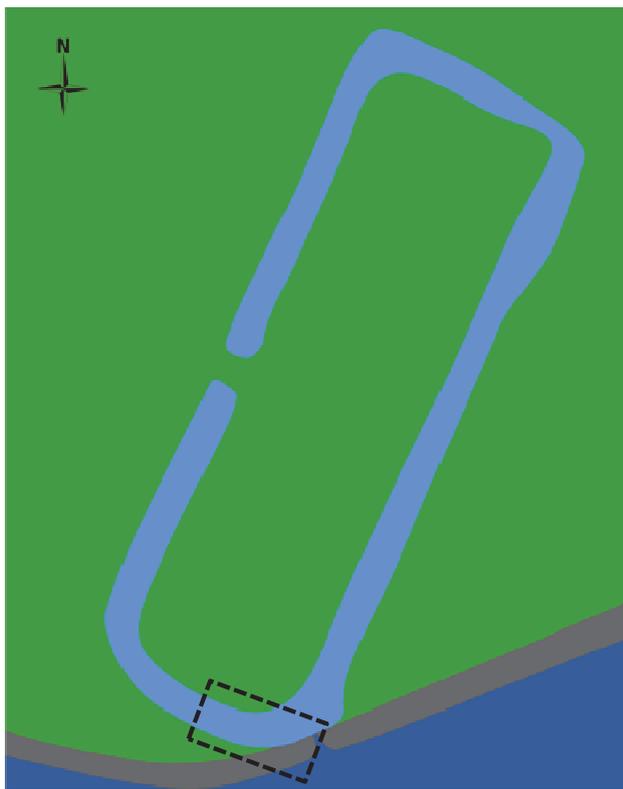
Vignole (VI; 45°26' 31" N, 12°22'30"E)

La stazione è costituita da peschiere di terra, ormai abbandonate e in parte rinaturalizzate, all'interno dell'isola delle Vignole. La connessione con le acque lagunari, un tempo regolata mediante chiusa, è ormai interrotta. Si tratta, di fatto, di un bacino chiuso, con una copertura algale variabile a seconda delle stagioni, con una profondità media di 50 cm. Solo in alcuni punti l'acqua raggiunge una profondità massima di 1,5 m.



Figura 4. Mappa della laguna di Venezia con evidenziate in rosso le quattro stazioni di campionamento: AL, Alberoni; CA, Campalto; CO, Conche; VI, Vignole

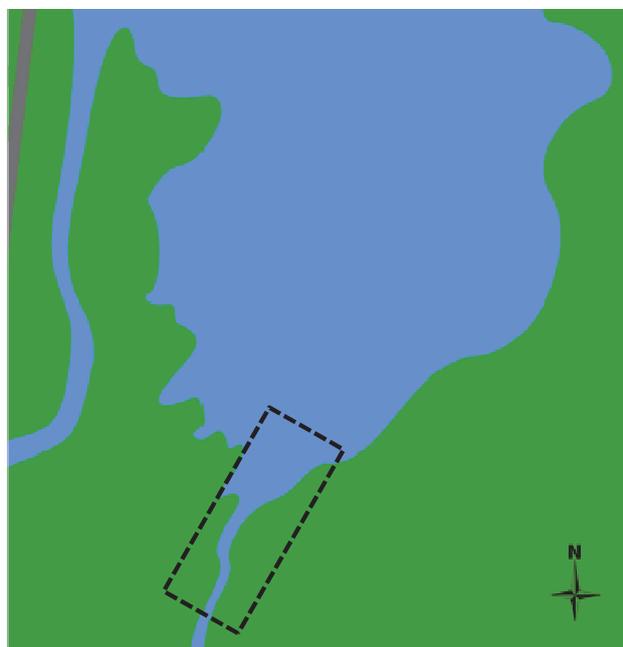
Alberoni



Campalto



Conche



Vignole

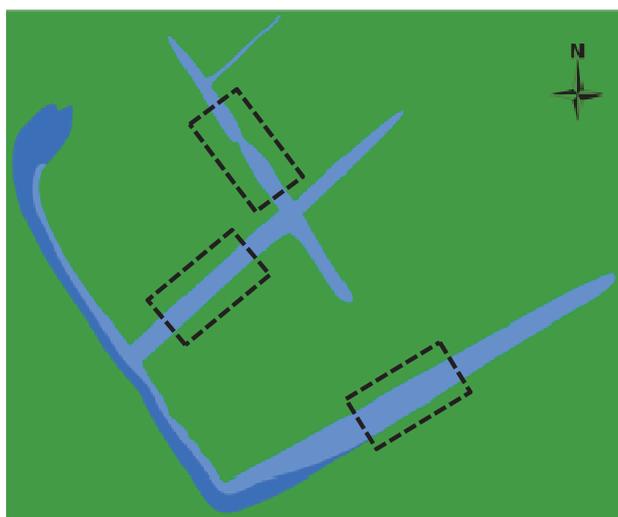


Figura 5. Rappresentazione schematica della struttura delle quattro stazioni indagate: il canale del Forte degli Alberoni nei pressi della bocca di porto di Malamocco, due ghebi all'interno dei sistemi di barene naturali nei pressi di Passo Campalto e Conche di Codevigo, le peschiere di terra nella parte occidentale dell'isola delle Vignole. I riquadri tratteggiati indicano le aree campionate con la tratta

2.3 Attività di campionamento

I campionamenti sono stati svolti, con cadenza pressoché mensile, per un totale di 11 campagne, da marzo 2010 a marzo 2011, secondo il calendario riportato in tabella 1.

Campagna	Alberoni	Campalto	Conche	Vignole
01	25/03/2010	30/03/2010	29/03/2010	28/03/2010
02	19/04/2010	23/04/2010	22/04/2010	20/04/2010
03	27/05/2010	24/05/2010	25/05/2010	26/05/2010
04	25/06/2010	22/06/2010	21/06/2010	24/06/2010
05	12/08/2010	09/08/2010	10/08/2010	11/08/2010
06	06/09/2010	13/09/2010	10/09/2010	07/09/2010
07	12/10/2010	08/10/2010	07/10/2010	11/10/2010
08	10/11/2010	17/11/2010	18/11/2010	11/11/2010
09	20/12/2010	15/12/2010	15/12/2010	20/12/2010
10	07/02/2011	08/02/2011	08/02/2011	07/02/2011
11	24/03/2011	21/03/2011	21/03/2011	24/03/2011

Tabella 1. Date di campionamento per le singole campagne nelle quattro stazioni

I campionamenti sono stati effettuati utilizzando una tratta da pesce novello della lunghezza di 8 metri e maglia di 2 mm, effettuando da due a quattro repliche a seconda della stagione e delle condizioni climatiche. Nelle stazioni di AL, CA e CO, influenzate dai cicli tidali, il campionamento è stato effettuato in corrispondenza del picco massimo della marea di sizigie (Baltz *et al.*, 1993).

Contestualmente al campionamento con tratta, sono stati registrati quattro parametri chimico-fisici dell'acqua: temperatura (termometro digitale HI9060), salinità (rifrattometro 106 ATC), torbidità (torbidimetro HI93703-C) e ossigeno disciolto (test kit HI3810).



Figura 6. Cogollo in opera all'imboccatura del ghebo

Nelle stazioni in corrispondenza dei due sistemi di barene naturali è stato inoltre individuato un secondo ghebo, confrontabile per dimensioni e struttura a quello campionato con la tratta. Nei campionamenti compresi tra aprile e agosto, all'imboccatura di questo ghebo è stato posizionato un cogollo, calato in corrispondenza del picco di alta marea e lasciato in opera per tutta la fase di marea calante (fig. 6), in modo da catturare tutti gli organismi nectonici entrati durante la fase crescente, e permettere così una

valutazione dell'efficienza della tratta. L'utilizzo del microhabitat da parte di *A. fasciatus* è stato indagato nelle tre stazioni che presentano una struttura più articolata (CA, CO e VI). Nelle due barene naturali, i campionamenti con tratta sono stati stratificati procedendo con le tirate dal

marginale esterno della barena verso l'interno, lungo il ghebo scelto. Le pozze isolate, situate nella porzione più interna della barena, sono state campionate, tra maggio e agosto, con una trappola a caduta (tre repliche in ciascun campionamento con un quadrato di 40 cm di lato). Nella stazione di Vignole, invece, sono state utilizzate in parallelo delle bottiglie di campionamento (fig. 7). Lungo un tratto di canale della lunghezza di 45 m sono state posizionate 5 bottiglie ogni 5 m, secondo lo schema riportato in figura 4, lasciate in opera per un'ora.

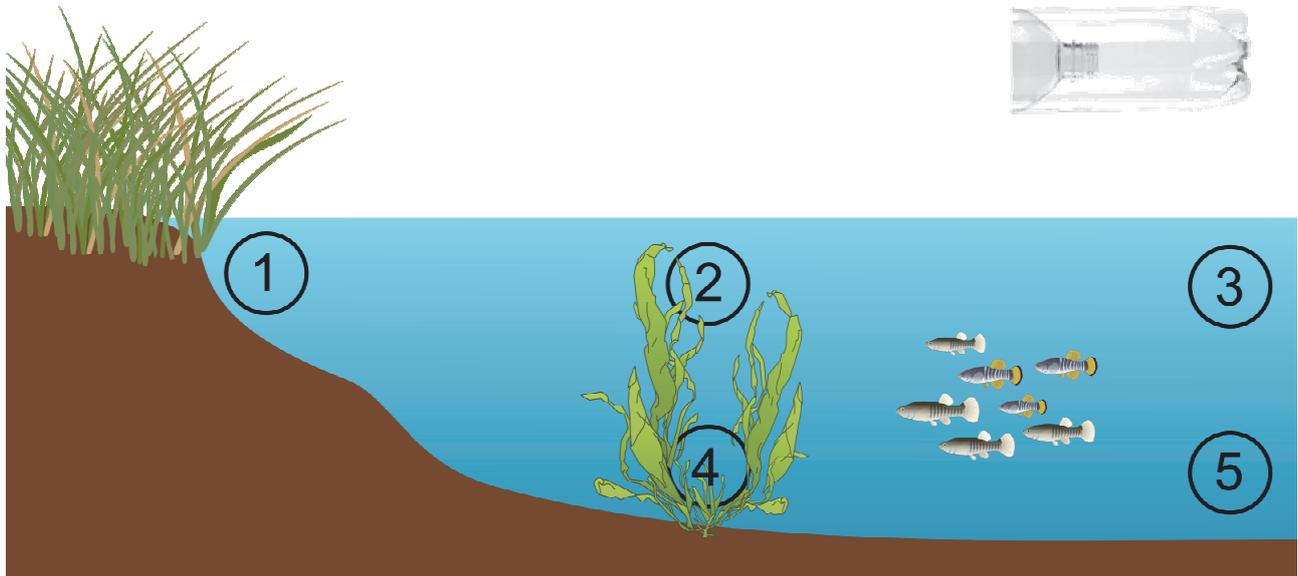


Figura 7. Schema di posizionamento delle bottiglie di campionamento nella stazione di Vignole: vicino al bordo del canale, in acque poco profonde e protette dalla vegetazione riparia (1); nel centro del canale, in colonna d'acqua, su fondale vegetato (2) o nudo (3); nel centro del canale, sul fondo, su fondale vegetato (4) o nudo (5)

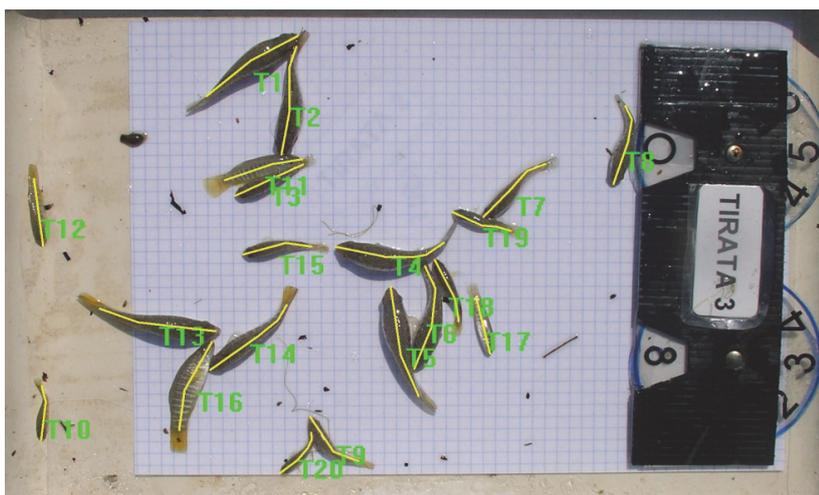


Figura 8. Esempio di misura della lunghezza standard di *A. fasciatus* mediante il software Image-Pro Plus 6.0

Nel mese di giugno sono inoltre state raccolte manualmente tre carote di sedimento (\varnothing 3 cm) per ogni stazione.

Tutti i pesci raccolti (tab. 3) sono stati fotografati per poter essere poi misurati (lunghezza standard) mediante il software Image-ProPlus 6.0 (fig. 8). Due sub-campioni di 40 e 60 individui di *A. fasciatus* (sex ratio 1:1), rappresentativi di tutte le classi di taglia della popolazione, sono stati

conservati, quando disponibili, rispettivamente in etanolo assoluto, per le analisi genetiche, e formaldeide all'8%, per la successiva dissezione in laboratorio.

2.4 Attività di laboratorio

Per ciascuno degli individui conservati in formaldeide (tab. 3), provenienti dai campionamenti effettuati tra marzo e settembre, sono stati misurati in laboratorio: lunghezza totale (LT), lunghezza standard (LS), peso totale (TW), peso eviscerato (EW), peso delle gonadi (GW), numero di bande su entrambi i lati del corpo. Per ciascun individuo sono state prelevate alcune scaglie per la determinazione dell'età, secondo il metodo descritto in Leonardos e Sinis (1999).

La composizione granulometrica (% frazione fine) e il contenuto di sostanza organica nel sedimento sono stati misurati seguendo i metodi proposti da Sfriso *et al.* (2003) e Heiri *et al.* (2001).

Mese	AL		CA		CO		VI	
	F	M	F	M	F	M	F	M
MAR	16	3	393 (40)	377 (30)	4	4	343 (34)	108 (30)
APR	10 (9)	11 (11)	40 (28)	93 (30)	35 (31)	77 (30)	49 (31)	98 (30)
MAG	4 (4)	3 (3)	33 (33)	69 (30)	19 (19)	20 (20)	159 (32)	81 (29)
GIU	8 (6)	6 (6)	288 (34)	250 (30)	19 (14)	22 (22)	218 (31)	64 (30)
AGO	103 (30)	60 (30)	453 (29)	664 (30)	86 (30)	104 (30)	48 (30)	34 (30)
SET	140 (30)	56 (30)	26 (20)	20 (20)	108 (30)	76 (30)	41 (30)	32 (32)
OTT	11	6	390	149	29	1	101	42
NOV	12	10	242	117				
DIC					4	5	27	22
FEB '11		1			5	2	3	6
MAR '11	9	3				1	5	2

Tabella 3. Numerosità campionarie dei pesci raccolti nelle quattro stazioni. In corsivo il numero di individui conservati in formaldeide

2.4.1 Etologia riproduttiva

Un campione di un centinaio di esemplari è stato raccolto, in data 07/05/2012, nei pressi della bocca di porto di Lido (45°26'48" N, 12°24'58" E) e trasferito in due acquari di stabulazione, dopo aver separato le femmine dai maschi. Dopo 2 giorni di acclimatazione, quattro gruppi formati da 12 maschi e otto femmine (in modo da rispettare la sex ratio della popolazione di provenienza) sono stati trasferiti in altrettante vasche, della capacità di 190 L, dotate di filtro biologico esterno, a temperatura ambiente, illuminate per 12 ore al giorno.

Due volte alla settimana, dal 09/05 al 18/06/2012, è stata effettuata una videoregistrazione (videocamera CANON HD HF S30), focalizzata sul substrato di deposizione, della durata di 60 minuti. Il substrato di deposizione era costituito da un quadrato di 20 cm di lato ricoperto di lana di perlon di colore verde, che veniva appeso alla parete posteriore dell'acquario all'inizio di ogni giornata di osservazione. Al termine della giornata il substrato veniva controllato con lo scopo di contare e raccogliere le uova eventualmente deposte. Le uova raccolte sono state di volta in volta trasferite in becker della capacità di 1 L. Le uova sono poi state fotografate ogni giorno tramite

fotocamera Sony Nex3 montata su uno stereomicroscopio, fino alla schiusa. Per ogni deposizione raccolta, sono state quindi registrate la temperatura e la durata di incubazione, oltre alla percentuale di schiusa.

2.4.2 Ecologia riproduttiva e tratti di life history

Lo studio dell'ecologia riproduttiva è stato approfondito nelle femmine raccolte da marzo ad agosto. Circa un terzo delle gonadi è stato dissezionato e pesato. Gli oociti presenti sono stati separati all'interno di una capsula Petri, colorati con Rosa Bengala e fotografati. Il numero e il diametro degli oociti sono stati quindi misurati attraverso il software Image-Pro Plus 6.0.

2.4.3 Genetica

Per lo studio della genetica di popolazione di *A. fasciatus*, oltre alle quattro stazioni sopra descritte, sono stati individuati altri 5 siti (fig. 9). Tre all'interno della laguna di Venezia: Palude della Rosa (PR), Malamocco (MA) e Chioggia (CH). Gli altri due campioni provengono dalle saline di Comacchio (CS) e dalla laguna di Diana, in Corsica (DL).

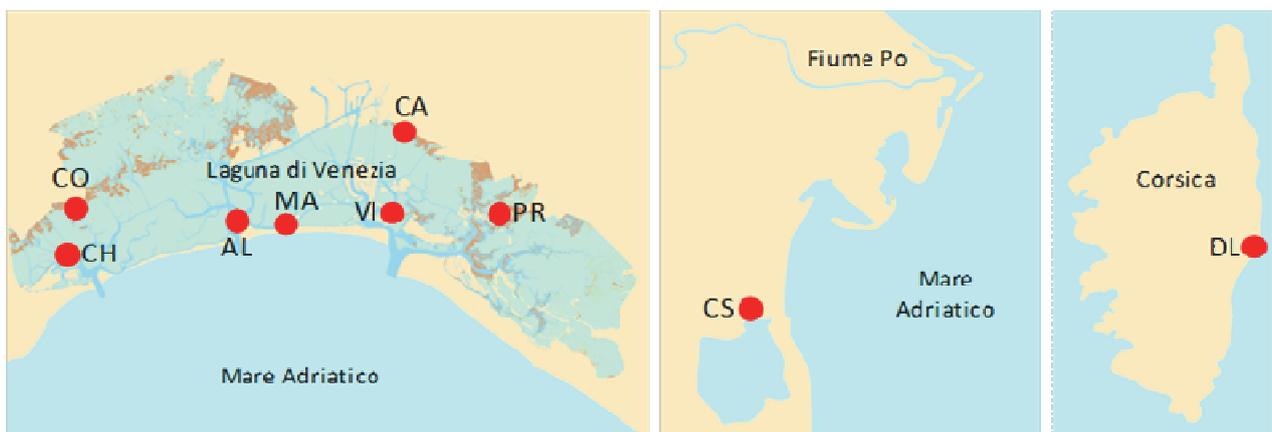


Figura 9. Siti di provenienza degli esemplari utilizzati nelle analisi genetiche. Oltre alle quattro stazioni già presentate: PR, Palude della Rosa; MA, Malamocco; CH, Chioggia; CS, saline di Comacchio; DL, laguna di Diana (Corsica).

I pesci, conservati in etanolo assoluto, sono stati trasferiti nei laboratori delle università greche di Ioannina e Salonicco, rispettivamente per l'estrazione/amplificazione del DNA e per l'analisi statistica dei dati raccolti. Per ogni stazione sono stati processati 10 pesci, dai quali è stato estratto il DNA con il metodo CTAB descritto da Hillis *et al.* (1996). Sono stati quindi amplificati due segmenti di mtDNA: il primo (16S = 780 basi), comprende una porzione del gene che codifica parte dell'RNA della sub-unità ribosomiale 16S, il secondo (D-loop = 339 basi), comprende la regione di controllo D-loop. Le condizioni per l'amplificazione sono descritte in tabella 2.

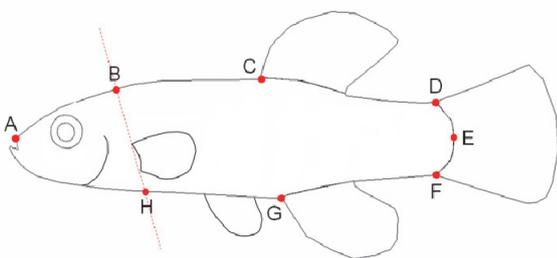
16S		D-loop	
Temp (° C)	Tempo (sec)	Temp (° C)	Time (sec)
94	120	94	120
94	35	94	30
52	35	51	30
72	120	72	40
72	600	72	420

Tabella 2. Temperature e durata delle differenti fasi utilizzate per amplificare i due segmenti di mtDNA tramite PCR

Per il primo segmento (16S) sono stati utilizzati i primer L3002 and H4280, per il secondo (D-loop) i primer H16498 and FrCav. I frammenti amplificati sono quindi stati inviati per il sequenziamento presso la VBC Biotech Service GmbH.

2.4.4 Morfometria e bandeggio

Lo studio delle differenze morfometriche tra gli esemplari provenienti dai quattro siti è stato effettuato separatamente per i due sessi. Un sottocampione di individui conservati in formaldeide (116 femmine, SL compresa tra 17.8 e 57.5 mm; 209 maschi, SL compresa tra 18.2 e 49.9 mm) è stato fotografato e, per ogni individuo, sono state raccolte con il software Image ProPlus le coordinate di otto landmark (fig. 10).



- A: labbro superiore
- B,H: intersezione del margine dorsale e ventrale con la congiungente le estremità dell'attaccatura della pinna pettorale
- C: attaccatura anteriore della pinna dorsale
- D,F: attaccatura superiore e inferiore della pinna caudale
- E: estremità del peduncolo caudale
- G: attaccatura anteriore della pinna anale

Figura 10. Posizione e descrizione degli otto landmark utilizzati nell'analisi morfometrica

2.5 Analisi dei dati

2.5.1 Etologia riproduttiva

L'osservazione delle registrazioni ha permesso la descrizione e la quantificazione dei moduli comportamentali legati alla riproduzione, espressi come frequenze orarie. Tra i differenti comportamenti registrati, i due considerati più significativi nel rappresentare l'intensità dell'attività riproduttiva di *A. fasciatus* sono stati il numero di corteggiamenti/deposizioni effettuati, associati al numero di uova deposte nel corso della stessa giornata. La serie temporale raccolta è stata analizzata fittando i dati con una regressione sinusoidale (Press *et al.*, 1992) alla ricerca di un ciclo semi-lunare nell'intensità dei comportamenti e nella produzione di uova. Le analisi sono state effettuate con il software PAST (Hammer *et al.*, 2001).

Per le uova raccolte, la registrazione di durata e temperatura di incubazione ha permesso il calcolo dei gradi/giorno necessari alla schiusa.

2.5.2 Relazione età-taglia

Le curve di crescita, secondo il modello di Von Bertalanffy, separatamente per maschi e femmine nelle quattro stazioni, sono state ottenute fittando i dati di lunghezza-età attraverso una regressione non lineare ai minimi quadrati, come proposto in Kuparinen *et al.* (2011), utilizzando il software PAST (Hammer *et al.*, 2001). Il fattore di condizione è stato calcolato, separatamente per maschi e femmine, come

$$K_n = \frac{TW - GW}{LS^b} \cdot 10^5$$

dove b è la pendenza della regressione tra il peso totale (privato delle gonadi) e la lunghezza standard calcolata, separatamente per maschi e femmine, su tutti gli individui processati in laboratorio, indipendentemente dalla stazione di provenienza.

Il tasso di sopravvivenza della specie è stato calcolato secondo il metodo proposto da Chapman e Robson (1960).

2.5.3 Produzione secondaria

La produzione secondaria è stata calcolata seguendo il metodo della crescita istantanea proposto da Ricker (1946), seguendo le raccomandazioni di Waters and Crawford (1973) e Chapman (1978). La produzione P , espressa in $g\ m^{-2}\ anno^{-1}$, è stata calcolata come

$$P = \sum_{c=1}^n \left(\sum_{t=1}^n G_c^t \cdot \sum_{t=1}^n \overline{B_c^t} \right)$$

dove G_c^t è il tasso di crescita istantaneo per la coorte c al tempo t e \overline{B}_c^t è il corrispondente standing stock medio al tempo t .

Il tasso di crescita istantaneo è stato calcolato come

$$G_c^t = \ln \frac{\overline{W}_c^t}{\overline{W}_c^{t-1}}$$

dove \overline{W}_c^t e \overline{W}_c^{t-1} sono i pesi medi della coorte c ai tempi t e $t - 1$. Il peso medio è stato calcolato utilizzando le regressioni lunghezza-peso, sito- e sesso-specifiche, sui dati di lunghezza ottenuti dalle fotografie dei pesci catturati. Lo standing stock medio è stato calcolato come

$$B_c^t = \frac{D_c^{t-1} \cdot \overline{W}_c^{t-1} + D_c^t \cdot \overline{W}_c^t}{2}$$

Dove D_c^t e D_c^{t-1} sono le densità della coorte c ai tempi $t - 1$ e t .

2.5.4 Ecologia riproduttiva e tratti di *life history*

La taglia alla minima maturità è stata calcolata secondo il metodo di regressione logistica proposto da Walsh e Reznick (2009), dividendo le femmine in classi di taglia di 2.5 mm. L'età alla minima maturità è stata calcolata inserendo tale taglia nelle curve di crescita di Von Bertalanffy.

Per quantificare l'influenza dei parametri ambientali, e della struttura dell'habitat caratterizzanti i quattro siti, sui tratti della *life history* riproduttiva della specie, oltre ai quattro parametri ambientali già descritti, sono state scelte altre tre variabili: l'intensità della predazione sui giovanili e sugli adulti, e la ricchezza trofica dell'habitat. Il primo fattore, la predazione sui giovanili, è stato misurato attraverso la densità di specie nectoniche, campionate insieme ad *A. fasciatus*, che sono note dalla letteratura nutrirsi di giovanili di teleostei. Il secondo fattore, la predazione sugli adulti, è stato considerato direttamente correlato all'influenza tidale sulle stazioni, e quantificato attraverso la percentuale di acque intertidali nel raggio di 1 km dal sito di campionamento. Durante le fasi di bassa marea, infatti, gli adulti di *A. fasciatus* sono costretti ad abbandonare il rifugio offerto dalle acque intertidali per spostarsi in zone più profonde, dove sono soggetti alla predazione da parte di pesci predatori. Il terzo fattore, la ricchezza trofica dell'habitat, è stato quantificato attraverso la percentuale di sostanza organica nel sedimento (Howes *et al.*, 1984; Odum, 1988; Mitsch e Gosselink, 2000).

2.5.5 Morfometria e bandeggio

Le differenze nella sagoma di *A. fasciatus* tra le quattro stazioni sono state indagate attraverso l'analisi geometrica delle coordinate dei landmark (Bookstein, 1991). Per rimuovere un possibile effetto della taglia sulla sagoma, è stata effettuata una trasformazione di Procrustes delle coordinate (Rohlf e Slice, 1990). Differenze nella sagoma risultante sono state testate mediante

MANOVA (Multivariate ANalysis of VAriance) e i risultati visualizzati attraverso CVA (Canonical Variates Analysis) e TPS (thin-plate splines: Bookstein, 1989). Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando il software PAST (Hammer *et al.*, 2001).

Utilizzando il numero di bande su entrambi i lati del corpo, è stato inoltre calcolato un indice di asimmetria secondo la formula

$$IA = \frac{|n^{\circ} \text{ bande } sx - n^{\circ} \text{ bande } dx|}{n^{\circ} \text{ bande } sx + n^{\circ} \text{ bande } dx}$$

2.5.6 Genetica

Le sequenze ottenute sono state allineate con il software Geneious 5.6, e successivamente editate manualmente. I modelli di sostituzione migliori sono stati scelti attraverso il software jModelTest vX. Le analisi filogenetiche sono state effettuate costruendo degli alberi filogenetici con il software Mega 5 (Tamura *et al.*, 2011), utilizzando tre diversi metodi: maximum likelihood (ML), neighbour joining (NJ) e maximum parsimony (MP). Il software Arlequin 3.5 (Excoffier e Lischer, 2010) è stato usato per calcolare la diversità aplo-tipica delle diverse popolazioni e per valutare il grado di strutturazione genetica delle popolazioni attraverso l'analisi della varianza molecolare (AMOVA). Oltre alle sequenze amplificate, sono state inserite quelle disponibili in GenBank (n° di accesso AJ605322-329; AM184186-201; EF440653-688; AM183169,170,174-182,190-194,210,214; AM884565-570; DQ923020-042; EF640811-857; AF449307-313)

3. Risultati

3.1 Microscala

3.1.1 Eco-etologia riproduttiva

Il comportamento riproduttivo è stato analizzato combinando alcune osservazioni sulle popolazioni naturali con altre ottenute in condizioni controllate di laboratorio (acquari sperimentali). Per i pesci provenienti dalle quattro stazioni, l'osservazione della relazione esistente tra l'investimento in gonadi (IGS) e la taglia, analizzato separatamente per femmine e maschi (fig. 11), fa supporre la presenza di tattiche alternative messe in atto da esemplari maschi di *A. fasciatus* per poter fecondare le uova deposte da una femmina, pur non monopolizzandola.

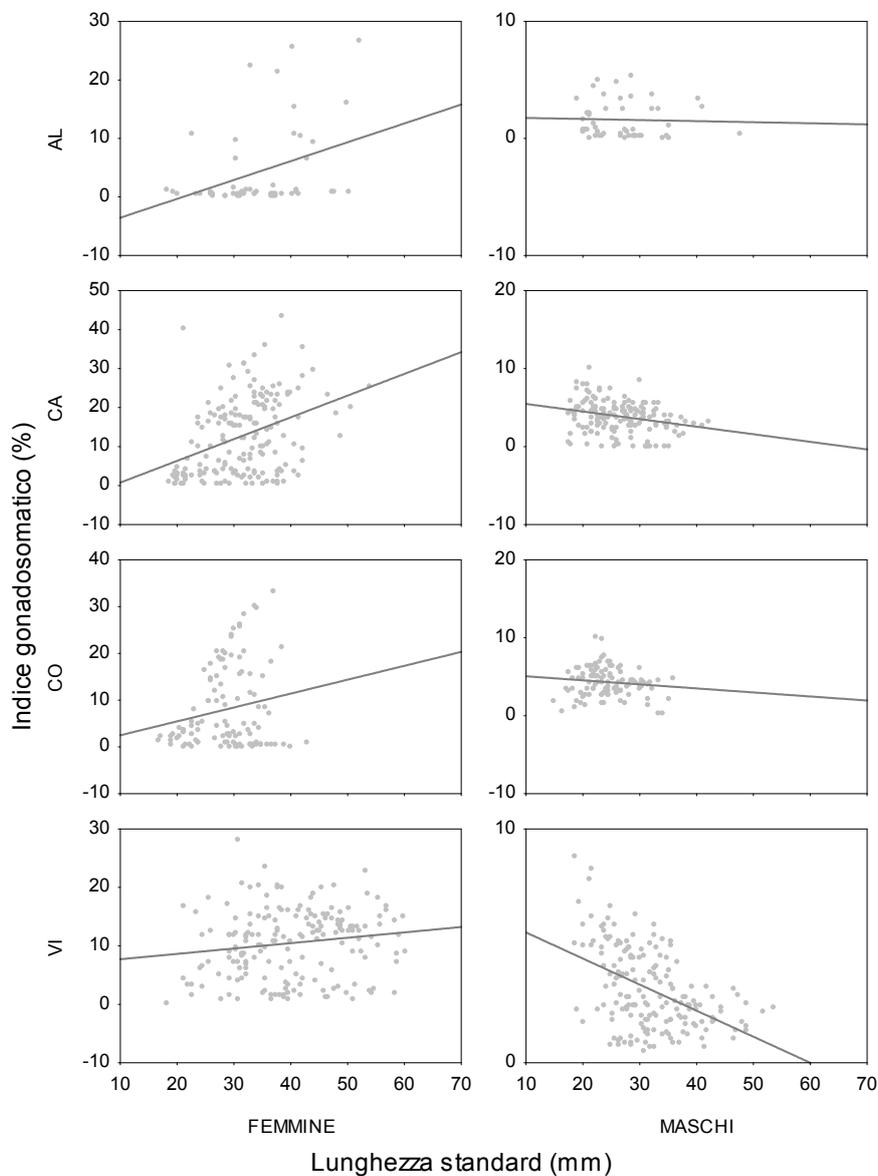


Figura 11. Investimento riproduttivo (indice gonado-somatico) espresso in relazione alla lunghezza standard separatamente per femmine e maschi

In questi ultimi, infatti, non si osserva una correlazione positiva con la taglia come nelle femmine, ma, al contrario, negativa (Figura 11, tab. 4). I maschi di piccole dimensioni, quindi, investono comunque molta energia nella produzione di gameti, per poter così fecondare, come sneakers (parassiti), le uova prodotte da femmine monopolizzate da maschi di maggiori dimensioni.

	AL	CA	CO	VI
Femmine	0,70	0,46	0,17	0,24
Maschi	-0,45	-0,24	-0,17	-0,37

Tabella 3. Valori di correlazione (Spearman) tra IGS e LS per femmine e maschi di *A. fasciatus*. In grassetto i valori significativi per $p < 0.05$

Le sequenze di corteggiamento in *A. fasciatus* sono composte da cinque moduli comportamentali (descritti in Malavasi *et al.*, 2010), attraverso i quali i maschi, nuotando in circolo attorno alla femmina (circling, fig 12.a) e stimolandola con colpi del muso, tentano di isolarla e condurla, in caso di successo, al sito di deposizione (nudging, fig 12.b). L'osservazione di gruppi più numerosi di animali ha inoltre permesso la descrizione di corteggiamenti multipli, durante i quali più maschi (fino a cinque) corteggiavano la stessa femmina (fig. 12c). Quasi la metà delle deposizioni osservate (45,9 %) era inoltre costituita da deposizioni multiple, durante le quali oltre al maschio dominante, il primo ad aver isolato la femmina e ad aver iniziato i tipici movimenti ondulatori legati alla fecondazione delle uova, altri individui, generalmente di minori dimensioni, partecipavano alla fecondazione, inseguendo il primo maschio ed esibendo gli stessi movimenti (fig. 12d-e). La maggior parte delle deposizioni multiple coinvolgeva due individui (66,7% delle deposizioni multiple) ma il loro numero poteva anche comprendere fino a cinque maschi che, inseguendo quello dominante, partecipavano poi simultaneamente alla fecondazione delle uova deposte. Inoltre, tali osservazioni hanno messo in luce altri moduli comportamentali legati all'intensa competizione tra maschi, quali le dispute aggressive, il cannibalismo post-accoppiamento (fig. 12f) e il corteggiamento omosessuale.

I corteggiamenti (fig. 13) sono risultati essere l'attività più frequente in tutte e quattro le vasche (da 62,9 a 80,3%), seguiti da iterazioni aggressive fra maschi (6,4-18,9%) e deposizioni (5,5-12,7%).

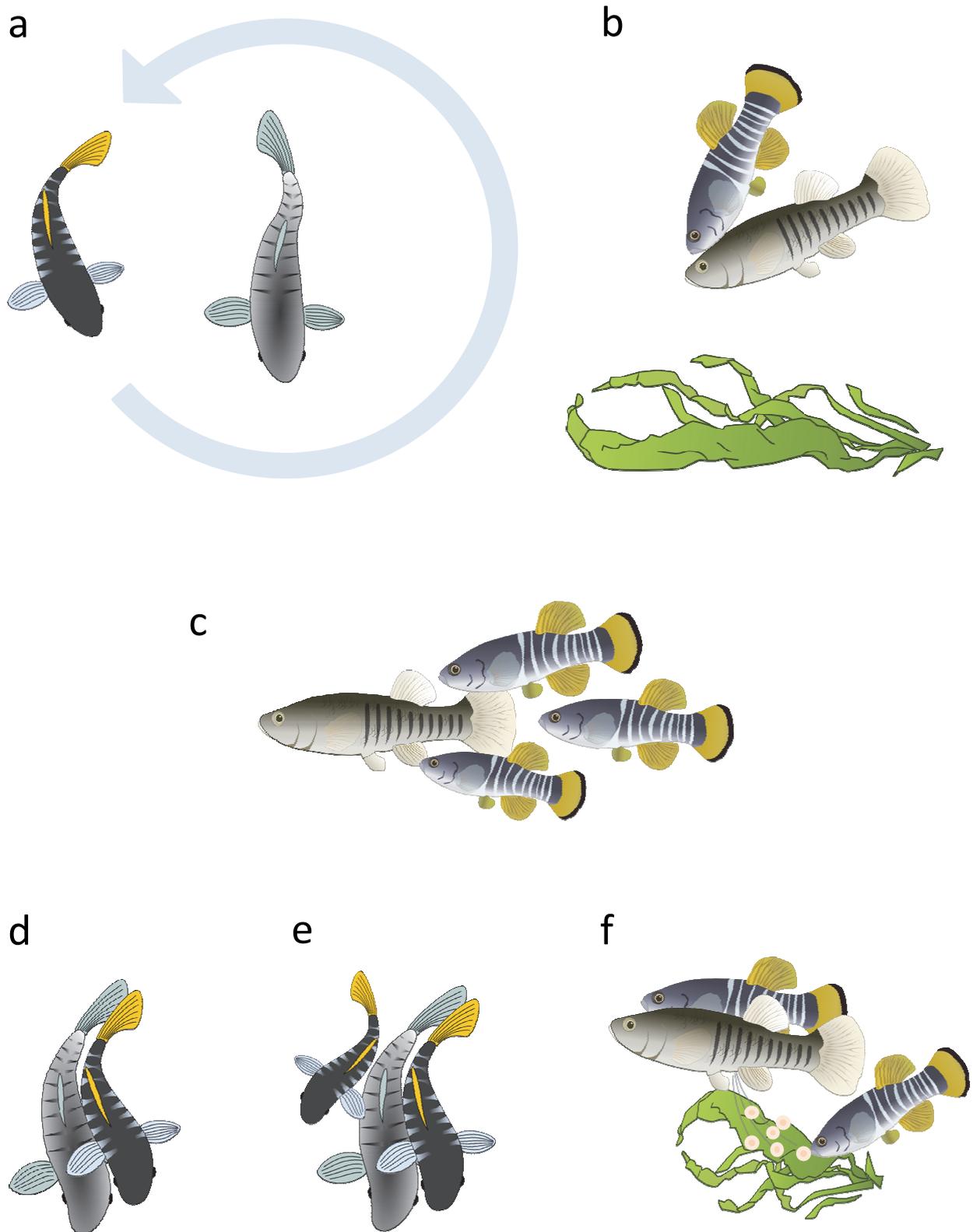


Figura 12. Schematizzazione dei moduli comportamentali osservati nei gruppi sperimentali durante il corteggiamento e la deposizione: a) circling, b) nudging, c) corteggiamento multiplo, d) deposizione singola, e) deposizione multipla, f) cannibalismo

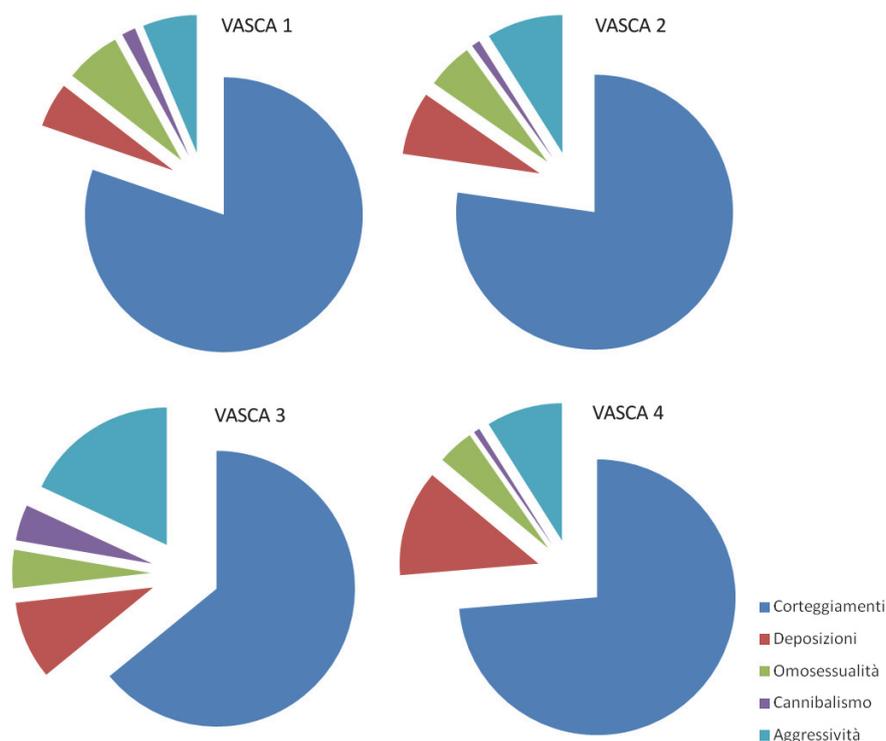


Figura 13. Rappresentazione delle proporzioni registrate dei differenti moduli comportamentali legati alla riproduzione nella quattro vasche allestite

Separando corteggiamenti e deposizioni singoli da quelli multipli (tab. 5, fig. 14), si può osservare come l'attività dominante sia il corteggiamento di una femmina da parte di un solo maschio, mentre i corteggiamenti a cui partecipano più esemplari presentano una frequenza oraria significativamente inferiore (Friedman ANOVA, $p < 0,05$). Nel caso delle deposizioni non sono state invece riscontrate differenze significative nella frequenza di eventi singoli e multipli (Friedman ANOVA, $p > 0,05$).

I corteggiamenti multipli sono poi risultati essere significativamente correlati con la frequenza delle iterazioni aggressive fra maschi (correlazione di Spearman, $0,68 < r < 0,96$, $p < 0,05$), mentre una correlazione significativa, seppur leggermente più debole, è stata rilevata tra il numero di deposizioni multiple e gli atti di cannibalismo (correlazione di Spearman, $0,57 < r < 0,85$, $p < 0,05$).

Vasca	Corteggiamenti		Deposizioni		Omosessualità	Cannibalismo	Aggressività
	singoli	multipli	singole	multiple			
1	9,0	1,4	0,6	0,1	0,8	0,2	0,8
2	6,0	1,3	0,4	0,3	0,5	0,1	0,9
3	7,7	2,4	0,6	0,9	0,7	0,7	3,0
4	4,3	0,7	0,5	0,4	0,3	0,0	0,6
Media(±terr.st.)	6,8±1,0	1,5±0,4	0,5±0,1	0,4±0,2	0,6±,1	0,3±0,2	1,3±0,6

Tabella 5. Frequenze orarie dei comportamenti rilevati durante le 52 ore di registrazione nelle quattro vasche sperimentali

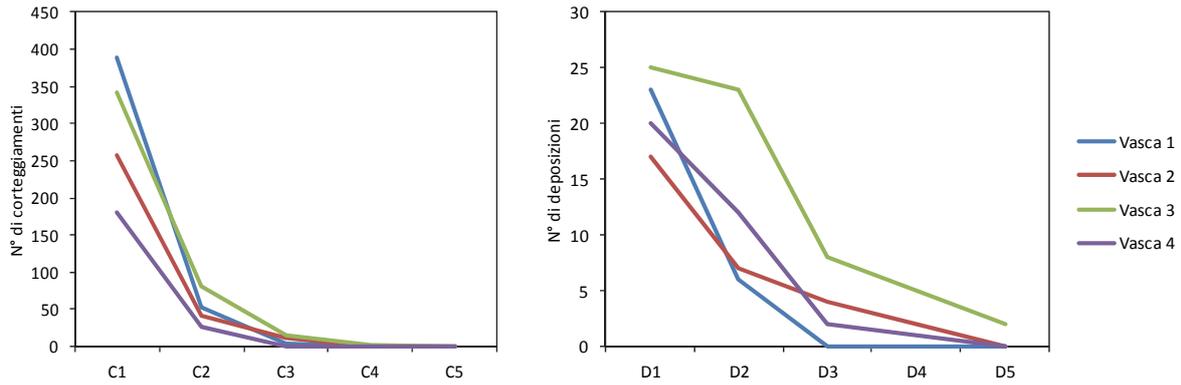


Figura 14. Ripartizione dei corteggiamenti (a sinistra) e delle deposizioni (a destra) sulla base del numero di maschi presenti

3.1.2 Cicli riproduttivi semi-lunari

L'analisi della serie temporale, sia per i dati comportamentali che per il numero di uova, ha permesso di evidenziare la presenza di un ciclo riproduttivo caratterizzato da un periodo di circa 13 giorni (tab. 6), con picchi di attività in corrispondenza della fasi di luna piena e luna nuova (fig. 15). Anche se la regressione sui comportamenti presenta un errore maggiore (tab. 5, $\chi^2 = 579,98$) rispetto a quella calcolata per il numero di uova ($\chi^2 = 1,08$), entrambi i fit calcolati risultano significativi ($p < 0,05$) nello spiegare gran parte della varianza espressa dai dati ($R^2 = 0,87-0,89$).

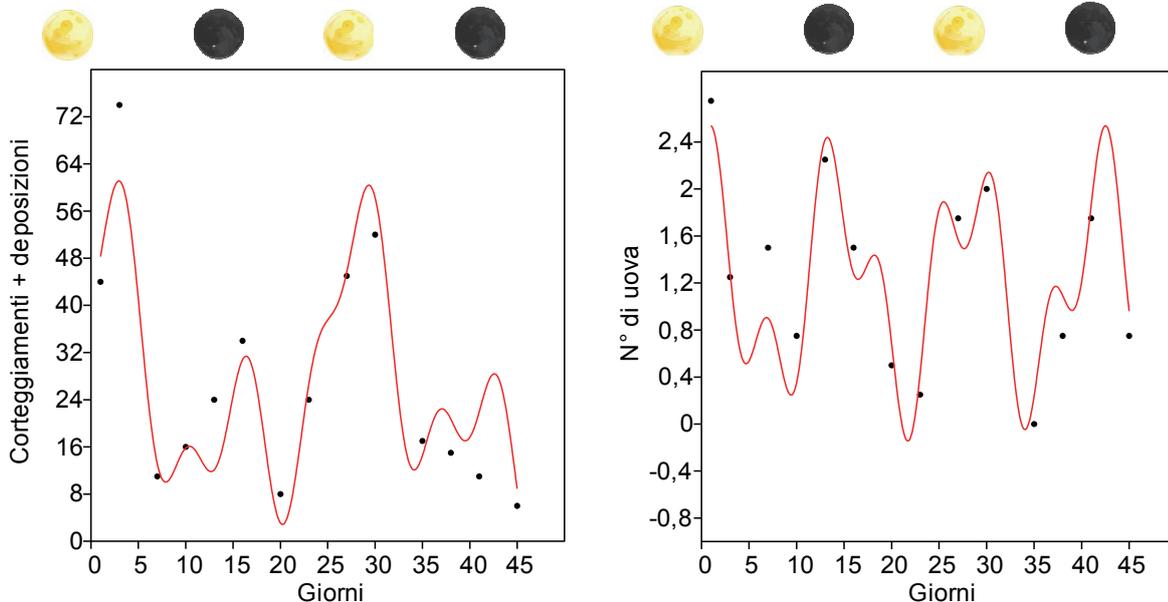


Figura 15. Pattern temporale dell'attività riproduttiva di *A. fasciatus* espressa attraverso il numero di corteggiamenti/deposizioni osservate (a sinistra) e il numero di uova raccolte (a destra), in relazione alle fasi di luna piena e luna nuova

Parametro	χ^2	Periodo (giorni)	R^2	p
N° di corteggiamenti+deposizioni	579,98	13,6	0,89	< 0,05
N° di uova	1,08	13,5	0,87	< 0,05

Tabella 6. Statistiche relative alle regressioni sinusoidali calcolate sui dati comportamentali e sul numero di uova raccolte. χ^2 esprime una misura dell'errore compiuto dal modello nel fittare i dati; R^2 esprime la percentuale di varianza spiegata dal modello, p esprime la significatività del fit

3.1.3 Sviluppo embrionale



Figura 16. Uovo di *A. fasciatus* dove sono visibili i filamenti adesivi

Le uova rilasciate durante la deposizione vengono fatte aderire alla vegetazione sommersa per mezzo di filamenti adesivi (fig. 16). Appena deposte le uova sono di colorito giallognolo, con un diametro medio di 1.62 mm (± 0.06 mm err.st.). Nonostante le uova non siano pelagiche, è presente una goccia oleosa (0.27 ± 0.02 mm). Nell'arco delle prime 24 ore di sviluppo (fig. 17.a-c), si possono osservare la fase a quattro cellule (a) seguita da morula (b) e blastula (c). A partire dal III giorno diventano

visibili l'asse embrionale e gli abbozzi degli occhi (fig. 17.d,e). Successivamente (fig. 17.f) compaiono i primi melanofori e risultano visibili, dietro gli occhi, le capsule otiche. Tra il VI e il IX giorno l'embrione comincia a pigmentarsi e gli occhi risultano ben formati (fig 17.g,h), fino a quando l'embrione risulta pronto alla schiusa (fig. 17.i).

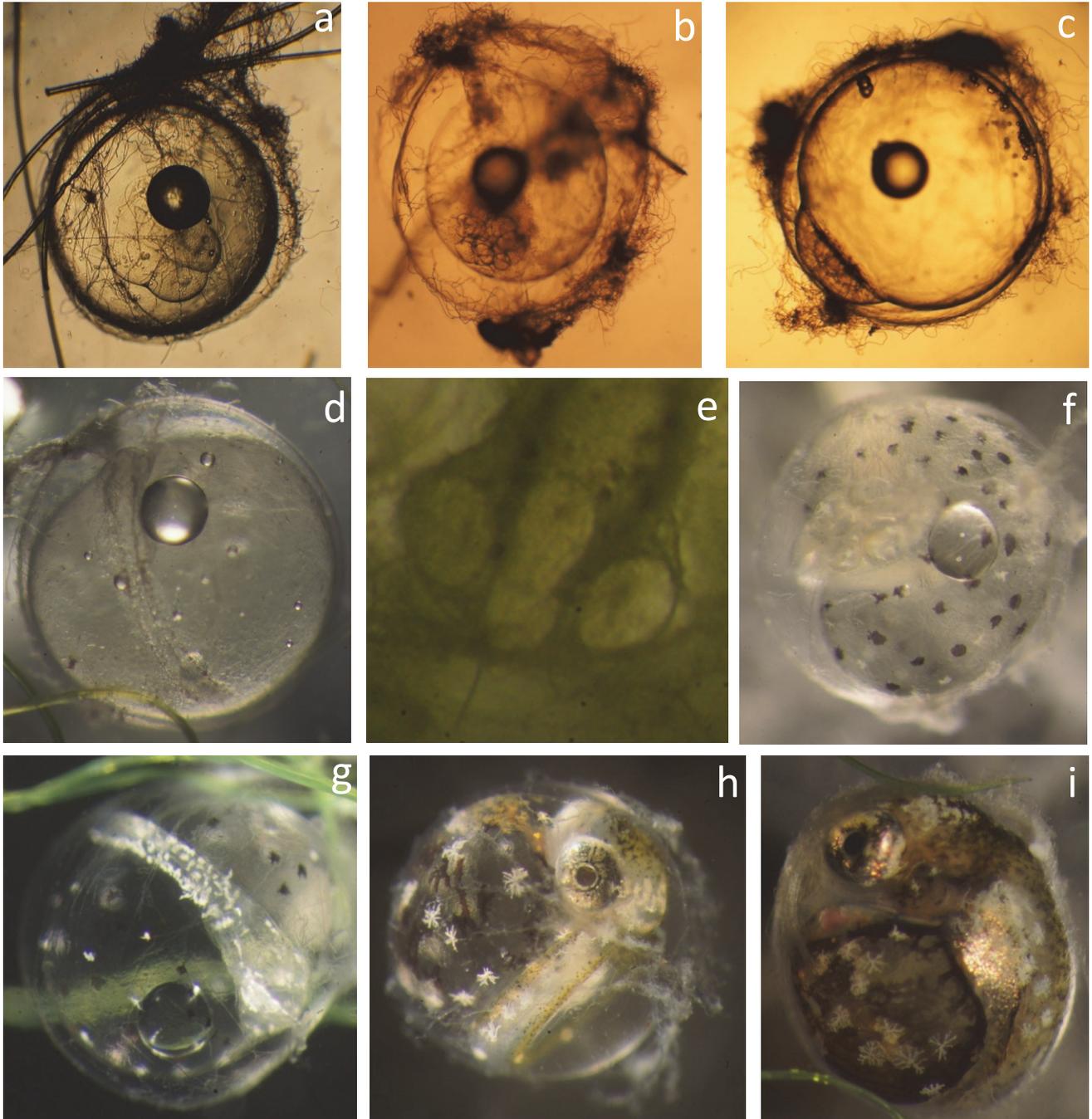


Figura 17. Embriogenesi in *A. fasciatus*. a) stadio a quattro cellule; b); morula c); blastula; d,e) III-IV giorno, formazione dell'asse embrionale, compaiono gli abbozzi degli occhi; f) V giorno, comparsa della pigmentazione, sono visibili i bulbi oculari e le capsule otiche; g,h) VI-IX giorno, la pigmentazione si estende all'embrione, l'occhio risulta completamente sviluppato; i) XI giorno, embrione pronto alla schiusa, in rosso, sotto l'occhio, è visibile il cuore



Figura 18. Stadio finale dello sviluppo embrionale: fase di pre-schiusa(a) e avannotto uscito dall'uovo (b,c) dopo aver riassorbito il sacco vitellino

Mediamente, lo sviluppo degli embrioni ha richiesto 272 gradi/giorno (± 9 err.st.), con un successo nella schiusa del 72%. Ad una temperatura di 22,5 °C, il XII giorno l'embrione entra nella fase di pre-schiusa (fig. 18.a), nella quale la porzione caudale fuoriesce dall'uovo. A questa fase segue il riassorbimento del sacco vitellino, al termine del quale l'avannotto inizia a nuotare liberamente (fig. 18.b,c).

3.1.4 Uso dell'habitat

Il campionamento stratificato è stato analizzato, nelle due barene naturali, separatamente per la stagione primaverile e per quella estiva. Le altre date di campionamento non sono state considerate, viste le scarse abbondanze e la presenza non sempre costante della specie.

In generale non sono osservabili trend significativi nella densità, ad eccezione della stagione primaverile, durante la quale è stata evidenziata una correlazione negativa della densità con la temperatura a CA (correlazione di Spearman, $r = -0,84$, $p < 0,05$) e con la salinità a CO (correlazione di Spearman, $r = 0,81$, $p < 0,05$). Pur non potendo effettuare test statistici, per la bassa numerosità campionaria, si possono comunque segnalare variazioni nelle densità di *A. fasciatus* procedendo dal margine esterno della barena verso l'interno (tab. 7). In generale, si osserva un incremento

della densità procedendo dall'esterno verso l'interno della barena, a CO in primavera e a CA in estate. Valori di densità più elevati nella porzione più esterna, rispetto a quella interna, si osservano invece a CA in primavera e a CO in estate.

Primavera	Densità (ind 100m ⁻²)		Estate	Densità (ind 100m ⁻²)	
Posizione	CA	CO	Posizione	CA	CO
1	15±8	2±1	1	88±78	296±284
2	67±40	4±1	2	56±36	546±525
3	29±11	8±3	3	221±209	88±76
4	28±12	10	4	584±565	22±16

Tabella 7. Densità (media±err.st.) di *A. fasciatus* nelle stazioni di CA e CO durante le stagioni primaverile ed estiva. I numeri progressivi indicano la posizione a partire dal margine esterno della barena (1) procedendo poi verso l'interno (4)

Considerando la taglia degli individui (fig. 19), durante la primavera si nota, in generale, una diminuzione della taglia media degli individui, ad eccezione dei maschi a CA. Durante l'estate, questo andamento si inverte, con i pesci di taglia maggiore rinvenuti all'interno del ghebo.

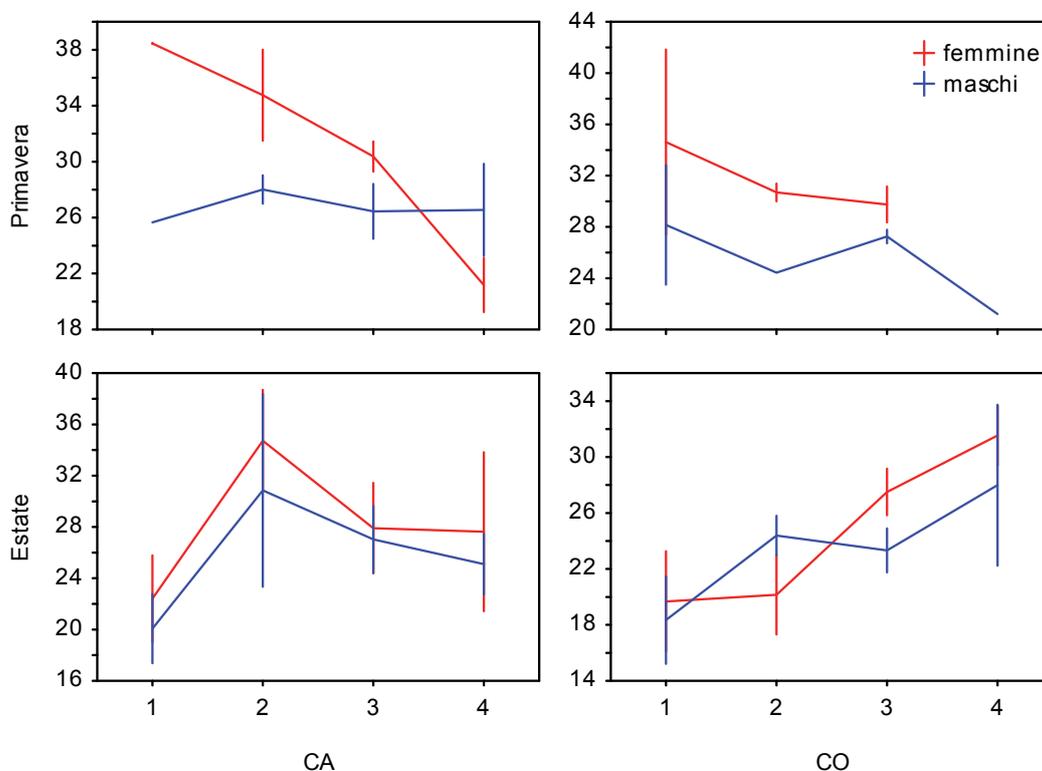


Figura 19. Confronto tra l'andamento della taglia (LS) di *A. fasciatus* durante la primavera e l'estate lungo i due ghebi campionati a Campalto e Conche (valori medi±err.st.). I numeri progressivi (1-4) indicano la posizione a partire dal margine esterno della barena (1) procedendo poi verso l'interno (4)

Per le stesse stazioni è stata calcolata anche la sex ratio, come rapporto del numero di femmine sui maschi, per ogni tirata. Si possono osservare delle variazioni legate alla microscala tra la stagione primaverile e quella estiva, con un aumento durante quest'ultima del numero di femmine in entrambe le stazioni, in particolare procedendo verso le zone più interne della barena (fig 20).

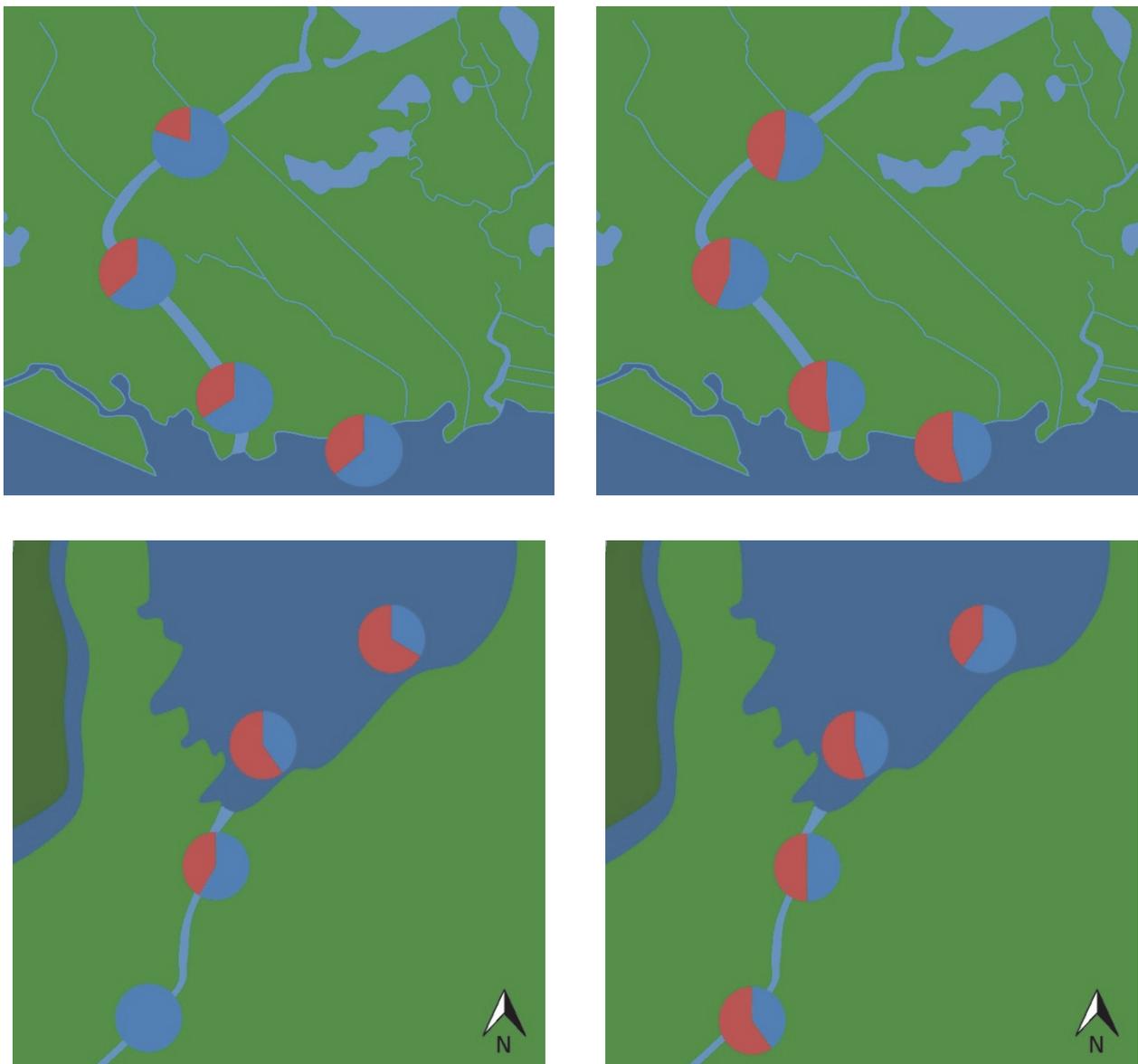


Figura 20. Andamento della sex ratio (femmine in rosso, maschi in azzurro) durante la stagione primaverile (sinistra) ed estiva (destra) nei due siti di Campalto (in alto) e Conche (in basso)

Il campionamento mediante trappola a caduta di giovanili di *A. fasciatus* nelle pozze presenti all'interno della barena ha permesso la raccolta di individui con LS compresa tra 5,8 e 20,9 mm. Le densità in questo habitat risultano molto elevate (tab. 8), arrivando nel mese di agosto ad un picco di 231 ind m⁻² nella stazione di CA, che presenta nel complesso densità e biomasse significativamente più elevate rispetto a CO (test di Mann-Whitney, $p < 0,05$). In quest'ultima, insieme ai giovanili di *A. fasciatus*, sono stati campionati nel medesimo habitat anche avannotti di *Gambusia holbrooki*.

Mese	Densità (m ⁻²)		Biomassa (g m ⁻²)	
	CA	CO	CA	CO
Giugno	115 ± 18	29 ± 17	6,2 ± 1,6	0,7 ± 0,3
Agosto	158 ± 67	15 ± 9	6,3 ± 2,8	0,9 ± 0,5

Tabella 8. Valori di densità e biomassa (media±err.st.) per i giovanili di *A. fasciatus* campionati nelle pozze all'interno delle barene di Campalto e Conche

All'interno della stazione di CA è stato inoltre individuato un piccolo ghebo (7,7 m²) che ospita un'abbondante sub-popolazione di *A. fasciatus* (fig. 21). In condizioni di marea normali, il sito risulta separato dal sistema di ghebi e dalla laguna aperta, ma comunica unicamente con un ampio chiaro isolato. L'accesso e l'uscita dal sito avvengono quindi unicamente quando le alte maree di sizigie sommergono completamente la barena. Durante i campionamenti la specie è stata sempre rinvenuta solo in questo piccolo canale, e mai nel chiaro con cui comunica, con densità estremamente elevate, che hanno raggiunto nel mese di giugno il valore di 86 ind m⁻². Occasionalmente nel sito erano presenti anche individui di *Atherina boyeri*, *G. holbrooki*, *Knipowitschia panizzae*, giovanili di mugilidi e palemonidi.

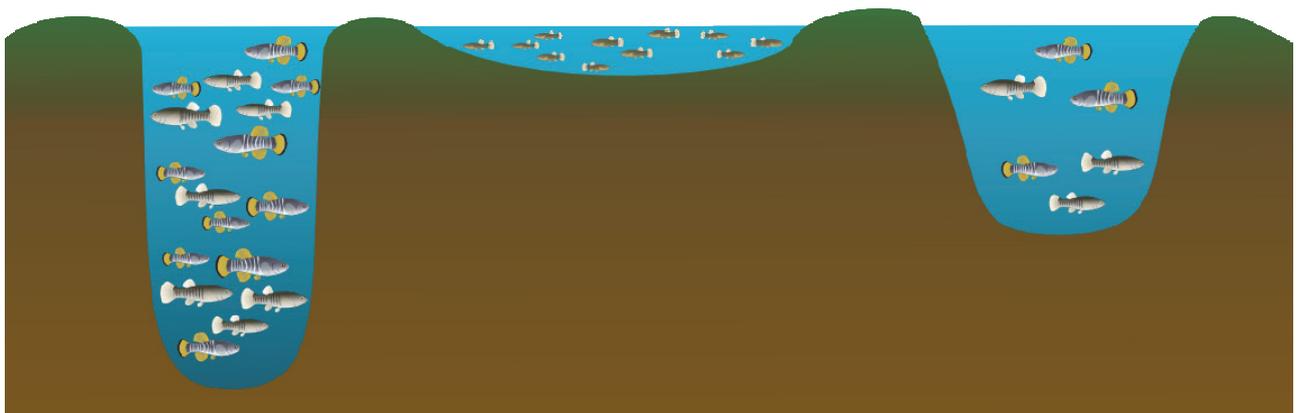
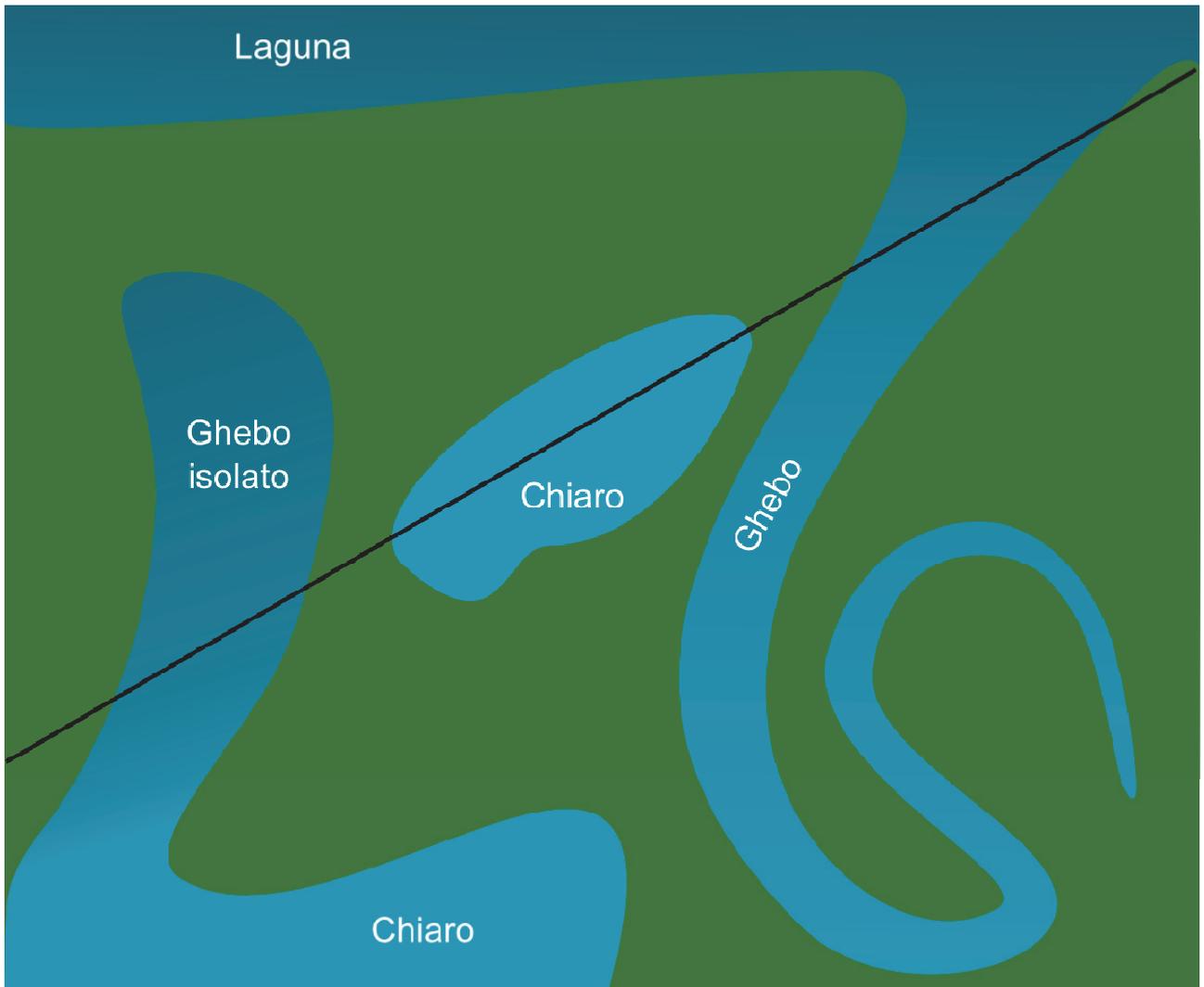


Figura 21. Rappresentazione schematica della distribuzione di *A. fasciatus* nei differenti micro-habitat della barena di CA

Nella stazione di VI, l'utilizzo del microhabitat da parte di *A. fasciatus* è stato indagato mediante bottiglie di campionamento. L'andamento nel tempo della densità della specie (fig. 22) risulta confrontabile con quello stimato con la tratta (sez. 3.2.2), con un picco in primavera che raggiunge, ad aprile, valori significativamente più elevati rispetto agli altri mesi.

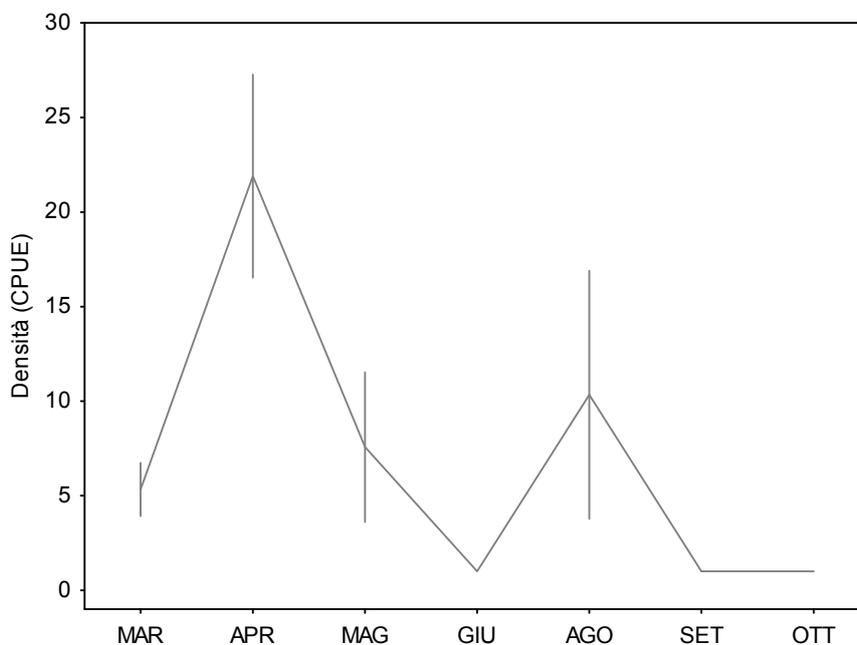


Figura 22. Densità di *A. fasciatus* stimata attraverso il campionamento con bottiglie

Per quanto riguarda l'utilizzo dei differenti microhabitat (fig. 23), è stata riscontrata una preferenza significativa (test di Wilcoxon, $p < 0,05$) per la porzione centrale del canale, rispetto al bordo, da parte delle femmine. Entrambi i sessi sono inoltre risultati significativamente più abbondanti nelle zone non coperte da macroalghe (test di Wilcoxon, $p < 0,05$).

Considerando la taglia media degli individui (fig. 23), nessuna differenza significativa è stata riscontrata nei maschi (test di Wilcoxon, $p > 0,05$). Per quanto riguarda le femmine, invece, i pesci campionati lungo il bordo del canale e in punti caratterizzati da fondale vegetato, presentano una taglia significativamente inferiore (test di Wilcoxon, $p < 0,05$,) rispetto a quelli campionati nella porzione centrale e nelle aree caratterizzate da fondale nudo.

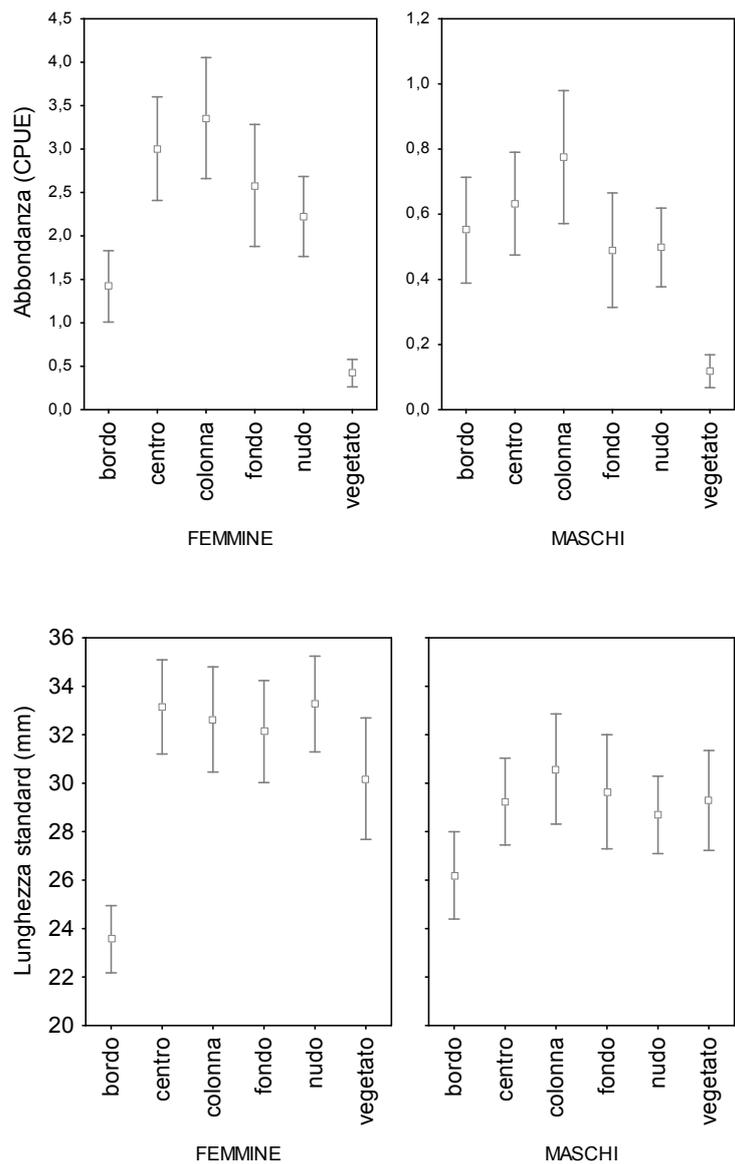


Figura 23. Abbondanza (CPUE) e taglia media ($LS \pm \text{err.st.}$), separatamente per maschi e femmine di *A. fasciatus*, in relazione al microhabitat nella stazione di VI

3.2 Mesoscala

3.2.1 Genetica di popolazione

Le analisi basate su due differenti segmenti di mtDNA hanno permesso di individuare 16 aplotipi per il 16S e 10 per il D-loop (tabb. 9 e 10). Gli esemplari di *A. fasciatus* raccolti all'interno della laguna di Venezia mostrano una bassa variabilità genetica: 54 campioni su 65 per il frammento D-loop e 49 su 63 per il 16S condividono lo stesso aplotipo. Tutti i campioni raccolti formano quindi un unico cluster che ben si separa dal gruppo di campioni provenienti dalla Corsica (fig. 24).

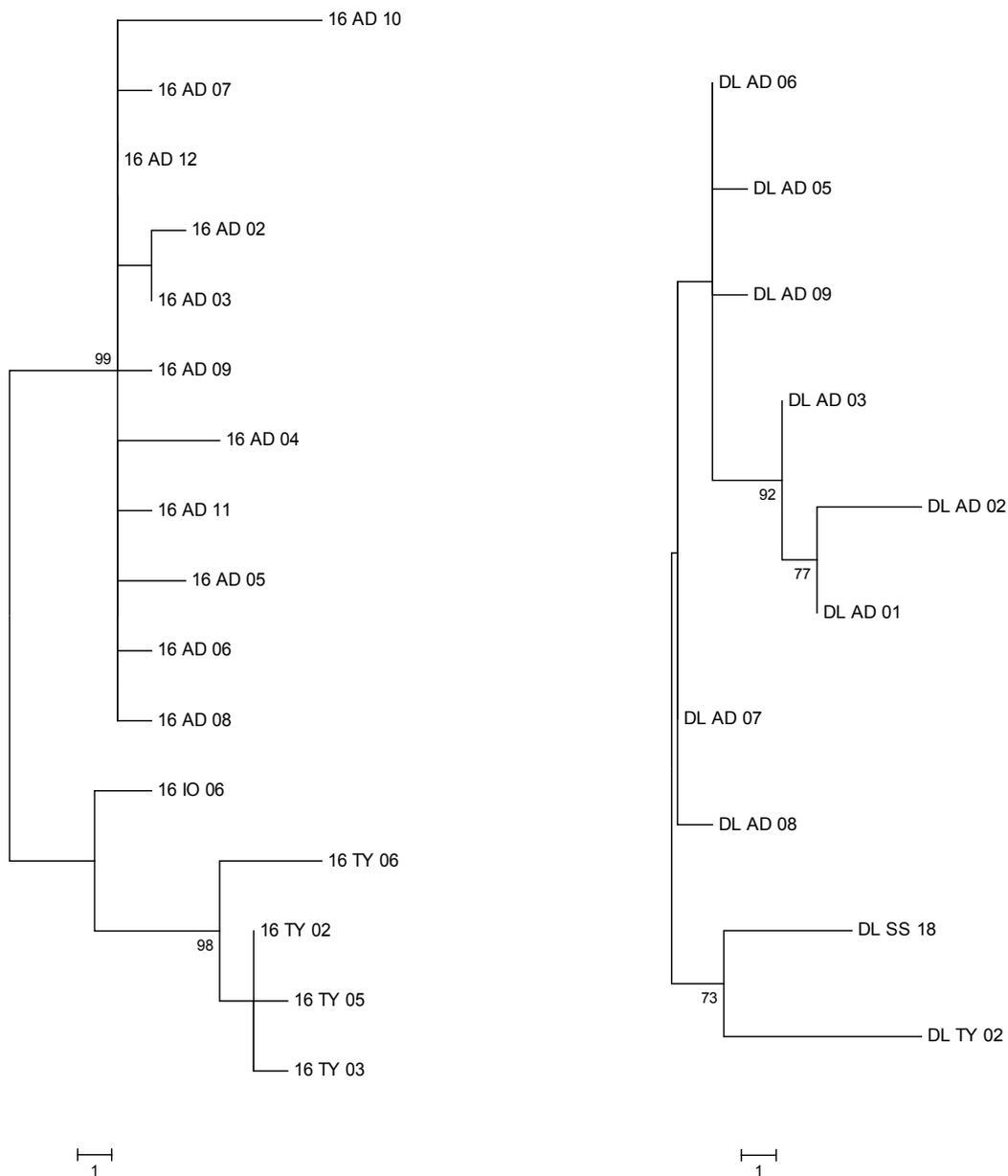


Figura 24. Alberi costruiti con il criterio di massima parsimonia a partire da due segmenti di mtDNA (16S a sinistra e D-loop a destra), che illustrano le relazioni filogenetiche tra esemplari di *A. fasciatus* raccolti in laguna di Venezia, nelle saline di Comacchio e in Corsica. Per le abbreviazioni si vedano le tabelle 9 e 10

Va però evidenziato come, in entrambe le sequenze, un campione proveniente dalle saline di Comacchio (16 IO 06 - DL SS 18) si separi completamente dal gruppo Nord Adriatico. La sua posizione verrà discussa successivamente.

16S	AL	CA	CH	CO	CS	DL	MA	PR	VI
N	8	10	7	10	10	9	9	9	10
<i>h</i>	0.00	0.20	0.29	0.20	0.20	0.22	0.31	0.22	0.47
16 AD 02				1					
16 AD 03							1		
16 AD 04		1							
16 AD 05			1						
16 AD 06		1							
16 AD 07								1	
16 AD 08		1							
16 AD 09		1							
16 AD 10			1						
16 AD 11							2		3
16 AD 12	8	6	5	9	9		6	8	7
16 TY 02						6			
16 TY 03						1			
16 TY 05						1			
16 TY 06						1			
16 IO 06					1				

Tabella 9. Frequenze degli aplotipi individuati, distribuiti tra i differenti siti, per il segmento D-loop, nelle popolazioni di *A. fasciatus* indagate. N, dimensione dei campioni; *h*, diversità aplotipica

D-loop	AL	CA	CH	CO	CS	DL	MA	PR	VI
N	10	9	9	10	10	10	10	9	8
<i>h</i>	0.20	0.39	0.22	0.20	0.20	0.00	0.20	0.31	0.00
DL AD 01		2							
DL AD 02	1								
DL AD 03							1		
DL AD 05					1				
DL AD 06	8	7	8	9	8		8	6	8
DL AD 07								2	
DL AD 08							1		
DL AD 09	1		1	1				1	
DL SS 18					1				
DL TY 02						10			

Tabella 10. Frequenze degli aplotipi individuati, distribuiti tra i differenti siti, per il segmento 16S, nelle popolazioni di *A. fasciatus* indagate. N, dimensione dei campioni; *h*, diversità aplotipica

3.2.2 Demografia

I campionamenti con tratta, svolti con cadenza mensile, hanno permesso di descrivere la comunità neotonica presente nelle quattro stazioni (tab. 11). In complesso sono stati campionati 18 *taxa* appartenenti a 12 famiglie. Le abbondanze nelle singole date di campionamento sono riportate nelle tabelle in appendice.

Classe	Ordine	Famiglia	Genere	Specie
Actinopterygii	Atheriniformes	Atherinidae	<i>Atherina</i>	<i>boyeri</i>
	Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Pseudorasbora</i>	<i>parva</i>
	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	<i>Aphanius</i>	<i>fasciatus</i>
			<i>Gambusia</i>	<i>holbrooki</i>
	Gasterosteiformes	Syngnathidae	<i>Nerophis</i>	<i>ophidion</i>
			<i>Syngnathus</i>	<i>abaster</i>
			<i>Syngnathus</i>	<i>typhle</i>
	Mugiliformes	Mugilidae		sp. pl.
	Perciformes	Bleniidae	<i>Parablennius</i>	<i>sanguinolentus</i>
			<i>Salaria</i>	<i>pavo</i>
			Gobiidae	<i>Gobius</i>
<i>Knipowitschia</i>				<i>panizzae</i>
<i>Pomatoschistus</i>				<i>canestrinii</i>
<i>Zosterisessor</i>				<i>ophiocephalus</i>
	Sparidae	<i>Sparus</i>	<i>aurata</i>	
Pleuronectiformes	Pleuronectidae	<i>Platichthys</i>	<i>flesus</i>	
Crustacea	Decapoda	Crangonidae	<i>Crangon</i>	<i>crangon</i>
		Palaemonidae	<i>Palaemon</i>	sp. pl.

Tabella 11. Elenco dei *taxa* raccolti durante il ciclo annuale di campionamenti delle quattro stazioni indagate

A. fasciatus risulta presente nei quattro siti con densità variabili a seconda della stagione, arrivando a scomparire in alcuni dei mesi più freddi, durante i quali probabilmente trova rifugio in acque più profonde non campionabili con lo strumento utilizzato.

In media la stazione di AL risulta essere quella con la maggiore ricchezza specifica (indice di Margalef $d = 0,75 \pm 0,09$, $media \pm err.st.$), mentre VI ospita la comunità con il minor numero di specie ($0,26 \pm 0,02$). Le due barene naturali di CA e CO hanno invece valori intermedi ($0,36 \pm 0,05$ e $0,39 \pm 0,03$ rispettivamente).

L'ordinamento mediante PCA dei campioni della comunità neotonica nelle quattro stazioni, basato sui dati di densità, ha permesso di individuare tre gruppi principali (fig. 25): le due barene naturali risultano infatti distinte da VI, da un lato, e AL dall'altro. La comunità di VI si distingue in particolare per le elevate densità di *G. holbrooki* durante i mesi estivi, mentre AL per la ricca comunità che comprende anche grandi gobiidi, blenniidi e singnatidi.

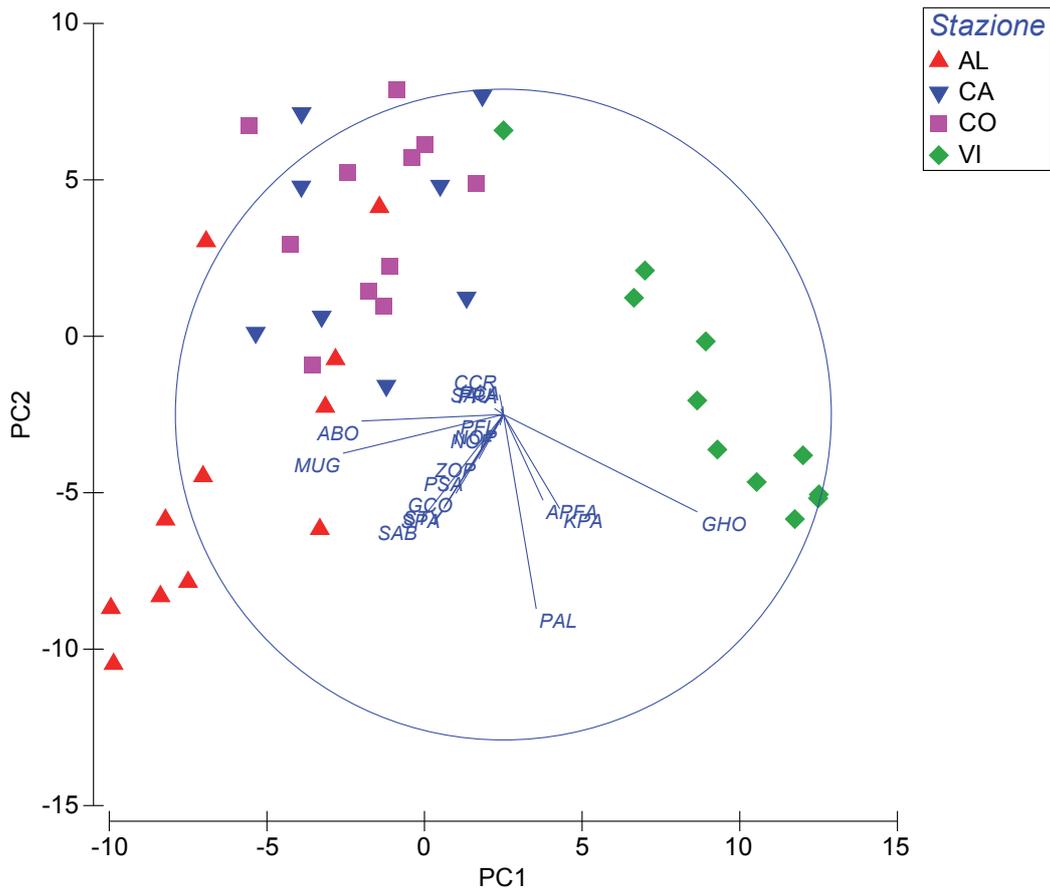


Figura 25. PCA sui dati di densità (logaritmizzati) della comunità nectonica nelle quattro stazioni. Il primo asse spiega il 38.0% della varianza, il secondo il 22.9%

La messa in posa del cogollo ha permesso di valutare l'efficienza della tratta nel campionamento della comunità nectonica. Il confronto, effettuato nelle stazioni di CA e CO, per il periodo compreso tra aprile e agosto, non ha rilevato differenze significative nei valori di densità della comunità nectonica (PERMANOVA, tab. 12).

Fattore	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms
Stazione	1	1411	1411	0,99201	0,466	999
Strumento	1	828,03	828,03	0,58216	0,734	999
StzxStr	1	1593	1593	1,12	0,362	997
Res	12	17068	1422,3			
Total	15	20900				

Tabella 12. PERMANOVA sui dati di densità della comunità nectonicacampionata con tratta e cogollo a CA e CO

La composizione della comunità nectonica campionata con i due strumenti non differisce in termini di composizione percentuale (PERMANOVA, tab. 13). Esistono invece differenze significative nella taglia degli individui catturati (test di Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Considerando i *taxa* più abbondanti (fig. 26), gli individui di *A. boyeri*, *A. fasciatus* e i giovanili di mugilidi catturati

con il cogollo presentano una taglia media significativamente maggiore rispetto a quelli raccolti con la tratta (test di Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), ad eccezione di *A. fasciatus*, dove il cogollo ha catturato individui mediamente più piccoli. Nessuna differenza significativa è stata invece riscontrata nella taglia dei palaemonidi ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis).

Fattore	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms
Strumento	1	503,72	503,72	0,49438	0,653	999
Stazione	1	3393,5	3393,5	3,3305	0,031	998
StrxSta	1	950,51	950,51	0,93287	0,482	997
Res	12	12227	1018,9			
Total	15	17075				

Tabella 13. PERMANOVA sui dati di composizione percentuale della comunità nectonica campionata con tratta e cogollo a CA e CO

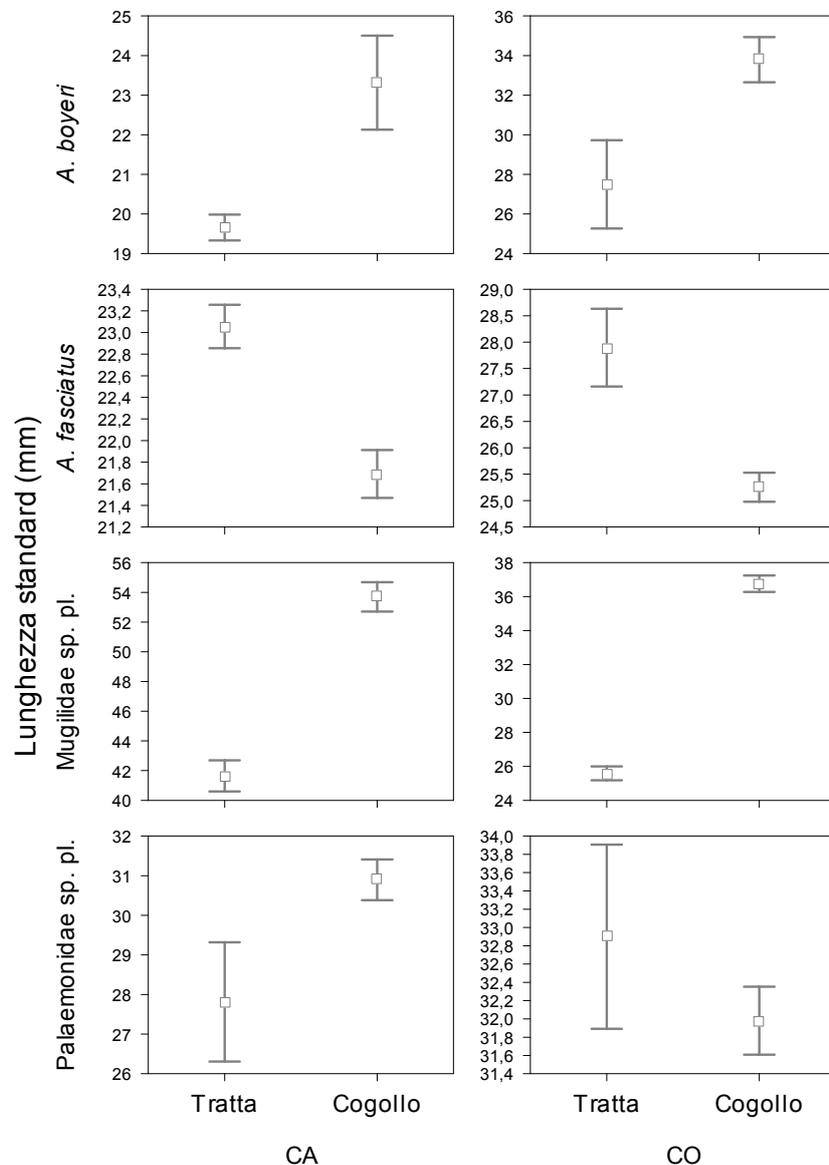


Figura 26. Taglia media (\pm err.st.) delle specie più abbondanti campionate a CA e CO con tratta e cogollo

Nel corso dei campionamenti, nei differenti siti sono stati rilevati quattro principali parametri ambientali: temperatura, salinità, ossigeno disciolto e torbidità. In generale, le temperature (fig. 27, in alto) mostrano andamenti confrontabili, con valori medi leggermente più alti ad AL. Anche la salinità (fig. 27, in basso) risulta mediamente più alta ad AL, mentre valori mediamente più bassi sono stati registrati a CO, situata vicino ad un input d'acqua dolce. La stazione di VI presenta invece notevoli oscillazioni di questo parametro. La percentuale di saturazione dell'ossigeno (fig. 28, in alto) presenta generalmente valori al di sopra della soglia critica, eccezione fatta per CO, dove è stato registrato un OD minimo del 22,5 % in aprile. La torbidità (fig. 28, in basso) risulta mediamente bassa, con l'eccezione del picco registrato a CO nel mese di maggio.

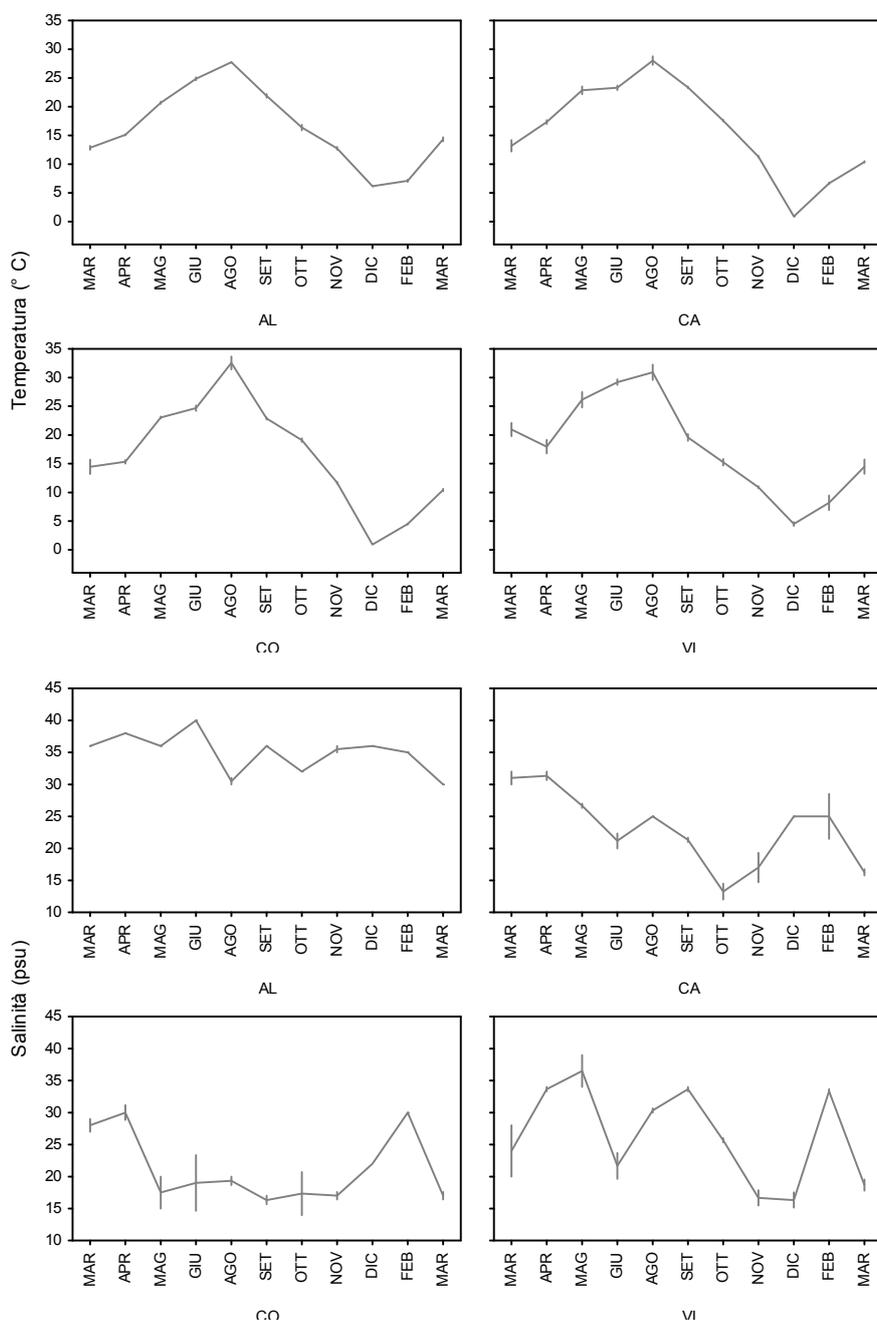


Figura 27. Valori mensili (media±err.st.) di temperatura, in alto, e salinità, in basso, nelle quattro stazioni

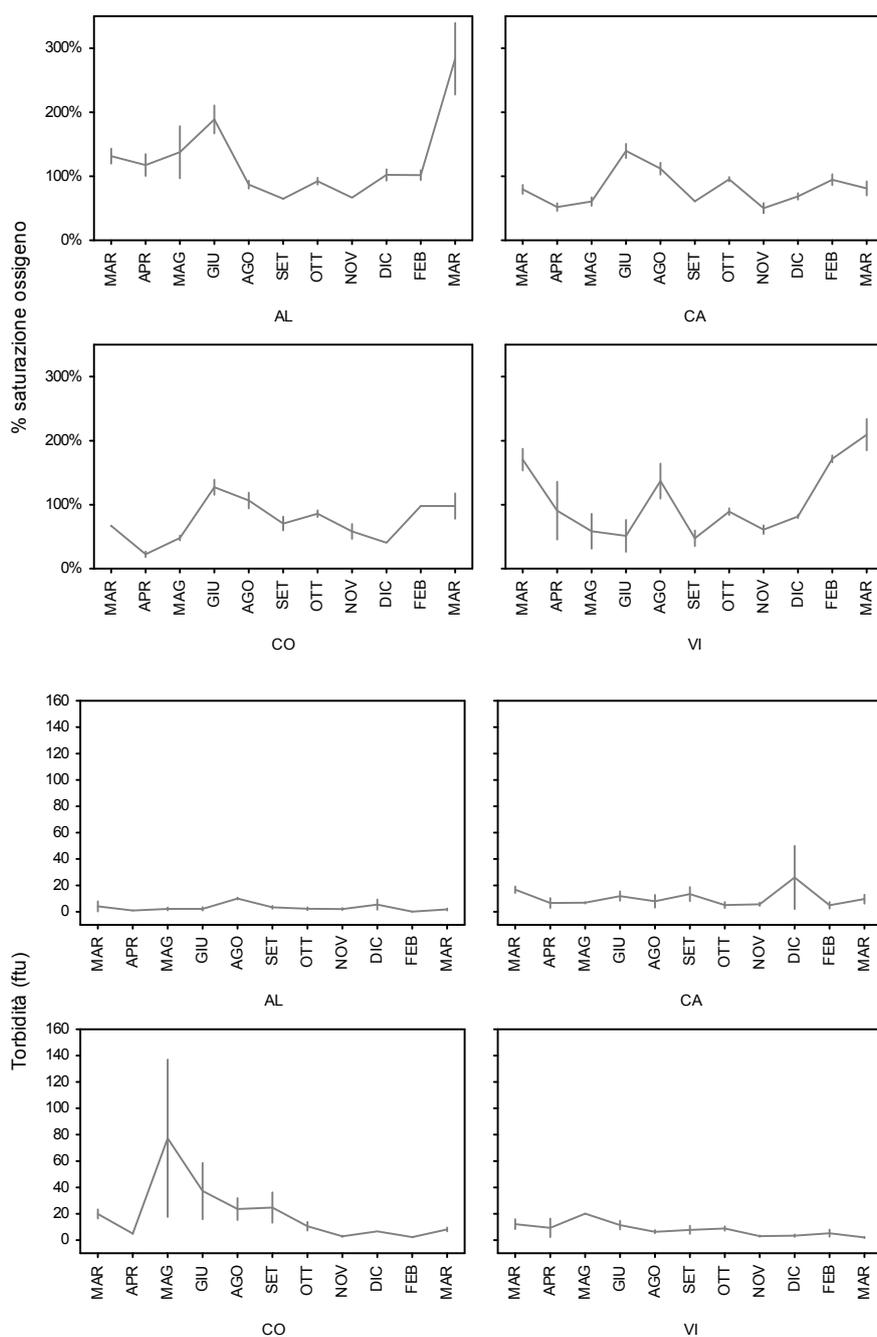


Figura 28. Valori mensili (media±err.st.) di ossigeno disciolto, in alto, e torbidità, in basso, nelle quattro stazioni

La caratterizzazione granulometrica dei sedimenti delle quattro stazioni (tab. 14) vede distinte da un lato AL e CO, con medio-basse percentuali di sedimenti fini, e CA e VI dall'altro, con una percentuale decisamente maggiore. La percentuale di sostanza organica in queste due stazioni presenta valori pressoché doppi a quelli misurati in AL e CO.

%	AL	CA	CO	VI
Frazione fine	51,0	94,2	32,8	78,0
Sostanza organica	7,2	14,1	7,2	15,4

Tabella 14. Caratterizzazione dei sedimenti delle quattro stazioni attraverso la % di frazione fine e sostanza organica

L'andamento temporale della densità di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni (fig. 29) mostra un evidente picco durante i mesi di agosto e settembre. Al contrario, VI presenta valori di densità relativamente costanti nel tempo, con una lieve diminuzione nei mesi più freddi.

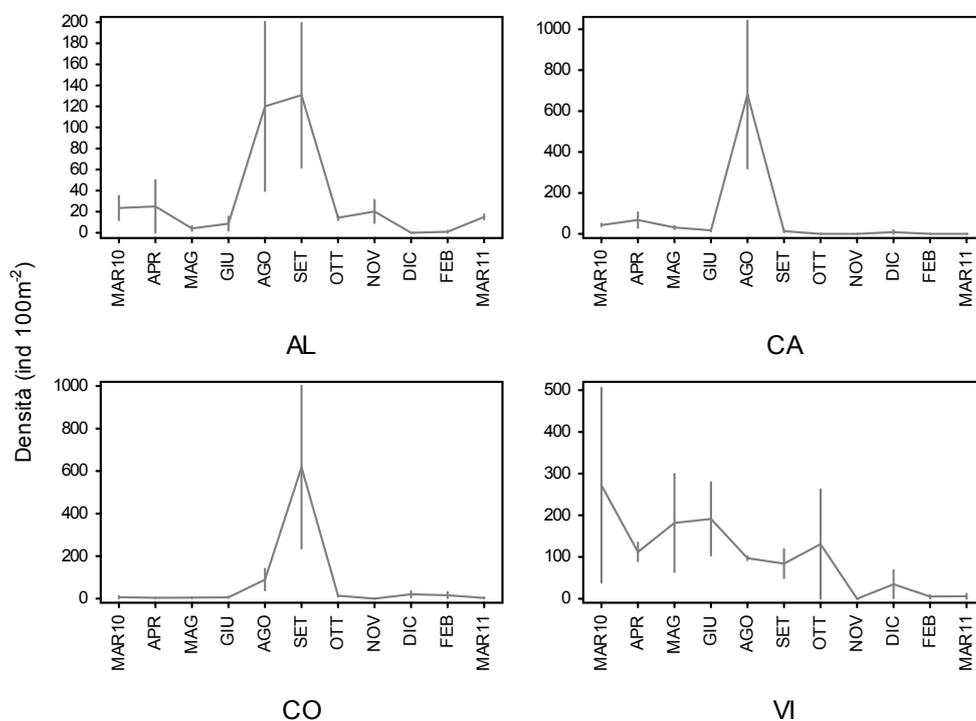


Figura 29. Valori mensili (media±err.st.) della densità di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

Il valore medio della sex ratio (f/m) durante l'anno risulta piuttosto variabile (fig. 30). In generale si nota uno spostamento in favore delle femmine nei mesi successivi il periodo riproduttivo (tra giugno e settembre).

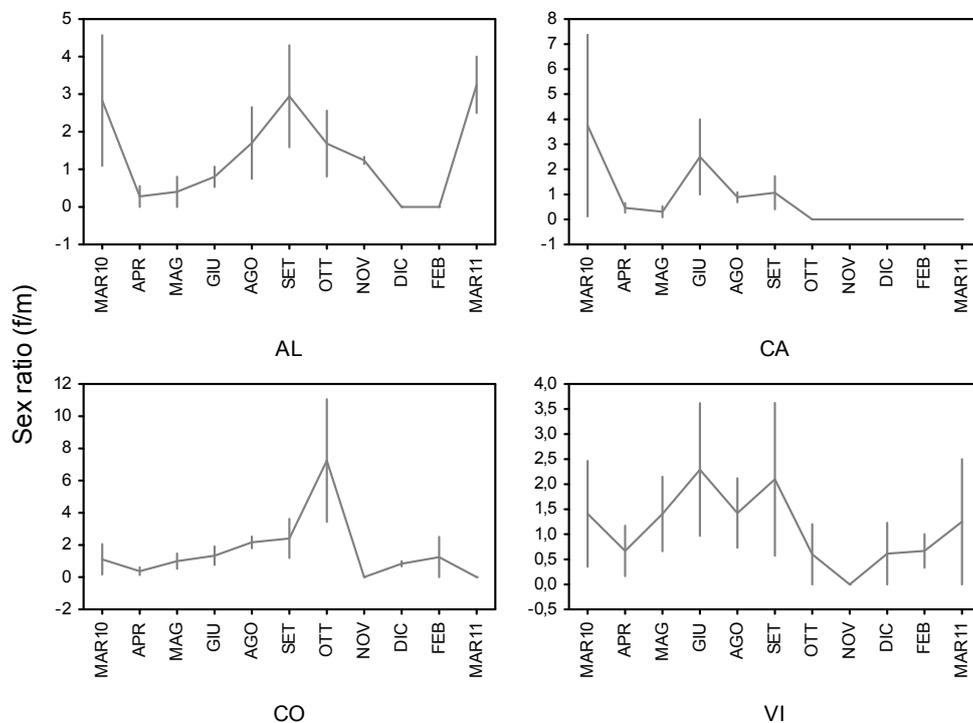


Figura 30. Valori mensili (media±err.st.) della sex ratio (femmine/maschi) nelle quattro stazioni campionate

La struttura per età mostra delle differenze tra i due sessi (fig. 31). Tendenzialmente nelle femmine si osserva una dominanza della classe 0 (CA e CO) e 1 (AL), mentre il picco di abbondanza per i maschi è spostato all'anno successivo. Solo in VI maschi e femmine presentano una struttura per età simile, con un picco in classe 2. Ma anche in questo caso le femmine presentano maggiori abbondanze nelle classi più giovani.

Attraverso gli istogrammi di frequenza basati sulle lunghezze standard (fig. 32) è stato possibile analizzare la struttura demografica delle quattro popolazioni di *A. fasciatus*. Tra le quattro stazioni, quella di VI ospita la popolazione meglio strutturata, dove sono ben visibili le differenti mode. In tutte le stazioni è comunque visibile, tra il mese di maggio in VI e il mese di agosto a CO, l'aggiunta di una moda tra le classi di taglia più piccole, derivante dal reclutamento di giovanili.

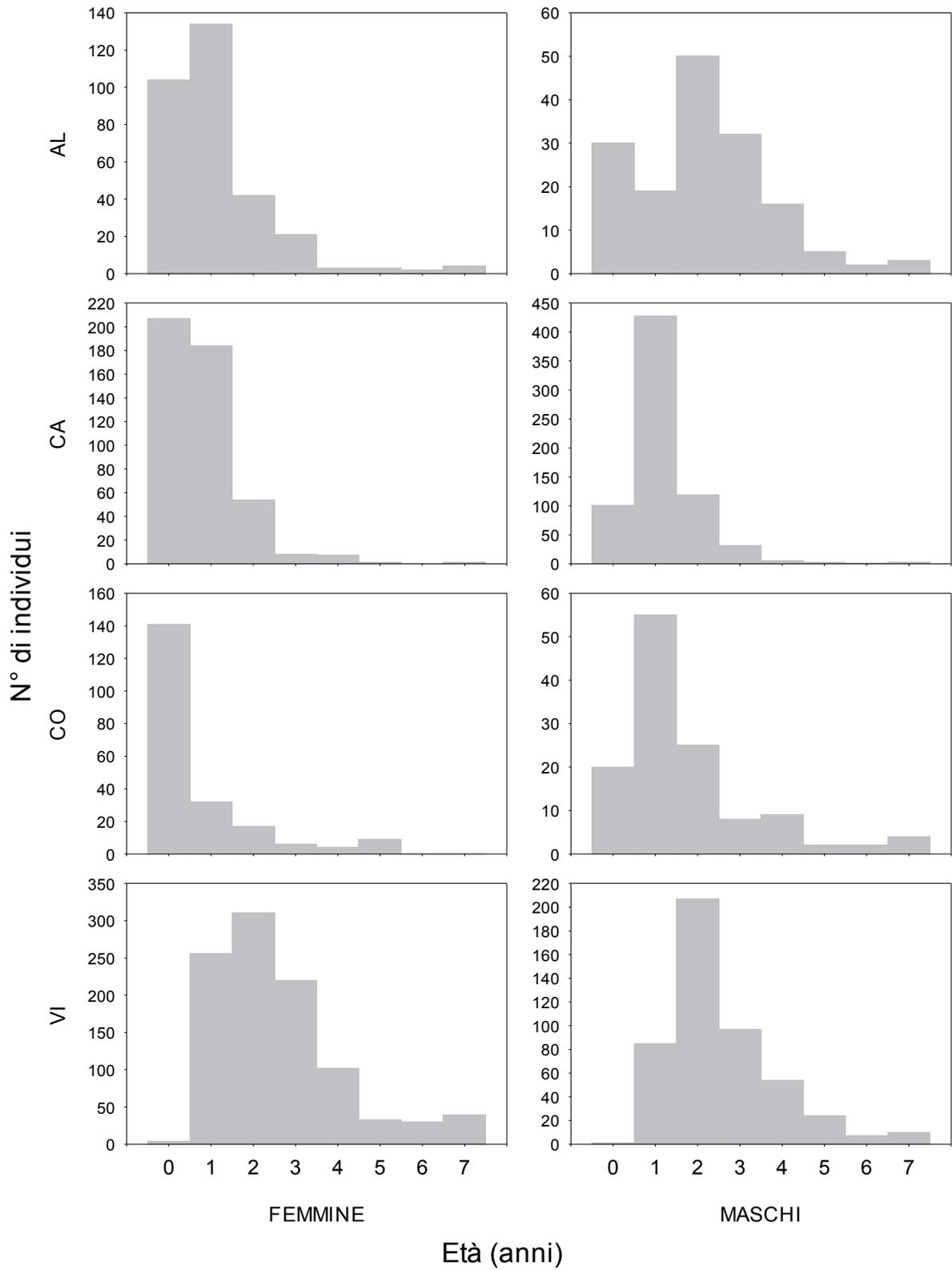


Figura 31. Distribuzioni di frequenza (età) di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

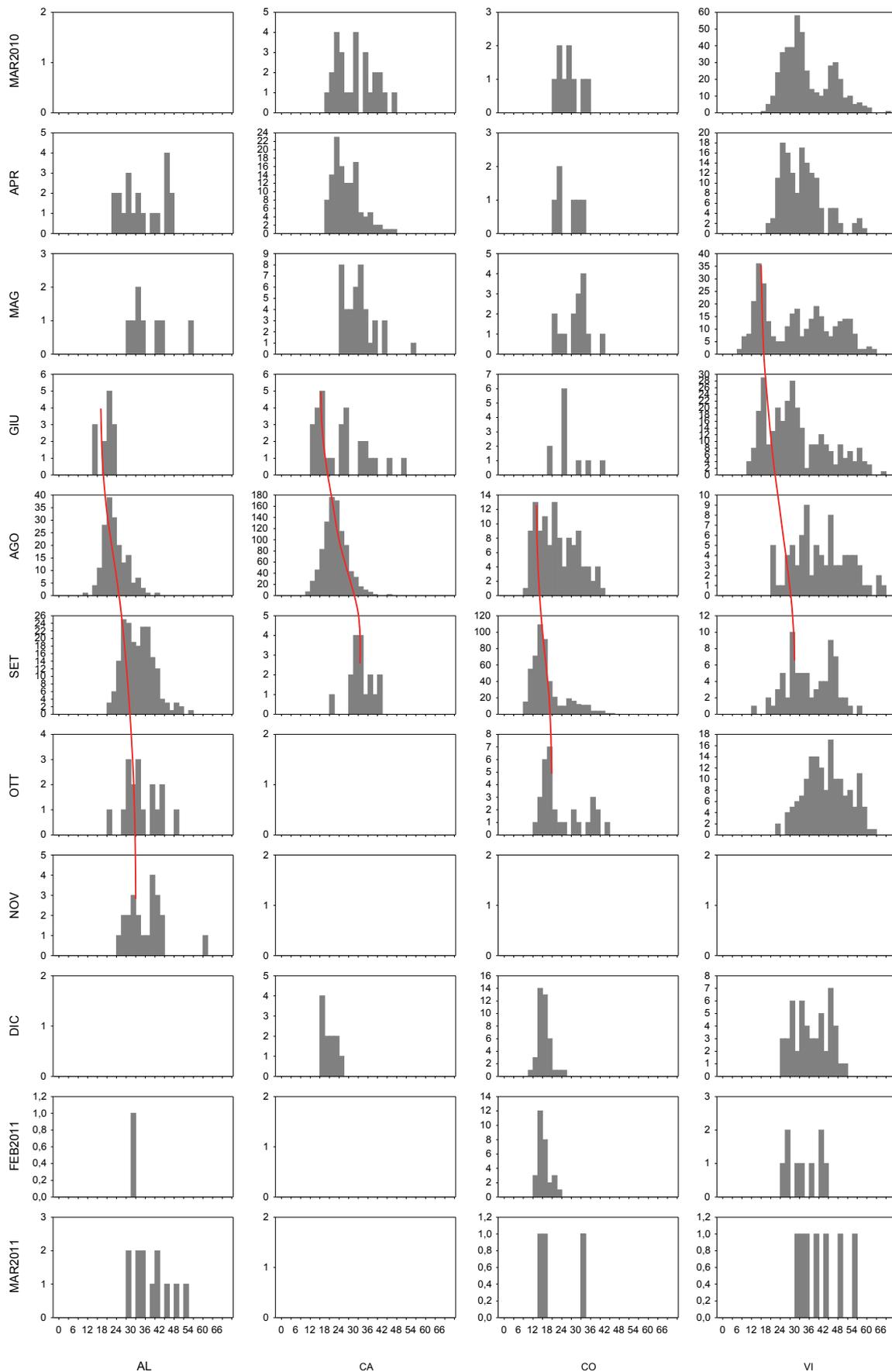


Figura 32. Distribuzioni di frequenza mensili (lunghezza standard) di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

La determinazione dell'età in un sottocampione di esemplari ha permesso di stimare i parametri delle curve di crescita secondo il modello proposto da Von Bertalanffy (tab. 15), separatamente per i due sessi, e di fittare le curve di crescita sulle relazioni età/taglia (fig. 33). Per le femmine, CO esibisce il tasso di crescita più elevato ($0,73 \text{ anni}^{-1}$) e CA quello più basso ($0,35 \text{ anni}^{-1}$). Lo stesso valore di $0,49 \text{ anni}^{-1}$ è invece presente ad AL e VI. Differente è il pattern della lunghezza massima teorica L_{∞} , con un massimo di 60,1 mm a VI e un minimo di 38,3 mm a CO, mentre AL e CA presentano valori intermedi (rispettivamente 52,1 e 53,9 mm).

Anche nei maschi CO mostra il tasso di crescita più elevato ($0,60 \text{ anni}^{-1}$), mentre il valore minimo è quello di VI ($0,29 \text{ anni}^{-1}$). Valori di poco differenti sono invece stati calcolati per AL ($0,35 \text{ anni}^{-1}$) e CA ($0,34 \text{ anni}^{-1}$). Analogamente a quanto descritto per le femmine, CO e VI esibiscono rispettivamente i valori di L_{∞} minimo (35,8 mm) e massimo (53,4 mm), mentre risulta più marcata la differenza tra AL e CA (rispettivamente 49,5 mm e 41,0 mm).

Le dinamiche di accrescimento nei quattro siti sono state analizzate anche attraverso le regressioni lunghezza/peso (tab. 15, fig. 34).

Stazione	Femmine			Maschi		
	<i>n</i>	L_{∞} mm	<i>K</i> anni^{-1}	<i>n</i>	L_{∞} mm	<i>K</i> anni^{-1}
AL	38	52,1	0,49	50	49,5	0,35
CA	135	53,9	0,35	54	41,0	0,34
CO	64	38,3	0,73	59	35,8	0,60
VI	127	60,1	0,49	63	53,4	0,29

Tabella 14. Principali parametri relativi alle curve di accrescimento teorico di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni, separatamente per femmine e maschi

Stazione	Sesso	a	b	r^2	p
AL	femmine	-4,51	2,91	0,97	< 0,01
	maschi	-5,11	3,29	0,99	< 0,01
CA	femmine	-4,61	3,00	0,93	< 0,01
	maschi	-5,12	3,31	0,98	< 0,01
CO	femmine	-4,34	2,80	0,93	< 0,01
	maschi	-5,35	3,47	0,98	< 0,01
VI	femmine	-4,55	2,96	0,96	< 0,01
	maschi	-5,10	3,28	0,98	< 0,01

Tabella 15. Parametri delle relazioni lunghezza peso (logLS/logEW) nelle quattro stazioni, calcolate separatamente per i due sessi

L'ANCOVA effettuata considerando il sesso e il sito di provenienza ha rilevato differenze significative per tutti i fattori scelti (tab. 16). Nel confronto tra le differenti stazioni, l'unica differenza non significativa è quella per le femmine tra AL e CO (ANCOVA seguita da post-hoc con correzione di Bonferroni, $p > 0,05$). Sempre nella stazione di AL, non sono state riscontrate differenze significative tra i due sessi.

	SS	d.f.	MS	F	p
Intercetta	123,9632	1	123,9632	31040,59	$p < 0.05$
logSL	111,1127	1	111,1127	27822,81	$p < 0.05$
Stazione	0,1217	3	0,0406	10,16	$p < 0.05$
Sesso	0,7579	1	0,7579	189,79	$p < 0.05$
Stazione x sesso	0,0718	3	0,0239	5,99	$p < 0.05$
Error	4,5088	1129	0,0040		

Tabella 16. Risultati dell'ANCOVA effettuata sulle relazioni lunghezza peso testando le differenze tra sessi e stazioni

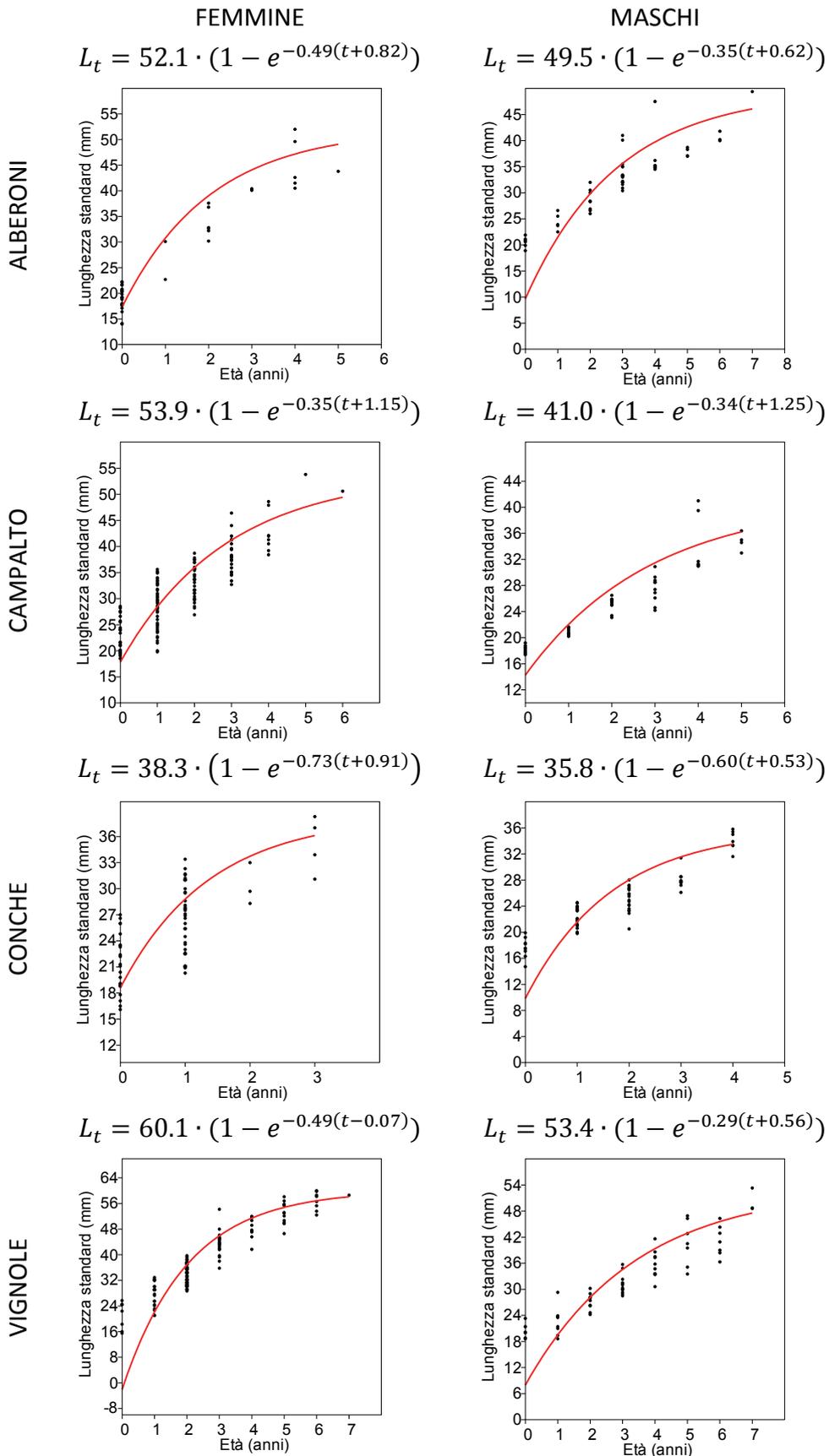


Figura 33. Curve di accrescimento teorico secondo l'equazione di Von Bertalanffy per femmine e maschi di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

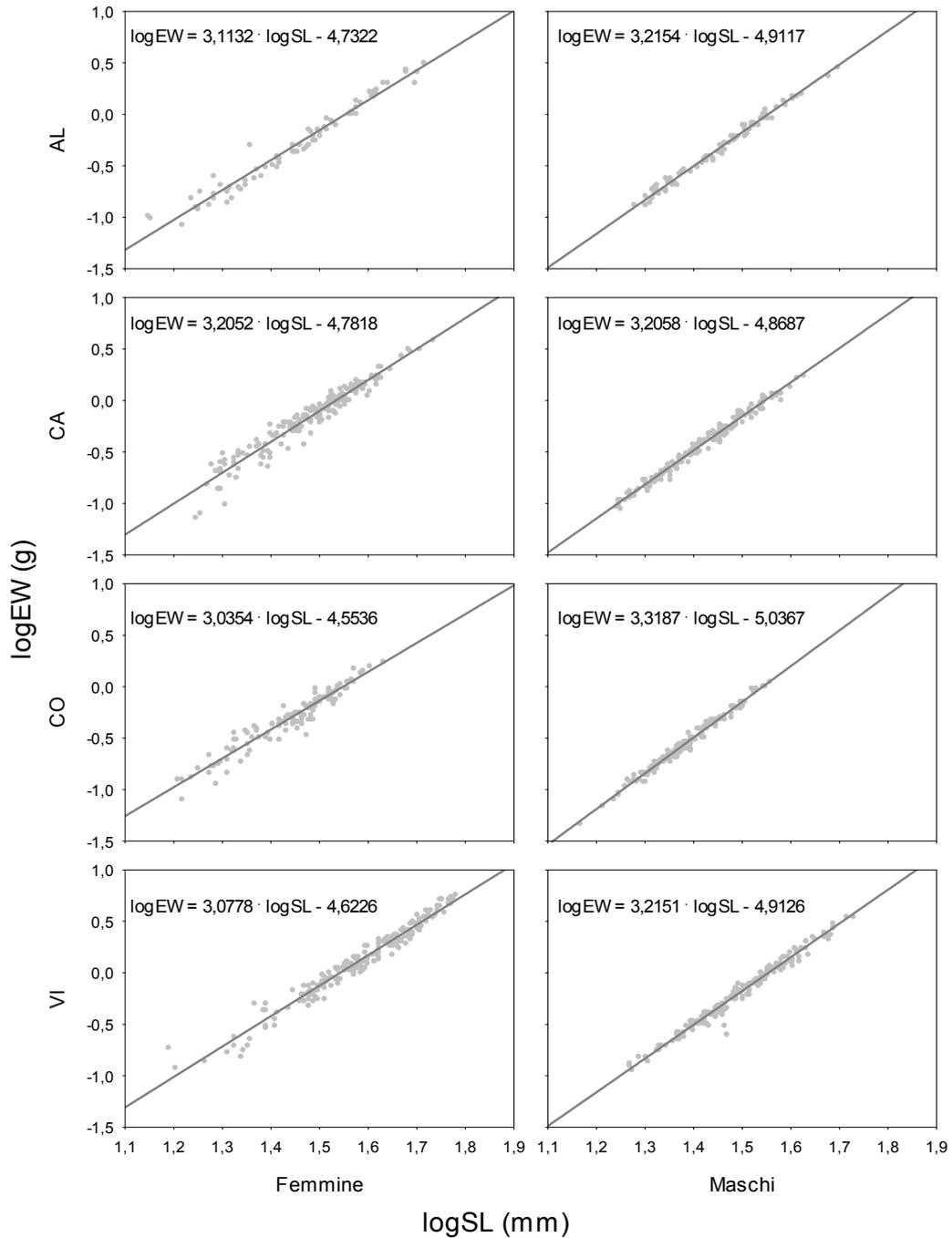


Figura 34. Regressioni lineari tra il logaritmo del peso eviscerato (EW) e il logaritmo della lunghezza standard (LS) per femmine e maschi di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

Differenze significative sono state riscontrate anche nel fattore di condizione (fig. 35). Nelle femmine, AL presenta un valore medio significativamente più basso rispetto alle altre tre stazioni; una differenza significativa esiste anche tra CA e VI. I maschi nelle due barene naturali presentano un fattore di condizione significativamente più alto rispetto a VI, e, solo nel caso di CA, anche rispetto ad AL (test di Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

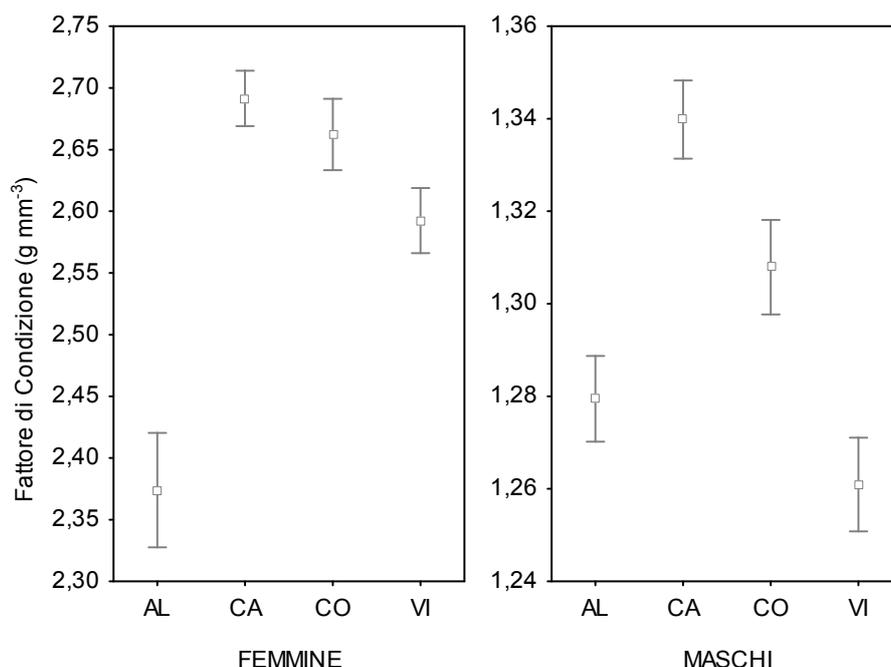


Figura 35. Valori medi (\pm err.st.) del fattore di condizione per femmine e maschi di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

La stima del tasso di sopravvivenza (tab. 17) ha evidenziato differenze sia tra i sessi che tra le stazioni. In generale, i maschi presentano una mortalità più bassa rispetto alle femmine, ad eccezione di VI, dove non vi sono differenze tra i sessi. Questa è anche la stazione con il tasso di sopravvivenza più elevato, mentre le due barene naturali di CA e CO sono caratterizzate da una maggiore mortalità.

	AL	CA	CO	VI
Femmine	0,52 \pm 0,02	0,43 \pm 0,02	0,41 \pm 0,03	0,72 \pm 0,01
Maschi	0,70 \pm 0,02	0,55 \pm 0,01	0,61 \pm 0,03	0,72 \pm 0,01

Tabella 17. Tasso di sopravvivenza (media \pm err.st.) calcolato separatamente per femmine e maschi nelle quattro stazioni

Per quanto riguarda la produzione secondaria (tab. 18), tra i quattro siti quello di VI presenta il valore più elevato, di un ordine di grandezza superiore rispetto a quello delle altre tre stazioni. Il valore più basso è quello calcolato per CO, mentre AL e CA mostrano valori intermedi. In generale, gli habitat artificiali risultano più produttivi delle barene naturali. Relativamente ai valori di P:B, CO e VI si situano ancora agli estremi, con i valori rispettivamente più alto e più basso.

$g\ m^{-2}\ y^{-1}$	AL	CA	CO	VI
Produzione	5,32	3,10	1,62	12,56
Standing stock	2,86	2,52	0,79	14,44
P:B	1,86	1,23	2,05	0,87

Tabella 18. Valori annuali di produzione secondaria, standing stock e rapporto P:B nei quattro siti

3.2.3 Life history riproduttiva

L'andamento nel tempo dell'indice gonadosomatico delle femmine mostra, tranne in VI, un evidente picco nel mese di maggio (fig. 36). Questo risulta preceduto e seguito nei mesi di Aprile e Giugno da valori significativamente più bassi in AL e CO, mentre a CA valori di poco inferiori in questi due mesi fanno ipotizzare un'attività riproduttiva più estesa nel tempo. L'eccezione è costituita da VI, in cui la stagione riproduttiva si estende, con valori di IGS più bassi e picchi meno marcati, da marzo ad agosto. L'IGS per i maschi (fig. 36) mostra un picco nei mesi di aprile e maggio, con valori leggermente più alti nelle due barene naturali rispetto ad AL. L'andamento dell'investimento riproduttivo dei maschi a VI risulta del tutto analogo a quanto descritto per le femmine.

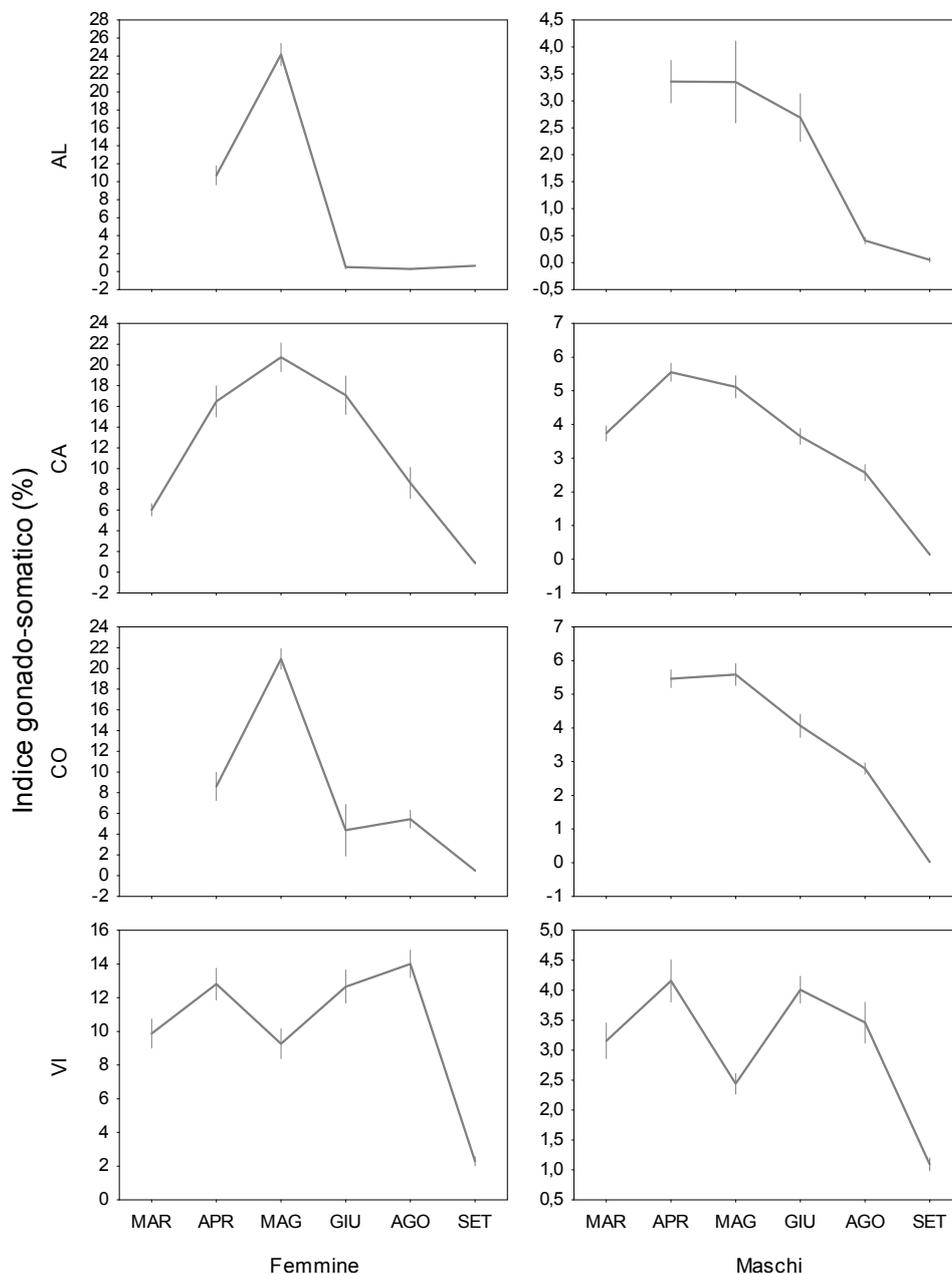


Figura 36. Andamento mensile dell'indice gonado-somatico per femmine e maschi di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

Analogamente a quanto evidenziato per l'indice gonadosomatico nella sezione 3.1.1, anche la fecondità assoluta, espressa attraverso il numero totale di uova, aumenta con la lunghezza standard (fig. 37, in alto), ma tale relazione si differenzia tra i siti, con VI che esibisce l'investimento riproduttivo più basso (ANCOVA, $p < 0,01$). La fecondità relativa (fig. 37, in basso), calcolata in ciascuna classe di età come rapporto tra il numero totale di uova e il peso eviscerato, conferma il minore investimento riproduttivo delle femmine in VI rispetto a CA e CO (ANOVA ad una via seguita da post-hoc con correzione di Bonferroni, $p < 0,05$), con una fecondità relativa più bassa del 51-54% in media. Solo nella classe 0 non vi sono differenze significative tra le stazioni (ANOVA seguita da post-hoc con correzione di Bonferroni, $p < 0,05$).

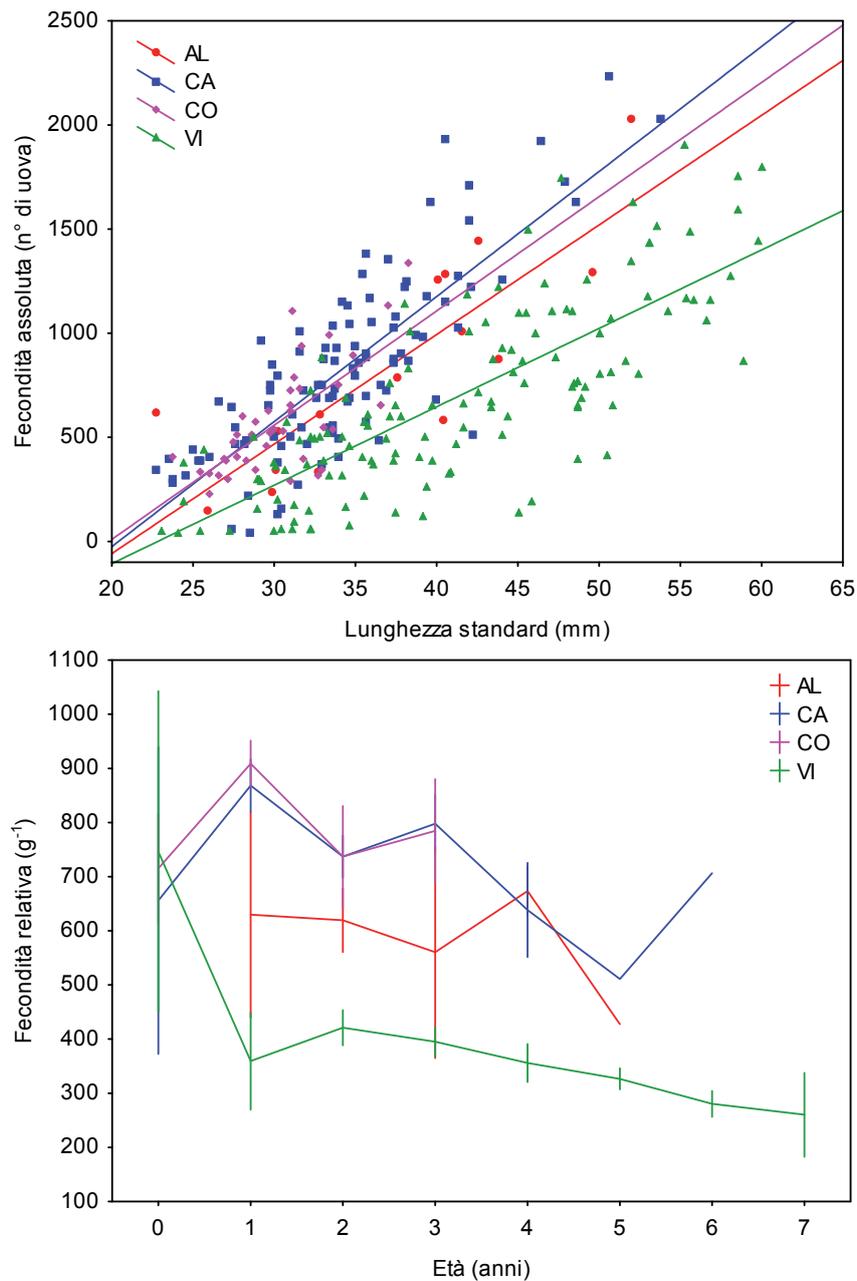


Figura 37. Investimento riproduttivo delle femmine mature di *A. fasciatus* espresso come fecondità assoluta in relazione alla taglia (in alto) e fecondità relativa in relazione all'età (in basso) nei quattro siti

Un differente investimento riproduttivo a VI è confermato anche dal diametro medio delle uova (tab. 19): la bassa fecondità relativa (398 uova g⁻¹ EW) è infatti bilanciata da un maggiore investimento con la produzione di uova più grandi del 18-30% rispetto agli altri siti (0,56 mm, ANOVA seguita da post-hoc con correzione di Bonferroni, p < 0,05). Nelle barene naturali, più alti livelli di fecondità relativa (820 e 977 uova g⁻¹ EW rispettivamente per CA e CO) sono associati a uova più piccole (0,46 mm a CA e 0,39 mm a CO, ANOVA seguita da post-hoc con correzione di Bonferroni, p < 0,05). AL presenta una situazione intermedia, con una fecondità relativa di 572 uova g⁻¹ EW e un diametro medio delle uova di 0,42 mm.

	AL	CA	CO	VI
<i>n</i>	49	158	94	157
Lunghezza standard (mm)	27,0 ± 1,4	31,4 ± 0,6	27,1 ± 0,5	39,4 ± 0,8
Età media (anni)	1,2 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,8 ± 0,1
Età massima (anni)	5	6	3	7
GSI (%)	9,3 ± 1,2	14,3 ± 0,7	10,1 ± 0,9	11,9 ± 0,4
Fecondità relativa (g ⁻¹)	572 ± 32,0	820 ± 23,2	977 ± 47,2	398 ± 19,6
Diametro delle uova (mm)	0,42 ± 0,02	0,46 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,56 ± 0,01
Taglia alla maturità (mm)	30,9	26	24,3	22,7
Età alla maturità(mesi)	19,2	13,2	10,8	6

Tabella 19. Dati relativi alle *life history* delle femmine nelle quattro stazioni (media±err.st.)

Per quanto riguarda la taglia minima alla maturità per le femmine di *A. fasciatus* nei quattro siti (fig. 38), VI è quello con la taglia inferiore (23,5 mm), mentre ad AL si osserva quella più grande (31,0 mm). Le due barene naturali mostrano valori intermedi (25,7 mm a CA e 27,2 mm a CO).

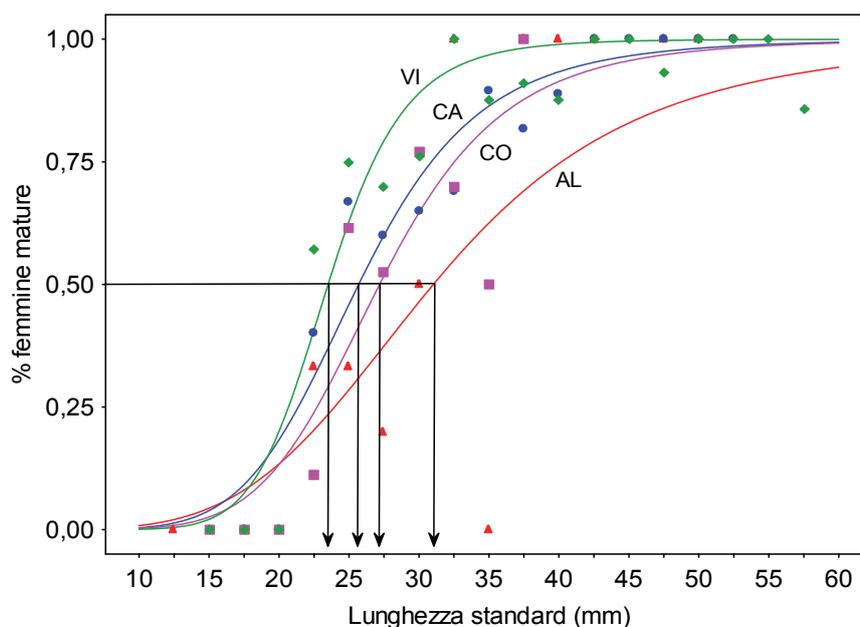


Figura 38. Taglia minima alla maturità per le femmine di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni, ricavata dalla regressione logistica a quattro parametri della proporzione di femmine mature

I tratti di life history relativi alla riproduzione delle popolazioni femminili analizzate sono stati combinati in un'analisi multivariata (fig. 39), che ha evidenziato l'effetto significativo di due fattori principali nel discriminare i quattro siti: la quantità di sostanza organica nel sedimento e la predazione sugli adulti (tab. 20). I parametri chimico-fisici dell'acqua e la predazione sui giovanili non sono invece risultati significativamente influenti.

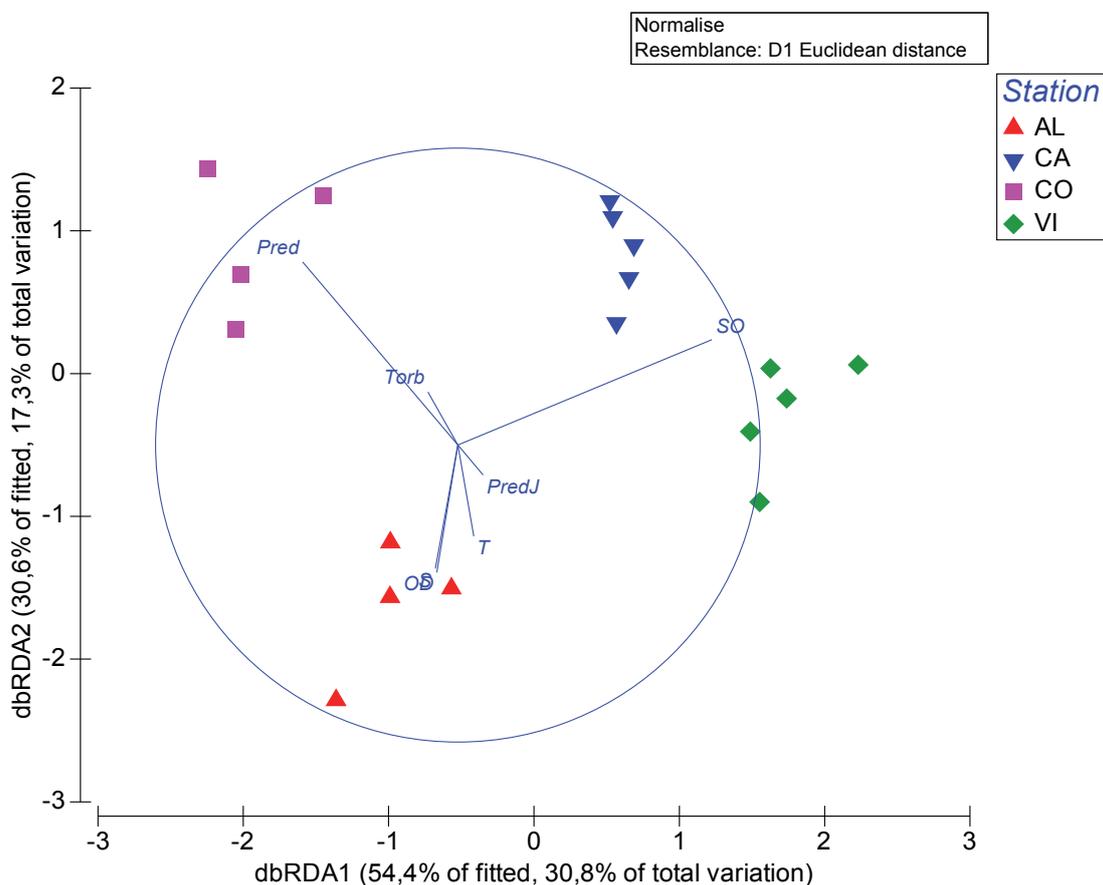


Figura 39. Risultato dell'analisi multivariata (distance-based Redundancy Analysis) sui tratti di life history legati alla riproduzione delle quattro popolazioni

Variabile	marginal tests				sequential tests			
	SS(trace)	pseudo-F	p	prop	SS(trace)	pseudo-F	p	prop
% sostanza organica (SO)	33.875	6.367	0.002	28%	33.875	6.367	0.001	28%
Predazione sugli adulti (Pred)	25.451	4.353	0.006	21%	20.083	4.632	0.004	17%
Torbidity (Torb)	8.611	1.248	0.283	7%	2.376	0.531	0.655	2%
Salinità (S)	9.364	1.367	0.236	8%	1.072	0.226	0.899	1%
Predazione sui giovanili (PredJ)	4.425	0.618	0.610	4%	3.620	0.749	0.493	3%
Temperatura (T)	5.253	0.739	0.571	4%	3.505	0.708	0.506	3%
Ossigeno Disciolto (OD)	8.629	1.251	0.290	7%	2.805	0.543	0.576	2%

Tabella 20. Influenza dei descrittori degli habitat scelti sui tratti di life history legati alla riproduzione; 'prop' indica la percentuale di variazione spiegata dalla variabile. In grassetto le variabili risultate essere significative

3.2.4 Morfometria

Differenze significative delle sagome di *A. fasciatus* (tab. 21) sono risultate tra tutti e quattro i siti dall'analisi delle coppie di coordinate effettuata tramite MANOVA (Multivariate ANalysis Of VAriance, seguita da post-hoc test con correzione di Bonferroni).

	Wilks' λ	df1	df2	F	p
Femmine	0,3407	30	300,1	4,432	< 0,01
Maschi	0,3392	30	573	8,507	< 0,01

Tabella 21. Risultati della MANOVA sulle variazioni della sagoma per femmine e maschi nelle quattro stazioni

L'analisi canonica delle coppie di coordinate (fig. 40), effettuata separatamente per i due sessi, evidenzia differenze morfometriche tra i siti principalmente lungo l'asse X, che raccoglie in entrambi i casi la maggior parte della variabilità (attorno al 70%).

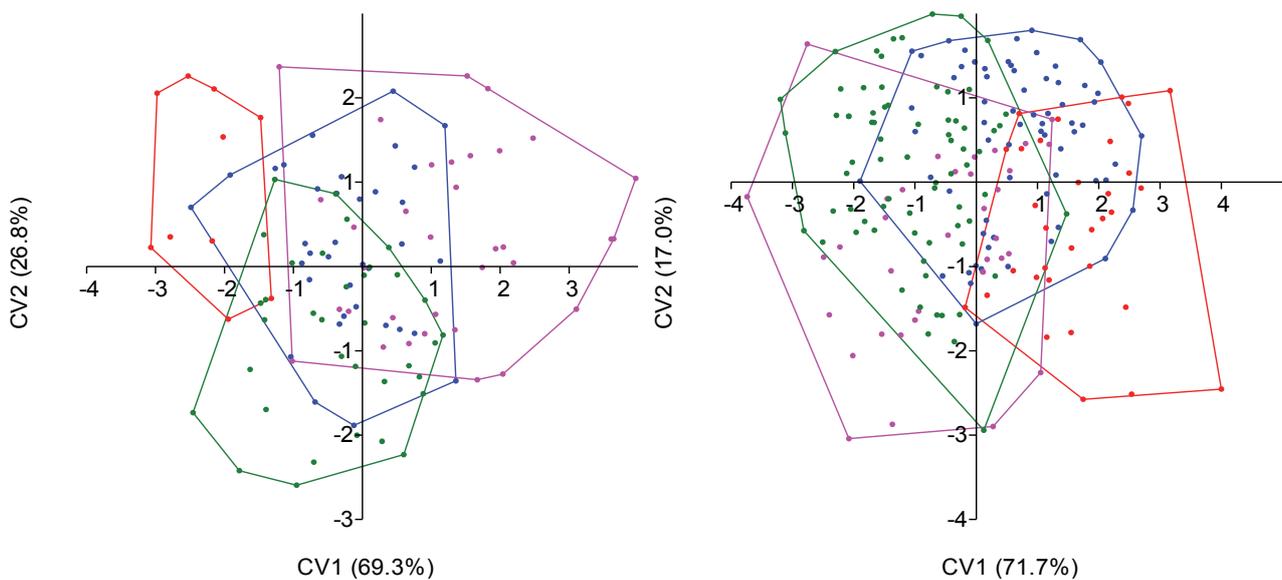
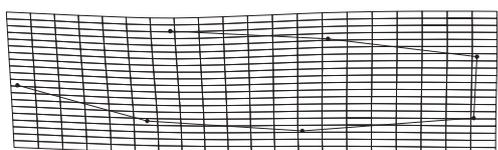


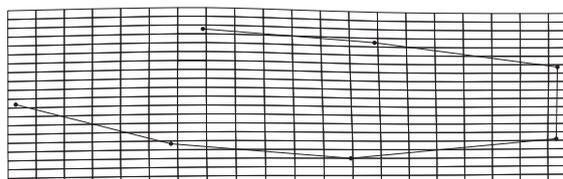
Figura 40. Ordinamento degli esemplari di sesso femminile (a sinistra) e maschile (in a destra) sulla base dei primi due assi derivati dall'analisi canonica delle coppie di coordinate della sagoma di *A. fasciatus* per le quattro stazioni (AL rosso, CA blu, CO verde, VI viola)

La rappresentazione della sagoma mediante thin-plate spline (fig. 41) mostra un incremento nell'altezza del capo e una diminuzione dell'altezza del peduncolo caudale in entrambi i sessi, passando da siti con maggiore idrodinamismo (AL) o accessibilità ai predatori (CA e CO) al bacino isolato con acque ferme di VI.

femmine



maschi



Alberoni → Campalto → Conche → Vignole

Figura 41. Schematizzazione delle variazioni nella sagoma (amplificata di un fattore 3) delle femmine (in alto) e dei maschi (in basso) di *A. fasciatus* lungo il primo asse dell'analisi canonica delle coordinate (per semplicità di visualizzazione è stata invertita la direzione dell'asse dei maschi)

3.2.5 Bandeggio

Per l'analisi delle bandeggio è stato considerato solo il lato sinistro, non essendoci differenze significative nel numero di bande tra i due lati del corpo all'interno delle popolazioni considerate ($p > 0,05$, Wilcoxon test). Il numero di bande nelle femmine varia tra 4 e 25, mentre nei maschi va da 4 a 12 (tab. 22). Tra i quattro siti esistono differenze significative sia nel numero medio di bande che nella densità (test di Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ per entrambi i sessi). In ogni stazione, comunque, entrambe le variabili risultano significativamente più alte nelle femmine (test di Mann-Whitney, $p < 0,05$). Nelle femmine, il numero di bande risulta sempre correlato positivamente con la taglia, mentre nei maschi questa correlazione è più debole e risulta significativa solo a CA e VI. Considerando invece la densità del numero di bande, questa risulta sempre correlata negativamente con la taglia nei maschi, mentre per le femmine la si ritrova, seppur più debole, solo ad AL e CA (tab. 23, fig. 42).

Femmine	AL (79)	CA (184)	CO (124)	VI (158)
N° di barre	10.67±0.34	10.66±0.17	9.80±0.20	14.63±0.29
Range	4-19	6-16	5-18	4-25
Densità	0.36±0.01	0.35±0.01	0.35±0.01	0.37±0.01
Range	0.22-0.50	0.20-0.61	0.25-0.54	0.25-0.49
Maschi	AL (80)	CA (168)	CO (132)	VI (89)
N° di barre	8.27±0.13	7.89±0.10	7.60±0.11	8.79±0.13
Range	6-10	4-11	5-10	6-12
Densità	0.29±0.01	0.30±0.01	0.31±0.01	0.29±0.01
Range	0.14-0.48	0.17-0.54	0.18-0.51	0.15-0.51

Tabella 22. Valori medi (\pm err.st.) e range di variabilità del numero di bande e della loro densità per femmine e maschi nei quattro siti

	AL	CA	CO	VI
<i>N° di barre</i>				
Maschi	0.07	0.30	0.06	0.34
Femmine	0.84	0.66	0.74	0.87
<i>Densità</i>				
Maschi	-0.80	-0.71	-0.68	-0.84
Femmine	-0.40	-0.42	-0.16	-0.30

Tabella 23. Coefficienti di correlazione di Spearman tra il numero di bande e la loro densità rispetto alla taglia. In grassetto le correlazioni significative per $p < 0,05$

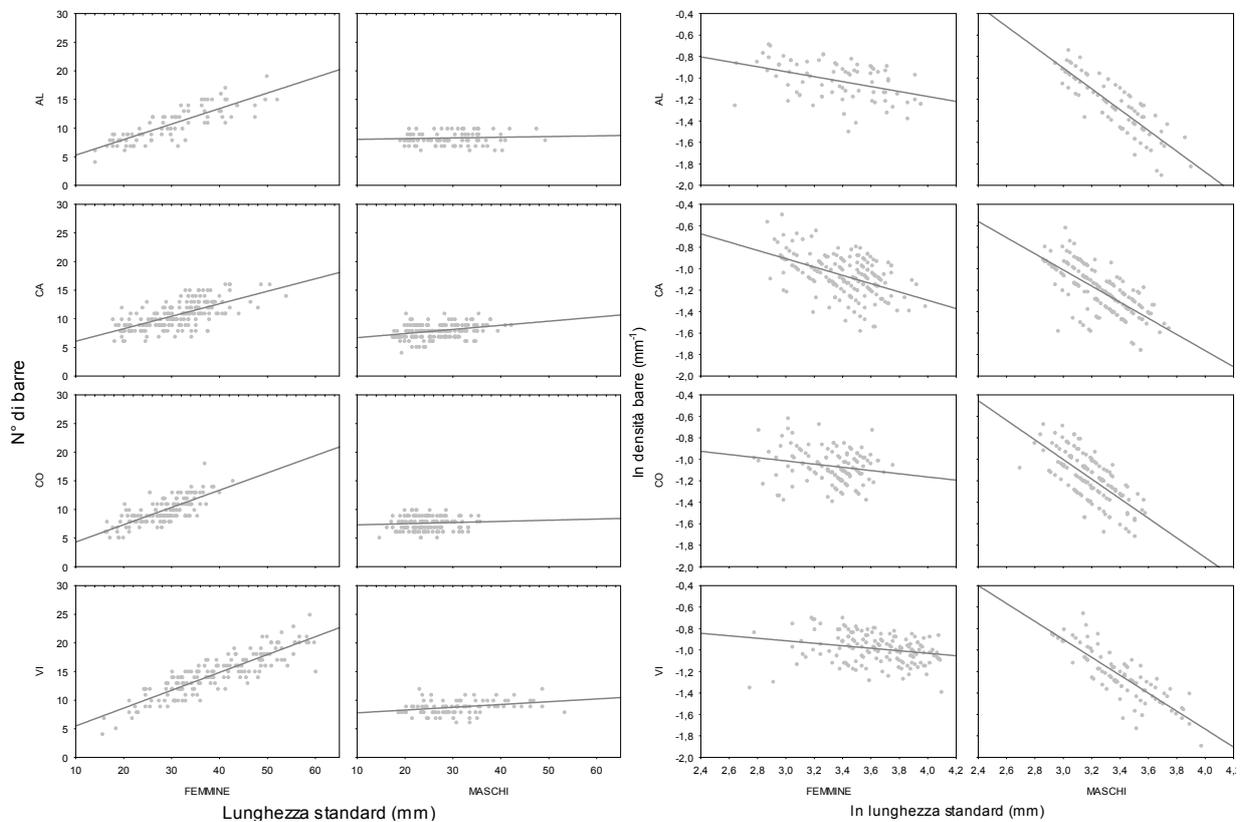


Figura 42. Relazione tra il n° di bande (a sinistra) e la loro densità (a destra) rispetto alla lunghezza standard per le quattro stazioni

Il conteggio del numero di bande su entrambi i lati del corpo ha permesso inoltre di quantificare il grado di asimmetria individuale nei due sessi (fig. 43). Considerando la presenza di una relazione tra numero di bande e lunghezza standard nelle femmine, l'analisi dell'indice di asimmetria è stata condotta sui residui della regressione con la lunghezza standard. Mentre nei maschi non sono state rilevate differenze significative, nelle femmine la stazione di VI presenta valori significativamente più bassi rispetto ad AL e CO (test di Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

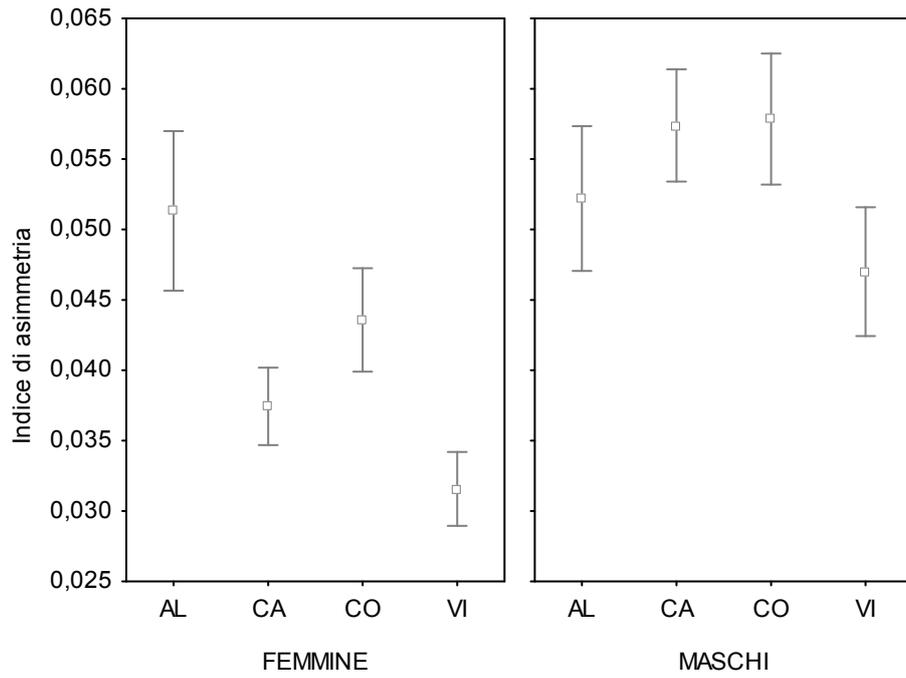


Figura 43. Valori medi (\pm err.st.) dei residui della relazione fra livello di asimmetria e taglia corporea (SL) calcolato per femmine e maschi di *A. fasciatus* nelle quattro stazioni

3.3 Macroscala – Genetica di popolazione

L'accesso al database GeneBank ha permesso di inserire le sequenze presentate precedentemente per i due frammenti di mtDNA (16S e D-loop) in un quadro più ampio, che comprende gran parte dell'areale di distribuzione di *A. fasciatus*, consentendo una ricostruzione coerente della filogeografia della specie nel Mediterraneo. Complessivamente, sono stati rinvenuti 49 aplotipi per il segmento 16S e 82 per il D-loop. Tra questi, 10 per il primo e 16 per il secondo sono stati presentati nella sezione precedente. Gli alberi filogenetici costruiti a partire da questi aplotipi con i differenti metodi risultano coerenti (figg. 44 e 45), permettendo di assegnare le sequenze a cinque gruppi geografici (fig. 46):

- mar Egeo;
- costa greca del mar Ionio;
- mare Adriatico (laguna di Venezia, Comacchio e Lesina), a cui si aggiunge la porzione nord-orientale della Sicilia;
- mar Tirreno (Sardegna, Corsica e Sicilia), compresa l'isola di Malta;
- Sicilia meridionale.

Nonostante ne emerga un quadro piuttosto chiaro, alcuni aplotipi, provenienti dalla Sicilia meridionale (DL SS dal 18 al 21), presentano comunque una posizione ambigua all'interno della ricostruzione filogenetica. La bassa variabilità genetica rinvenuta all'interno della laguna di Venezia risulta in linea con l'analisi dei dati su scala mediterranea. L'analisi della varianza molecolare (tab. 24) mostra infatti un elevato grado di strutturazione delle popolazioni di *A. fasciatus* ($F_{st} = 0,96$ per il 16S e $F_{st} = 0,87$ per il D-loop), caratterizzate al contempo da un basso livello di polimorfismo genetico (3,64% per il 16S e 12,61% per il D-loop). La maggior parte del polimorfismo genetico deriva invece da differenze tra gruppi geografici. In particolare, per il segmento 16S queste contribuiscono a spiegare oltre il 90% della varianza totale; tale valore scende poco al di sopra del 50% per il D-loop. Solo in questo segmento infatti le differenze tra le varie popolazioni all'interno dei gruppi contribuiscono in maniera significativa (32,84%) al polimorfismo genetico della specie, mentre quasi trascurabile rimane il contributo della variabilità all'interno delle singole popolazioni.

a. 16S	Varianza totale	Indice di fissazione	p
Tra i gruppi	91,47 %	$F_{st} 0,96$	< 0,01
Tra popolazioni all'interno dei gruppi	4,90 %		
All'interno delle popolazioni	3,64 %		

b. D-loop	Varianza totale	Indice di fissazione	p
Tra i gruppi	54,54 %	$F_{st} 0,87$	< 0,01
Tra popolazioni all'interno dei gruppi	32,84 %		
All'interno delle popolazioni	12,61 %		

Tabella 24. Risultati dell'analisi gerarchica della varianza molecolare di *A. fasciatus* sulla base dei cinque gruppi geografici individuati

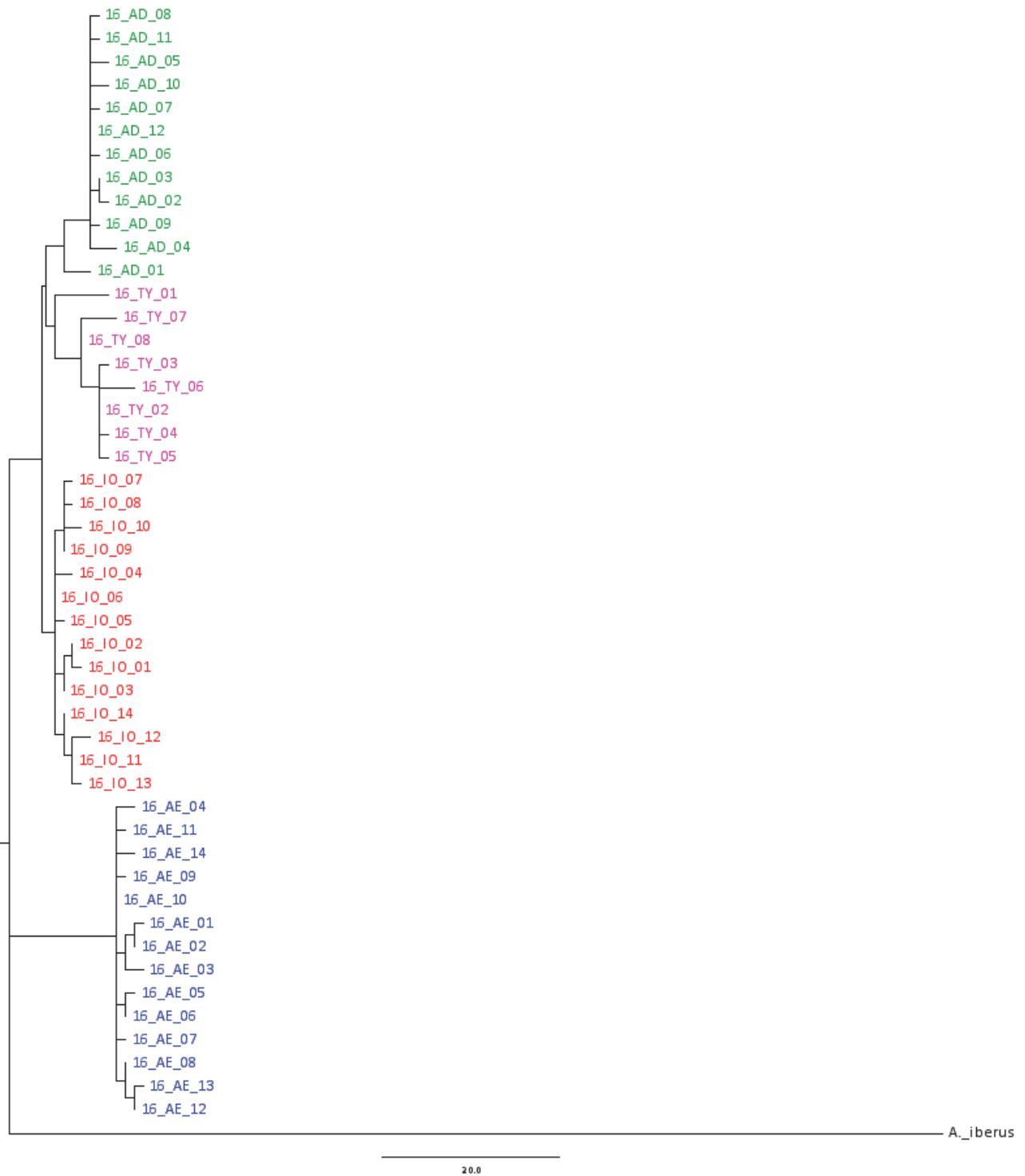


Figura 44. Albero costruito con il criterio di massima parsimonia a partire dal segmento 16S di mtDNA che illustra le relazioni filogenetiche tra esemplari di *A. fasciatus* raccolti in laguna di Venezia, nelle saline di Comacchio e in Corsica, insieme alle sequenze depositate in GeneBank. (AD, mare Adriatico; TY, mar Tirreno; IO, mar Ionio; AE, mar Egeo)

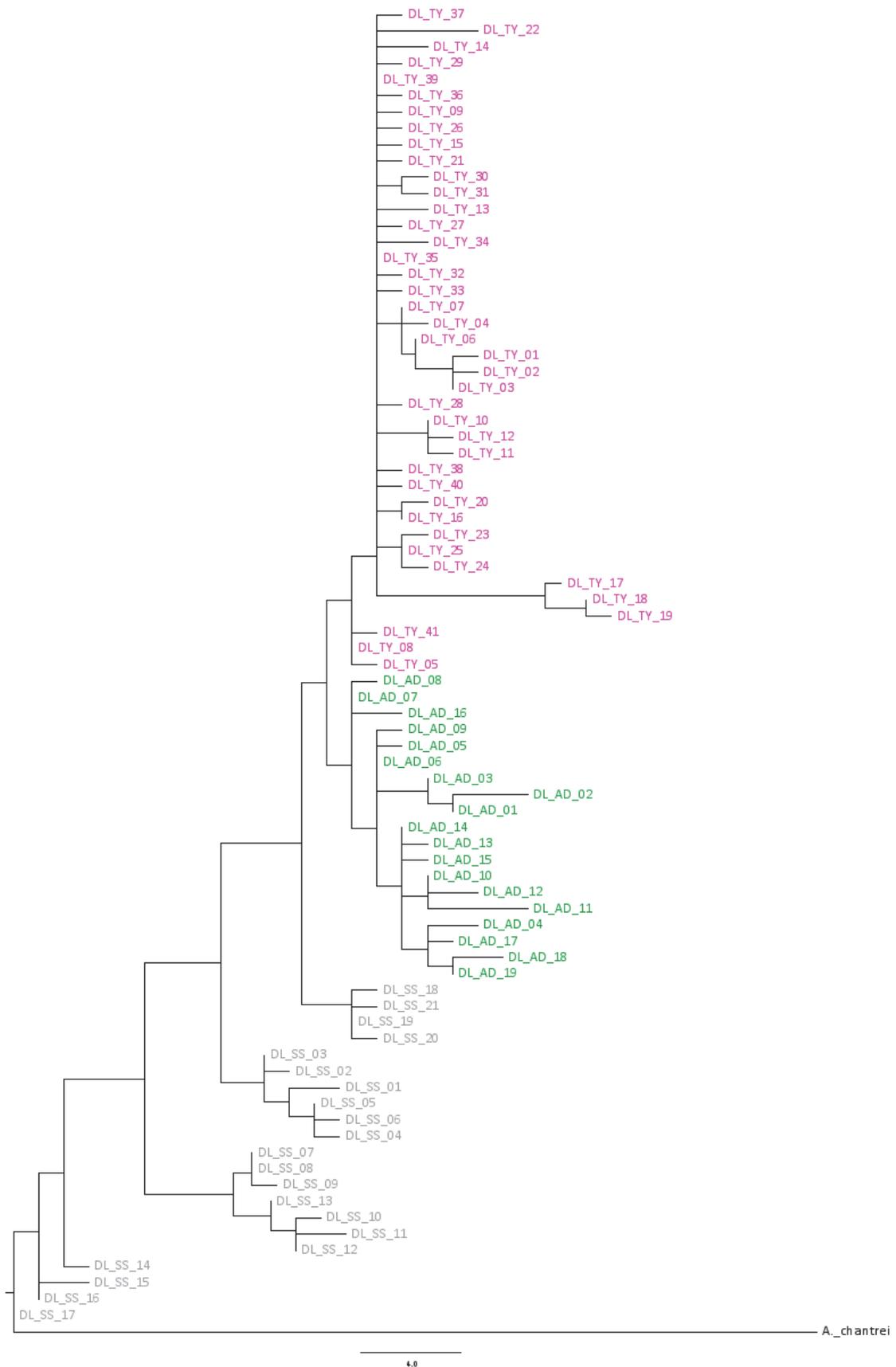


Figura 45. Albero costruiti con il criterio di massima parsimonia a partire dal segmento D-loop di mtDNA che illustra le relazioni filogenetiche tra esemplari di *A. fasciatus* raccolti in laguna di Venezia, nelle saline di Comacchio e in Corsica, insieme alle sequenze depositate in GeneBank. (TY, mar Tirreno; AD, mare Adriatico; SS, Sicilia meridionale)



Figura 46. Distribuzione geografica delle popolazioni mediterranee analizzate, colorate secondo i gruppi emersi dall'analisi filogenetica. * sequenze originali

4. Discussione

4.1 Microscala

4.1.1 Eco-etologia riproduttiva

Nel zone costiere del mediterraneo sono presenti almeno tre specie di ciprinodontidi legate agli ambienti di transizione. Tra queste, anche per *A. fasciatus*, diffuso in questi ambienti, è stata riscontrata la presenza di un ciclo riproduttivo semi-lunare. La bibliografia esistente riporta diversi esempi per il fundulide *Fundulus heteroclitus* delle coste atlantiche del centro-nordamerica (Hsiao *et al.*, 1994; 1996; McMullin *et al.*, 2009; Petersen *et al.*, 2010). In entrambe le famiglie le uova sono provviste di goccia oleosa, nonostante vengano fatte aderire alla vegetazione sommersa (Armstrong e Swope Child, 1965). Gli studi relativi ai ritmi riproduttivi sono basati principalmente sul conteggio giornaliero delle uova deposte, il cui ritmo di deposizione risulta essere endogeno, mantenendo quindi una ciclicità semi-lunare anche in acquario, in assenza di stimoli giornalieri, tidali e semi-lunari (Taylor *et al.*, 1979; Taylor, 1984; Taylor e Dimichele, 1980; Hsiao *et al.*, 1994, 1996). Alcuni di questi autori hanno però arricchito lo studio con osservazioni comportamentali in campo, riscontrando anche in queste la stessa ciclicità. In questo caso, per la prima volta, i moduli comportamentali sono stati quantificati in modo tale da poter essere analizzati statisticamente. Al conteggio delle uova rilasciate nelle vasche, che potrebbe comunque risultare falsato da episodi di cannibalismo, sono state così associate delle osservazioni comportamentali legate alla riproduzione. In entrambi i casi è stato riscontrato un ciclo semi-lunare legato all'attività riproduttiva. È quindi probabile che i riproduttori di *A. fasciatus* sfruttino le alte maree di sizigie per raggiungere le zone più interne delle barene, dove rilasciano le uova, attaccandole alla vegetazione, al riparo da predatori acquatici. La durata dell'incubazione delle uova coincide anch'essa con un ciclo semi-lunare: alle temperature medie registrate nel mese di maggio, picco dell'attività riproduttiva negli ambienti di barena, la schiusa delle uova avviene infatti circa 14 giorni la deposizione, confermando i risultati di Taylor (1999). In questo modo gli avannotti fuoriescono dall'uovo in condizioni probabilmente più favorevoli, e possono raggiungere siti idonei, dove possono accrescersi durante le fasi iniziali dello sviluppo, al sicuro dalla predazione da parte di altri organismi acquatici.

Le osservazioni in acquario hanno inoltre permesso di descrivere il comportamento riproduttivo di *A. fasciatus*. In Malavasi *et al.* (2010) vengono descritti i comportamenti legati al corteggiamento e alla deposizione di terzetti di *A. fasciatus*, composti da due maschi e una femmina. In questa tesi si è invece tentato di ricreare una situazione più vicina alla realtà, utilizzando gruppi di animali con un rapporto tra i sessi analogo a quello riscontrato nella popolazione di provenienza. In questo contesto si sono così potuti osservare moduli comportamentali non descritti, in precedenza, per questa specie: corteggiamenti/deposizioni multiple e cannibalismo filiale.

La dimensione delle pinne (Kokita e Mizota, 2002; Suk e Choe, 2002) o i pattern di colorazione (Kodric-Brown, 1990; Milinski e Bakker, 1990) costituiscono, nei pesci, dei segnali sessuali importanti, in relazione alla dominanza tra maschi e nell'ambito della scelta sessuale da parte delle femmine. I maschi di *A. fasciatus*, come spesso avviene nei ciprinodontidi (Malavasi *et al.*, 2010)

presentano caratteri sessuali secondari che si accentuano durante il corteggiamento e la riproduzione: pinne caudale, dorsale e anale più ampie, intensamente colorate di giallo, unitamente ad un bandeggio con colori più accentuati e contrastanti che nelle femmine.

Il tentativo, effettuato da parte di un maschio, di monopolizzare con il corteggiamento una femmina, per poterla successivamente condurre verso un substrato adatto alla deposizione e fecondarne le uova, oltre ad essere ostacolato durante la fase di corteggiamento, può subire l'interferenza da parte di altri individui durante la deposizione. Questi maschi parassiti (sneaker), in genere di dimensioni inferiori rispetto a quello dominante, si inseriscono nella deposizione, cercando di fecondare parte delle uova emesse dalla femmina.

Questa diversità tra maschi può essere sotto il controllo di fattori genetici, portando quindi al differenziamento nella popolazione maschile di fenotipi ben distinti, o essere legato unicamente ad un preciso stadio dello sviluppo ontogenetico dell'individuo. In altri casi, gli sneaker sono semplicemente maschi giovani, di piccole dimensioni ma già sessualmente maturi, che sfruttano la rapidità e le piccole dimensioni per intromettersi nella deposizione (Gonçalves *et al.*, 1996), senza partecipare al corteggiamento.

Questo potrebbe essere il caso di *A. fasciatus*, confermato dalla relazione esistente tra investimento in gonadi e taglia. Di norma, nei pesci, il peso delle gonadi risulta proporzionale al peso dell'animale, come registrato per le femmine. Nei maschi questa relazione si inverte, proprio per effetto di questi maschi di piccole dimensioni che investono nelle gonadi, in proporzione, più dei maschi di grandi dimensioni (fino al 10% del loro peso corporeo). Testicoli di grandi dimensioni, in relazione alla taglia, sono tipici dei maschi parassiti (Petersen e Warner, 1998; Taborsky, 1994). Valori elevati di GSI, da 2 a oltre 4%, sono stati ad esempio riscontrati da Taylor (1986) nei maschi di *F. heteroclitus*, specie nella quale esiste una competizione spermatica fra maschi, che partecipano in gruppo alle singole deposizioni di una femmina.

Anche il cannibalismo filiale, per quanto possa sembrare contro-intuitivo, risulta abbastanza diffuso tra le specie animali (Polis, 1981), e, in particolar modo, fra i pesci (Manica, 2002). In generale, esso tende a comparire e ad aumentare in frequenza nei maschi quanto più incerta è la paternità della prole, particolarmente nelle specie in cui il maschio costruisce un nido o applica delle cure parentali alla prole. Anche nel caso di *A. fasciatus*, comunque, esso risulta spiegabile come risposta alle tattiche alternative presenti nella specie, risultando positivamente correlato al numero di deposizioni multiple registrate, e quindi al numero di intrusioni nelle deposizioni da parte di sneaker. Nei pesci, salvo alcune eccezioni (Frommen *et al.*, 2007; Green *et al.*, 2008), non esistono spiegazioni sulla capacità o meno, da parte di un maschio, di distinguere le uova fecondate da altri (Rios-Cardenas e Webster, 2005). Nonostante ciò, la sola presenza di sneaker, o maschi rivali, può indurre la comparsa di atti di cannibalismo filiale da parte dei maschi (Xia, 1992; Svensson *et al.*, 1998; Manica, 2002, 2004; Gray *et al.*, 2007).

4.1.2 Uso dell'habitat

Per analizzare con maggiore dettaglio l'utilizzo dell'habitat da parte di *A. fasciatus*, in un habitat eterogeneo come quello delle barene, i campionamenti mensili con tratta nelle due stazioni di CA e CO sono stati stratificati nello spazio. È stato così seguito un gradiente che, dal margine esterno della barena, proseguiva verso l'interno del ghebo, evidenziando delle differenze nelle densità di *A. fasciatus* in relazione alla posizione. In generale le densità più elevate sono state riscontrate all'interno del ghebo, rispetto al bordo esterno della barena. Profonde variazioni stagionali nei pattern di utilizzo dell'habitat sono riportate anche da Halpin (1997) per *F. heteroclitus* nelle aree barenicole del New England meridionale. Nei mesi più caldi, infatti, il picco di abbondanza della popolazione si sposta all'interno dei ghebi. Questa differenza appare meno marcata a CO. Ciò potrebbe dipendere dal fatto che il ghebo campionato non sbocca direttamente nella laguna aperta, ma in un ampio chiaro. Le acque più profonde, dove maggiore è il rischio della predazione, sono quindi più distanti rispetto a CA, dove i punti di campionamento si collocano nelle vicinanze di un ampio ghebo subtidale. Le aree in prossimità di ampi canali determinano infatti un maggiore rischio di predazione per le specie residenti, rispetto a quelle vicine a canali di dimensioni inferiori (Rozas e Odum, 1987; Hettler, 1989).

Anche la taglia degli individui sembra variare, stagionalmente, in relazione alla posizione. Gli individui più grandi, presenti in primavera lungo il margine esterno della barena, si spostano in estate verso le zone più interne. Alcuni autori (Kneib, 1982, 1987; Harvey e Stewart, 1991; Meyer e Posey, 2009) hanno riscontrato la stessa tendenza ad una stratificazione intraspecifica per taglia, al variare della profondità dell'acqua, spiegandola attraverso cambiamenti ontogenetici nella pressione predatoria o nella dieta.

Durante la primavera la sex ratio, calcolata come rapporto del numero di femmine sui maschi, mostra delle differenze tra la porzione esterna della barena e le zone più interne, nelle quali appare dominante la frazione maschile. In estate le differenze spaziali nella *sex ratio* risultano meno evidenti, arrivando in alcuni casi ad invertirsi con una dominanza di femmine. Come verrà discusso più avanti, la diminuzione del numero di maschi potrebbe essere legata ad una più intensa predazione alla quale sarebbero soggetti, durante il periodo riproduttivo, a causa della colorazione brillante e del comportamento più appariscente (Leonardos e Sinis, 1999).

Come esposto sopra, le migrazioni tidali possono anche essere legate alla riproduzione, nonostante l'elevata instabilità e gli stress fisiologici a cui sono sottoposti gli organismi in questi ambienti durante i diversi stadi ontogenetici (Able e Fahay, 1998).

Le aree di barena svolgono così per *A. fasciatus* anche una funzione di nursery. I microhabitat costituiti da pozze intertidali, anche normalmente isolate, di piccole dimensioni (qualche m²), con acque poco profonde (2-3 cm) ospitano infatti elevate densità di giovanili della specie. Nella barena di CA, in una di queste pozze è stata misurata una densità di giovanili di 233 ind m⁻². Valori più bassi, registrati a CO, dipendono probabilmente dalle più basse densità con cui è presente in generale la specie in questa stazione. La stessa tipologia di microhabitat viene utilizzata da altri ciprinodontiformi, come *Aphanius iberus* (Clavero *et al.*, 2005) e *F. heteroclitus* (Able e Hagan, 2000; Desmond *et al.*, 2000).

In generale, la barena di CA risulta essere più articolata e morfologicamente complessa rispetto a quella di CO. Maggiore è infatti l'articolazione del reticolo di ghebi e, nella porzione più interna, sono presenti in numero maggiore pozze intertidali e chiari. Tra questo set di microhabitat è stato individuato un piccolo ghebo all'interno del quale, in ogni data di campionamento, è stata registrata la presenza di un'abbondante sub-popolazione di *A. fasciatus*. La profondità più elevata, rispetto agli altri ghebi, e l'isolamento durante le normali fasi di marea, lo rendono probabilmente un'area di rifugio sia da parte di predatori acquatici che aerei. Le comunicazioni con l'esterno sono possibili solo durante le alte maree di sizigie, quando tutta la superficie barenicola viene sommersa dall'acqua. La presenza costante della specie in questo sito, oltre che dalla possibilità di trovarvi rifugio dalla predazione, deriva probabilmente dal ristretto home range della specie. *F. heteroclitus*, che raggiunge i 15 cm di lunghezza, presenta un ristretto range di movimento, stimato, per il periodo estivo, in meno di 400 m. La fedeltà al sito può essere spiegata anche dalla capacità, nei pesci, di riconoscere e memorizzare l'ambiente in cui vivono. McMahon *et al.* (2005) hanno infatti dimostrato la presenza di una simile memoria geografica in *F. heteroclitus*.

Nella stazione di VI, che presenta densità mediamente più elevate e costanti, la distribuzione spaziale di *A. fasciatus* è stata investigata mediante bottiglie di campionamento. Questo strumento è stato già utilizzato per indagare l'utilizzo dell'habitat da parte di piccole specie nectoniche (Culp e Glozier, 1989; Layman e Smith, 2001; Clavero *et al.*, 2005).

Le abbondanze di *A. fasciatus* misurate, espresse come CPUE (Catch per Unit Effort), presentano un andamento analogo a quelle calcolate utilizzando la tratta, discusse in seguito. Trattandosi di una specie caratterizzata da un ciclo vitale pluriennale distribuita all'interno di un bacino chiuso, che non permette quindi migrazioni da e verso l'esterno, le densità più elevate registrate in primavera sono da ricondurre, probabilmente, ad una maggiore mobilità degli individui, derivante dall'intensa attività riproduttiva che si svolge in questo periodo. Le catture inferiori registrate durante i mesi più freddi potrebbero dipendere, inoltre, dall'infossamento nel fango dei pesci per sfuggire alle temperature più basse, come registrato per *Fundulus heteroclitus* (Raposa, 2003).

La vicinanza al bordo, il rifugio offerto dalla copertura algale e la posizione nella colonna d'acqua sono i fattori considerati per analizzare l'utilizzo dei differenti micro-habitat a VI. La specie preferisce la porzione centrale del canale, dove sono stati catturati gli individui più grandi. Lungo il bordo, caratterizzato da acque basse protette dalla vegetazione erbacea sovrastante, e nelle porzioni di fondale caratterizzate da una densa copertura macroalgale, gli individui catturati di sesso femminile presentano una taglia inferiore rispetto a quelli campionati in acque libere. Pur mancando pesci predatori, la presenza di uccelli ittiofagi, principalmente sterne e ardeidi, rende le acque libere e più profonde maggiormente sicure, contrariamente a quanto avviene per le aree barenicole della laguna. Gli individui di taglia inferiore si trovano preferenzialmente nelle zone più protette dalla predazione aerea: lungo i bordi, sotto la vegetazione riparia, o in aree vegetate sommerse. Questo pattern può essere interpretato, secondo quanto proposto da alcuni autori (Ruiz *et al.*, 1993; Meyer e Posey, 2009), come una strategia per sfuggire alla competizione intraspecifica. La predazione da parte degli uccelli potrebbe anche determinare differenze nell'utilizzo dell'habitat tra i due sessi (Leonardos e Sinis, 1999): i maschi, più appariscenti, sembrano infatti preferire le zone più protette, sotto la vegetazione riparia o tra le alghe, e più profonde.

4.2 Mesoscala

4.2.1 Demografia di popolazione e life history riproduttiva

I quattro siti di campionamento, pur nella loro diversità, risultano accomunati, da un punto di vista strutturale, nell'essere delle canalizzazioni, naturali o artificiali, di ridotte dimensioni rispetto alla scala lagunare. La loro accessibilità e la collocazione rispetto agli input di acqua marina o dolce costituiscono probabilmente i fattori capaci di influenzare la struttura delle comunità nectoniche. I parametri chimico-fisici registrati non presentano variazioni sostanziali, se si escludono la salinità mediamente più alta di AL, dovuta alla prossimità con la bocca di porto di Malamocco, e le basse percentuali di saturazione di ossigeno disciolto registrate, in alcune occasioni, a CO.

Le comunità nectoniche campionate sono risultate essere ben differenziate sulla base della composizione specifica. Le due barene naturali di CA e CO presentano infatti una tipica comunità composta da giovanili di specie migratrici e piccoli residenti, come già descritto da Franco *et al.* (2006, 2008) e da Franzoi *et al.* (2010). Nelle comunità descritte in questi lavori però *A. fasciatus* non è tra le specie dominanti la comunità, come invece riscontrato in questa sede, dove costituisce in media quasi la metà dell'abbondanza totale (48% a CA e 41% a CO). Questa differenza è forse imputabile alla diversità morfologica e strutturale esistente tra gli habitat campionati. I ghebi scelti a CA e CO risultano infatti di dimensioni minori rispetto a quelli studiati nei lavori sopra citati, rappresentando un habitat rifugio per la specie. La stessa funzione sembra essere svolta dai due canali artificiali di AL e VI. Pur differenziandosi per molteplici fattori dall'habitat tipico della specie, i due siti ospitano popolazioni ben strutturate di *A. fasciatus*, che è presente ad AL e VI con densità medie di 35 e 96 ind 100m⁻², contro i 93 e 82 ind 100m⁻² di CA e CO. Nonostante ciò, le comunità nectoniche nei due ambienti artificiali si differenziano notevolmente da quelle delle barene naturali e, al contempo, dalle comunità tipiche descritte per gli ambienti lagunari ed estuarini. Ad AL è presente la comunità più ricca in specie, che raccoglie al suo interno residenti estuarini tipici dell'ambiente di gronda, come *A. fasciatus* e *K. panizzae*, ma anche migratori marini come i giovanili di Mugilidi, specie tipiche delle praterie a fanerogame (*Syngnathus typhle*, *S. abaster* e *Nerophis ophidion*), e specie appartenenti alla guild dei "marini avventizi" (*Gobius cobitis*, *Salaria pavo*, *Parablennius sanguinolentus*). Questo habitat è presente, seppure con coperture di pochi m², all'interno del canale in vicinanza delle aree di campionamento. All'altro estremo dello spettro, troviamo la comunità di VI, il cui isolamento ne impedisce l'accesso ai migratori. Ne risulta una comunità nectonica con sole quattro specie, di cui una alloctona (*Gambusia holbrooki*), che nel periodo tardo primaverile – estivo rappresenta la specie più abbondante della comunità. La stessa specie è stata rinvenuta anche a CA e, insieme ad un altro alloctono dulciacquicolo, *Pseudorasbora parva*, a CO, in particolare successivamente ad abbondanti precipitazioni che ne hanno favorito l'ingresso in laguna.

All'interno di questo contesto, le quattro popolazioni di *A. fasciatus* indagate si strutturano in maniera sostanzialmente differente, sia dal punto di vista demografico che dei tratti di life history legati alla riproduzione. Trattandosi di una specie estremamente tollerante nei confronti delle variazioni dei principali parametri ambientali, come ad esempio temperatura e salinità (Triantafyllidis, 2007), altri fattori, in questo caso biotici, come predazione e competizione,

possono risultare determinanti nell'influenzare le comunità e le popolazioni animali di questi ambienti (Franco *et al.*, 2006).

Le profonde differenze strutturali tra habitat naturali e artificiali determinano così delle differenze nell'intensità della pressione predatoria sugli adulti. Gli individui di CA e CO risultano più facilmente esposti alla predazione da parte di altri pesci presenti in laguna di Venezia, quali ad esempio *Dicentrarchus labrax* e *Anguilla anguilla* (Malavasi *et al.*, 2004; Franzoi *et al.*, 2010), quando devono abbandonare le acque intertidali durante la fase di bassa marea. I maschi, come già discusso nella sezione precedente, sarebbero soggetti ad una maggiore pressione predatoria in particolare durante il periodo riproduttivo (Leonardos e Sinis, 1999). Ciò è consistente con l'andamento temporale della sex ratio, calcolata come rapporto delle femmine sui maschi, che aumenta proprio col procedere della stagione riproduttiva. Un quadro differente emerge però dai valori del tasso di sopravvivenza, con le femmine che presentano valori inferiori ai maschi, ad esclusione di VI, dove non ci sono differenze fra i sessi. È quindi ipotizzabile che altri fattori, come ad esempio le maggiori energie spese nella riproduzione, o la differente risposta agli stress ambientali, contribuiscano ad un incremento della mortalità fra le femmine (Magnhagen, 1991). In generale, comunque, i tassi di sopravvivenza calcolati per le due popolazioni provenienti dai siti naturali sono risultati più bassi rispetto a quelli dei canali artificiali, confermando una minore pressione predatoria in questi ultimi.

In accordo con quanto descritto in Leonardos e Sinis (1999), nelle due barene naturali si nota una dominanza di individui di piccole dimensioni, appartenenti alle classi di età più giovani. Solo una piccola percentuale della popolazione proviene dalle classi di età superiori alla seconda. A VI invece, e in parte anche ad AL, la popolazione appare più longeva, con gli individui di taglia ed età maggiore ben rappresentati in termini numerici. La maggiore mortalità degli adulti derivante dalla predazione, combinata con l'instabilità delle condizioni ambientali tipiche degli ambienti barenicoli, influenzerebbe direttamente anche i tratti di life history legati alla riproduzione (Reznick, 1985). Un'aspettativa di vita ridotta determina un maggiore investimento riproduttivo, specialmente tra le classi di età più giovani, che si traduce nella produzione di un elevato numero di uova a CA e CO, analogamente a quanto riscontrato da Jennions e Telford (2002) per il *Brachyrhaphis episcopi* e da Walsh e Reznick (2009) per il ciprinodontiforme *Rivulus hartii*, dove un'elevata fecondità e alti valori di IGS erano la risposta della specie all'intensa predazione. Dall'altro lato, nei due habitat artificiali di AL e VI, dove l'intensità della predazione sugli esemplari adulti di *A. fasciatus* è inferiore, o assente, l'investimento riproduttivo è inferiore rispetto alle barene, come diretta conseguenza di una ridotta mortalità (Gunderson, 1997). A VI, in particolare, si osserva una diversa strategia riproduttiva messa in atto dalle femmine di *A. fasciatus*, che presentano i valori più bassi di fecondità assoluta. Anche la fecondità relativa presenta i valori più bassi, tra quelli registrati nei quattro siti, mantenendosi tale in tutte le classi di età ad eccezione del primo anno di vita. I valori relativi all'indice gonadosomatico e alla fecondità relativa riscontrati nei quattro siti sono risultati superiori a quelli rinvenuti da Leonardos e Sinis (1998) nelle lagune greche di Mesolongi e Etolikon (IGS = 5 – 15%, fecondità relativa = 95 – 136 uova g⁻¹), probabilmente a causa delle diverse condizioni ambientali e del differente grado di trofismo che caratterizza le diverse lagune (Boumaiza *et al.*, 1979; Leonardos e Sinis, 1998).

Gli effetti legati all'intensità della pressione predatoria possono però derivare anche dall'interazione con la disponibilità di risorse del sistema. La disponibilità di cibo è così il secondo fattore all'origine delle differenti strutture per taglia/età delle quattro popolazioni. Oltre che offrire riparo dalla predazione e dalla competizione, gli ambienti di transizione costituiscono infatti degli habitat importanti per la fauna ittica da un punto di vista trofico (Cattrijsse *et al.*, 1994; Franco *et al.*, 2006). Negli ecosistemi di transizione, e nelle lagune costiere in particolare, il comparto bentonico riveste un ruolo fondamentale nei flussi di energia (Howes *et al.*, 1984; Odum, 1988). Per questo motivo, la percentuale di sostanza organica nel sedimento è stata utilizzata come *proxy* della disponibilità di cibo per la comunità nectonica (Robertson e Lenanton, 1984, Daniel e Robertson, 1990; Mitsch e Gosselink, 2000). Le due barene naturali, da questo punto di vista, si differenziano notevolmente fra loro, con un contenuto di sostanza organica nel sedimento quasi doppio a CA rispetto a CO (14,1% contro 7,2%). Analogamente, nei due siti artificiali, la percentuale di sostanza organica a VI supera del doppio quella di AL (15,4% contro 7,2%). La disponibilità di cibo potrebbe influenzare l'abbondanza di *A. fasciatus*, determinando a sua volta una riduzione della taglia a causa dell'elevata densità e della competizione intra-specifica (Leips *et al.*, 2009; Walsh e Reznick, 2008, 2009, 2010a,b; Krebs e Bell, 2011). In questo studio, però, la taglia degli individui sembra derivare soprattutto dall'intensità della pressione predatoria, con le taglie medie maggiori rinvenute ad AL e VI.

Gli effetti di una elevata pressione predatoria sugli adulti sarebbero però modulati dalla disponibilità di cibo, differenziando così le strategie messe in atto dalla specie nei diversi siti, con pesci che a CO presentano tassi di crescita quasi doppi rispetto a CA, per raggiungere però dimensioni teoriche inferiori (15,6 mm in meno le femmine, 5,8 mm i maschi).

Anche tra i due habitat artificiali, nel sito che presenta le maggiori concentrazioni di sostanza organica, VI, le L_{∞} risultano maggiori (8 mm in più per le femmine e 3.9 per i maschi). In questo caso però i tassi di crescita non presentano differenze così forti tra i siti, come nel caso delle due barene naturali. Una possibile spiegazione potrebbe derivare dalla differente mortalità allo stadio giovanile. Nei due habitat artificiali mancano infatti i tipici habitat rifugio che sono invece presenti nelle barene naturali. I giovanili di *A. fasciatus*, risultando maggiormente soggetti alla predazione da parte di altre specie componenti la comunità nectonica, crescerebbero quindi più rapidamente per superare una fase critica del ciclo vitale. Anche le differenze significative emerse tra i siti, considerando le regressioni lunghezza-peso e il fattore di condizione, potrebbero dipendere dagli effetti combinati delle condizioni ambientali, come il regime termico, la qualità dell'acqua o la disponibilità di cibo (Bagenal e Tesch, 1978; Mommsen, 1998), analogamente da quanto descritto da Leonardos e Sinis (1999) per due lagune greche.

Come esposto sopra, le lagune costiere, e le aree barenicole in particolare, sono ecosistemi particolarmente produttivi. I valori di produzione secondaria calcolati per *A. fasciatus* nei quattro siti confermano ciò, risultando leggermente più elevati di quelli trovati da Franco *et al.* (2011) per due piccoli gobidi in laguna di Venezia (0,6 - 1,0 g m⁻² y⁻¹). Le due barene naturali sono risultate comunque meno produttive dei due habitat artificiali, forse per l'utilizzo non continuativo dell'habitat da parte della specie, a causa dei cicli tidali e dei ritmi stagionali. I valori calcolati sono comunque coerenti con la struttura demografica e le dinamiche di accrescimento stimate per le quattro popolazioni. Una popolazione giovane, composta da individui di piccole dimensioni e con

elevati tassi di crescita come quella di CO presenta infatti i valori più bassi di produzione ma con un rapporto P:B più elevato, seguita da CA, dove la produzione è decisamente superiore ma il P:B, in linea con il tasso di crescita inferiore espresso dalle curve di Von Bertalanffy, è più basso. Lo stesso quadro si delinea a VI, ma qui le densità più elevate, la ricchezza trofica e l'utilizzo continuativo dell'habitat determinano una produzione secondaria di un ordine di grandezza superiore alle altre stazioni, risultando confrontabili con i valori rinvenuti da Cabral *et al.* (1999) per *Gambusia holbrooki* in Portogallo, ma comunque ben al di sotto dei $40,7 \text{ g m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ calcolati per *Fundulus heteroclitus* nel Delaware (Meredith e Lotrich, 1979). AL si colloca in una posizione intermedia, con valori di produzione superiori alle barene naturali, ma con un P:B comunque inferiore a CO.

Vari autori hanno evidenziato come differenti livelli di disponibilità di cibo e pressione predatoria possano riflettersi anche sulla qualità della prole, espressa in questo caso tramite il diametro delle uova (Sibly e Calow, 1986; McGinley *et al.*, 1987; Clutton-Brock, 1991; Roff, 1992). Nei siti caratterizzati da minori concentrazioni di sostanza organica, AL e CO, le femmine di *A. fasciatus* producono infatti uova con un diametro inferiore (AL = 0,42 mm, CO = 0,39 mm), rispetto a quanto avviene a CA (0,46 mm) e VI (0,56 mm). Se si confrontano tra loro habitat con disponibilità di cibo simili (AL – CO da una lato, CA e VI dall'altro), dove la predazione sugli adulti è più intensa, determinando un'aspettativa di vita inferiore, il diametro delle uova risulta inferiore. *A. fasciatus* sembra quindi investire maggiormente, in questi casi, nella quantità (numero di uova) piuttosto che nella qualità (diametro delle uova) della prole.

Nella sezione precedente è stata discussa la presenza di gonadi ben sviluppate negli individui di sesso maschile di piccole dimensioni. Ciò avviene anche per le femmine. Questo testimonia come *A. fasciatus* raggiunga precocemente la maturità sessuale, in accordo con i risultati di studi precedenti sulla stessa specie (Leonardos e Sinis, 1998) e sul congenerico *A. iberus* (Fernandez-Delgado, 1988). La maturità sessuale precoce e l'elevato sforzo riproduttivo sono infatti un tipico meccanismo evolutivo che compare come risposta all'imprevedibilità e all'instabilità tipica degli ambienti di transizione (Adams, 1980). Anche riguardo alla minima taglia alla maturità sono state riscontrate comunque delle differenze tra le quattro stazioni. Le due barene naturali si collocano in una posizione intermedia (26.0 mm a CA e 24.3 mm a CO), mentre agli estremi troviamo la taglia minima a VI (22.7 mm) e quella massima ad AL (30.9 mm). Contrariamente a quanto avviene nelle due barene naturali, nei due canali artificiali la mortalità diminuisce al crescere della taglia. In questo caso, secondo quanto proposto da Gardmark e Dieckmann (2006), una specie può scegliere se ritardare la maturazione, come avviene ad AL, o maturare ad una taglia inferiore, come accade a VI. Le differenze, in questi due casi, potrebbero essere imputabili all'intervento di altri fattori, come la disponibilità di risorse e la competizione intraspecifica derivante da alte densità (MacArthur e Wilson, 1967; Gadgil e Bossert, 1970).

Dai risultati di questo lavoro, CA appare come un habitat di barena "tipico", caratterizzato da elevata instabilità e forti pressioni selettive bilanciate dalle caratteristiche degli habitat ad acque basse che, oltre a costituire un rifugio dalla predazione a giovanili e adulti di *A. fasciatus*, offrono elevati livelli di cibo. Non solo le barene naturali, però, costituiscono un importante habitat per la specie. Una popolazione ben strutturata è stata infatti descritta anche nel canale artificiale di VI. In questo sistema, l'elevata disponibilità di cibo e la mancanza di pesci predatori agiscono in sinergia,

determinando una popolazione abbondante costituita da individui di grandi dimensioni con elevate aspettative di vita, modificando così alcuni aspetti demografici e di *life history*, potenziandone l'espressione.

4.2.2 Morfometria geometrica

Predazione e dieta sono le due pressioni ambientali in grado di modificare maggiormente la forma di un organismo, insieme all'idrodinamismo e alla complessità strutturale dell'habitat (Andersson *et al.*, 2005). Questi quattro fattori si combinano diversamente, come visto nella sezione precedente, nei quattro siti indagati. L'analisi morfometrica, condotta separatamente per maschi e femmine, degli individui provenienti dalle quattro stazioni, ha evidenziato differenze significative nella sagoma in entrambi i sessi. I pesci provenienti dalla stazione di VI presentano una maggiore altezza del capo e un minore altezza del peduncolo caudale rispetto alle altre stazioni, come risultato della mancanza di predatori acquatici, l'elevata disponibilità di risorse e le acque ferme dei canali di VI. Quando le risorse sono abbondanti, si osserva infatti un aumento dell'altezza del corpo (Bronmark e Miner, 1992, Tonn *et al.*, 1994). Nello studio condotto da Kerschbaumer *et al.* (2011), gli esemplari di *Tropheus morii* allevati in laghetti artificiali privi di predatori presentavano una minore altezza del peduncolo caudale rispetto agli individui catturati in natura, in acque turbolente, e soggetti alla predazione da parte di altri pesci. Passando da VI a siti caratterizzati da una maggiore pressione predatoria e da un maggiore idrodinamismo (CA e CO), o da una maggiore complessità strutturale derivante dalla costante e abbondante presenza di macrofite acquatiche (AL), la sagoma di *A. fasciatus* cambia. Si nota infatti un affusolamento generale, con una riduzione dell'altezza del capo e un aumento dell'altezza del peduncolo caudale. Ciò risulta coerente con i risultati di Maltagliati *et al.* (2003), che hanno riscontrato maggiori dimensioni delle pinne caudale, dorsale ed anale in individui di *A. fasciatus* sottoposti ad un più alto livello di predazione. Le differenze nella sagoma concordano anche con i risultati di Kerschbaumer e Sturmbauer (2011) per *Gasterosteus aculeatus*. In quel caso, i pesci provenienti da habitat complessi, con un'abbondante copertura di macrofite sommerse, ed esposti alla predazione, presentavano un capo più affusolato per facilitare la ricerca di cibo. Anche Langerhans (2009) ha riscontrato un capo affusolato e un peduncolo caudale più alto negli esemplari di *Gambusia affinis* in risposta alla predazione.

4.2.3 Bandeggio

A. fasciatus presenta sui lati del corpo delle bande verticali, con differenze nella colorazione, nel numero e nella spaziatura tra i due sessi. I risultati relativi alle osservazioni sul dimorfismo sessuale nei pattern di bandeggio verticali suggeriscono due diversi meccanismi di formazione delle bande nei due sessi e due diverse funzioni. Nonostante non sia noto il meccanismo di formazione di queste bande, si può ipotizzare che esso sia influenzato da pressioni selettive differenti per i due sessi. Nelle femmine, un più alto numero di bande e una maggiore densità possono essere spiegate dalla necessità di sfuggire ai predatori. La cripsi è infatti una delle più diffuse strategie adottate dagli animali per evitare la predazione (Stevens e Merilaita, 2009). Nel

caso delle femmine di *A. fasciatus*, la presenza delle bande verticali potrebbe originare una colorazione disruptiva, accentuata dal comportamento gregario, che, creando falsi contorni e sagome, renderebbe più difficile l'identificazione della preda da parte del predatore (Stevens e Merilaita, 2009). L'importanza rivestita da questa colorazione giustificherebbe la necessità di incrementare il numero di bande con la crescita dell'individuo, in modo da mantenere nel tempo tale funzione disruptiva. Nei maschi, al contrario, le bande verticali non avrebbero una funzione criptica, almeno non permanentemente, ma, al contrario, sessuale. Una minore densità delle bande può rivestire un ruolo importante nell'ambito della selezione sessuale, come suggerito per questa specie da Malavasi *et al.* (2010) e da altri studi (Morris *et al.*, 1995; Fisher *et al.*, 2009) sul genere *Xiphophorus*. Ciò risulta verosimile se si considera la colorazione brillante che assumono le bande durante il corteggiamento e la conseguente mortalità più elevata dei maschi durante il periodo riproduttivo. Contrariamente a quanto accade nelle femmine, le bande nei maschi avrebbero quindi la funzione di attirare l'attenzione del partner, e di conseguenza anche quella dei potenziali predatori.

La presenza di bande in numero variabile sui due lati del corpo ha permesso inoltre di quantificare il grado di asimmetria nelle quattro popolazioni. Nel caso di *A. fasciatus* differenze significative nel grado di asimmetria tra i quattro siti sono state rilevate solo per le femmine. Nei maschi il numero di bande, probabilmente soggetto ad una forte selezione sessuale, non verrebbe quindi influenzato in maniera sostanziale dalle pressioni ambientali. Per le femmine, invece, sono state osservate differenze significative fra le stazioni. Nel complesso, i pesci provenienti da AL e CO sono risultati essere più asimmetrici rispetto a quelli di CA e, in particolare, VI. In generale, può essere piuttosto difficile determinare delle relazioni causali fra le pressioni ambientali, naturali e non, e il grado di asimmetria; particolarmente in questo caso, non essendo noto il meccanismo di formazione delle bande. Le variabili da considerare sono infatti molteplici, e comprendono sia fattori biotici, abiotici che genetici (Almeida *et al.*, 2008). Alla luce dei risultati sopra esposti, anche il grado di asimmetria può comunque essere ricondotto alle condizioni dell'habitat. In particolare, il basso livello di asimmetria riscontrato nelle femmine di VI potrebbe essere ricondotto all'elevato grado di isolamento e, conseguentemente, alla maggiore stabilità di questo habitat. All'opposto si colloca AL, che costituisce il sito più marinizzato tra i quattro indagati. Questa stazione non costituirebbe quindi un habitat particolarmente idoneo per la specie.

4.3 Macroscala - Genetica

L'analisi filogenetica di due differenti segmenti di DNA mitocondriale ha consentito di descrivere, per la prima volta, la strutturazione genetica delle popolazioni di *A. fasciatus* su scala mediterranea. Nonostante i due segmenti utilizzati presentino tassi di variazione differenti, con il 16S più conservativo del D-loop, il quadro complessivo ottenuto risulta coerente con la letteratura esistente (Tigano *et al.*, 2004; Tigano *et al.*, 2006; Rocco *et al.*, 2007; Pappalardo *et al.*, 2008; Triantafyllidis *et al.*, 2007). Contrariamente a quanto descritto da Hrbek e Meyer (2003), l'analisi di un maggior numero di campioni ha permesso di individuare una chiara strutturazione geografica

della specie nel Mediterraneo, individuando cinque gruppi geografici, ben separati tra loro, come testimoniato dall'analisi della varianza molecolare, costituiti da popolazioni geneticamente piuttosto omogenee.

Anche per altre specie di ciprinodontidi provenienti sia da acque dolci che salmastre è stato evidenziato un basso grado di polimorfismo genetico all'interno delle popolazioni, che risultano però fra loro chiaramente separate, con valori di F_{st} superiori a 0,45 (Ashbaugh *et al.*, 1994; Doadrio *et al.*, 1996; Dunham e Minckley, 1998). Questo risultato risulta coerente non solo con la storia biogeografica della specie, ma anche con le sue caratteristiche ecologiche. Lo stretto legame con gli ambienti di transizione e le limitate capacità di dispersione, anche durante le fasi iniziali del ciclo vitale, sono infatti all'origine dell'elevato livello di isolamento delle popolazioni.

L'analisi condotta all'interno della laguna di Venezia ha confermato una sostanziale omogeneità genetica, contrariamente a quanto riscontrato da altri autori. Maltagliati *et al.* (2003), ad esempio, ha riscontrato sostanziali differenze genetiche tra due popolazioni di *A. fasciatus* rinvenuti in due stagni costieri adiacenti. Questa differenza potrebbe derivare dai differenti *marker* utilizzati oppure, in alternativa, da un'effettiva omogeneità derivante da un collo di bottiglia subito dalle popolazioni lagunari (Triantafyllidis *et al.*, 2007). Un'altra spiegazione può risiedere nell'adattamento alle condizioni instabili tipiche degli ambienti di transizione. In particolare, la necessità di tollerare ampie fluttuazioni dei parametri ambientali farebbe di *A. fasciatus* una specie generalista (*sensu* Smith e Fujio, 1982), contraddistinta da un basso polimorfismo genetico (Maltagliati, 1998; Cognetti, 1994).



Figura 47. Configurazione del Mediterraneo durante la crisi di salinità del Messiniano, 5,5 milioni di anni fa. Da Loget *et al.* (2006), modificato

In generale, la struttura genetica derivante dall'analisi di DNA mitocondriale risulta influenzata principalmente da eventi passati su scala geologica (Milana *et al.*, 2012). Secondo quanto proposto da Hrbek e Meyer (2003) e da Reichenbacher e Kowalke (2009), la specie *A. fasciatus* si sarebbe originata circa cinque milioni di anni fa, durante la crisi di salinità del Messiniano del tardo Miocene (fig. 47).

L'attuale strutturazione genetica della specie in cinque gruppi geografici principali sarebbe però il risultato della più recente configurazione del Mediterraneo durante il picco dell'ultima glaciazione (fig. 48), verificatosi circa 18000

anni fa (Emiliani, 1955), analogamente a quanto riscontrato per altre specie come *Atherina boyeri* (Francisco *et al.*, 2006; Milana *et al.*, 2012), *Pomatoschistus minutus* (Stefanni e Thorley, 2003) e *Dicentrarchus labrax* (Bahri-Sfar *et al.*, 2000).



Figura 48. Configurazione del Mediterraneo (a sinistra) e dell'Adriatico (a destra) durante l'ultimo massimo glaciale, 18000 anni fa. Da Ridente e Trincardi (2005) e Marriner e Morhange (2007), modificati

In quella fase, il livello medio del mare era più basso di 160-180 m rispetto a quello attuale (Van Straaten, 1965): le acque allora poco profonde del canale di Sicilia costituivano una barriera tra il Mediterraneo orientale e quello occidentale. Per quanto riguarda l'Adriatico, la porzione centro-settentrionale risultava emersa fino all'altezza di Pescara. Quando il livello marino cominciò a salire, 13000 anni fa, al termine del periodo glaciale, le popolazioni di *A. fasciatus* presenti nell'Adriatico meridionale cominciarono ad espandersi verso nord. Questo quadro sarebbe quindi coerente con il raggruppamento in un unico *cluster* delle attuali popolazioni alto-adriatiche con quelle pugliesi. Modificazioni passate del livello marino spiegherebbero anche la situazione peculiare delle popolazioni provenienti dalla Sicilia meridionale (Pappalardo *et al.*, 2008), anche se la loro collocazione filogenetica resta comunque incerta.

La situazione più peculiare resta comunque quella di una sequenza proveniente dalle Valli di Comacchio, che presenta lo stesso aplotipo espresso da individui raccolti nella laguna greca di Messolonghi. La spiegazione, in questo caso, potrebbe risiedere nelle traslocazioni effettuate dall'uomo di specie ittiche di interesse commerciale destinate all'acquacoltura.

La netta differenza che si osserva per le popolazioni dell'Egeo rispetto allo Ionio o all'Adriatico potrebbe invece derivare da un errore di classificazione. Kottelat *et al.* (2007) hanno infatti descritto, basandosi su caratteri fenotipici, una nuova specie per l'Egeo, *Aphanius almiriensis*, estremamente simile ad *A. fasciatus*. La descrizione della nuova specie non è al momento supportata da analisi genetiche, rendendo quindi ancora dubbia la sua collocazione nel genere *Aphanius*.

Nel complesso, *A. fasciatus* dimostra di possedere una strutturazione genetica ben definita, anche se ulteriori analisi, con altre tipologie di marcatori come ad esempio i microsatelliti, potrebbero risolvere alcuni dei nodi non risolti.

5. Conclusioni

L'utilizzo di *A. fasciatus* come modello di studio e biomonitor di variabilità fenotipica, ambientale e genotipica a diverse scale spaziali, ha permesso di approfondire molteplici aspetti riguardanti l'ecologia e il comportamento della specie. Molti di questi aspetti erano ben noti per il "corrispettivo" nord-americano di *A. fasciatus*, ovvero *F. heteroclitus*, ma mancavano quasi del tutto per una tra le specie forse più abbondanti e ampiamente diffuse nell'area mediterranea tra quelle appartenenti alla famiglia dei ciprinodontidi.

Se da un lato non sono state registrate differenze significative nella struttura genetica di popolazione a livello lagunare, la specie ha dimostrato di possedere un'elevata plasticità fenotipica, con popolazioni che si differenziano, per struttura, dinamiche temporali e, più in generale, per le strategie adottate nei differenti habitat. In particolare sono emerse, come risposta adottata dalla specie alle differenti pressioni ambientali, differenze dei principali parametri demografici espressi dalle quattro popolazioni analizzate, accanto a variazioni in tratti legati all'investimento riproduttivo, e a significative modificazioni morfometriche. Oltre alla capacità, già ben nota, di tollerare ampie escursioni dei parametri ambientali, la specie ha dimostrato di essere adattata anche all'elevata eterogeneità spaziale e strutturale tipica degli ambienti di transizione. Tali informazioni possono porre le basi bio-ecologiche per un ampio utilizzo della specie come specie sentinella, o come specie-ombrello di particolari habitat acquatici di transizione quali "salt-marsh", saline, stagni salmastri, nel contesto circum-mediterraneo.

Inoltre, dai presenti risultati emerge come una particolare importanza sia rivestita dalla struttura dell'habitat, che va ad interagire, a seconda delle condizioni locali, con la pressione predatoria e la ricchezza trofica del sistema. Le canalizzazioni lagunari di ridotte dimensioni, sia naturali che artificiali, con acque riparate e poco profonde, collocate nelle zone più interne delle aree barenicole o delle isole lagunari, sembrano quindi rivestire un ruolo fondamentale nell'ecologia della specie.

Il campionamento in habitat artificiali ha permesso dunque di sottolineare la valenza ecologica e conservazionistica di questi habitat, piuttosto diffusi in laguna di Venezia e spesso oggetto di degrado ed abbandono. Un loro recupero/rinaturalizzazione potrebbe invece costituire un serbatoio di biodiversità, specialmente per le specie, ittiche e non solo, di interesse conservazionistico.

6. Bibliografia

- Able K.W. e Fahay M.P., 1998. The first year in the life of estuarine fishes in the Middle Atlantic Bight. Rutgers University Press, New Brunswick, Canada.
- Able K.W. e Hagan S., 2000. Effects of common reed (*Phragmites australis*) invasion on marsh surface macrofauna: response of fishes and decapods crustaceans. *Estuaries*, 23: 633-646.
- Adams P.B., 1980. Life history patterns in marine fishes and their consequences for fisheries management. *Fish. Bull.*, 78: 1-12.
- Adams S.M., 1990. Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Symposium 8. Adams (ed), American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA.
- Adams C.E., Woltering C., Alexander G., 2003. Epigenetic regulation of trophic morphology through feeding behaviour in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 43-49.
- Airoidi L. e Beck M.W., 2007. Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 45: 345-405.
- Alexander G.D. e Adams C.E., 2000. The phenotypic diversity of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, (Salmonidae) in Scotland and Ireland. *Aqua Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*, 4: 77-88.
- Allenbach D.M., 2011. Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: a review. *Rev Fish Biol Fisheries*, 21: 355-376.
- Almeida D., Almodóvar A., Nicola G.G. e Elvira B., 2008. Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp. *Aquaculture*, 279: 120-125.
- Andersson J., Bystrom P., Persson L., De Roos A.M., 2005. Plastic resource polymorphism: effects of resource availability on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) morphology. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 341-351.
- Andersson J., Johansson F. e Soderlund T., 2006. Interactions between predator- and diet-induced phenotypic changes in body shape of crucian carp. *Proceedings of the Royal Society B*, 273: 431-437.
- Angeletti D., Bondanelli P., Cimmaruta R., Polesi P. e Nascetti G., 2006. Habitat choice e selezione in *Aphanius fasciatus* (Teleostea). 16th Meeting of the Italian Society of Ecology, Viterbo, Civitavecchia.
- Angeletti D., Cimmaruta R. e Nascetti G., 2010. Genetic diversity of the killifish *Aphanius fasciatus* paralleling the environmental changes of Tarquinia salterns habitat. *Genetica*, 140: 1011-1021.
- Armstrong P.B. e Swope Child J., 1965. Stages in the normal development of *Fundulus heteroclitus*. *The Biological Bulletin*, 128(2): 143-168.
- Ashbaugh N.A., Echelle A.A. e Echelle A.F., 1994. Genic diversity in Red River pupfish *Cyprinodon rubrofluvialis* (Atheriniformes: Cyprinodontidae) and its implications for the conservation genetics of the species. *Journal of Fish Biology*, 45: 291-302.

- Bacanskas L.R., Whitaker J. e Di Giulio R.T., 2004. Oxidative stress in two populations of killifish (*Fundulus heteroclitus*) with differing contaminant exposure histories. *Marine Environmental Research*, 58: 597-601.
- Bagenal T.B. e Tesch F., 1978: Age and growth. In "Methods for assessment of fish production in freshwaters". Bagenal (Ed.). IBP Handbook N° 3, Blackwell, Oxford, UK, pp. 101–136.
- Baker J.A., Cresko W.A., Foster S.A., Heins D.C., 2005. Life- history differentiation of benthic and limnetic ecotypes in a polytypic population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Evolutionary Ecology Research*, 7: 121-131.
- Baltz D.M., Rakocinski C. & Fleeger J.W., 1993. Microhabitat use by marsh-edge fishes in a Louisiana estuary. *Environmental Biology of Fishes*, 36: 109-126.
- Baltz D.M., Fleeger C.F., Rakocinski C.F. e McCall J.N., 1998. Food, density and micro habitat: factors affecting growth and recruitment potential of juvenile saltmarsh fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 53: 89-103.
- Bookstein F.L., 1989. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. *IEEE Transactions of Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 11: 567-585.
- Bookstein F.L., 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, New York, NY, USA.
- Bortone S.A., Dunson W.A. e Greenawalt J.M., 2005. Fishes as Estuarine Indicators. In "Estuarine Indicators", Bortone (ed), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Boumaiza M., Quignard J.P. e Ktari M.H., 1979. Contribution a la biologie de la reproduction d'*Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces, Cyprinodontidae) de Tunisie. *Bull. Off. Natn. Pech. Tunisie*, 3(2): 221-240.
- Bronmark C. e Miner J.G., 1992. Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science*, 258: 1348-1350.
- Bush C.P. e Weis J.S., 1983. Effects of Salinity on Fertilization Success in Two Populations of *Fundulus heteroclitus*. *Biological Bulletin*, 164: 406-417.
- Bye V., 1984. The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles. In 'Fish reproduction: Strategies and Tactics'. Potts & Wootton (eds), Academic Press, London, UK, pp.187-205.
- Cabral J.A. e Marques J.C., 1999. Life history, population dynamics and production of eastern mosquitofish, *Gambusia holbrooki* (Pisces, Poeciliidae), in rice fields of the lower Mondego River Valley, western Portugal. *Acta Oecologica*, 20(6): 607-620.
- Cattrijsse A., Makwaia E.S., Dankwa H.R., Hamerlynck O., Hemminga M.A., 1994. Nekton communities of an intertidal creek of a European estuarine brackish marsh. *Marine Ecology Progress Series*, 109: 195-208.
- Cattrijsse A. e Hampel H., 2006. European intertidal marsh: a review of their habitat functioning and value for aquatic organisms. *Marine Ecology Progress Series*, 324: 293-307.
- Chapman D.W. & Robson D., 1960. The analysis of a catch curve. *Biometrics*, 16(3): 354-368.
- Chapman D.W., 1978. Production in fish populations. In 'Ecology of Freshwater Fish Production'. Gerking (ed), John Wiley & Sons, New York, NY, pp. 5-25.

- Cimmaruta R., Scialanca F., Luccioli F. e Nascetti G., 2003. Genetic diversity and environmental stress in Italian populations of the cyprinodont fish *Aphanius fasciatus*. *Oceanologica Acta*, 26:101-110.
- Clarke G.M., 1995. Relationships between environmental stability and fitness: application for conservation biology. *Conserv. Biol.*, 9: 18-24.
- Clavero M., Blanco-Garrido F., Zamora L. e Prenda J., 2005. Size-related and diel variations in microhabitat use of three endangered small fishes in a Mediterranean coastal stream. *Journal of Fish Biology*, 67(B): 72-85.
- Clutton-Brock T.H., 1991. The evolution of parental care. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, USA.
- Cognetti G., 1994. Colonization of brackish waters. *Mar Pollut Bull*, 28: 583-586.
- Conover D.O e Kynard B.E., 1984. Field and laboratory observations of spawning periodicity and behavior of a northern population of the Atlantic silverside, *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). *Environmental Biology of Fishes*, 11: 161-171.
- Conover D.O. e Heins S.W., 1987. The environmental and genetic components of sex ratio in *Menidia menidia*. *Copeia*, 1987: 732-743.
- Conover D.O, 1992. Seasonality and the scheduling of life history at different latitudes. *Journal of Fish Biology*, 41(B): 161-178.
- Culp J.M. e Glozier N.E., 1989. Experimental evaluation of a minnow trap for small lotic fishes. *Hydrobiologia*, 175: 83-87.
- Daniel P.A. e Robertson A.I., 1990. Epibenthos of mangrove waterways and open embayments: community structure and the relationship between exported mangrove detritus and epifaunal standing stocks. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 31: 599-619.
- Demartini E.E., 1999. Intertidal spawning. In 'Intertidal Fishes: Life in Two Worlds'. Horn, Martin & Chotkowski (eds), Academic Press, San Diego, California, pp. 143-164.
- Desmond J.S., Zedler J.B. e G.D. Williams, 2000. Fish use of tidal creek habitats in two southern California salt marshes. *Ecological Engineering*, 14: 233-252.
- Doadrio I., Perdices A. e Machordom A., 1996. Allozymic variation of the endangered killifish *Aphanius iberus* and its application to conservation. *Environ Biol Fishes* 45: 259-271.
- Dunnham J.B. e Minckley, W.L., 1998. Allozymic variation in desert pupfish from natural and artificial habitats: genetic conservation in fluctuating populations. *Biol. Conserv*, 84: 7-15.
- Emiliani C., 1955. Pleistocene temperature variations in the Mediterranean. *Quaternaria*, II: 87-98.
- Excoffier L & Lischer H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Fernandez-Delgado C., 1988. Age, growth and reproduction of *Aphanius iberus* (Cuv. and Val., 1864) in the lower reaches of the Guadalquivir river south-west Spain. *Freshwater Biology*, 20: 227-234.

- Ferrito V., Maltagliati F., Mauceri A., Adorno A. e Tigano C., 2003. Morphological and genetic variation in four Italian populations of *Lebias fasciata* (Teleostei, Cyprinodontidae). *Italian Journal of Zoology*, 70: 115-121.
- Ferrito V., Mannino M.C., Pappalardo A.M. e Tigano C., 2007. Morphological variation among populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae) from the Mediterranean. *Journal of Fish Biology*, 70: 1-20.
- Fisher H.S., Maschuch S.J. e Rosenthal G.G., 2009. Multivariate male traits misalign with multivariate female preferences in the swordtail fish *Xiphophorus birchmanni*. *Animal Behaviour*, 78: 265-269.
- Francisco S.M., Cabral H., Vieira M.N., Doadrio I. e Almada V.C., 2006. Contrasts in genetic structure and historical demography of marine and riverine populations of *Atherina* at similar geographical scales. *Estuar. Coast. Shelf Science*, 69: 655-661.
- Franco A, Franzoi P, Malavasi S, Riccato F & Torricelli P, 2006. Fish assemblages in different shallow water habitats of the Venice Lagoon. *Hydrobiologia*, 555:159–174
- Franco A., Elliott M., Franzoi P. e Torricelli P., 2008. Life strategies of fishes in European estuaries: the functional guild approach. *Marine Ecology Progress Series*, 354: 219-228.
- Franco A., Franzoi P., Malavasi S., Zucchetta M. e Torricelli P., 2011. Population and habitat status of two endemic sand gobies in lagoon marshes e Implications for conservation. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, *in press*.
- Franzoi P., Franco A. & Torricelli P., 2010. Fish assemblage diversity and dynamics in the Venice lagoon. *Rend. Fis. Acc. Lincei*, 21: 269-281.
- Frommen J.G., Brendler C. e Bakker T.C.M., 2007. The tale of the bad stepfather: male three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.) recognize foreign eggs in their manipulated nest by egg cues alone. *Journal of Fish Biology*, 70: 1295-1301.
- Gadgil M. e Bossert P.W., 1970. Life historical consequences of natural selection. *American Naturalist*, 104: 1- 24.
- Gardmark A. e Dieckmann U., 2006. Disparate maturation adaptations to size dependent mortality. *Proc. R. Soc. Lond. B* 273:2185–2192.
- Gibson R.N., 2003. Go with the flow: tidal migration in marine animals. *Hydrobiologia* 503: 153–161.
- Godin J.G.J., 1995. Predation risk and alternative mating tactics in male Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Oecologia*, 103: 224-229.
- Gonçalves E.J., Almada V.C.; Oliveira R.F. e Santos A.J., 1996. Female mimicry as a mating tactic in males of the blennioid fish *Salarias pavo*. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 76: 529-538.
- Gray S.M., Dill L.M. e McKinnon J.S., 2007. Cuckoldry incites cannibalism: male fish turn to cannibalism when perceived certainty of paternity decrease. *American Naturalist*, 169: 258-263.
- Green B.C., Smith D.J., Earley S.E., Hepburn L.J. e Underwood G.J.C., 2009. Seasonal changes in community composition and trophic structure of fish populations of five salt marshes along the Essex coastline, United Kingdom. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85: 247-256.

- Green W.W., Mirza R.S. e Pyle G.G., 2008. Kin recognition and cannibalistic behaviours by adult male fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Naturwissenschaften*, 95: 269-272.
- Greenwood A.K., Jones F.C., Chan Y.F., Brady S.D., Absher D.M., Grimwood J., Schmutz J., Myers R.M., Kinsley D.M. e Peichel C.L., 2011. The genetic basis of divergent pigment patterns in juvenile threespine sticklebacks. *Heredity*, 107: 155-166.
- Gunderson D.R., 1997. Trade-off between reproductive effort and adult survival in oviparous and viviparous fishes. *Canadian Journal of Fishery and Aquatic Sciences*, 54: 990-998.
- Halpin P.M., 1997. Habitat use patterns of the Mummichog, *Fundulus heteroclitus*, in New England. I. Intramarsh variation. *Estuaries*, 20(3): 618-625.
- Hammer Ø., Harper D.A.T. & Ryan P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Paleontologia Electronica*, 4(1), 9 pp.
- Hampel H., Cattrijsse A. e Vincx M., 2003. Tidal, diel and semi-lunar changes in the faunal assemblage of an intertidal salt marsh creek. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56: 795–805.
- Hampel, H e Cattrijsse A., 2004. Temporal variation in feeding rhythms in a tidal marsh population of the common goby *Pomatoschistus microps* (Kroyer, 1838). *Aquat. Sci.*, 66: 315-326.
- Harvey B.B. e Stewart A.J., 1991. Fish size and habitat depth relationships in headwater streams. *Oecologia*, 87: 336-342.
- Heiri O., Lotter A.F., Lemcke G., 2001. Loss of ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology*, 25: 101-110.
- Hettler W.F.Jr., 1989. Nekton use of regularly-flooded salt marsh cordgrass habitat in North Carolina, USA. *Marine Ecology Progress Series*, 56: 111-118.
- Hillis D.M., Moritz C. & Mable B.K., 1996. *Molecular systematic*, 2nd edition. Hillis, Moritz & Mable (eds), Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Howes B.L., Dacey J.W.H. & King G.M., 1984. Carbon flow through oxygen and sulphate reduction pathways in salt marsh sediments. *Limnology and Oceanography*, 29: 1037-1051.
- Hrbek T. e Meyer A., 2003. Closing of the Tethys Sea and the phylogeny of Eurasian killifishes (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 16: 17–36.
- Hsiao S.M., Greeley M.S: e Wallace R.A., 1994. Reproductive cycling in female *Fundulus heteroclitus*. *Biological Bulletin*, 186: 271-284.
- Hsiao S.M., Limesand S.W. e Wallace R.A., 1996. Semilunar follicular cycle of an intertidal fish: the *Fundulus* model. *Biology of Reproduction*, 54: 809-818.
- Hurtado-Gonzales J.L. e Uy J.A.C., 2009. Alternative mating strategies may favour the persistence of a genetically based colour polymorphism in a pentamorphic fish. *Animal Behaviour*, 77(5): 1187-1194.
- Irlandi E.A. e Crawford M.K., 1997. Habitat linkages: the effect of intertidal saltmarshes and adjacent subtidal habitats on abundance, movement, and growth of an estuarine fish. *Oecologia*, 110: 222-230.

- Jennions, M.D., Telford, S.R., 2002. Life-history phenotypes in populations of *Brachyrhaphis episcopi* (Poeciliidae) with different predator communities. *Oecologia* 132, 44-50.
- Jin B., Qin H., Xu W., Wu J., Zhong J., Lei G., Chen J. e Fu C., 2010. Nekton use of intertidal creeks edges in low salinity salt marsh of the Yangtze River estuary along a stream-order gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 88: 419-428.
- Kennish M.J., 2002. Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*, 29: 78-107.
- Kerschbaumer M. e Sturmbauer C., 2011. The Utility of Geometric Morphometrics to Elucidate Pathways of Cichlid Fish Evolution. *International Journal of Evolutionary Biology*, 2011: 1-8.
- Kessabi K., Navarro A., Casado M., Said K., Messaoudi I e Piña B., 2010. Evaluation of environmental impact on natural populations of the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* by quantitative RNA biomarkers. *Marine Environmental Research*, 70: 327-330.
- Kessabi K., Annabi A., Navarro A., Casado M., Hwas Z., Said K., Messaoudi I e Piña B., 2012. Structural and molecular analysis of pollution-linked deformities in a natural *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) population from the Tunisian coast. *Journal of Environmental Monitoring*, 14: 2254-2260.
- Kneib R.T., 1982. The effects of predation by wading birds (Ardeidae) and blue crabs (*Callinectes sapidus*) on the population size structure of the common mummichog *Fundulus heteroclitus*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 14: 159-165.
- Kneib R.T. e Wagner S.L., 1994. Nekton use of vegetated marsh habitats at different stages of tidal inundation. *Marine Ecology Progress Series*, 106: 227-238.
- Kneib R.T., 1987. Predation risk and habitat usage of intertidal habitats by young fish and shrimp. *Ecology*, 68: 379-386.
- Kodric-Brown A., 1990. Mechanisms of sexual selection: insights from fishes. *Annales Zoologici Fennici*, 27: 87-100.
- Kokita T. e Mizota T., 2002. Male secondary sexual traits are hydrodynamic devices for enhancing swimming performance in a monogamous filefish *Paramonacanthus japonicus*. *Journal of Ethology*, 20: 35-42.
- Kottelat M., Barbieri R. e Stomboudi M.Th., 2007. *Aphanius almiriensis*, a new species of toothcarp from Greece (Teleostei: Cyprinodontidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 114(1): 13-31.
- Krebs J.M. e Bell S.S., 2011. Risk of predation reflects variation in the reproductive strategy of a dominant forage fish in mangrove tidal tributaries. *Oecologia*, 168: 737-748.
- Kroll W., 1984. Morphological and behavioral embryology and spontaneous diapause in the African killifish, *Aphyosemion gardneri*. *Environmental Biology of Fishes*, 11(1): 21-28.
- Kuparinen A., Cano J.M., Loehr J., Herczeg G., Gonda A. & Merilä J., 2011. Fish age at maturation is influenced by temperature independently of growth. *Oecologia*, 167: 435-443.
- Lam T.J., 1983. Environmental influences on gonadal activity in fish. *Fish Physiology*, Hoar, Randall & Donaldson (eds), Academic Press, New York, pp. 65-116.

- Langerhans R.B., Layman C.A., Langerhans A.K., Dewitt T.J., 2003. Habitat-associated morphological divergence in two Neotropical fish species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 80: 689-698.
- Langerhans R.B., 2009. Trade-off between steady and unsteady swimming underlies predator-driven divergence in *Gambusia affinis*. *J. Evol. Biol.*, 22: 1057-1075.
- Langerhans R.B. e Reznick D.N., 2010. Ecology and evolution of swimming performance in fishes: predicting evolution with biomechanics. In "Fish locomotion: an etho-ecological perspective" Domenici P. & Kapoor B.G. (eds). Science Publishers, Enfield, UK, pp. 200-248.
- Layman C.A. e Smith D.E., 2001. Sampling bias of minnow traps in shallow aquatic habitats on the eastern shore of Virginia. *Wetlands*, 21(1): 145-154.
- Leblanc J., Couillard C.M. e Brethes J.C.F., 1997. Modifications of the reproductive period in mummichog (*Fundulus heteroclitus*) living downstream from a bleached kraft pulp mill in the Miramichi Estuary, New Brunswick, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54: 2564-2573.
- Leips J., Richardson J.M.L., Rodd F.H. e Travis J., 2009. Adaptive maternal adjustments of offspring size in response to conspecific density in two populations of the least killifish, *Heterandria Formosa*. *Ecology*, 63: 1341-1347.
- Leonardos I., Sinis A. e Petridis D., 1996. Influence of environmental factors on the population dynamics of *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827) (Pisces: Cyprinodontidae) in the lagoons Messolongi and Etolikon (W. Greece). *Israel Journal of Zoology*, 42: 231-249.
- Leonardos I. e Sinis A., 1998. Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons (W. Greece). *Fisheries Research*, 35: 171-181.
- Leonardos I. e Sinis A., 1999. Population age and sex structure of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons (W. Greece). *Fisheries Research*, 40: 227-235.
- Lo Duca R. e Marrone F., 2009. Conferma della presenza di *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) (Cyprinodontiformes Cyprinodontidae) nel bacino idrografico del fiume Imera (Sicilia). *Naturalista sicil*, 23: 115-125.
- Loget, N., Davy P. e Van Den Driessche J., 2006. Mesoscale fluvial erosion parameters deduced from modeling the Mediterranean sea level drop during the Messinian (late Miocene). *J. Geophys. Res.*, 111: 1-15.
- MacArthur R.H. e Wilson E.O., 1967. The theory of island biogeography. Princeton Univ. Press., Princeton, NJ, USA.
- Magnhagen C., 1991. Predation risk as a cost of reproduction. *Trends In Ecology and Evolution*, 6(6): 183-186.
- Malavasi S., Fiorin R., Franco A., Franzoi P., Granzotto A., Riccato F. e Mainardi D., 2004. Fish assemblages of Venice Lagoon shallow waters: an analysis based on species, families and functional guilds. *Journal of Marine Systems*, 51: 19-31.
- Malavasi S., Georgalas V., Cavarro F. e Torricelli P., 2010. Relationships between relative size of sexual traits and male mating success in the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 43(3): 157-167.

- Maltagliati F., 1998. A preliminary investigation of allozyme genetic variation and population geographical structure in *Aphanius fasciatus* from Italian brackish-water habitats. *Journal of Fish Biology*, 52: 1130-1140
- Maltagliati F., 1999. Genetic divergence in natural populations of the Mediterranean brackish-water killifish *Aphanius fasciatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 179: 155-162.
- Maltagliati F., 2002. Genetic monitoring of brackish-water populations: the Mediterranean toothcarp *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae) as a model. *Marine Ecology Progress Series*, 235: 257-262.
- Maltagliati F., Domenica P., Fosch C.F., Cossu P., Casu M. e Castelli A., 2003. Small-scale morphological and genetic differentiation in the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae) from a coastal brackish-water pond and an adjacent pool in northern Sardinia. *Oceanologica Acta*, 26: 111-119
- Manica A., 2002. Filial cannibalism in teleost fish. *Biological Reviews*, 77: 261-277.
- Manica A., 2004. Parental fish change their cannibalistic behavior in response to the cost-to-benefit ratio of parental care. *Animal behavior*, 67: 1015-1021.
- Marriner N. e Morhange C., 2007. Geoscience of ancient Mediterranean harbours. *Earth-Science Reviews*, 80: 137-194.
- Martin K.L.M., Van Winkle C.R., Drais J.E. e Lakisic H., 2004. Beach spawning fishes, terrestrial eggs, and air breathing. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77: 750-759.
- McGinley M.A., Temme D.H. e Geber M.A., 1987. Parental investment in offspring in variable environments: theoretical and empirical considerations. *American Naturalist*, 130: 370-398.
- Mclvor C.C. e Odum W.E., 1988. Food, predation risk, and microhabitat selection in a marsh fish assemblage. *Ecology*, 69: 1341-1351.
- McMahon K.W., Johnosn B.J. e Ambrose W.G.Jr., 2005. Diet and movement of the killifish, *Fundulus heteroclitus*, in a Maine salt marsh assessed using gut contents and stable isotope analyses. *Estuaries*, 28(6): 966-973.
- McMullin V.A., Munkittrick K.R. e Methven D.A., 2009. Latitudinal variability in lunar spawning rhythms: absence of a lunar pattern in the northern mummichog *Fundulus heteroclitus macrolepidotus*. *Journal of Fish Biology*, 75: 885-900.
- Meredith W.H. e Lotrich V.A., 1979. Production dynamics of a tidal creek population of *Fundulus heteroclitus*. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 8: 99-118.
- Messaoudi I., Kessabi K., Kacem A. e Said K., 2009. Incidence of spinal deformities in natural populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 from the Gulf of Gabes, Tunisia. *African Journal of Ecology*, 47(3): 360-366.
- Meyer D.L. e Posey M.H., 2009. Effects of life history strategies on fish distribution and use of estuarine salt marsh and shallow-water flat habitats. *Estuaries and Coasts*, 32: 797-812.
- Meyer J.N. e Di Giulio R.T., 2003. Heritable Adaptation and Fitness Costs in Killifish (*Fundulus heteroclitus*) Inhabiting a Polluted Estuary. *Ecological Applications*, 13: 490-503.
- Middaugh D.P., 1981. Reproductive ecology and spawning periodicity of the Atlantic Silverside, *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). *Copeia*, 1981: 766-776.

- Milana V., Franchini P., Sola L., Angiulli E. e Rossi A.R., 2012. Genetic structure in lagoons: the effects of habitat discontinuity and low dispersal ability on populations of *Atherina boyeri*. *Marine Biology*, 159: 399-411.
- Milinski M. e Bakker T.C.M., 1990. Female sticklebacks use male coloration in mate choice and hence avoid parasitized males. *Nature*, 344: 331-333.
- Mitsch W.J. e Gosselink, J.G., 2000. *Wetlands*. III edition. John Wiley & Sons Inc, Canada.
- Molinaroli E., Guerzoni S., Sarretta A., Masiol M. e Pistolato M., 2009. Thirty-year changes (1970 to 2000) in bathymetry and sediment texture recorded in the Lagoon of Venice sub-basins, Italy. *Marine Geology*, 258: 115-125.
- Møller A.P. e Swaddle J.P., 1997. *Asymmetry, developmental stability, and evolution*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press, New York, NY, USA.
- Mommsen T.P., 1998. Growth and metabolism. In "The Physiology of fishes", Evans D.H. (ed), CRC Press, New York, NY, USA, pp. 65-97.
- Morris M.R., Mussel M. e Ryan M.J., 1995. Vertical bars on male *Xiphophorus multilineatus*: a signal that deters rival males and attract females. *Behavioural Ecology*, 6: 274-279.
- Morris M.R., Elias J.A. e Moretz J.A., 2001. Defining vertical bars in relation to female preference in the swordtail fish *Xiphophorus cortezi* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Ethology*, 107: 827-837.
- Morris M.R., Tudor M.S. e Dubois N., 2007. Sexually selected signal attract females before deterring aggression in rival males. *Animal Behaviour*, 74: 1189-1197.
- Morris M.R., Rios-Cardenas O. e Darrah A., 2008. Male Mating Tactics in the Northern Mountain Swordtail Fish (*Xiphophorus nezahualcoyotl*): Coaxing and Coercing Females to Mate. 114: 977-988.
- Mosesso P., Angeletti D., Pepe G., Pretti C., Nascetti G., Bellacima R., Cimmarta R. e Jha A.N., 2012. The use of the cyprinodontid fish, *Aphanius fasciatus*, as a sentinel organism to detect complex genotoxic mixture in the coastal lagoon eco system. *Mutation Research*, 742: 31-36.
- Newman H.H., 1907. Spawning behavior and sexual dimorphism in *Fundulus heteroclitus* and allied fish. *Biological Bulletin*, 12: 324-348.
- Odum W.E., 1988. Comparative ecology of tidal freshwater and salt marshes. *Ann Rev Ecol Syst*, 19: 147-176.
- Pappalardo A.M., Ferrito V., Messina A., Guarino F., Patarnello T., De Pinto V. e Tigano C., 2008. Genetic structure of the killifish *Aphanius fasciatus*, Nardo 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae), results of mitochondrial DNA analysis. *Journal of Fish Biology*, 72: 1154-1173.
- Paterson A.W. e Whitfield A.K., 2003. The fishes associated with three intertidal salt marsh creeks in a temperate southern African estuary. *Wetlands Ecology and Management*, 11: 305-315.
- Petersen C.W. e Warner R.R., 1998. Sperm competition in fishes. In 'Sperm competition and sexual selection'. Birkhead & Moller (eds), Academic Press, San Diego, California, pp. 435-463.

- Petersen C.W., Salinas S., Preston R.L. e Kidder G.W., 2010. Spawning periodicity and reproductive behavior of *Fundulus heteroclitus* in a New England salt marsh. *Copeia* 2010(2): 203-210.
- Plath M., Makowicz A.M., Schlupp I. e Tobler M., 2007. Sexual harassment in live-bearing fishes (Poeciliidae): comparing courting and noncourting species. *Behavioral Ecology*, 18(4): 680-688.
- Polis G.A., 1981. The evolution and dynamics of intraspecific predation. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*, 12: 225-251.
- Polgar G., 2009. Species-area relationship and potential role as a biomonitor of mangrove communities of Malayan mudskippers. *Wetlands Ecology and Management*, 17(2): 157-164.
- Power M., O'Connell M.F., Dempson J.B., 2005. Ecological segregation within and among Arctic char morphotypes in Gander Lake, Newfoundland. *Environmental Biology of Fishes*, 73: 263-274.
- Press W.H., Teukolsky S.A., Vetterling W.T. e Flannery B.P., 1992. In "Numerical Recipes", Cambridge University Press, New York, NY, USA.
- Raposa K., 2003. Overwintering habitat selection by the mummichog, *Fundulus Heteroclitus*, in a Cape Cod (USA) salt marsh. *Wetlands Ecology and Management*, 11: 175-182.
- Reichenbacher B. e Kowalke T., 2009. Neogene and present-day zoogeography of killifishes (*Aphanius* and *Aphanolebias*) in the Mediterranean and Paratethys areas. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 281: 43-56.
- Reznick D.N., 1985. Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos*, 44: 257-267.
- Ricker W.E., 1946. Production and utilization of fish populations. *Ecological Monographs*, 16: 374-391.
- Ridente D. e Trincardi F., 2005. Pleistocene muddy forced-regression deposits on the Adriatic shelf: A comparison with prodelta deposits of the late Holocene highstand mud wedge. *Marine Geology*, 222-223: 213-233.
- Rios-Cardenas O. e Webster M.S., 2005. Paternity and parental effort in the pumpkin seed sunfish. *Behavioural Ecology*, 16: 914-921.
- Roark S.A., Nacci D., Coiro L., Champlin D. e Guttman S.I., 2005. Population genetic structure of a nonmigratory estuarine fish (*Fundulus heteroclitus*) across a strong gradient of polychlorinated biphenyl contamination. *Environmental toxicology and chemistry* 24(3): 717-725.
- Robertson A.I. e Lenanton R.C.J., 1984. Fish community structure and food chain dynamics in the surfzone of sandy beaches: the role of detached macrophyte detritus. *Journal of Experimental Biology and Ecology*, 84: 265-283.
- Robinson D.M. e Morris M.R., 2010. Unraveling the complexities of variation in female male mating preference for vertical bars in the swordtail, *Xiphophorus cortezi*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 64: 1537-1545.
- Rocco L., Ferrito V., Costagliola D., Marsilio A., Pappalardo A.M., Stingo V. e Tigano C., 2007. Genetic divergence among and within four Italian populations of *Aphanius fasciatus* (Teleostei, Cyprinodontiformes). *Italian Journal of Zoology*, 74(4): 371-379.

- Roff D.A., 1992. The evolution of life histories. Chapman&Hall, NewYork, NY, USA.
- Rohlf F.J. e Slice D., 1990. Extensions of the Procrustes method for optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39(1): 40-59.
- Rountree R.A. e Able K.W., 2007. Spatial and temporal habitat use patterns for salt marsh nekton: implications for ecological functions. *Aquatic Ecology*, 41: 25-45.
- Rozas L.P. e Odum W.E., 1987. Use of tidal freshwater marshes by fishes and macrofaunal rustaceans along a marsh stream-order gradient. *Estuaries*, 10: 36-43.
- Rozas L.P., McIvor C.C. e Odum W.E., 1988. Intertidal rivulets and creek banks: corridors between tidal creeks and marche. *Marine Ecology Progress Series*, 47: 303-307.
- Rozas L.P. e Zimmerman R.J., 2000. Small-scale patterns of nekton use among marsh and adjacent shallow non-vegetated areas of the Galveston Bay Estuary, Texas (USA). *Marine Ecology Progress Series*, 193: 217-239.
- Ruehl C.B., Dewitt T.J., 2005. Trophic plasticity and fine-grained resource variation in populations of western mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Evolutionary Ecology Research*, 7: 801-819.
- Ruiz G.M., Hines A.H. e Posey M.H., 1993. Shallow water as a refuge habitat for fish and crustaceans in non-vegetated estuaries: an example from Chesapeak Bay. *Marine Ecology Progress Series*, 99: 1-16.
- Sfriso A., Facca C., Ceoldo S., Silvestri S. & Ghetti P.F., 2003. Role of macroalgal biomass and clam fishing on spatial and temporal changes in N and P sedimentary pools in the central part of the Venice lagoon. *Oceanologica Acta*, 26: 3-13.
- Shaughnessy KS, Belknap AM, Hewitt LM, Dubé MG & MacLatchy DL, 2007. Effects of kraft pulp mill condensates on plasma testosterone levels in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Ecotoxicology and environmental safety* 67:140-148
- Sheaves M., 2001. Are there really few piscivorous fishes in shallow estuarine habitats? *Marine Ecology Progress Series*, 222: 279-290.
- Sibly R.M. e Calow P., 1986. *Physiological Ecology of Animals: an Evolutionary Approach*. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Smith P.J. e Fujio Y., 1982. Genetic variation in marine teleosts: high variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists. *Marine Biology*, 69: 7-20.
- Smith T.B. e Skulason S., 1996. Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 111-133.
- Stacey N.E., 1984. Control of the timing of ovulation by exogenous and endogenous factors. In 'Fish reproduction: Strategies and Tactics'. Potts & Wootton (eds), Academic Press, London, pp. 207-222.
- Stefanni S. e Thorley J.L., 2003. Mitochondrial DNA phylogeography reveals the existence of an Evolutionarily Significant Unit of the sand goby *Pomatoschistus minutus* in the Adriatic (Eastern Mediterranean). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28(3):, 601-609

- Stevens M. e Merilaita S., 2008. Animal camouflage: current issues and new perspectives. *Proceedings of the Royal Society Series B*, 364: 423-427
- Svensson O., Magnhagen C., Forsgren E. e Kvarnemo C., 1998. Parental behaviour in relation to the occurrence of sneaking in the common goby. *Animal Behaviour*, 56: 175-179.
- Suk H.Y. e Choe J.C., 2002. Females prefer males with larger first dorsal fins in the common freshwater goby. *Journal of Fish Biology*, 61: 899-914.
- Taborsky M., 1994. Sneakers, satellites and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. *Advances in the Study of Behavior*, 23: 1-100.
- Taborsky M., 1998. Sperm competition in fish: bourgeois males and parasitic spawning. *Trends in Ecology and Evolution*, 13: 222-227.
- Taborsky M., 1999. Conflict or cooperation: what determines optimal solutions to competition in fish reproduction? In 'Behaviour and conservation of littoral fishes'. Oliveira, Almada & Gonçalves (eds), Lisboa, Spagna, pp. 301-349.
- Taborsky M., 2001. The evolution of bourgeois, parasitic and cooperative reproductive behaviors in fishes. *The Journal of Heredity*, 92(2): 100-110.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. e Kumar S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetic Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Taylor M.H., Leach G.J., DiMichele L., Levitan W.M. e Jacob W.F., 1979. Lunar spawning cycle in the mummichog, *Fundulus heteroclitus* (Pisces Cyprinodontidae). *Copeia*, 1979: 291-297.
- Taylor M.H. e DiMichele L., 1980. Ovarian changes during the lunar spawning cycle of *Fundulus heteroclitus*. *Copeia* 1980: 118-125.
- Taylor M.H., 1984. Lunar synchronization in fish reproduction. *Transaction of the American Fishery Society*, 113: 484-493.
- Taylor M.H., 1986. Environmental and endocrine influences on reproduction of *Fundulus heteroclitus*. *American Zoologist*, 26: 159-171.
- Taylor M.H., 1999. A suite of adaptations for intertidal spawning. *American Zoologist*, 39: 313-320.
- Teo S.L.H. e Able K.W., 2003. Habitat use and movement of the Mummichog (*Fundulus heteroclitus*) in a restored salt marsh. *Estuaries*, 26(3): 720-730.
- Thomson D.A. e Muench K.A., 1976. Influence of tides and waves on the spawning behavior of the Gulf of California grunion, *Leuresthes sardina* (Jenkins & Evermann). *Bulletin of the South California Academy of Science*, 75: 198-203.
- Tigano C., Canapa A., Ferrito V., Barucca M., Olmo E. e Dago M., 2004. Osteological and molecular analysis of three Sicilian populations of *Aphanius fasciatus* (Teleostei, Cyprinodontidae). *Italian Journal of Zoology*, 71: 107-113.

- Tigano C., Canapa A., Ferrito V., Barucca M., Arcidiacono I., Deidun A., Schembri P.J. e Olmo E., 2006. A study of osteological and molecular differences in populations of *Aphanius fasciatus* Nardo 1827, from the central Mediterranean (Teleostei, Cyprinodontidae). *Marine Biology*, 149(6): 1539–1550.
- Tonn W.M., Holopainen I.J. e Paszkowski C.A., 1994 Density-dependent effects and the regulation of crucian carp population in single species ponds. *Ecology*, 75: 824–834.
- Triantafyllidis A., Leonardos I., Bista I., Kyriazis I.D., Stoumboudi M.Th., Kappas I., Amat I. e Abatzopoulos T.J., 2007. Phylogeography and genetic structure of the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae). *Marine Biology*, 152: 1159-1167.
- Van Straaten L.M.J.U., 1965. Sedimentation in the north-western part of the Adriatic Sea. In “Submarine Geology and Geophysics” Whitland & Bradshaw (Eds.), Butterworths, London, UK, pp. 143–162.
- Van Valen L., 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 16: 125–42.
- Walsh M.R. e Reznick D.N., 2008. Interactions between the direct and indirect effects of predators determine life history evolution in a killifish. *PNAS*, 105: 594-599.
- Walsh, M.R., Reznick, D.N., 2009. Phenotypic diversification across an environmental gradient: a role for predators and resource availability on the evolution of life histories.
- Walsh M.R. e Reznick D.N., 2010a. Experimentally induced life-history evolution in a killifish in response to the introduction of guppies. *Evolution*, 65: 1021-1036.
- Walsh M.R. e Reznick D.N., 2010b. Influence of the indirect effects of guppies on life-history evolution in *Rivulus hartii*. *Evolution*, 64: 1583-1593
- Wassenberg D.M. e Di Giulio R.T., 2004. Teratogenesis in *Fundulus heteroclitus* embryos exposed to a creosote-contaminated sediment extract and CYP1A inhibitors. *Marine Environmental Research*, 58: 163-168.
- Waters T.F. e Crawford G.W., 1973. Annual production of a stream mayfly population: a comparison of methods. *Limnology and Oceanography*, 18: 286-296.
- Weis J.S., Samson J., Zhou T., Skurnick J. e Weis P., 2001. Prey capture ability of mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) as a behavioral biomarker for contaminants in estuarine systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58:1442-1452.
- West-Eberhard M.J., 2003. Phenotypic accommodation: adaptive innovation due to developmental plasticity, with or without genetic change. *Integrative and Comparative Biology*, 43: 970.
- Xia X.H., 1992. Uncertainty of paternity can select against paternal care. *American Naturalist*, 139-1126-1129.
- Zacharias M.A. e Roff J.C., 2001. Use of focal species in marine conservation and management: a review and critique. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 11: 59-79.
- Zhou T. e Weis S., 1998. Swimming behavior and predator avoidance in three populations of *Fundulus heteroclitus* larvae after embryonic and/or larval exposure to methylmercury. *Aquatic Toxicology*, 43: 131-148.

7. Produzione scientifica

Articoli scientifici

Cavraro F., Torricelli P., Franzoi P e, Malavasi S. Productivity in natural and artificial brackish water systems: an example from *Aphanius fasciatus* populations. Sottomesso a Transitional Water Bulletin.

Cavraro F., Zucchetta M., Torricelli P. e Malavasi S. Sexual dimorphism of vertical bar patterning in the Southern European Toothcarp *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) (Actinopterygii: Cyprinodontidae). Journal of Fish Biology, accettato.

Cavraro F., Daouti I., Leonardos I., Torricelli P. e Malavasi S. Linking habitat structure to life history strategy: insights from a Mediterranean killifish. Journal of Sea Research, accettato con revisioni.

Malavasi S., Georgalas V., Cavraro F. and Torricelli P., 2010. Relationships between relative size of sexual traits and male mating success in the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 43(3): 157-167.

Cavraro F, Fiorin R, Riccato F, Zucchetta M, Franzoi P, Torricelli P e Malavasi S, 2011. Distribuzione e habitat di *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) in laguna di Venezia. Bollettino del Museo di Storia Naturale di Venezia, 62: 125-134.

Partecipazione a congressi

Cavraro F, Torricelli P e Malavasi S. Genetica, ecologia e comportamento di un “biomonitor” della variabilità di sistemi acquatici di transizione. VI incontro dei dottorandi e post-doc di analisi dei Sistemi Acquatici ed Ecologia, Ancona, 24-26 febbraio 2010.

Cavraro F, Georgalas V, Malavasi S and Torricelli P. Phenotypic variability of the killifish *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827). 39th CIESM Congress, Venezia, 10-14 maggio 2010. Pubblicato negli Atti: 2010 - Rapp. Comm. Int. Mer Medit. Vol. 39 - page 704.

Cavraro F, Zane S, Georgalas V, Malavasi S and Torricelli P. Patterns of coexistence between the invasive mosquitofish *Gambusia holbrooki* and the native ciprinodontid *Aphanius fasciatus* in a saltmarsh creek. FSBI Annual International Conference, Bournemouth, 18-22 luglio 2011.

Cavraro F, Georgalas V, Cipolato G, Torricelli P e Malavasi S Analisi delle relazioni fra struttura dell’habitat e tratti di life history nel ciprinodontide *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) in laguna di Venezia. V congresso LaguNet, Lesina (FG), 19-22 ottobre 2011.

Cavraro F, Malavasi S, Torricelli P, Gkenas C, Liousia V, Leonardos I, Kappas I, Abatzopoulos TJ and Triantafyllidis A. Population genetic structure of the Southern European Toothcarp *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) (Actinopterygii: Cyprinodontidae) in the Mediterranean basin with focus in the Venice Lagoon. 50th ECSA conference, Venezia, 3-7 giugno 2012.

Cavraro F, Cecconi A, Torricelli P, Malavasi S. Phenotypic plasticity of the South European Toothcarp *Aphanius fasciatus* in the Venice lagoon. XIV European Congress of Ichthyology, Liegi, 3-8 luglio 2012.

Cavraro F, Georgalas V, Cipolato G, Torricelli P, Malavasi S. Importance of artificial brackish water ditches for the conservation of small teleosts in the Venice lagoon. III European Congress of Conservation Biology, Glasgow, 28 agosto-1 settembre 2012.

Cavraro F., Torricelli P. e Malavasi S., 2012. Productivity in natural and artificial brackish water systems: an example from *Aphanius fasciatus* populations. VI congress LaguNet, Cagliari, 29-31 ottobre 2012.

8. Appendice

Composizione della comunità nectonica nelle quattro stazioni

Le densità riportate sono espresse in ind ha⁻¹

Stazione	Alberoni											
	2010										2011	
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	
<i>Syngnathus abaster</i>	778	250	833	1467	4000	600	583	273	125			375
<i>Atherina boyeri</i>			167	4067	2067	1933	1333	2273	5625			
<i>Aphanius fasciatus</i>		1667	444	867	12000	13067	1417	2000			100	1500
<i>Crangon crangon</i>	111											
<i>Gobius cobitis</i>			111	133	400	600	83					125
<i>Knipowitschia panizzae</i>	2333	167	944	400	1133	467	167	182				500
<i>Mugilidae</i> sp. pl.	5333	20417	4278	6267	16533	1333	4750	6455	1750	1500		250
<i>Nerophis ophidion</i>					67							250
<i>Palaemonidae</i> sp. pl.	4778	2250	4778	2600	3800	800	917	2818	500	200		1750
<i>Parablennius sanguinolentus</i>			56	1867	67	200						
<i>Sparus aurata</i>	111	83										
<i>Salaria pavo</i>			500	467	400	400	333	91				125
<i>Syngnathus typhle</i>			333	1067	267	133	583	91				125
<i>Zosterisessor ophiocephalus</i>		167			200	200						125

Stazione	Campalto											
	2010										2011	
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	
<i>Atherina boyeri</i>			25714	9699	10611	3733	3210					
<i>Aphanius fasciatus</i>	4333	7593	3000	1807	53167	1133			611			
<i>Gambusia holbrooki</i>					56							
<i>Knipowitschia panizzae</i>	667	247	429	181	111	467	185					
<i>Mugilidae</i> sp. pl.	167	123	12357	361	1333	867	123					
<i>Nerophis ophidion</i>												
<i>Palaemonidae</i> sp. pl.		432	1071	1566	1833							
<i>Sparus aurata</i>	833		71									

Stazione	Conche										
	2010									2011	
Anno	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
Campagna											
Specie											
<i>Syngnathus abaster</i>											61
<i>Atherina boyeri</i>	800	185	3351	3831	1409	2231	714	891			
<i>Aphanius fasciatus</i>	1800	1111	387	444	5227	38846	1476		1429	1758	222
<i>Crangon crangon</i>								345	36		
<i>Gambusia holbrooki</i>					136	154					
<i>Knipowitschia panizzae</i>	1200	1111				538	190	517	71	61	74
<i>Mugilidae</i> sp. pl.	200	40926	2448	605	2091	4462	143		500		148
<i>Nerophis ophidion</i>											
<i>Palaemonidae</i> sp. pl.	200	4630		685	500						
<i>Pomatoschistus canestrinii</i>								29			
<i>Platichthys flesus</i>		185									
<i>Pseudorasbora parva</i>					136	462					

Stazione	Vignole										
	2010									2011	
Anno	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
Campagna											
Specie											
<i>Aphanius fasciatus</i>	32214	11484	18167	21000	9762	8506	12077	0	3472	500	438
<i>Gambusia holbrooki</i>	2643	3750	14722	63929	481429	688276	428000	438	8472	1000	
<i>Knipowitschia panizzae</i>	143	1250	14278	75500	16905	5517	3308	1813	417	56	63
<i>Palaemonidae</i> sp. pl.	3714	23828	17167	25143	8690	10805	1846	1063	139	56	

Vorrei ringraziare innanzi tutto la mia famiglia e in particolare i miei genitori. In questi anni non mi hanno mai fatto mancare il loro sostegno e la loro comprensione, pur continuando a chiedersi perché, quella volta, io non abbia scelto Legge o Economia.

Un ringraziamento doveroso lo meritano Stefano Malavasi e La Prof. Torricelli, in primis, e con loro Matteo, Vyron, Giacomo, Fabio, Piero.

E infine un grazie agli Amici, Diana, Federico e Anna.