

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE ECOLOGICHE E BIOLOGICHE

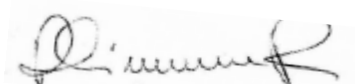
CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA

ECOLOGIA E GESTIONE DELLE RISORSE BIOLOGICHE XXIII CICLO

**COSTITUZIONE DI UN *BROODSTOCK* DI ASTICE EUROPEO
(*Homarus gammarus*) E PROVE DI RIPRODUZIONE CONTROLLATA
AI FINI DEL RIPOPOLAMENTO ATTIVO DELLA FASCIA
COSTIERA
(BIO/07)**

Coordinatore: Dott.ssa Roberta Cimmaruta

Firma



Tutor: Dott. Claudio Carere

Firma



Dottorando: Eleonora Saraga

Firma



INDICE

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

- 1.1-Acquacoltura e ripopolamento della specie *Homarus gammarus*
- 1.2-Il Centro Ittiogenico Sperimentale Marino (CISMAR)
- 1.3-Obiettivi e finalità del progetto di ripopolamento dell'astice europeo
- 1.4-Biologia della specie
 - 1.4.1-Distribuzione e inquadramento tassonomico
 - 1.4.2-Caratteristiche generali e ciclo vitale
 - 1.4.3-Sviluppo embrionale
 - 1.4.4-Sviluppo larvale
 - 1.4.5-Cenni sul sistema nervoso
- 1.5-Indagine storica globale e nazionale

CAPITOLO 2: METODOLOGIE D'ALLEVAMENTO E LORO VALUTAZIONE

- 2.1-L'avannotteria sperimentale: descrizione degli impianti
- 2.2-Metodologie di stabulazione delle femmine ovigere
 - 2.2.1-Femmine ovigere
 - 2.2.2-Postazioni di stabulazione
 - 2.2.3-Analisi statistica dei dati
 - 2.2.4-Valutazione delle metodologie di stabulazione
 - 2.2.5-Discussione
- 2.3-Allevamento di larve planctoniche
 - 2.3.1-Vasche di schiusa
 - 2.3.2-Vasche di allevamento
 - 2.3.3-Prove di alimentazione
 - 2.3.4-Analisi statistica dei dati
 - 2.3.5-Valutazione delle tipologie di alimentazione
 - 2.3.6-Discussione
 - 2.3.7-Valutazione del potenziale di produzione delle larve planctoniche
- 2.4-Allevamento di larve bentoniche
 - 2.4.1-Celle di accrescimento
 - 2.4.2-Prove di alimentazione

2.4.3-Analisi statistica dei dati

2.3.4-Valutazione delle tipologie di alimentazione

2.4.5-Discussione

2.5-Analisi comportamentale di giovani astici bentonici allevati in differenti condizioni

2.5.1-Materiali e metodi

2.6-Parametri comportamentali sociali e sopravvivenza di giovani astici bentonici allevati in differenti condizioni

2.6.1-Animali e postazioni sperimentali

2.6.2-Protocollo sperimentale

2.6.3-Analisi statistica dei dati

2.6.4-Valutazione della sopravvivenza nelle differenti tipologie di allevamento

2.6.5-Valutazione dei parametri comportamentali sociali

2.6.6-Discussione

2.7-Parametri comportamentali non sociali di giovani astici bentonici allevati in differenti condizioni

2.7.1-Animali e protocollo sperimentale

2.7.2-Analisi statistica dei dati

2.7.3-Valutazione dei parametri comportamentali non sociali

2.7.4-Discussione

CAPITOLO 3: RILASCIO IN MARE

3.1-Area di rilascio

3.2-Tecniche di trasporto e di rilascio

CAPITOLO 4: CONCLUSIONI

SOMMARIO-SUMMARY

APPENDICE

BIBLIOGRAFIA

RINGRAZIAMENTI

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

1.1-Acquacoltura e ripopolamento della specie *Homarus gammarus*

Uno degli scopi principali dell'acquacoltura è l'aumento della produttività delle specie commerciali in modo da offrire quantità crescenti di prodotto, soprattutto incrementando il numero di specie allevate. Soltanto di recente è stato individuato e perseguito un ulteriore scopo mirato alla conservazione dell'ambiente marino e incentrato sulla produzione di novellame idoneo al ripopolamento attivo (*restocking*). Attualmente il progresso delle metodologie, la presa di coscienza del ruolo della produzione acquatica marina negli ecosistemi e le acquisizioni fondamentali nel settore dell'ecologia e della conservazione stanno portando a una maggiore consapevolezza dell'importanza di conservare le popolazioni acquatiche naturali spesso in declino a causa dello sfruttamento e del deterioramento della qualità dell'ambiente.

In questo settore l'Italia è indietro rispetto ad altri paesi, per esempio quelli del Nord Europa. Uno dei progetti più importanti volto al ripopolamento dell'astice europeo (*Homarus gammarus*) ha comportato il rilascio di circa 166.000 esemplari bentonici in Scozia nelle isole Orkney (Regno Unito) tra 2000 e il 2008. Altri contributi al ripopolamento attivo sono stati effettuati in Norvegia con il rilascio di circa 128.000 esemplari nell'arco di cinque anni dal 1999 al 2004. Inoltre Cornovaglia (Regno Unito) e Germania da anni operano in tale settore ottenendo risultati importanti in termini di successi del ripopolamento di questa specie. Spagna, Norvegia e Irlanda hanno inoltre partecipato al progetto "Aquareg", finalizzato a sviluppare il ripopolamento di giovani astici. La società Norvegese "Lobster Farm COME" in collaborazione con l'Istituto di Ricerche Marine di Bergen e lo Stavanger University College ha avviato nel 2000 un progetto a lungo termine riguardante sia il rafforzamento degli stock, sia lo sviluppo dell'acquacoltura degli astici in senso produttivo (Kristiansen et al. 2004). Tale progetto ha consentito di ottenere esemplari di 250-300 gr in 24-30 mesi che rappresenta la dimensione di porzione per l'immissione del prodotto sul mercato.

Le esperienze di ripopolamento con *Homarus gammarus*, condotte in diversi paesi europei negli ultimi vent'anni (Rorvik & Tveite 1982; van der Meeren et al. 1990; Agnalt et al. 1999; Latrouite & Lorec 1991; Beart e Wickins 1992; Burton 1992 e 1993; Bannister 1995; Scovacricchi 1998 e 1999; Uglem et al. 2006) hanno spesso prodotto risultati

apprezzabili non solo dal punto di vista scientifico, ma anche in termini di ricadute socio-economiche.

Recentemente anche nel nostro paese sono iniziati alcuni programmi finalizzati allo studio e al ripopolamento attivo della fauna ittica. La speranza è di intraprendere un percorso che possa condurre a efficaci campagne di studio, monitoraggio e ripopolamento, attuando programmi di conservazione e tutela volti alla salvaguardia di specie in forte decremento demografico e di interesse socio-economico.

1.2-Il Centro Ittiogenico Sperimentale Marino (CISMAR)

Nel 2008, presso la Riserva di Popolamento Animale Le Saline di Tarquinia, nasce il CISMAR (Centro Ittiogenico Sperimentale Marino, www.cismar.it) con finalità primarie di conservazione e gestione razionale degli ecosistemi costieri, marini e di transizione e delle risorse biologiche del mare.

Il Centro comprende un'avannotteria sperimentale e quattro laboratori: il laboratorio di Microbiologia per il monitoraggio delle acque, il laboratorio di Ecologia Molecolare applicata ai parassiti marini, il laboratorio di Monitoraggio del Benthos e il laboratorio di Ecologia Molecolare e Genetica applicata allo Studio della Biodiversità. Le finalità che tale struttura si prefigge sono:

- Valutare lo stato della biodiversità marina e costiera nel Lazio;
- Implementare strategie idonee di conservazione di specie animali e vegetali d'interesse conservazionistico tramite l'individuazione delle biocenosi costiere di particolare interesse ambientale;
- Fornire un contributo all'attività degli Osservatori della Biodiversità relativamente al tema "Biodiversità marina". In questo contesto si inseriscono collaborazioni con altri enti presenti sul territorio nazionale ed internazionale;
- Segnalare alle Pubbliche Amministrazioni SIC (Siti di Importanza Comunitaria), ZPS (Zone a Protezione Speciale), SIR (Siti di Importanza Regionale), ZSC (Zone Speciali di Conservazione), ZTB (Zone di Tutela Biologica), AMP (Aree Marine Protette) e Distretti di pesca;
- Formulare strategie idonee e misure di pianificazione territoriale di integrazione della fascia costiera marina come strumento sistematico per la gestione delle risorse marine;

- Incrementare le produzioni e la valorizzazione delle produzioni della pesca marittima e dell'acquacoltura esercitata in acque marine e salmastre, sviluppando la ricerca scientifica e tecnologica applicata alla pesca marittima, alla maricoltura e all'acquacoltura;
- Divulgare le informazioni acquisite al grande pubblico mediante convegni, manifestazioni ed incontri nelle scuole per educare le generazioni future alla cultura ambientale.

Per quanto riguarda il ripopolamento attivo della fascia costiera il CISMAR svolge attività dedite al monitoraggio dei parametri chimico fisici degli ecosistemi, all'analisi e alla caratterizzazione fenotipica e genetica degli *stock* ittici naturali e dei riproduttori. Si occupa della ricerca finalizzata alla genetica applicata alla gestione degli *stock* ittici, delle risorse alieutiche e della riproduzione controllata di specie *target*.

Grazie all'azione congiunta di tali strutture è possibile condurre azioni di *restocking*, certificare che gli individui immessi siano geneticamente compatibili con i selvatici presenti in natura e dotati di variabilità genetica per favorire la diffusione, la conservazione e l'adattamento a lungo termine.

1.3-Obiettivi e finalità del progetto di ripopolamento dell'astice europeo

In un quadro di riferimento attinente la gestione attiva e integrata e la valorizzazione della fascia costiera, il presente lavoro ha avuto per oggetto lo studio di fattibilità di allevamento di giovani astici (*Homarus gammarus*) presso il CISMAR, finalizzato al rafforzamento della popolazione locale di tale specie.

Le motivazioni alla base della scelta del programma di ripopolamento focalizzate su questa specie sono di carattere ecologico e di carattere economico.

L'eccessivo sfruttamento degli *stock* produce un evidente squilibrio nell'ecosistema marino (Tully et al. 2001). Questa tendenza è deleteria per la salute dell'ambiente marino e va contrastata con misure idonee. Le principali cause che hanno portato al decremento degli *stock* ittici risultano essere il sovrasfruttamento (*overfishing*) (Tully 2004), le fluttuazioni periodiche naturali, l'antropizzazione, la distruzione degli habitat, l'inquinamento e i cambiamenti climatici (Addison & Bannister, 1994; Smedstad et al. 1994; Grossman et al. 1997; Lindberg 1997; Gendron 1998; Doherty 1999; Castro et al. 2001).

L'astice europeo, una specie di elevato interesse economico e gastronomico, potrebbe costituire una preziosa fonte di reddito per i pescatori e di sviluppo per molte comunità costiere. Un impegno pianificato per riportare gli *stock* di astici a livelli normali (quelli precedenti agli anni '50/'60) costituirebbe un importante investimento per il futuro di una cospicua parte del settore della pesca.

In tale studio, sono stati considerati e valutati una serie di fattori necessari a una corretta azione di ripopolamento della fascia costiera, in particolare:

- Indagine storica volta a stabilire che la specie in questione abbia subito un decremento effettivo nel corso degli anni;
- Progettazione e messa a punto di strutture necessarie per le differenti fasi dell'allevamento;
- Sperimentazione di differenti tecniche di allevamento e di rilascio con valutazione di sopravvivenza, tassi d'accrescimento e parametri comportamentali;
- Individuazione di aree idonee al rilascio.

1.4-Biologia della specie

1.4.1-Distribuzione e inquadramento tassonomico

L'astice europeo è presente nelle zone orientali dell'Oceano Atlantico, dalla Norvegia nord-occidentale fino alle Isole Azzorre e al Marocco. Nel Mar Mediterraneo si trova a Ovest di Creta e a Nord-Ovest del Mar Nero nello Stretto del Bosforo (Dybern 1973; Holthuis 1974; Phillips et al. 1980; Holthius 1991; Williams 1998; Figura 1). Gli astici preferiscono habitat rocciosi in quanto favoriscono il reperimento della tana. Nel Mare del Nord essi sono principalmente distribuiti lungo le coste della Bretagna e della Norvegia. A Sud-Est del Mare del Nord dove il fondale marino predominante è morbido, trovano un habitat adeguato in prossimità delle isole rocciose di Helgoland (Ulrich et al. 2001).

L'astice europeo *Homarus gammarus* (Linnaeus 1758) è un crostaceo appartenente all'ordine dei decapodi. L'inquadramento tassonomico della specie è riportato in Figura 2.



Figura 1-Distribuzione geografica dell'astice europeo (*Homarus gammarus*). Mappa modificata da Google Earth. (Schmalenbach 2009).

Phylum: *Arthropoda*
Subphylum: *Crustacea*
Class: *Malacostraca*
Order: *Decapoda*
Suborder: *Pleocyemata*
Infraorder: *Astacidea*
Superfamily: *Nephropoidea*
Family: *Nephropidae*
Subfamily: *Nephropinae (Homarinae)*
Genus: *Homarus*

Figura 2-Inquadramento tassonomico della specie.

1.4.2-Caratteristiche generali e ciclo vitale

L'astice europeo possiede un esoscheletro liscio e molto resistente in quanto deve proteggere i tessuti molli dell'animale. La colorazione tipica dell'adulto è blu intensa sul dorso e più chiara sul ventre, con alcune sfumature arancioni o gialle. Questa colorazione è dovuta alle astaxantine, pigmenti che diventano rossi quando riscaldati in maniera significativa, da cui il colore dell'astice dopo la cottura. La colorazione è determinata dalla presenza di differenti tipi di astaxantine. A volte, uno o più di questi pigmenti può essere mancante e ciò causa una insolita colorazione. Anche se estremamente rari, gli astici sono stati osservati con livree blu luminose, rosse, arancioni o interamente albine. La morfologia generale della specie è riportata in Figura 3.

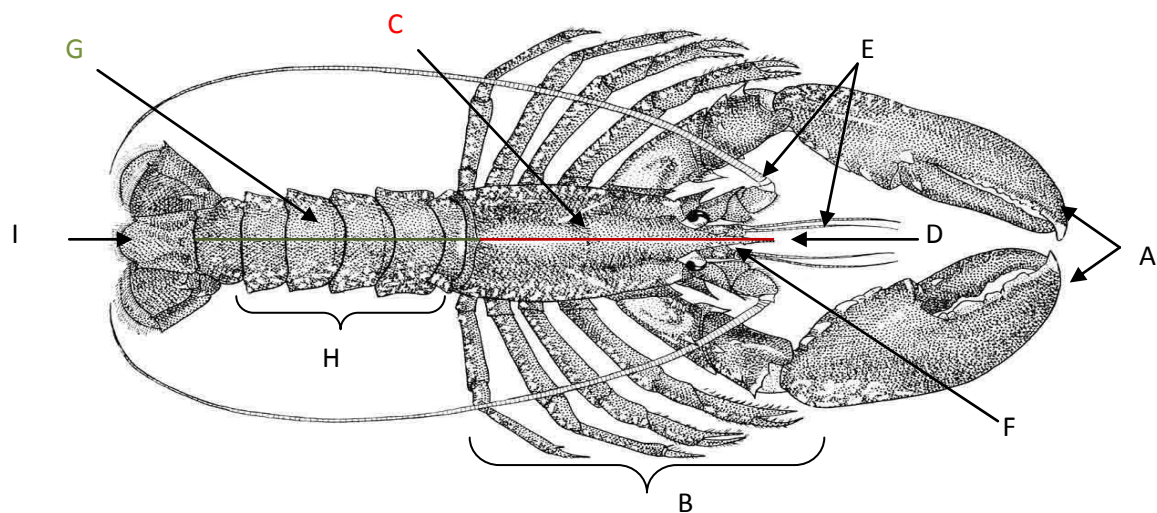


Figura 3-Morfologia della specie *Homarus*. **A**: Chelae asimmetriche, la più grande utilizzata per spaccare e la più piccola denticolata utilizzata per tranciare le prede; **B**: Quattro paia di zampe per la locomozione; **C**: Testa (dall'estremità del rostro fino all'inizio dell'addome); **D**: Rostro; **E**: due paia di antenne, le prime bifide e corte, le seconde molto lunghe; **F**: Apparato boccale; **G**: Addome, (dalla fine della testa all'inizio della coda); **H**: Pleopodi utilizzati per il nuoto e per ossigenare le uova; **I**: Telson (coda).

La presenza di un esoscheletro rigido obbliga l'astice a mettere in atto un processo noto come muta, un fenomeno sotto controllo ormonale durante il quale l'acqua è assorbita dal corpo e immagazzinata nei tessuti. L'astice si gonfia fino alla rottura dell'esoscheletro. Dopo essersi liberato del carapace, inizia il processo che porterà alla formazione e all'indurimento di un nuovo esoscheletro.

Subito dopo la muta gli astici sono vulnerabili alla predazione e tendono a rimanere nascosti fino a quando il nuovo esoscheletro si è definitivamente indurito; tale processo può concludersi entro un periodo di poche ore ma può durare anche diverse settimane, a seconda delle dimensioni dell'animale, la disponibilità di calcio e la rapidità con la quale è depositato. Nel periodo compreso tra l'inizio e la fine del processo di muta, vengono generati nuovi tessuti che andranno a compensare e assorbire l'eccesso di acqua che era stato accumulato per favorire la rottura del carapace. Durante ogni muta la lunghezza del carapace di solito aumenta del 10-15% e il peso totale fino al 50%. Dopo la muta l'astice consuma il vecchio esoscheletro che fornirà gran parte del calcio necessario per solidificare il nuovo involucro. Gli astici giovani mutano fino a 25 volte nei primi cinque anni, mentre gli adulti mutano meno frequentemente (Factor 1995); per gli animali vecchi questo potrebbe continuare ad accadere almeno ogni due anni consentendo loro di crescere per tutta la vita. Il più grande esemplare di cui si abbiano notizie certe fu catturato nel 1931 a Fowey, in Inghilterra. Misurava 1.26 m e pesava 9.3 kg; il solo esoscheletro della sua chela da frantumazione pesava 1.2 kg.

La dieta degli astici europei adulti, che cacciano prevalentemente di notte, si compone principalmente di invertebrati bentonici come granchi, molluschi, ricci, stelle marine e vermi policheti, ma può anche includere alcuni pesci, alghe e zooplankton. L'alimentazione si riduce in inverno a causa del rallentamento del tasso metabolico dovuto all'abbassamento della temperatura del mare. Sebbene questi animali siano in genere sedentari, possono spostarsi per trovare cibo in genere entro un raggio di 2 km dalla propria tana, mentre alcuni esemplari si sono spinti anche a distanze di 10 km dai loro cunicoli (Bannister et al. 1994; van der Meeren 2003; Agnalt et al. 2004).

La femmina raggiunge la maturità sessuale tra i 5 e i 7 anni di età a seconda della temperatura dell'acqua, ad una lunghezza del carapace pari a circa 85 mm mentre il maschio quando ha dimensioni leggermente più piccole (Aiken & Waddy 1980). Di solito l'accoppiamento avviene tra un maschio con esoscheletro duro e una femmina che avendo appena effettuato la muta non possiede un esoscheletro solidificato. La spermatofora viene trasferita dal maschio fino al recipiente per lo sperma della femmina. La femmina può conservare la spermatofora mentre è ancora in corso la formazione delle uova. La deposizione avviene di solito in estate (Atema 1986). Le uova vengono fertilizzate non appena fuoriescono da alcune piccole condotte e in condizioni naturali sono portate sotto l'addome per 9-11 mesi (Mehrtens 2008). Il periodo di sviluppo embrionale può essere controllato mediante la temperatura (Templeman 1936; Perkins 1972; Branford 1978; MacKanzie 1988; Charmantier

et al. 1991; Charmantier & Guillaume 1992; MacDiarmid & Saint-Marie 2006). Mentre i dati genetici ottenuti da popolazioni selvatiche suggeriscono che una femmina viene fecondata da un solo individuo, l'astice maschio può fertilizzare più femmine (Ferguson 2002). Per distinguere il sesso è necessario esaminare la prima coppia di pleopodi collocati subito dopo le zampe (Figura 4). Se si presentano dure e rigide a forma di spina l'individuo è di sesso maschile (Figura 6), nel caso in cui sono morbide e a forma di piuma l'individuo è una femmina (Figura 5).

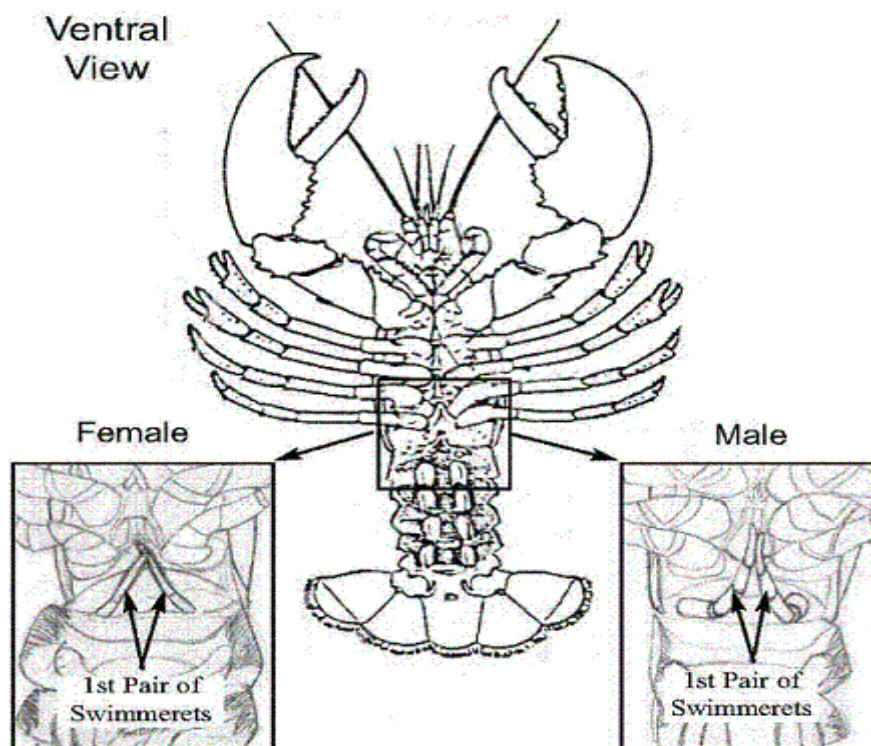


Figura 4-Particolare dei pleopodi (swimmerets) che indicano il sesso degli individui.



Figura 5-Individuo femmina di *Homarus gammarus*.



Figura 6-Individuo maschio di *Homarus gammarus*.

1.4.3-Sviluppo embrionale

Le uova ancorate ai pleopodi incrementano di taglia e cambiano colore durante il periodo di incubazione. Durante le prime settimane sono verdi scure tendenti al nero, poi iniziano a diventare rosse e appena l'embrione inizia a svilupparsi consuma il tuorlo e diviene evidente attraverso uno strato esterno trasparente (Figura 7).

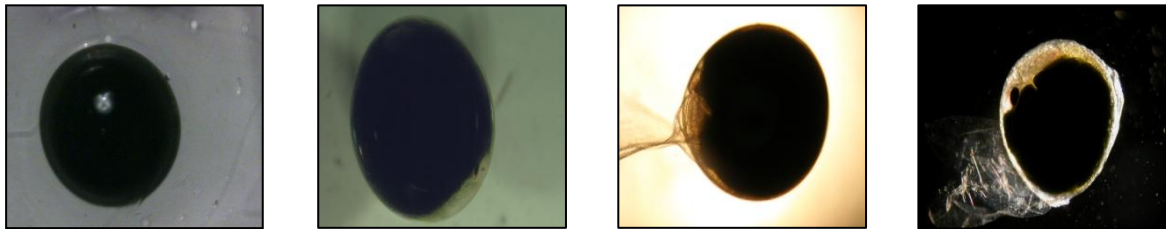


Figura 7-Alcune fasi relative allo sviluppo embrionale.

Il periodo di incubazione in natura varia dai nove agli undici mesi ed è dipendente dalla temperatura.

Per stimare lo stato di sviluppo embrionale viene utilizzato un indice (Embrionic Eye Index) i cui parametri sono rilevati mediante l'utilizzo del microscopio ottico (Perkins 1972; Beard et al. 1985).

$$\text{Embrionic Eye Index} = \text{lunghezza} + \text{spessore del pigmento dell'occhio}/2$$

Quando gli occhi compaiono per la prima volta sono formati da escrescenze scure pigmentate circondate da un alone di tessuto luminoso. In questa fase nell'astice europeo l'indice è misurabile a 50 μm di lunghezza, mentre valori tra 600 e 620 μm corrispondono allo sviluppo completo dell'embrione (Beard et al. 1985). Questo valore è superiore rispetto a quello riscontrato nell'astice americano che va da 560 a 580 μm (Talbot & Helluy 1995).

Le uova sono tenute assieme da un collante denso e adesivo che conferisce loro un aspetto traslucido. E' noto come questa sostanza sia funzionale all'ancoraggio delle uova all'addome della femmina, tuttavia la sua reale composizione ed eventuali altre funzioni restano sconosciute. La femmina ossigena periodicamente le uova distendendo l'addome, altrimenti tenuto ricurvo a loro protezione, e muovendo ritmicamente i pleopodi.

1.4.4-Sviluppo larvale

La schiusa si verifica nell'arco di più notti, quando le larve nella prima fase vengono rilasciate nella colonna d'acqua da uno scuotimento della coda della femmina, pronte per iniziare la loro fase planctonica. Le larve galleggiano in balia delle correnti in strati superficiali della colonna d'acqua. Essendo onnivore, si alimentano in maniera opportunistica di fitoplancton e zooplancton, grazie alla loro capacità di filtrare l'acqua. La durata della vita larvale planctonica in natura è di 5-10 settimane ed è negativamente correlata con la temperatura; In questa fase la mortalità, per la maggior parte dovuta a predazione, è assai elevata. Le larve in questa fase sono anche molto sensibili alle tossine di origine antropica, come gli accumuli di idrocarburi sulla superficie dell'acqua. La fase planctonica dunque rappresenta un periodo critico per lo sviluppo di *H. gammarus*. Come gli altri organismi planctonici, le larve sono spesso spinte insieme in banchi densi da masse d'acqua convergenti ed è in questa fase che sono più vulnerabili alla predazione.

Poco dopo la schiusa si osserva il primo dei tre stadi planctonici assimilabili alla zoea degli altri crostacei decapodi per il fatto che il movimento è assicurato dalle appendici toraciche. La metamorfosi dallo stadio III allo stadio IV segna la fine del periodo larvale, ed è caratterizzata dalla transizione alla fase bentonica tipica dell'adulto (Cobb et al. 1979; Incze & Wahle 1991; Nicolas & Lowton 1978; Figura 8, Figura 9), le larve subiscono un cambiamento morfologico strutturale con le chele e la coda che si spostano dalla posizione ciondolante fino a sporgere fuori rispettivamente dal torace e dall'addome. Questa trasformazione verso la forma di un adulto permette all'astice di cercare un substrato adatto a una esistenza bentonica.



Figura 8- Stadi larvali che evidenziano il passaggio dallo stato planctonico allo stato bentonico delle larve.

In questa fase il novellame gode di un buon tasso di sopravvivenza, principalmente a causa del fatto che si trova fuori dalla portata dei più temibili predatori pelagici.

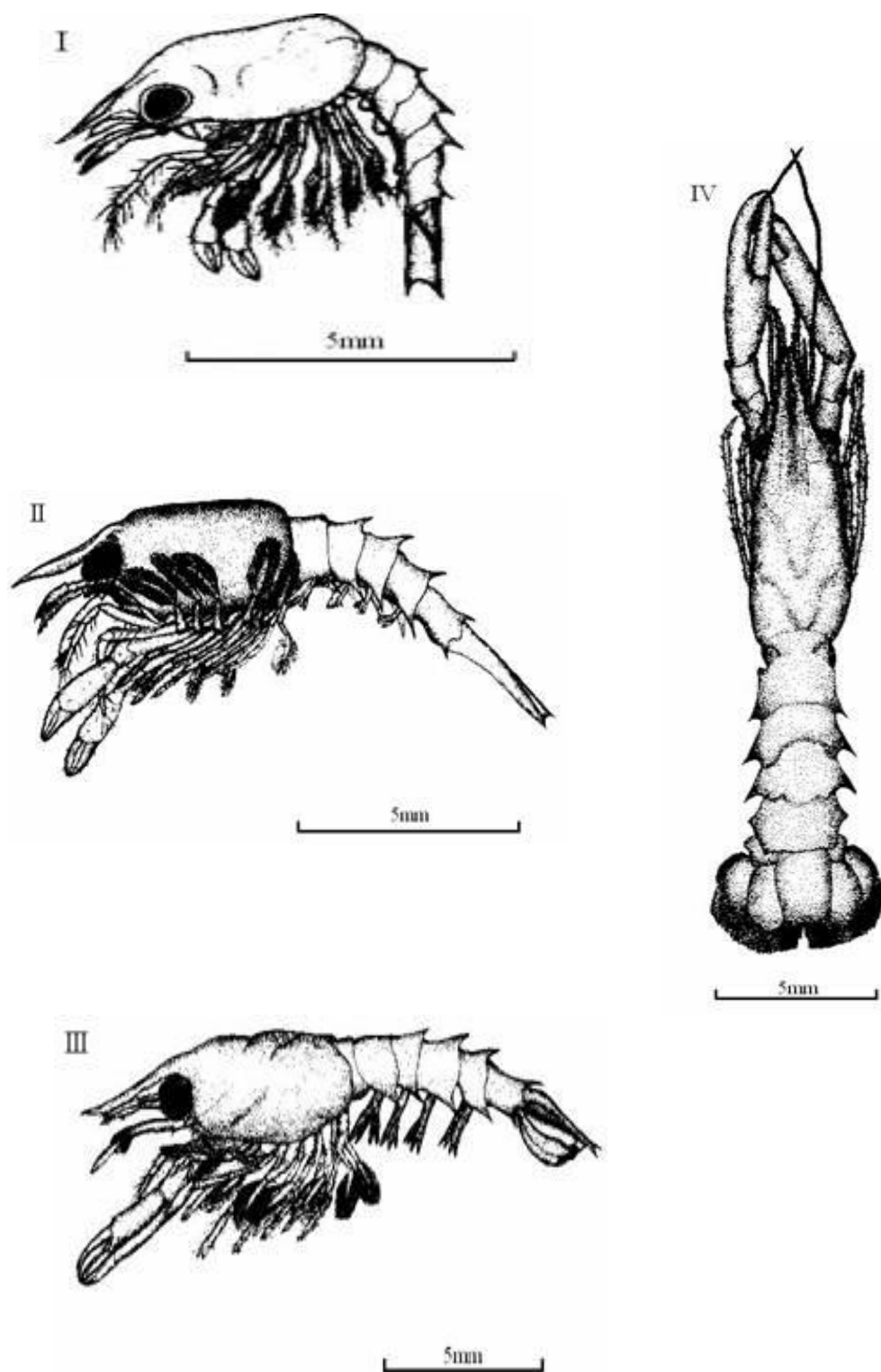


Figura 9-Stadi larvali dell'astice europeo (Nicolas & Lowton 1978).

I principali caratteri morfo-funzionali e comportamentali, distintivi dei quattro stadi larvali sono riportati in Tabella 1.

Carattere	Stadio I	Stadio II	Stadio III	Stadio IV
Nuoto	Appendici toraciche	Appendici toraciche	Appendici toraciche	Pleopodi
Fototassi	Positiva	Positiva	Positiva	Negativa
Stile di vita	Planctonica	Planctonica	Planctonica	Bentonica
Pleopodi	Rudimenti	Privi di setae	Presenti	Presenti e funzionali
Rostro	Non dentellato	Non dentellato	Dentellato	Dentellato
Seconde antenne	Non sviluppate in lunghezza	Non sviluppate in lunghezza	Non sviluppate in lunghezza	Sviluppate in lunghezza
Uropodi	Assenti	Assenti	Presenti	Presenti
Telson	Bordo concavo con spina centrale	Bordo concavo con spina centrale	Bordo leggermente convesso con spina centrale	Bordo convesso senza spina centrale
Esopoditi	Presenti	Presenti	Presenti	Assente

Tabella 1-I quattro stadi larvali di *H. gammarus* si possono distinguere sulla base di presenza/assenza di determinati caratteri anatomici, o di alcuni specifici attributi, comportamenti (movimento, fototassia) e stili di vita (planctonico, bentonico) (Scovacricchi 1999).

Non sono disponibili informazioni complete sulle prime fasi dello sviluppo bentonico. In genere le conoscenze sulle abitudini dell'astice nei primi anni del suo sviluppo sono scarse a causa della difficoltà di effettuare osservazioni sistematiche in natura. In condizioni di laboratorio è stato verificato, che i giovani astici rispetto agli adulti si spostano raramente dalla tana e il tempo di permanenza trascorso nei rifugi passa dal 10% al 2% all'aumentare delle dimensioni degli individui (Mehrtens et al. 2005). Fondali che vanno dalla sabbia grossolana alla ghiaia fine sembrano essere l'habitat preferito, tuttavia le larve sono state in cunicoli scavati nel fango.

Durante la fase bentonica i giovani astici mangiano vermi marini e altri piccoli animali in stato post-larvale come granchi, ricci e gasteropodi e mantengono la capacità di filtrare l'acqua nutrendosi di plancton.

1.4.5-Cenni sul sistema nervoso

Nei crostacei decapodi il cervello si compone di 3 gangli fusi, il protocerebro (con nervi ottici), il deutocerebro (con nervi antenulari e nervi dei peduncoli oculari) e il tritocerebro (con nervi antennali e connettivi sub-enterici che si collegano al ganglio sub-enterico, attraverso il quale il cervello è collegato al cordone nervoso ventrale. Tale cordone è costituito da gangli segmentali fusi lungo la linea mediana del corpo ma separati longitudinalmente. Lo sviluppo del cervello è riportato da Helluy & Sandeman (1993), con particolare riferimento alla parte del deutocerebro.

I glomeruli dei lobi olfattivi sono già ben sviluppati alla schiusa anche se probabilmente non funzionanti, mentre i lobi accessori la cui funzione non è nota (sembra essere associata alla fase bentonica) si differenziano soltanto alla metamorfosi (Helluy & Sandeman 1993).

Il volume dei lobi aumenta di un fattore di oltre 300 lobi olfattivi e 800 lobi accessori dai primi stadi larvali all'individuo adulto, ma l'incremento più rapido si ha in seguito alla metamorfosi associata alla fase bentonica. Nei giovani entrambi i lobi costituiscono il 30% dell'intero volume del cervello mentre negli adulti meno del 10%. (Harzsch et al. 1999). L'aumento delle dimensioni dei lobi olfattivi e accessori non risulta essere associato al numero dei glomeruli, che rimangono costanti dopo la metamorfosi, ma è dovuto all'incremento della loro dimensione grazie alla continua proliferazione cellulare, anche se a questa è associato un tasso quasi costante di morte cellulare che quindi comporta un certo grado di *turnover* (Harzsch et al. 1999). La proliferazione cellulare avviene a partire da neuroblasti che si dividono in modo asimmetrico per produrre cellule madri gangliari. Non è noto se i neuroblasti si differenzino o meno in specifici neuroni. Le cellule madri possono originare cellule epidermiche e ciò suggerisce che il destino dei neuroblasti non è necessariamente neuronale (Stollewerk & Simpson 2005). In Figura 10 è riportata la morfologia interna dell'astice europeo dove è evidenziata la posizione del cervello.

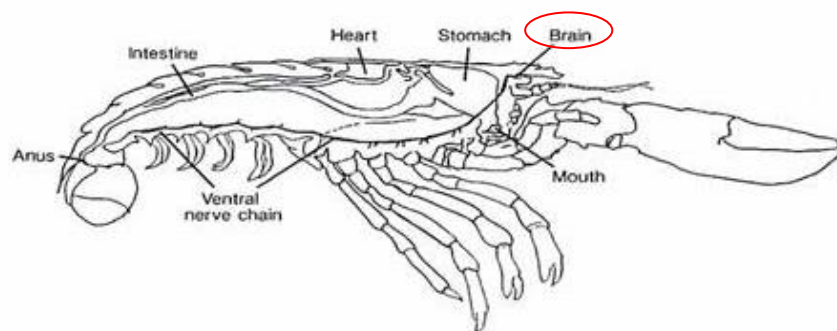


Figura 10-Morfologia interna di *Homarus gammarus* che evidenzia la posizione del cervello.

1.5-Indagine storica globale e nazionale

L'astice europeo è considerato un crostaceo di grande valore commerciale per le sue carni ritenute eccellenti. Sul mercato italiano il costo al consumatore di individui pescati si aggira intorno a 70 Euro/kg, mentre per quelli di allevamento provenienti in gran parte dal Canada (*H. americanus*) è di circa 30 Euro/kg. La scarsità del numero di esemplari catturati nel Mediterraneo, contribuisce al mantenimento di tali costi elevati. Spesso però approdano sui nostri mercati degli astici pescati in Atlantico, i quali hanno prezzi inferiori a causa della maggiore abbondanza di questi animali in acque oceaniche. In alcuni paesi europei affacciati sull'Atlantico, l'astice rappresenta una risorsa importante per molte comunità di pescatori.

Lo sbarco in Europa di astici in Inghilterra e Galles (Bannister 1986), Francia e Irlanda (Browne et al. 2001; Tully et al. 2006), Norvegia e Scozia (van de Meeren & Tveite 1998), Svizzera, Danimarca e Spagna (see Dow 1980) ha registrato prima degli anni settanta quantità di pescato comprese tra le 1.700 e le 3.500 tonnellate per anno (Figura 1).

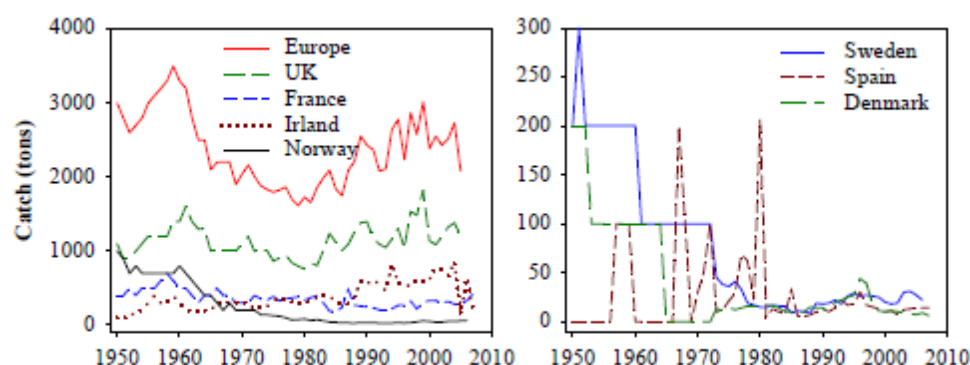


Figura 1-Pescato dell'astice nei Paesi del Nord Europa (Fishery Statistics, 1950-2007).

In Europa dal 1960 le catture sono diminuite drasticamente scendendo al minimo fino al 1980 (Bannister 1998). Da allora fino a metà degli anni 90 gli *stock* non sono più aumentati. Durante questi anni il declino avvenuto in Danimarca è stato pari al 90% (1933: 299 t; 1980: 15 t) (Dow 1980), in Germania, a Helegoland, del 98% (1937: 41 t; 1970: 1 t) (Klimpel 1965; Goemann 1990). In Norvegia il pescato si è ridotto fino al 90% della quota pescata precedentemente e gli sbarchi sono diminuiti drasticamente passando dalle 1.000 t nel 1930 a 50 t nel giro di 20 anni (Agnalt et al. 1999).

In Italia, ex Yugoslavia e Algeria le catture sono irrilevanti (Cobb & Castro 2006).

La situazione generale della pesca all'astice ha ricevuto un considerevole rallentamento tra il 1960 e il 1990. Tale tendenza ha portato al finanziamento di studi mirati all'allevamento e al ripopolamento attivo della specie. I Paesi che hanno scelto di operare in tale settore hanno riscontrato un'inversione di tendenza grazie ai numerosi ripopolamenti effettuati lungo le coste.

Il 2006 rappresenta l'anno in cui la quantità maggiore esportata dai paesi Ucraina, Norvegia, Grecia, Irlanda e Francia con circa 3.400 t, valutate 45 milioni di Euro (Fishery Statistic, 1999-2006; Goemann 1990; Anonymus 1980-2008).

In Italia la pesca a questo crostaceo è un'attività localizzata. Sono stati analizzati i dati disponibili relativi alle serie storiche dei transiti commerciali provenienti da alcuni importanti mercati ittici come quelli di Caorle e Merano (Scovacricchi 1999; Figura 2, Figura 3). Tali serie forniscono indicazioni sul decremento di questa specie nei nostri mari.

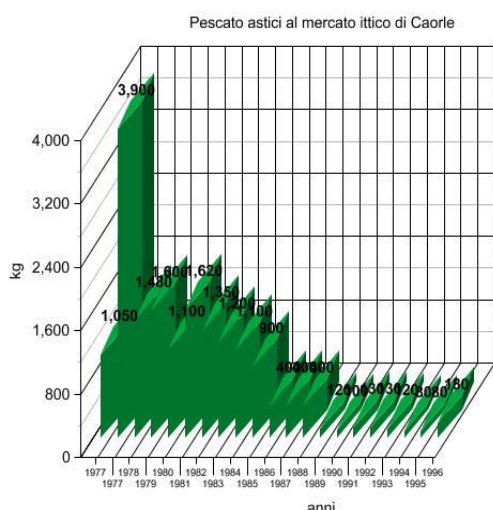


Figura 2-Pescato di Caorle tra il 1977 e il 1996.

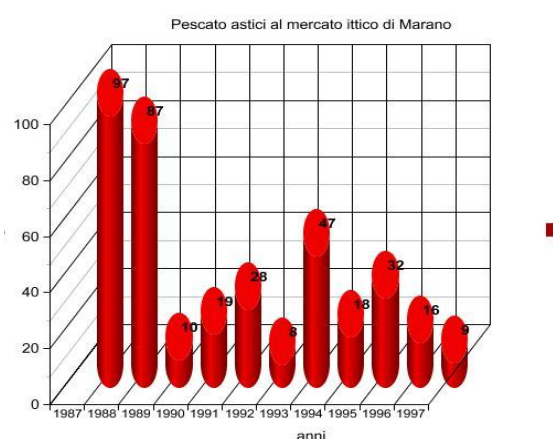


Figura 3-Pescato di Merano tra il 1987 e il 1997.

I dati raccolti nei mercati citati hanno messo in evidenza una netta tendenza all'impoverimento degli *stock* anche se tale tendenza potrebbe essere accentuata da una concomitante diminuzione recente delle attività di pesca. Il prodotto locale si è sostanzialmente azzerato ed è stato sostituito da quello d'importazione estera. E' evidente come in alto-adriatico fosse possibile far arrivare sui banchi di un mercato come quello di Caorle fino a quattro tonnellate/anno di prodotto locale. A tal proposito va notato che tale picco potrebbe essere stato causato dal lungo di chiusura forzata della pesca durante la seconda guerra mondiale che ha probabilmente consentito una crescita degli *stock*. D'altra

parte, l'evidente successivo impoverimento, è riconducibile sia a fenomeni di degrado ambientale in gran parte di natura antropica. Tra i fattori implicati ricordiamo il rilevante sviluppo della nautica da diporto, l'incremento del numero di subacquei sportivi e l'avvento dei moderni sistemi GPS.

Il caso del mare Adriatico potrebbe essere rappresentativo della situazione di gran parte delle acque italiane in cui il prodotto locale ha subito un forte decremento associato a un corrispondente aumento delle importazioni a partire dagli anni 80.

CAPITOLO 2: METODOLOGIE D'ALLEVAMENTO E LORO VALUTAZIONE

2.1-L'avannotteria sperimentale: descrizione degli impianti

Nel presente studio sono state sperimentate differenti modalità di allevamento, sia degli individui adulti (femmine ovigere) che delle larve per cercare di ottimizzare tutte le fasi di produzione di giovani astici a scopo di *restocking*.

La struttura iniziale dell'avannotteria ha necessitato il rodaggio di una serie di attrezzature presenti e la costruzione della strumentazione necessaria per le varie fasi dell'allevamento di *Homarus gammarus* (in Allegato A è illustrata la scheda delle strutture). Inizialmente gli impianti consistevano in :

- ❖ Circuito aperto (**CA**), con acqua di mare in entrata e in uscita, costituito da 6 vasche rettangolari in vetroresina (4x1x1m) e suddivise tramite grate di ferro per ricavare due postazioni per ciascuna vasca (Figura 1, Figura 2).



Figura 1-Alcune vasche del circuito aperto (CA).



Figura 2-Vasca divisa dalla grata.

- ◇ Due sistemi a circuito chiuso (**CC1, CC2**), dotati rispettivamente di 10 e 7 vasche troncoconiche in vetroresina (2 m³ ciascuna) e di una vasca rettangolare di raccolta (4x1x1 m) (Figura 3). Per garantire la qualità dell'acqua entrambe i circuiti possiedono un filtro biologico, un filtro meccanico contenente differenti granulometrie di sabbia, uno sterilizzatore UV dotato di 10 lampade e un impianto per il controllo della temperatura (Figura 4).



Figura 3-Circuito chiuso (CC1).



Figura 4-Filtri del circuito chiuso.

- ◇ Settori per la produzione del fitoplancton composto da 2 bioreattori (Figura 5) e per l'allevamento di zooplancton costituito da 10 tonks e circuito d'acqua sterilizzante (Figura 6); un acquario (AQ) da 700 l con filtrazione mediante lana e cannicchi e refrigeratore dell'acqua (Figura 7).



Figura 5- Bioreattori per l'allevamento di fitoplancton.



Figura 6- Vasche per l'allevamento di

- ◇ Settore di incubazione per la produzione del fitoplancton consistente in un Box isolato dove sono mantenuti ottimali le condizioni della luce e della temperatura (Figura 8). Le alghe allevate durante il progetto sono state *Isocrysis galbana* e *Dunaliella salina*.



Figura 7-Acquario (AQ) da 700 l di acqua.

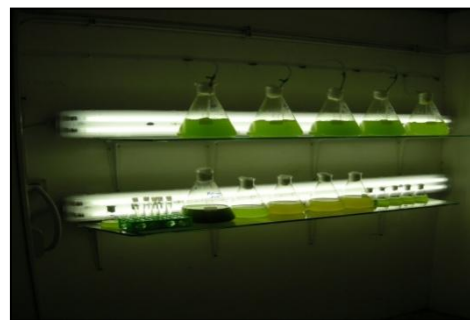


Figura8-Box isolato per i ceppi di fitoplancton.

2.2-Metodologie di stabulazione delle femmine ovigere

2.2.1-Femmine ovigere

Tra il 2008 e il 2010 sono state utilizzate 11 femmine adulte di astice catturate da pescatori locali nella fascia costiera tra Santa Marinella e Porto Ercole tramite reti da posta chiamate “Tramagli”.

Per ciascuna femmina sono state annotate la data e il luogo di provenienza e le condizioni in cui si presentavano all’arrivo presso il Centro. E’ stata inoltre effettuata una stima visiva grossolana della frazione di uova presenti sulla superficie dell’addome (1, 2/3, 1/3 di addome ricoperto dalle uova). Sono stati infine misurati il peso corporeo (**BW**) con una precisione al decimo di kg, la lunghezza del carapace (**CL**) e la lunghezza totale (**TL**) con una precisione al mm. I dati sono riportati in Tabella 1.

	DATA	PROVENIENZA	CONDIZIONI	UOVA	BW Kg	CL mm	TL mm
F1	25/08/2008	Mon. Di Castro	Integra	1	1.8	137	387
F2	25/08/2008	Mon. Di Castro	Manca Chela Sx	2/3	1.9	145	412
F3	09/09/2008	Mon. Di Castro	Integra	1	1.3	126	336
F4	09/09/2008	Mon. Di Castro	Integra	1	1.9	149	406
F5	09/09/2008	Mon. Di Castro	Integra	1	1.6	130	370
F6	30/08/2009	Mon. Di Castro	Integra	1	1.2	115	335
F7	16/08/2009	Civitavecchia	Integra	1/3	1.3	128	361
F8	09/09/2010	Civitavecchia	Integra	1	2.3	187	458
F9	13/09/2010	Mon. Di Castro	Integra	1	2	166	425
F10	20/09/2010	Mon. Di Castro	Integra	1	2.1	170	421
F11	12/11/2010	Porto Ercole	Integra	2/3	1.8	149	380
MEDIA					1.75	145.6	390.1
DEVIAZIONE STANDARD					0.34	21.7	38.5

Tabella 1-Caratteristiche delle femmine ovigere reperite tra il 2008 e il 2010. **BW**: Peso corporeo in kg; **CL**: Lunghezza in mm misurata dalla punta del rostro all’inizio dell’addome; **TL**: Lunghezza totale in mm misurata dalla punta del rostro alla fine della coda.

Non è stato possibile stabilire l’età degli individui. Nei decapodi tale parametro viene attribuito in laboratorio analizzando la lipofusina accumulata nei neuroni (Sheehy et al. 1996).

2.2.2-Postazioni di stabulazione

Tutte le femmine ovigere sono state trasportate nelle strutture del Centro in un contenitore di polistirolo coperto con un panno imbevuto d'acqua di mare. Prima di essere stabulate sono state acclimatate per quattro ore all'interno di un contenitore da 50 l di acqua del circuito di riferimento. Sono state utilizzate quattro metodologie di stabulazione (Tabella 2) allo scopo di individuare la postazione migliore che conferisse all'individuo il minore stress possibile.

Postazioni	Vasche	Femmine	Anno
CA	B1 B2	F1 F2	2008
AR	C1 C2 F1	F3 F4 F5	2008
AQ	AQ	F6	2009
CC1	CV1 CV2 CV3 CV4 CV5	F7 F8 F9 F10 F11	2009 2010

Tabella 2-Distribuzione delle femmine adulte nelle differenti postazioni. **CA**: Circuito aperto; **AR**: Circuito aperto refrigerato, **AQ**: Acquario; **CC**: Circuito chiuso.

Essendo l'astice una specie territoriale e tendenzialmente aggressiva anche con i suoi simili (Linneae et al. 2000), tutti gli individui nelle differenti postazioni sono stati stabulati singolarmente in vasche arricchite con tubi di plastica PVC di 15 cm di diametro e 50 cm di lunghezza da utilizzare come tana (Figura 1). L'utilizzo di un rifugio consente una cura delle uova migliore in quanto le femmine sono sottoposte a livelli inferiori di disturbo (John F., Wickins & O'C. Lee 2002). Nel caso del circuito chiuso (CC1) la tana è stata fissata su una superficie circolare e piatta in plexiglas allo scopo di ricreare una superficie piana nelle vasche troncoconiche (Figura 2).



Figura 1-Tana senza supporto.



Figura 2-Tana e supporto per il circuito (CC1).

L'alimentazione consisteva in pesce, molluschi e crostacei sia freschi sia surgelati somministrati a rotazione giornalmente. Inoltre ogni giorno si è proceduto alla pulitura della

vasca rimuovendo i residui di cibo del giorno precedente. In acquario (AQ) è stato effettuato il cambio di 250 l di acqua ogni 7 giorni. Nel circuito chiuso (CC1) le vasche venivano ripulite ogni 7 giorni facendo fuoriuscire dal fondo circa un quinto dell'acqua presente.

La qualità dell'acqua in cui gli individui sono allevati è un fattore cruciale per il benessere e la sopravvivenza delle femmine ovigere. I parametri che influiscono maggiormente sul benessere sono la temperatura, l'ossigeno disciolto, la salinità, e l'ammoniaca (Beard & McGregor 2004). Nel presente lavoro è stata valutata la relazione tra la perdita delle uova da parte delle femmine ovigere e la qualità dell'acqua, che differiva nelle differenti postazioni. La perdita delle uova da parte delle femmine ovigere è stata quantificata giornalmente nei primi 15 giorni di permanenza nelle differenti postazioni tramite prelievi con sifone delle uova rilasciate sul fondo e successive conte. Parallelamente sono stati monitorati la temperatura (°C, attraverso sonde da campo), l'ossigeno disciolto (% di saturazione, mediante sonde da campo), la salinità (‰, mediante rifrattometro) e l'ammoniaca (ppm, mediante appositi Kit). Quest'ultimo parametro è stato monitorato una volta a settimana mentre gli altri tre sono stati monitorati giornalmente.

La temperatura influisce sul consumo di ossigeno. Dal rapporto tra temperatura, fabbisogno di ossigeno e flusso di acqua necessario emerge che, a 5°C, 50 kg di astici richiedono 290 l di acqua di mare ogni ora per un'adeguata ossigenazione di ciascun individuo, a 10°C è necessario aumentare di una volta e mezzo la quantità di acqua, a 15°C è necessario aumentarla di due volte e mezzo, mentre a 20°C di tre volte e mezzo (Beard & McGregor 2004). Una temperatura di 20°C rappresenta il valore ottimale da utilizzare per un corretto allevamento della specie in quanto (Scovacricchi 1999).

Per quanto riguarda l'ossigeno disciolto gli astici sono in grado di tollerare per brevi periodi tassi ridotti di ossigenazione, ad esempio pari al 50% di saturazione, ma per garantire il benessere degli individui tale parametro dovrebbe essere costantemente mantenuto maggiore dell'80% di saturazione (Beard & Mc Gregor 2004); infine gli individui dovrebbero essere allevati con valori di salinità prossimi a quelli dell'acqua di mare, dato che non sono in grado di tollerare basse salinità e repentini cambiamenti dei suoi valori. La tolleranza di tale parametro varia durante lo sviluppo e risulta essere letale al 15-17‰ nelle larve al 12‰ nelle fase post-larvale e al 10‰ per gli adulti (Charmantier et al. 2001). Il valore minimo considerato accettabile per l'allevamento della specie è pari al 27‰ (Beard & Mc Gregor 2004). Inoltre l'ammoniaca disciolta in acqua deve essere mantenuta a valori inferiori di 1 ppm (Scovacricchi 1999).

2.3.3-Analisi statistica dei dati

I dati riguardanti la perdita delle uova nelle femmine stabulate nelle differenti postazioni sono stati analizzati con un modello di analisi della varianza parametrica (ANOVA) per fattori indipendenti. La tipologia di postazione (4 livelli) ha costituito l'unico fattore tra gruppi. Per i confronti multipli è stato utilizzato il test di Fisher (Fisher's PLSD). La soglia di significatività è stata $\alpha = 0.05$

2.2.4-Valutazione delle metodologie di stabulazione

I valori medi ottenuti riguardanti la perdita delle uova per ciascuna postazione sperimentale sono riportati in Figura 3.

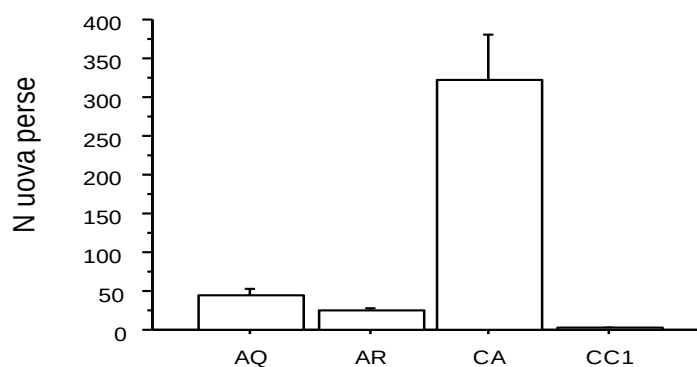


Figura 3-Perdita delle uova nelle differenti postazioni in 15 giorni di campionamento (media giornaliera $\pm$ SEM). **CA**: Circuito aperto (N=2); **AR**: Circuito aperto refrigerato (N=3), **AQ**: Acquario (N=1); **CC1**: Circuito chiuso (N=5).

L'analisi della varianza ha mostrato un effetto significativo della postazione ($F_{3.56} = 26.6$; $p < 0.0001$), dovuto principalmente ai valori assai elevati di perdita di uova nel circuito aperto (CA). Nel circuito aperto (CA) le femmine F1 e F2 hanno subito una perdita di uova molto elevata, significativamente superiore a quella subita dalle femmine stabulate nelle altre tre postazioni (confronti multipli AQ vs CA, AR vs CA, CA vs CC1 effettuati tramite Fisher's PLSD posthocs, $ps < 0.0001$).

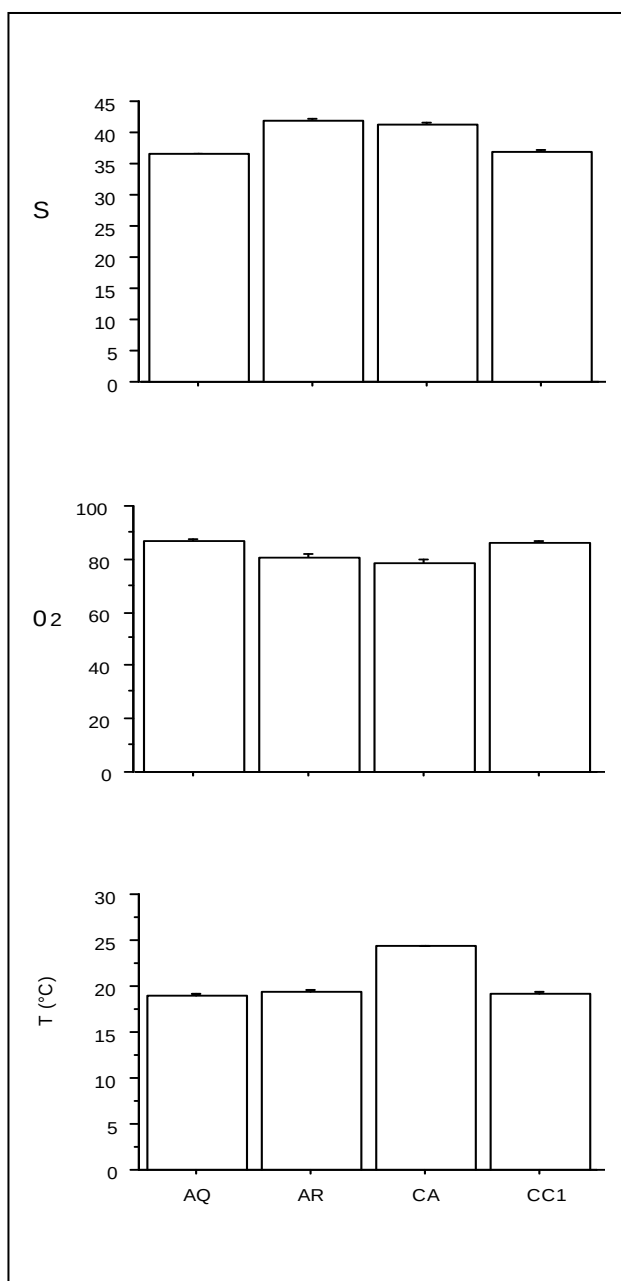


Figura 4-Parametri chimico-fisici dell'acqua (S: salinità ‰, O₂: ossigeno disciolto %, T: temperatura °C) I valori riportati sono medie giornaliere $\pm$ SEM. CA: Circuito aperto; AR: Circuito aperto refrigerato (N=3), AQ: Acquario; CC1: Circuito chiuso.

Nel circuito aperto refrigerato (AR) le femmine (F3, F4, F5) anche se in maniera meno marcata hanno perso un numero di uova elevato. In acquario (AQ) l'unica femmina stabulata (F6) ha subito una perdita elevata, mentre nel circuito chiuso (CC1) tutte le femmine (F7, F8, F9, F10, F11) hanno presentato una perdita irrilevante. Tali differenze non sono però risultate significative. I dati medi dei parametri chimico-fisici dell'acqua rilevati nelle differenti postazioni di stabulazione, sono riportati in Figura 4.

Per quanto riguarda la salinità l'analisi della varianza ha mostrato un effetto significativo della postazione ($F_{3,56} = 240.1$; $p < 0.0001$). I confronti multipli, eccetto AQ vs CC, sono risultati significativi; nel caso AR vs CA $p = 0.023$, in tutti gli altri casi $p < 0.0001$. La salinità riscontrata nei circuiti aperti (CA) e (AR) è evidentemente elevata e non è stato possibile intervenire per dolcificarla. Nel caso dell'acquario (AQ) e del circuito chiuso (CC1) è stato possibile dolcificare l'acqua mantenendo più stabile il valore.

Per quanto riguarda l'ossigeno disciolto l'analisi della varianza ha mostrato un effetto significativo della postazione ($F_{3,56} = 13.7$; $p < 0.0001$). I confronti multipli, eccetto AQ vs CC e AR vs CA, sono risultati significativi, nel caso AQ vs AR $p = 0.0002$ e AR vs CC $p = 0.0008$, in tutti gli altri casi $p < 0.0001$. L'ossigeno disciolto ha presentato valori minori nel caso del circuito aperto (CA) e (AR) mentre per le altre postazioni, probabilmente grazie ai

valori minori della temperatura e al contributo di pietre porose, l'ossigenazione riscontrata è stata maggiore.

Per quanto riguarda la temperatura l'analisi della varianza ha mostrato un effetto significativo della postazione ($F_{3,56} = 527.7$; $p < 0.0001$). I confronti multipli AQ vs CA, AR vs CA e CA vs CC sono risultati significativi ($ps < 0.0001$). Il circuito aperto (CA) ha presentato valori elevati mentre le rimanenti postazioni hanno avuto temperature leggermente inferiori a 20°C.

I valori dell'ammoniaca, per cui non sono state effettuate statistiche, sono riportati in Tabella 3 e sono risultati elevati nella postazione acquario (AQ).

Ammoniaca NH ₃	
CA	<1
AR	<1
AQ	<2>3
CC1	<1

Tabella 3-Ammoniaca rilevata nelle differenti postazioni.

L'elevata perdita di uova riscontrata nel circuito aperto (CA) è presumibilmente riconducibile all'elevata temperatura avutasi nelle due settimane di permanenza nel Centro, all'elevata salinità e alla mancanza di filtri volti a garantire la qualità dell'acqua. Nella postazione circuito aperto refrigerato (AR) le femmine hanno perso un numero minore di uova rispetto al circuito aperto (CA) non refrigerato, ma non in maniera significativa. Tuttavia, anche se in maniera meno cospicua, hanno continuato a perderne un numero importante probabilmente a causa dell'elevata salinità e dell'assenza di acqua opportunamente filtrata. Le problematiche riscontrate nella stabulazione a circuito aperto (CA) e (CR) possono essere riassunte come segue: i) temperatura > 20°C in alcuni mesi dell'anno, ii) salinità > 40‰ in quanto situati in una zona fortemente salina, iii) mancata filtrazione dell'acqua, iv) instabilità dei parametri.

In acquario (AQ) i valori dell'ammoniaca sono stati elevati e la femmina ha presentato una perdita di uova importante. Per la stabulazione si rendeva necessario quindi un impianto di filtrazione migliore.

Negli impianti a circuito chiuso (CC1), dove i valori dei parametri chimico-fisici sono stati mantenuti stabili e prossimi a quelli ideali di allevamento della specie, la perdita delle uova è stata trascurabile e probabilmente dovuta al contatto con il piccolo bordo della piattaforma inserita nella vasca del circuito. Non sono stati trovati in letteratura studi che

abbiano valutato la perdita delle uova delle femmine ovigere come parametro indicatore di benessere.

2.2.5-Discussione

In Norvegia presso l'Istituto di Ricerche Marine di Bergen le femmine ovigere vengono allevate in postazioni a circuito aperto in attesa di essere immesse nei circuiti a temperatura controllata (comunicazione personale Dott.ssa Agnalt Ann-Lisbet). Presso la società Norvegese "Lobster Farm COME", le femmine in attesa di essere trasferite negli impianti di allevamento vengono direttamente allevate in mare in una struttura appositamente costruita volta ad ospitare gli individui (comunicazione personale. Dresting Asbjørn; Figura 5).

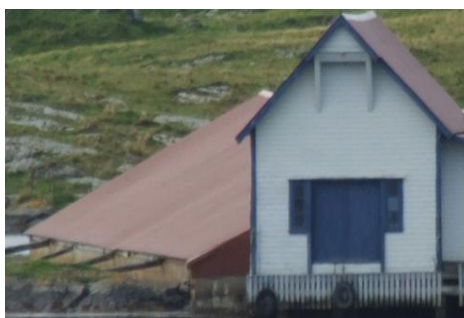


Figura 5-Impianto di allevamento delle femmine presso la *Lobster Farm COME* in Norvegia.

Durante il progetto di *restocking* nell'alto Adriatico le femmine sono state stabulate in impianti a circuito aperto riscaldati (Scovacricchi 1999).

Nel nostro caso questa tipologia di postazione non ha riscontrato successo a causa dei parametri chimico-fisici dell'acqua non conformi allo standard per un corretto allevamento della specie.

I risultati ottenuti confermano che il miglior successo di stabulazione per le femmine ovigere si ha in postazioni a circuito chiuso mantenendo stabili i parametri chimico-fisici dell'acqua vicino ai valori ottimali di allevamento e seguendo le procedure riportate nel paragrafo 2.2.2 e che altre possibilità sono da escludere. Il circuito chiuso inoltre consente di manipolare i tempi di schiusa, dato che nella specie *Homarus* essi sono dipendenti dalla temperatura (Templeman 1936; Perkins 1972; Branford 1978; MacKenzie 1988; Charmantier & Guillaume 1992; MacDiarmid & Saint-Marie 2006). Le femmine presenti stabulate con valori medi della temperatura di 19,2°C, hanno avuto un periodo di incubazione di circa 4/5

mesi. Presso il Centro sono disponibili 2 circuiti chiusi aventi rispettivamente 10 e 7 vasche. E' possibile quindi ospitare un totale di 17 femmine ovigere ed esercitare un controllo sui tempi di schiusa mediante l'utilizzo degli impianti di controllo della temperatura, potendo fornire in tal modo una rotazione delle schiuse, utile ad accrescere il potenziale di produzione del Centro.

I risultati ottenuti analizzando la perdita di uova delle 11 femmine nei primi quindici giorni di permanenza presso il Centro sono stati confermati dai risultati ottenuti al momento della schiusa. Le femmine F1 ed F2, stabulate nel circuito aperto e la femmina F6, stabulata in acquario, hanno perso completamente le uova. La femmina F5, allevata in circuito aperto refrigerato ha presentato a maturazione pochissime uova (meno di un centinaio) di pessimo aspetto ricoperte di una patina nera oleosa da cui sono schiuse poche larve sopravvissute pochi giorni. Viceversa le femmine F7, F8, F9, F10, F11, stabulate a circuito chiuso sono arrivate a maturazione mantenendo un numero di uova simile a quello di partenza e in buone condizioni.

Inoltre le femmine F1, F3, F4 allevate nel circuito aperto (AC) e (CA) durante il mese di dicembre 2008, sono morte in concomitanza di un alluvione avvenuta nella zona delle Saline. In questi giorni l'acqua in entrata presentava valori del 33‰ di salinità, riscontrando un forte carico di fango che non è stato possibile rimuovere a causa dell'assenza di filtri utilizzabili in tale circuito. A seguito della morte delle femmine si è scelto di effettuare l'analisi dell'acqua in entrata, dove il risultato è stato che i solfati erano presenti in concentrazioni molto elevate pari a 5.000/6.000 mg/l.

Si pensa quindi che la morte si da attribuire ad una serie di cause preesistenti (qualità dei parametri dell'acqua non conformi) che hanno reso deboli le femmine di fronte al parametro così elevato dello zolfo, ad un forte carico di fango e ad un elevato sbalzo del valore della salinità.

2.3-Allevamento di larve planctoniche

2.3.1-Vasche di schiusa

Nel periodo in prossimità della schiusa le femmine sono state trasferite nelle tre sale parto, ciascuna costituita da una vasca contenente 65 l di acqua, con un input proveniente da una pompa immessa nel circuito chiuso (CC1) volto a garantire la qualità dell'acqua.

L'acqua veniva convogliata in un tubo in PVC forato nella sua lunghezza, immettendosi nella vasca garantendo sia l'ossigenazione, sia un flusso superficiale utile a convogliare le larve nate negli appositi contenitori di raccolta (Figura 1).



Figura 1-Vasche per la schiusa delle uova.



Figura 2-Contenitori per la raccolta delle larve.

La vasca è stata forata superficialmente per convogliare tramite tre tubi le larve in un contenitore che evitasse la fuoriuscita degli individui (Figura 2). La movimentazione del flusso volta a diminuire il cannibalismo è stata garantita da una pietra porosa immessa all'interno dei contenitori.

I parametri chimico-fisici dell'acqua sono stati monitorati giornalmente durante il periodo di schiusa per ciascuna femmina ottenendo i risultati riportati in Tabella 1, che mostrano una elevata stabilità (non sono state riscontrate differenze significative in nessuno dei parametri).

Femmine	Temperatura °C	Salinità ‰	Ossigeno % saturazione	Ammoniaca
F7	19.4±0.4	37±0.5	86±3	>1
F8 F9	19.5±0.4	37±0.9	88±2	>1
F10	19.3±0.3	36±0.8	83±3	>1
F11	19.4±0.3	37±0.5	86±2	>1

Tabella 1-Medie giornaliere dei parametri chimico-fisici registrati per ciascuna femmina durante la schiusa.

Le larve schiuse sono state prelevate alle 9:00 e alle 23:00, sono state contate e immediatamente trasferite nelle vasche di allevamento larvale. I risultati delle conte sono riportati in Tabella 2.

F2	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
0	7	0	840	12.997	9615	13.149	5.316

Tabella 2-Totale delle larve schiuse per ciascuna femmina.

Il numero di larve schiuse per ciascuna femmina risulta essere correlato positivamente alla lunghezza del carapace e del peso. Per esempio, astici di 450-1.500 gr in genere rilasciano 800-13.000 larve (Beard & Wikins 1992; Agnalt 2008). Le femmine arrivate presso il centro hanno avuto un numero di schiuse limitato rispetto al loro peso corporeo; è possibile che ciò sia dovuto alla metodologia con cui le femmine sono state catturate. La cattura, in genere effettuata tramite nasse, è stata invece effettuata tramite reti da posta. Questo metodo potrebbe aver comportato la perdita di una parte delle uova delle femmine che avrebbero potuto dimenarsi per cercare di liberarsi. Le femmine F7 e F11 hanno presentato un numero limitato di schiuse dovuto al basso numero di uova che presentavano all'arrivo presso il Centro. La Femmina F5, stabulata nel circuito aperto dell'impianto, ha prodotto soltanto 7 larve, morte nel giro di 2 giorni. Le femmine F8, F9 e F10 aventi all'arrivo un buon numero di uova ancorate all'addome e stabulate nel circuito chiuso (CC1), hanno presentato un buon numero di larve schiuse. La schiusa si verifica nel corso di più notti. La dinamica temporale del numero di larve schiuse ogni giorno è riportata in Figura 3.

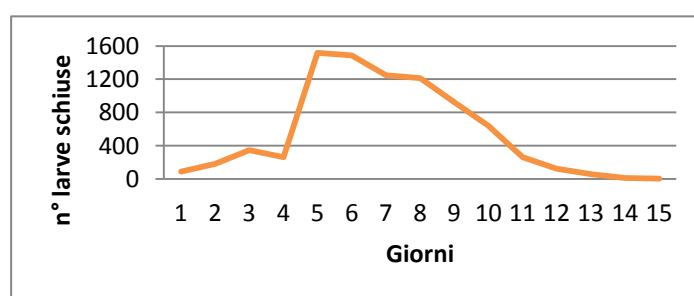


Figura 3-Media giornaliera delle larve schiuse dalle femmine ovigere (F7, F8, F9, F10, F11).

La fase di schiusa delle larve è durata dai dodici ai quindici giorni. Dalle medie dei dati raccolti emerge che le nascite hanno un andamento crescente fino a raggiungere il loro picco massimo durante il sesto giorno di permanenza nelle vasche di schiusa, per poi diminuire fino al completamento della schiusa.

2.3.2-Vasche di allevamento

Durante l'anno 2009 sono stati progettati e costruiti due circuiti di contenitori larvali (1 e 2), ciascuno formato da 10 vasche troncoconiche (abbeveratoi per pollame sezionati nella parte superiore) contenenti 20 l di acqua ciascuna. Entrambi i circuiti sono stati attrezzati con l'apparato di movimentazione dell'acqua del tipo descritto da Hughes et al. (1974; Figura 1), che consente di ottenere una distribuzione omogenea delle larve e del cibo grazie alla movimentazione spirale ottenuta; nel nostro caso il tubo di carico non è stato immerso all'interno del filtro, ma collocato fuori da esso (Figura 2 Figura 3).

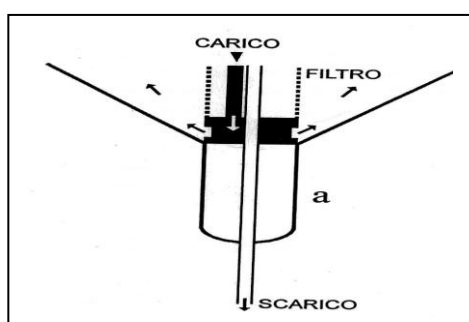


Figura 1-Particolare dell'apparato di movimentazione (Hughes et al. 1974).

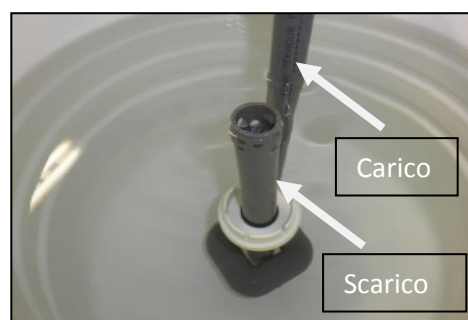


Figura 2-Particolare dell'apparato di movimentazione.

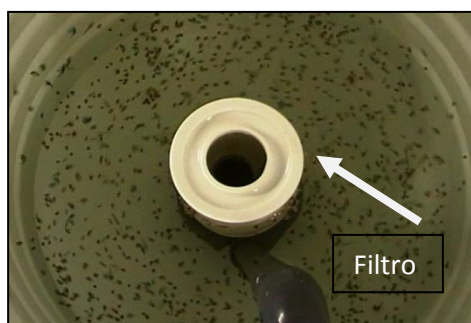


Figura 3-Singola vasca con filtro; veduta dall'alto.



Figura 4-Circuito 1 costituito da 10 contenitori.

Il flusso in entrata è stato garantito da una pompa che immetteva acqua del circuito chiuso (CC2) negli appositi contenitori. L'acqua veniva convogliata in basso e al centro di ogni singola vasca e lo scarico è stato ricoperto da un filtro per impedire la fuoriuscita delle larve (Figura 3). Le vasche sono state collegate tra loro e appoggiate su un piedistallo di metallo (Figura 4). I contenitori sono stati dotati di una pietra porosa da azionare nel momento in cui per problemi tecnici, si è ritenuto necessario fermare il flusso.

2.3.3-Prove di alimentazione

L'alimentazione per le larve planctoniche consigliata è rappresentata da esemplari di artemia salina appena schiusa arricchita (Browne et al. 2009). In Norvegia, presso l'Istituto di Biologia Marina di Bergen, la tipologia di alimentazione utilizzata per l'accrescimento delle larve è rappresentata da artemia surgelata arricchita (Dott.ssa Agnalt Ann-Lisbet, comunicazione personale), mentre presso la "Lobster Farm CAME" di Stavanger l'alimentazione delle larve consiste in mangime secco per crostacei (Drengsting Asbjørn, comunicazione personale). La sopravvivenza delle larve è influenzata dalla qualità dell'acqua, dalla temperatura, dalla densità di allevamento, e dal cibo somministrato.

Per rendere efficienti i circuiti di allevamento i parametri chimico-fisici dell'acqua sono stati mantenuti stabili e ottimali in quanto si è utilizzata acqua proveniente da circuito chiuso (CC2). In particolare, durante la fase planctonica delle larve, sono stati registrati i valori medi riportati in Tabella 1. L'ammoniaca misurata settimanalmente non ha riscontrato valori maggiori di 1ppm.

Temperatura °C	Ossigeno % saturazione	Salinità‰	Ammoniaca ppm
19.5±0.4	86%±3	37±0.4	<1

Tabella 1-Medie giornaliere dei parametri chimico-fisici registrati.

Essendo le larve molto sensibili alla qualità dell'acqua, è stato utilizzato un ulteriore sterilizzatore UV da 40 Watt prima che l'acqua entrasse nei contenitori. E' stato scelto di utilizzare per ciascun contenitore sperimentale una densità di allevamento pari a 2 larve/litro. Delle 840 larve provenienti dalla femmina F7 (2009) 800 sono state sottoposte a cinque differenti tipologie di alimentazione, in quanto tale aspetto è importante per mantenere accettabili i tassi di cannibalismo in termini di corretta circolazione nella colonna d'acqua e per il corretto accrescimento degli individui in termini di valori nutrizionali. Le cinque tipologie di alimentazione sono riportate in Tabella 3.

In primo luogo si è proceduto a verificare la buona circolazione degli alimenti in assenza di individui mantenendo un flusso in entrata di 160 ml/s che ha garantito la sospensione delle diverse tipologie di alimentazione. Le larve sono state successivamente suddivise in 20 gruppi di 40 individui e ciascun gruppo è stato immediatamente sistemato in un contenitore di allevamento (Tabella 2).

	Alimentazione	Postazione
AV	Artemia viva	1a/1b/1c/1d
AS	Artemia surgelata arricchita	1e/1f/1g/1h
MC	Mangime	1i/1l/2a/2b
MY	Mysis	2c/2d/2e/2f
MS	Cozze e Gamberi. surgelati	2g/2h/2i/2l

Tabella 2-Alimentazione e postazione dei campioni nei singoli contenitori.

Le larve di ciascun gruppo avevano una differenza di età non superiore di due giorni in quanto la minimizzazione delle differenze di età costituisce un fattore cruciale per diminuire il tasso di cannibalismo (Dott.ssa Agnalt Ann-Lisbet, Dresting Asbjørn, comunicazione personale). In Allegato B sono riportate le date di immissione degli individui nei contenitori dei circuiti allestiti. La quantità di alimentazione non è stata stabilita in base alla razione giornaliera necessaria all'accrescimento delle larve, pari al 2% rispetto al peso corporeo, ma la quantità somministrata è stata notevolmente superiore, in quanto per minimizzare il cannibalismo, maggiore è la concentrazione di alimentazione immessa minore è la probabilità che le larve interagiscano tra loro (Dott.ssa Agnalt Ann-Lisbet, comunicazione personale). Le quantità di somministrazione considerata per ciascun alimentazione è stata scelta valutando che il cibo si distribuisse in modo uniforme nella colonna d'acqua del contenitore. I valori scelti sono riportati in Tabella 3. Tutti gli alimenti sono stati somministrati cinque volte al giorno alle 9:00, 12:00, 15:00, 18:00 e 23:00. Alle ore 23:00 si è scelto di aumentare la quantità di cibo immessa per fare fronte alle ore notturne di attesa più lunghe.

	AV	AS	MC	MS	MY
9:00	1g	6g	1g	6g	6g
12:00	1g	6g	1g	6g	6g
15:00	1g	6g	1g	6g	6g
18:00	1g	6g	1g	6g	6g
23:00	2g	8gr	2g	8g	8g
Totale giornaliero	6g	32g	6g	32g	32g

Tabella 3-Quantità di cibo utilizzate giornalmente nei singoli schiuditoi.

Per i campioni ad artemia viva e mangime (AV, MC) sono stati utilizzati i filtri a tramatura molto piccola per impedire la fuoriuscita del cibo mentre per le restanti tipologie di alimentazione, mysis (MY), mitili surgelati (MS) e artemia surgelata (AS) sono stati utilizzati filtri a tramatura più grande.

Per valutare l'efficienza delle varie tipologie di alimentazione sia in termini di buona circolazione nella colonna d'acqua che in termini di accrescimento e aspetto delle larve sono stati considerati come parametri indicativi la sopravvivenza e il peso degli individui sperimentali. Sono state effettuate due conte, una sette giorni dopo l'inizio dell'esperimento e una finale effettuata quantificando gli individui divenuti bentonici nelle differenti postazioni. Una volta divenuti bentonici, gli individui sono stati prelevati dai contenitori di allevamento planctonico, privati dell'acqua in eccesso appoggiandoli su carta assorbente da laboratorio e subito dopo pesati tramite una bilancia analitica da laboratorio (ACCULAB "ALITON" Max 220g, d=0,1 mg).

2.3.4-Analisi statistica dei dati

I dati riguardanti le conte per valutare la sopravvivenza nei 5 gruppi allevati con differenti tipologie di alimentazione sono stati analizzati con un modello di analisi della varianza parametrica (ANOVA) per misure ripetute. La tipologia di alimentazione (5 livelli) ha costituito il fattore tra gruppi, mentre le conte (2 livelli) ha costituito il fattore entro gruppi. Per i confronti multipli (posthocs) è stato utilizzato il test di Tukey.

I dati riguardanti i pesi nei tre gruppi allevati con differenti tipologie di alimentazione sono stati analizzati con un modello di analisi della varianza parametrica per fattori indipendenti. La tipologia di alimentazione (3 livelli) ha costituito l'unico fattore tra gruppi. Per i confronti multipli è stato utilizzato il test di Fisher (Fisher's PLSD). Per tutte le analisi la soglia di significatività è stata $\alpha = 0.05$

2.3.5-Valutazione delle tipologie di alimentazione

Durante la prima settimana le percentuali di sopravvivenza delle larve sono state piuttosto omogenee aggirandosi intorno all'80% e con piccole differenze tra le differenti diete. Sono emerse invece differenze marcate e statisticamente significative in funzione del tipo di alimentazione alla seconda conta (ANOVA per misure ripetute: dieta $F_{4.15} = 122.7$, $p < 0.0001$; prima conta vs seconda conta $F_{1.15} = 2695.0$, $p < 0.0001$; interazione dieta x conte $F_{4.15} = 103.5$, $p < 0.0001$; Figura 5).

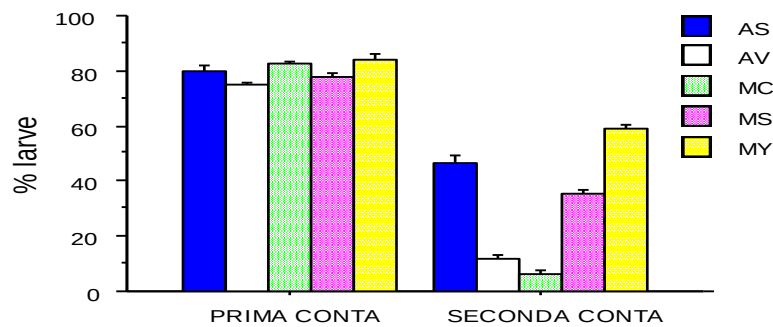


Figura 5- Sopravvivenza delle larve planctoniche allevate con differenti alimentazioni relativa alla prima conta (dopo 6 giorni) e alla seconda conta finale (individui divenuti bentonici). I valori sono % medie $\pm$ SEM. **AV**:Artemia viva; **AS**:Artemia surgelata; **MS**: Mitili surgelati; **MY**: Mysis surgelato, **MC**: Mangime per crostacei.

Gli individui alimentati con mangime commerciale (MC) e artemia viva (AV) hanno avuto una sopravvivenza assai bassa pari al 6-12%; in entrambi i gruppi si è notato che l'alimentazione non rimaneva a lungo distribuita nella colonna d'acqua, ma veniva nel giro di poco tempo attratta dal flusso in uscita rimanendo intrappolata nel filtro lasciando gli individui senza cibo per lunghi periodi. Inoltre, nel caso dell'artemia viva, il mancato passaggio dell'alimentazione dal filtro ha richiesto una manutenzione impegnativa giornaliera di pulizia. Le poche larve divenute bentoniche presentavano comunque una buona colorazione scura e un buon aspetto.

Per quanto riguarda cozze e gamberi surgelati (MS) la sopravvivenza è stata del 36%; il cibo tendeva ad accumularsi sul fondo della vasca molto presto dopo la somministrazione. Ciò ha richiesto un'impegnativa manutenzione giornaliera di rimozione del cibo e di pulizia del filtro in quanto una certa porzione dell'alimentazione spezzettata era troppo grande per passare nelle tramature del filtro.

Gli individui alimentati con l'artemia surgelata (AS) hanno avuto una sopravvivenza assai maggiore (47%); il cibo rimaneva distribuito nella colonna d'acqua per un periodo di tempo non sufficiente a garantire la copertura completa tra una somministrazione all'altra. Grazie alla tramatura del filtro una buona percentuale del residuo di cibo riusciva a passare nello scarico e la pulizia è stata effettuata una volta ogni sette giorni.

Il Mysis surgelato (MY) ha fornito i migliori risultati, con una sopravvivenza del 59%; si è riscontrata un'adequata circolazione del cibo, che è rimasto in sospensione nella colonna per un tempo opportuno a coprire gli intervalli di somministrazione garantendo costantemente cibo alle larve. La manutenzione è risultata semplificata in quanto la pulizia del filtro è stata effettuata una volta ogni sette giorni.

Per la fase bentonica si è proceduto quindi a selezionare le tre alimentazioni che hanno riportato i risultati migliori: artemia surgelata (AS), cozze e gamberi surgelati (MS) e mysis surgelato (MY). I pesi degli individui bentonici alimentati con queste tre tipologie sono riportati in Figura 6.

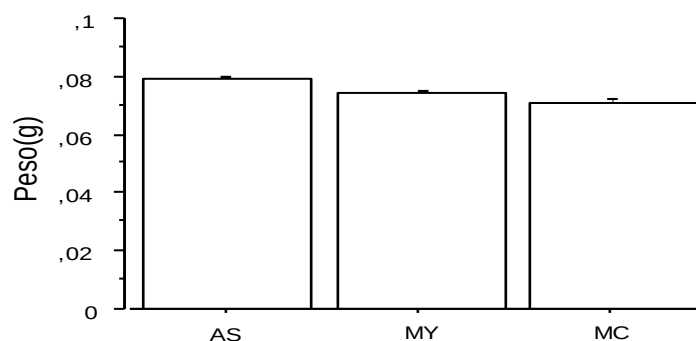


Figura 6-Peso degli individui bentonici sottoposti a differenti alimentazioni. I valori riportati sono medie $\pm$ SEM. **AS**:Artemia surgelata; **MS**: Mitili surgelati; **MY**: Mysis surgelato.

L'analisi statistica ha mostrato un effetto generale significativo della dieta (ANOVA $F_{2,211} = 44.7$, $p < 0.0001$, confronti multipli Fisher's PLSD $ps < 0.0001$; Figura 6), anche se la magnitudine delle differenze appare molto piccola (non oltre il 10%). Gli individui alimentati a cozze e gamberi surgelati (MS) risultano essere i più leggeri e si è inoltre osservata una colorazione celeste del carapace; gli individui alimentati a mysis (MY) hanno presentato un peso maggiore, ma la colorazione osservata è risultata essere chiara biancastra. Gli individui alimentati con artemia surgelata (AS), hanno presentato il peso più elevato, inoltre la colorazione del carapace si presentava blu scuro.

2.3.6-Discussione

Il confronto tra le differenti tipologie di alimentazione suggerisce che i naupli di artemia viva (AV) sono associati a un tasso di sopravvivenza molto basso. Ciò è probabilmente dovuto a una cattiva circolazione del cibo nella colonna d'acqua delle vasche, che ha richiesto una manutenzione per la rimozione del cibo molto impegnativa. Anche i molluschi surgelati (MS) tritati non hanno dato una buona sopravvivenza e l'accrescimento delle larve non è stato soddisfacente richiedendo, anche in questo caso, una manutenzione per la rimozione del cibo impegnativa. L'artemia surgelata arricchita (AS) ha fornito un buon accrescimento delle larve, ma la circolazione di questa tipologia di cibo nella colonna d'acqua non è stata del tutto soddisfacente ed è stata associata a un tasso di sopravvivenza intermedio. Il mysis (MY) ha

invece riportato un buon tasso di sopravvivenza, anche se la colorazione degli individui appariva troppo chiara.

In seguito a questi risultati è stata effettuata una scelta di alimentazione integrata mantenendo di base il mysis per garantire la presenza di cibo nella colonna d'acqua, cercando di minimizzare il cannibalismo tra gli individui, e aggiungendo alla quantità di base stabilita precedentemente un'integrazione di artemia surgelata arricchita per garantire la qualità delle larve in termini di colorazione e accrescimento. Il protocollo alimentare utilizzato per le larve nate durante l'anno 2010 è riportato in Tabella 4.

	AS	MY
9:00	2g	6g
12:00	2g	6g
15:00	2g	6g
18:00	2g	6g
21:00	4g	8g
Totale giornaliero	12 g	32g

Tabella 4-Quantità di cibo stabilita da utilizzare giornalmente nei singoli schiuditoi.

La quantità giornaliera scelta per singolo contenitore è stata di 44 g di alimento totale di cui 32 g di mysis (corrispondenti a 16 cubetti) e 12 g di artemia surgelata arricchita (corrispondenti a 6 cubetti). Si rendono quindi necessari 820 g di cibo giornalieri (corrispondenti a 320 cubetti di mysis e 240 cubetti di artemia surgelata arricchita) per alimentare tutti i contenitori dei circuiti 1 e 2

2.3.7-Valutazione del potenziale di produzione delle larve planctoniche

Nel 2010 le larve planctoniche sono state alimentate rispettando il protocollo alimentare descritto alla fine del paragrafo precedente.

Per valutare il potenziale di produzione dei circuiti di allevamento planctonico allestiti, in ciascun contenitore si è proceduto a verificare la sopravvivenza delle larve planctoniche. Sono stati utilizzati 3.000 individui provenienti dalla femmina F11 suddivisi in maniera randomizzata in 20 vasche da 20 l contenenti 150 individui ciascuno (pari a densità di allevamento di 7.5 larve/l). Le postazioni di allevamento utilizzate sono riportate in Tabella 5.

Circuito	Vasche	N individui/vasca	N Gruppo	Data
1	1a,1b,1c,1d,1e 1f,1g,1h,1i,1f	150	1.500	14- 15/03/2011
2	2a,2b,2c,2d,2e 2f,2g,2h,2i,2f	150	1.500	14- 15/01/2011

Tabella 5-Distribuzione dei campioni di allevamento delle larve planctoniche.

Giornalmente sono stati monitorati i parametri chimico-fisici del circuito chiuso (CC1) mantenendo le condizioni medie riportate in Tabella 6.

Temperatura	Ossigeno disciolto	Salinità	Ammoniaca
19.2±0.3	89.3%±2.6	36.6±1.1	<1

Tabella 6-Medie giornaliere dei parametri chimico-fisici registrati.

La sopravvivenza nelle singole vasche è stata valutata effettuando una conta degli individui divenuti bentonici per ciascun campione. Nel complesso i due circuiti allestiti hanno riscontrato una produzione media pari al 63% di individui passati allo stato bentonico, superiore a quella ottenuta l'anno precedente utilizzando separatamente sia Mysis, sia Artemia. A una densità di 7.5 larve/litro e rispettando il protocollo alimentare stabilito i circuiti allestiti sono in grado di allevare circa 1800 larve ogni 13-14 giorni, tempo necessario alle larve per terminare l'intera fase planctonica. Inoltre vista la predisposizione del Centro, è possibile allestire un'altra coppia di circuiti di allevamento, raddoppiando le postazioni disponibili ad accogliere le larve e portando in tal modo il potenziale di produzione a circa 3.600 larve bentoniche per ciclo.

2.4-Allevamento di larve bentoniche

2.4.1-Celle di accrescimento

Gli astici mostrano elevata aggressività e cannibalismo quando si trovano ad alte densità e in condizioni di allevamento intensivo spesso si riscontra un'elevata mortalità (Van Olst et al. 1975; Sastry & Zeitlin-Hale, 1977; Aiken & Waddy, 1995; Jorstad et al. 2001). Al contrario, individui giovani allevati singolarmente hanno mostrato alti tassi di sopravvivenza (Beard et al. 1985; Aiken & Waddy 1988; Waddy 1988). Per tali motivazioni si è scelto di allevare gli individui bentonici singolarmente in celle separate.

Sono state utilizzate due tipologie di griglie (strutture in cui sono disposte le singole celle). Nel 2009 sono state costruite tre griglie contenenti ciascuna 131 celle quadrate in PVC (lato 10 cm, altezza 5 cm) unite tra loro tramite silicone atossico. La struttura è stata fissata ad un telaio in plastica e dotata di galleggianti ancorati sui lati (Figura 1). Le 393 postazioni totali ottenute sono state utilizzate per ospitare i 230 individui divenuti bentonici dalla femmina F7. Nel 2010 sono state allestite 17 griglie composte da 100 celle circolari ciascuna (diametro 7 cm, altezza 3 cm) e la struttura è stata fissata a tubi di metallo vuoti che hanno permesso il galleggiamento delle singole celle. In questo modo è stato possibile ricavare 1.700 postazioni per stabulare le larve bentoniche provenienti dalle femmine F8, F9, F10 e F11 (Figura 2).

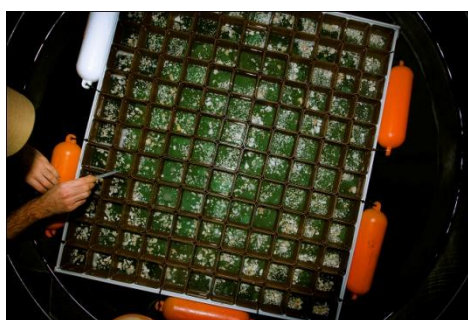


Figura 1-Griglia sperimentale con celle quadrate (2009). Figura 2-Griglia sperimentale con celle rotonde (2010).

Entrambe le griglie erano dotate di una rete in plastica collocata sul fondo della struttura con trama di 2 mm fissata ai bordi delle celle tramite silicone atossico. Le griglie sono state poste sulla superficie delle vasche dei circuiti chiusi (CC) con un'altezza dell'acqua pari a 2 cm.

La griglia sperimentale allestita nel 2009 ha richiesto un complicato e lungo lavoro avendo dovuto preparare e unire le singole celle ricavate da tubi discendenti in PVC. La preparazione

della griglia allestita nel 2010 è stata relativamente semplice in quanto è stato possibile reperire sezioni di 50 celle già unite tra loro.

In ogni singola cella di accrescimento sono state inserite conchiglie calcaree reperite presso la costa (Figura 3, Figura 4), in quanto il corretto sviluppo della chela da frantumazione si sviluppa tramite l'esercizio fisico tra il primo stadio bentonico e quello adulto (Wickins 1986). Negli esemplari di allevamento dove manca questa possibilità di esercizio a causa della totale assenza di substrati naturali e conchiglie sulle quali fare pratica è stato osservata la presenza di individui con entrambe le chele dedicate al taglio. Ciò incide negativamente non solo sulla capacità di alimentarsi correttamente in natura, ma anche nelle interazioni intra-specifiche e sulla capacità di difendersi dai predatori. Le chele da taglio infatti si dimostrano meno efficaci nelle lotte tra maschi e sono più soggette a rottura di quelle da frantumazione. Per ovviare a questo inconveniente è sufficiente inserire sassi e gusci di conchiglie negli ambienti in cui alloggiano gli animali (Wickins 1986).



Figura 3-Gusci di conchiglie immessi nelle celle.



Figura 4-Larva bentonica nella cella.

2.4.2-Prove di alimentazione

Nel seguente esperimento sono state valutate differenti tipologie di alimentazione allo scopo di individuare quelle migliori in termini di sopravvivenza dei giovani astici bentonici.

Sono stati considerati 350 individui divenuti bentonici il 13-14/01/2011 provenienti dalle femmine F8 e F9, selezionati e immessi in 4 griglie sperimentali del circuito chiuso (CC1) in maniera randomizzata. Le larve bentoniche sono state suddivise in 7 gruppi sperimentali ognuno composto da 50 individui e sottoposto a una differente tipologia di alimentazione (Tabella 1). In Allegato C sono riportate le descrizioni degli alimenti.

	Alimentazione	Postazione
M	Mangime	GS1a
F	Fresco (gamberi e salmone)	GS2a
K	Krill surgelato	GS3a
M+F	Mangime + Fresco	GS1b
M+K	Mangime + Krill	GS2b
F+K	Fresco + Krill	GS3b
M+F+K	Mangime + Fresco + Krill	GS4a

Tabella 1-Alimentazione e postazione dei campioni.

Tutti gli individui considerati provenivano dalla stessa alimentazione di base nella fase planctonica consistente in Mysis e Artemia adulta surgelata arricchita.

La qualità dei parametri chimico-fisici dell'acqua è stata garantita mantenendo i valori prossimi a quelli ottimali per l'allevamento della specie. Le medie giornaliere dei parametri misurati sono riportate in Tabella 2.

Temperatura °C	Ossigeno % saturazione	Salinità‰	Ammoniaca ppm
19.6±0.5	88%±3	37±0.4	<1

Tabella 2-Medie giornaliere dei parametri chimico-fisici.

Gli individui sono stati alimentati il giorno successivo all'immissione nelle celle di allevamento. L'alimentazione è stata somministrata ogni giorno in quantità superiore al fabbisogno reale dell'individuo (2% del peso dell'animale). Prima della somministrazione si è proceduto alla pulizia delle celle utilizzando un piccolo sifone per la rimozione degli alimenti del giorno precedente. La sopravvivenza è stata valutata effettuando due conte una dopo 30 giorni e una dopo 60 giorni.

2.4.3-Analisi statistica dei dati

I dati riferiti alla sopravvivenza degli individui bentonici allevati in singole celle e sottoposti a differenti tipologie di alimentazione (**M**= Mangime; **K**= Krill surgelato; **F**= Gamberi e salmone freschi; **M+F**; **K+F**; **M+K**; **M+K+F**), riscontrati nelle due conte effettuate dopo 30 e dopo 60 giorni, sono stati analizzati mediante il test χ^2 (CHI-QUADRATO).

2.4.4-Valutazione delle tipologie di alimentazione

Le percentuali di sopravvivenza dei giovani astici sottoposti a differenti tipologie di alimentazione riscontrate dopo 30 e 60 giorni sono riportate in Figura 5.

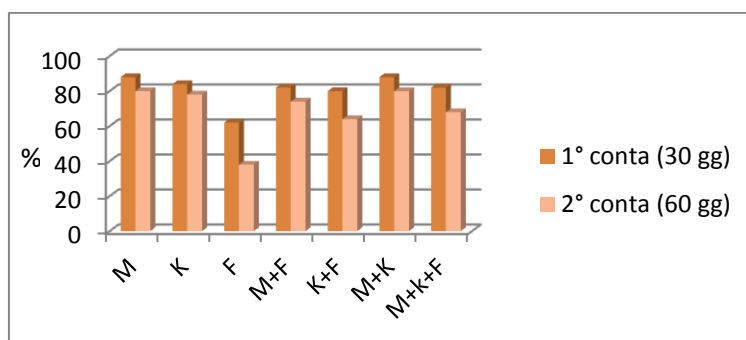


Figura 5-Sopravvivenza delle larve bentoniche allevate con differenti alimentazioni dopo 30 giorni e dopo 60 giorni. **M**: Mangime; **K**: Krill surgelato; **F**: Gamberi e salmone freschi.

Complessivamente la sopravvivenza è diminuita in media del 20% dopo 30 giorni e del 32% dopo 60 giorni.

L'analisi statistica (Test χ^2 CHI-QUADRATO) ha mostrato un effetto significativo della trattamento nelle due conte effettuate anche se in maniera meno marcata nella prima. (Prima conta, df=6 p= 0.02; Seconda conta, df=6 p=0.00002). In Tabella 3 sono riportati i dati utilizzati per il calcolo del test del chi-quadrato.

(a)

ALIMENTI	SopravOsserv1	SopravAttesi1	MortiOsserv1	MortiAttesi1	Totale
M	44	40,42857	6	9,571429	50
K	42	40,42857	8	9,571429	50
F	31	40,42857	19	9,571429	50
M+F	41	40,42857	9	9,571429	50
K+F	40	40,42857	10	9,571429	50
M+K	44	40,42857	6	9,571429	50
M+k+F	41	40,42857	9	9,571429	50
Totale	283		67		350

(b)

ALIMENTI	SopravOsserv1	SopravAttesi1	MortiOsserv1	MortiAttesi1	Totale
M	40	34,42857	10	15,57143	50
K	39	34,42857	11	15,57143	50
F	19	34,42857	31	15,57143	50
M+F	37	34,42857	13	15,57143	50
K+F	32	34,42857	18	15,57143	50
M+K	40	34,42857	10	15,57143	50
M+k+F	34	34,42857	16	15,57143	50
Totale	241		109		350

Tabella 3- Dati relativi la sopravvivenza dei giovani bentonici. **(a)** = Prima conta dopo 30 giorni; **(b)** = Seconda conta dopo 60 giorni.

Il gruppo allevato con gamberi e salmone freschi (F) ha mostrato il tasso di sopravvivenza minore. In questo caso la mortalità degli individui si manifestava prevalentemente durante i processi di muta. La letteratura (Brock 1993) fa riferimento alla cosiddetta MDS (Molt Death Syndrome), una patologia che colpisce le larve durante la delicata fase dell'esuviazione. L'eziologia della sindrome non è del tutto chiara, ma si presume possa derivare da un'alimentazione non perfettamente conforme alle esigenze delle larve. Nel totale dei 31 decessi riscontrati in questo gruppo sperimentale 25 sono avvenuti durante la fase di muta rimanendo intrappolati nel proprio carapace. Nel caso delle alimentazioni integrate (M+F, K+F, M+F+K) la sopravvivenza riscontrata è stata minore rispetto ai rimanenti gruppi sperimentali considerati; la sindrome si è presentata anche se in maniera meno marcata rispetto al gruppo allevato con alimentazione fresca (F). Nel gruppo (M+F) si è avuto un solo decesso per tale motivazione, nel gruppo (K+F) ne sono stati registrati quattro, mentre nel gruppo (M+K+F) due. I rimanenti gruppi (M, K e M+K) hanno mostrato il tasso di sopravvivenza migliore e la sindrome non è stata riscontrata.

2.4.5-Discussione

Valutando i dati ottenuti, si consiglia di non utilizzare l'alimentazione composta da gamberi e salmone freschi. Si consiglia inoltre di escludere anche le alimentazioni composte da un'integrazione tra mangime e fresco, Krill surgelato e fresco, mangime, fresco e Krill surgelato, in quanto tali gruppi hanno riscontrato sopravvivenze inferiori rispetto alle rimanenti alimentazioni valutate e, anche se in maniera meno marcata la sindrome MDS si è manifestata. Viceversa Al i gruppi sperimentali allevati con mangime commerciale per crostacei, Krill surgelato e l'integrazione di queste due tipologie di alimentazione hanno mostrato i tassi di sopravvivenza migliori e le larve apparivano di buon aspetto e vitalità

2.5-Analisi comportamentale di giovani astici bentonici allevati in differenti condizioni

2.5.1-Materiali e metodi

Nel presente lavoro si è scelto di approfondire le conoscenze relative al comportamento dei giovani astici allo scopo di migliorare sia le tecniche di allevamento adottate sia il successo del rilascio degli individui in natura. Nel primo caso si è scelto di valutare alcuni profili comportamentali sociali legati alle interazioni adottate dagli individui allevati in differenti condizioni, nel secondo caso si è scelto di valutare alcuni profili comportamentali esplorativi non sociali legati all'utilizzo di un riparo.

In etologia molti tipi di ricerche ed esperimenti che implicano l'osservazione diretta di animali richiedono la misurazione in termini quantitativi di categorie ed elementi comportamentali che si svolgono in sequenze temporali. Il disegno sperimentale (metodi di campionamento, numero di categorie di eventi, numero di eventi da registrare per unità di tempo, numero di soggetti su cui focalizzare le osservazioni) e il luogo (laboratorio o contesto naturale) dove avvengono le osservazioni costituiscono fattori cruciali per una corretta raccolta e gestione dei dati; osservazioni continue in cui si succedono rapidamente molti e differenti eventi richiedono, per soddisfare i requisiti di accuratezza e precisione, l'uso di adeguati elaboratori e programmi.

Gli esperimenti in questione sono stati effettuati in una stanza appositamente allestita presso l'avannotteria sperimentale allo scopo di ridurre i fattori di disturbo provenienti dall'esterno. Per la valutazione dei comportamenti è stata utilizzata una bacinella sperimentale delle dimensioni di 36x25 cm e altezza 8 cm contenente 3 litri di acqua. La luce uniformemente distribuita è stata garantita da una lampada che ha creato un punto centrale di luce del diametro di 5 cm. Nel caso della valutazione dei comportamenti sociali la bacinella non ha presentato nessuna tipologia di arricchimento nel caso dei comportamenti esplorativi non sociali la bacinella è stata arricchita con una tana in PVC a doppia entrata (2 cm diametro x 2 cm lunghezza).

Per ridurre lo stress ogni individuo è stato trasportato in acqua e immediatamente rilasciato nella bacinella sperimentale. I comportamenti sono stati monitorati attraverso videoregistrazioni ciascuna della durata di 300 secondi effettuate con WEB CAMERA (CNR-WCAM 413) collegata ad un computer portatile ACER Aspire 1350. I filmati sono stati elaborati con il programma "*Observer*" (1990 Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands) che costituisce, pur con alcuni limiti, uno strumento ottimale per la

registrazione, la raccolta e l'analisi di dati comportamentali (NOLDUS, 1991). I dati possono essere infatti direttamente raccolti e immessi in un elaboratore IBM (o compatibile) nel caso l'osservazione avvenga tramite immagini precedentemente filmate oppure trasportati in esso utilizzando per la loro raccolta sul campo un computer tascabile. Il programma è composto di tre sezioni: configurazione degli eventi da registrare; registrazione degli eventi; analisi dei dati. Prima della raccolta dei dati è necessario creare la configurazione appropriata per il disegno sperimentale in funzione dell'etogramma utilizzato: in essa vanno definiti quantitativamente e qualitativamente gli eventi (fino a 92 in totale), le classi di eventi (fino a 8), l'eventuale durata della sessione di raccolta dei dati, le variabili indipendenti (fino a 40); gli eventi possono essere definiti, assegnando loro una qualsiasi lettera della tastiera, per frequenza e durata oppure esclusivamente per frequenza e possono essere raggruppati in classi; eventi all'interno della stessa classe possono essere definiti come mutualmente esclusivi (nel qual caso l'avvio della misurazione di uno di essi fa automaticamente cessare la misurazione del precedente nella stessa classe), mentre non lo possono essere eventi appartenenti a classi diverse. Il cronometraggio ha una precisione al decimo di secondo e durante ciascuna sessione l'operatore può accedere ad un taccuino elettronico ove riportare situazioni comportamentali anomale o non contemplate nella configurazione di base; durante la registrazione sullo schermo sono visibili un cronometro e gli ultimi tasti premuti, etichettati con la sigla (definita dall'operatore) del comportamento che stanno misurando e inseriti nelle classi di appartenenza; una volta registrati, i dati grezzi vengono automaticamente archiviati in un documento (*observational data file*) ove possono essere visualizzati ed eventualmente corretti nel caso fossero stati commessi errori durante l'osservazione. Il programma è in grado di fornire i dati ricavati dalle osservazioni in due tipi di formato facilmente esportabili per eseguire analisi statistiche o rappresentazioni grafiche con altri programmi: a) *sequence file*, contenente per ciascuna osservazione il protocollo temporale degli eventi comportamentali con gli eventi esclusivi divisi per classe; questo tipo di formato è adatto per analisi di sequenze comportamentali (non effettuate nel presente studio); b) *report file*, contenente per ciascun evento e per ciascuna osservazione la frequenza, la durata totale e media e la deviazione standard dalla media; gli stessi calcoli, nel caso la configurazione presenti più classi di eventi, possono essere effettuati ad un diverso livello di analisi combinando gli eventi con una o più classi. Nel presente lavoro sono state create due configurazioni rispettivamente per il comportamento non sociale legato all'utilizzo di un rifugio e per i comportamenti sociali legati alle interazioni tra individui. I *report files* ottenuti venivano poi esportati in un documento del *software* Microsoft Excel per Windows 7.

2.6-Parametri comportamentali sociali e sopravvivenza di giovani astici bentonici allevati in differenti condizioni

Nel presente lavoro si è scelto di effettuare due esperimenti, il primo mirato a valutare la sopravvivenza di individui allevati ad alte densità, ma in differenti condizioni di arricchimento ambientale, il secondo volto a valutare alcuni profili comportamentali adottati nelle interazioni sociali con un conspecifico.

2.6.1-Animali e postazioni sperimentali

Per la realizzazione degli esperimenti sono stati inizialmente considerati 5 gruppi sperimentali ognuno costituito da 100 individui bentonici selezionati in maniera randomizzata dalle vasche di allevamento planctonico. I 500 individui provenienti dalla femmina F10 divenuti bentonici tra il 11/01/2011 e il 12/01/2011 sono stati distribuiti in 4 vasche di allevamento sociale (VS1, Marino; VS2, Tana; VS3, Posidonia; VS4, Non arricchito) e in una griglia standard (GS1, Individuale) sistemata nella vasca (V1) del circuito chiuso (CC2) rappresentante il campione di riferimento di allevamento individuale (Figura 1).

Le vasche presentavano la stessa colorazione e contenevano 350 litri di acqua prelevata dalla vasca di raccolta del Circuito (CC2), e convogliata tramite un pompa nella vasca (VS3); le vasche (VS1, VS2, VS3) sono state collegate e sistemate a differenti altezze per garantire la fuoriuscita di acqua in eccesso per caduta finendo di nuovo nella vasca di raccolta (Figura 2). La vasca (VS4) è stata collegata alla vasca (V7) del circuito chiuso (CC2) e l'acqua in uscita è stata convogliata nella vasca di raccolta.

I parametri sono stati monitorati per tutta la durata dell'esperimento misurando giornalmente la temperatura, l'ossigeno disciolto e la salinità del circuito chiuso (CC2) ed effettuando una volta a settimana il test per l'ammoniaca direttamente nelle vasche sperimentali. Le medie giornaliere ottenute sono riportate in Tabella 1.

Parametri	Media
Temperatura (°C)	19.2±0.4
Ossigeno (% Saturazione)	88.7±1.8
Salinità (‰)	36.4±0.8

Tabella 1-Parametri dell'acqua monitorati nel circuito chiuso (CC2) durante la fase sperimentale.

I valori rilevati di ammoniaca disciolta non hanno mai superato 1 ppm durante l'esperimento, risultando dunque conformi agli standard richiesti.



Figura 1-Vasche (VS1,VS2,VS) di allevamento sociale.



Figura 2-Griglia (GS1) di allevamento individuale.

Tutte le vasche sono state alimentate ogni giorno con 10 g di mysis e 8 g di artemia salina surgelati, dispersi in modo uniforme sulla superficie del fondo e ripulite ogni due giorni tramite un sifone. Gli individui della griglia sperimentale (GS1) sono stati alimentati giornalmente utilizzando mysis e artemia salina surgelata somministrati a rotazione. Inoltre ogni giorno le celle sono state ripulite dal cibo residuo attraverso l'utilizzo di un piccolo sifone. Il fattore variabile tra le vasche sperimentali ha riguardato le differenti tipologie di arricchimento del fondo:

- La vasca VS1 (Marino) è stata allestita con 7 rocce organiche che ricoprivano i 2/3 della superficie del fondo della vasca, reperite in ambiente marino nella costa antistante (Figura 3);
- La vasca VS2 (Tana) è stata allestita con 100 tane in PVC disperse sul fondo delle dimensioni comprese tra i 2 e i 5 cm di lunghezza, tutte aventi diametro pari a 2 cm (Figura 4);
- La vasca VS3 (Posidonia) è stata allestita con 7 piante rappresentanti simulazioni di poseidonia in plastica costruite con inolium di colore nero disposte su un supporto in PVC perforato (Figura 5) e disposte sul fondo in modo da coprire il volume della vasca, (Figura 6);
- La vasca VS4 (Non arricchita) ha rappresentato il controllo e l'ambiente non è stato arricchito.

Nella griglia standard GS1 (Individuale) non è stata effettuata nessuna tipologia di arricchimento delle celle di allevamento individuale.



Figura 3-Vasca (VS1) arricchita con rocce marine.



Figura 4-Vasca (VS2) arricchita con tane in PVC.



Figura 5-Vasca (VS3) arricchita con posidonia artificiale.



Figura 6-Sezione di posidonia artificiale.

I cinque gruppi sperimentali sono stati distribuiti nelle differenti postazioni di allevamento come riportato in Figura 7.

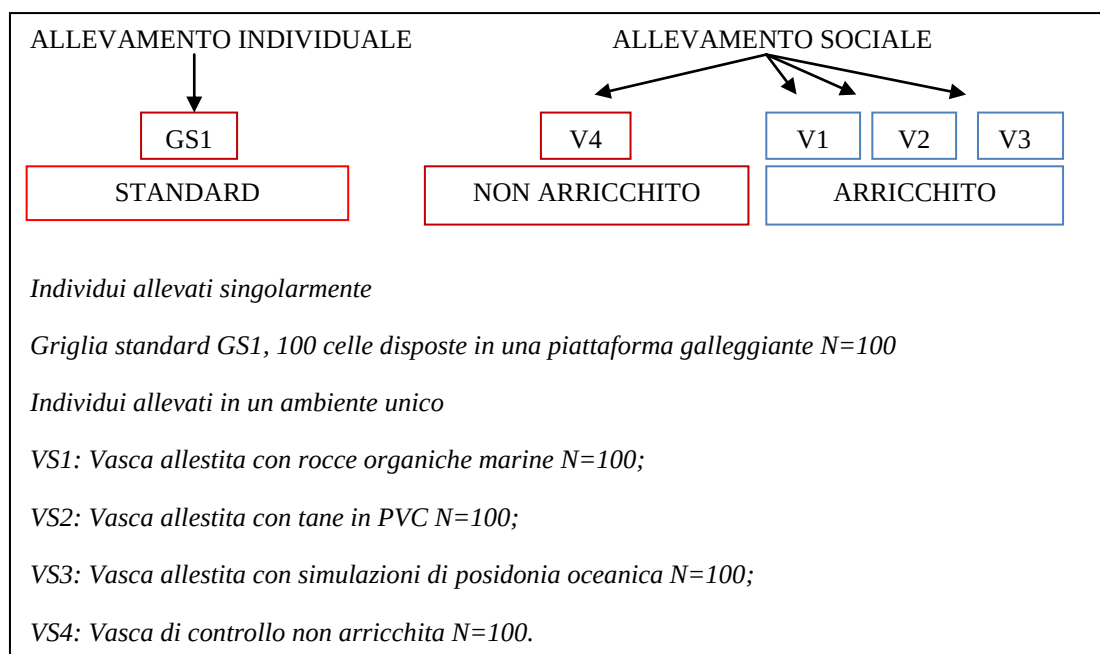


Figura 7-Le differenti condizioni di allevamento.

2.6.2-Protocollo sperimentale

Per valutare la sopravvivenza degli individui allevati in differenti condizioni sono state effettuate 3 conte totali per ciascun gruppo sperimentale, la prima dopo 8 giorni dall'inizio dell'esperimento, la seconda dopo 20 giorni, la terza dopo 37 giorni (Figura 7). Durante le conte si è provveduto ad annotare la condizione dell'individuo in termini di presenza delle chele. Le conte sono state effettuate svuotando le vasche dai materiali di arricchimento e prelevando gli esemplari con piccoli retini da acquario appoggiandoli in contenitori di polistirolo, separati gli uni dagli altri. Alla fine la vasca veniva riallestita con i materiali e gli individui rilasciati sul pelo dell'acqua. Nella griglia standard (GS1), i valori riguardanti la sopravvivenza sono stati monitorati annotando giornalmente il numero dei morti presenti.

Per valutare nei giovani individui alcuni parametri comportamentali sono stati considerati 4 campioni ognuno costituito da 14 individui. I giovani del campione (Marino) sono stati selezionati dal gruppo sperimentale (VS1), il campione (Tana) dal gruppo sperimentale (VS2), il campione (Posidonia) dal gruppo sperimentale (VS3), mentre il campione (Individuale) era costituito da individui provenienti dalla griglia standard (GS1) e rappresenta il campione di riferimento dell'esperimento considerato. I test sono stati effettuati dopo 6 giorni dall'inizio dell'esperimento come riportato in Figura 8.

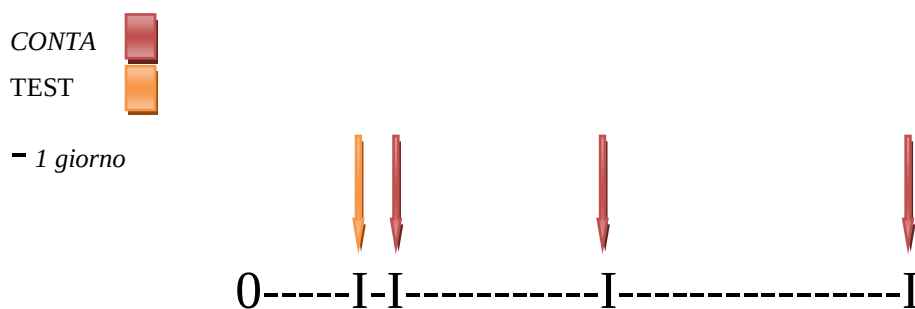


Figura 8-Scala temporale delle conte e dei test comportamentali effettuati per ciascun gruppo sperimentale.

Ciascun campione è stato prelevato dalle postazioni sperimentali in base seguente criterio: la vasca è stata suddivisa in 3 sezioni speculari (A,B,C), prelevando 5 individui dalla sezione A e B e 4 individui dalla sezione C. In ciascun settore gli individui sono stati scelti e catturati in maniera randomizzata. Ogni individuo selezionato è stato immediatamente sottoposto a due test comportamentali sociali consecutivi, stabulato in celle individuali di polistirolo e rimesso nella vasca soltanto dopo aver effettuato i test su tutti gli individui del campione (Tabella.2).

TEST COMPORTAMENTALI SOCIALI
1-Test interazione familiare (Individui appartenenti alla stessa vasca)
2-Test interazione non familiare (Individuo allevato nella vasca e individuo allevato singolarmente nella griglia standard)

Tabella 2-Test comportamentali sociali effettuati su ogni singolo individuo.

I test hanno avuto una durata di 5 minuti e sono stati effettuati nella bacinella sperimentale non arricchita (la stessa descritta nel paragrafo 2.5.1). Per il primo test sono stati utilizzati due individui appartenenti allo stesso campione della vasca sperimentale. Nel secondo test la coppia di giovani utilizzati era costituita da un individuo proveniente dalle vasche sperimentali sociali e un individuo allevato singolarmente nella griglia standard (GS1). Gli individui venivano rilasciati simultaneamente agli estremi opposti della bacinella e il comportamento veniva filmato.

Utilizzando l'analisi delle videoregistrazioni è stato messo a punto un etogramma riportato in Tabella 3 che comprende una serie di elementi comportamentali definiti in maniera operativa per il singolo animale, sia per le interazioni familiari che per le interazione tra individui sconosciuti

<u>ELEMENTI COMPORTAMENTALI</u>
<i>Tocco frontale innescato: contatto in posizione frontale provocato dall'individuo considerato;</i>
<i>Tocco frontale subito: contatto in posizione frontale subito dall'individuo considerato;</i>
<i>Tocco laterale innescato: contatto in posizione laterale innescato dall'individuo considerato;</i>
<i>Tocco laterale subito: contatto in posizione laterale subito dall'individuo considerato;</i>
<i>Tocco posteriore subito: contatto in posizione posteriore subito dall'individuo;</i>
<i>Retroazione: individuo sperimentale che indietreggia a seguito del contatto;</i>
<i>Latenza: tempo intercorso tra l'inizio dell'esperimento e il primo contatto tra gli individui sperimentali.</i>

Tabella 3-Etogramma sociale riferito all'individuo focale: variabili misurate durante i test comportamentali di interazione tra individui allevati sia nelle stesse condizioni sia in condizioni differenti.

2.6.3-Analisi statistica dei dati

I dati riferiti alla sopravvivenza e alla condizione degli individui in differenti tipologie di allevamento sociale (arricchimento ambientale di tre tipologie, nessun arricchimento e allevamento individuale) sono stati analizzati mediante il test χ^2 (CHI-QUADRATO).

I dati riguardanti i parametri comportamentali analizzati sia nelle interazioni tra individui familiari appartenenti alla stessa postazione, sia tra individui sconosciuti provenienti da allevamento sociale con differenti tipologie di arricchimento e individui allevati singolarmente sono stati analizzati con un modello di analisi della varianza parametrica (ANOVA) per fattori indipendenti. Il tipo di postazione (3 o 4 livelli) ha costituito l'unico fattore tra gruppi. Per i confronti multipli è stato utilizzato il test di Fisher (Fisher's PLSD). La soglia di significatività è stata $\alpha = 0.05$.

2.6.4-Valutazione della sopravvivenza nelle differenti tipologie di allevamento

I risultati ottenuti riferiti alle tre conte effettuate nelle differenti postazioni sperimentali sono riportati in Figura 9.

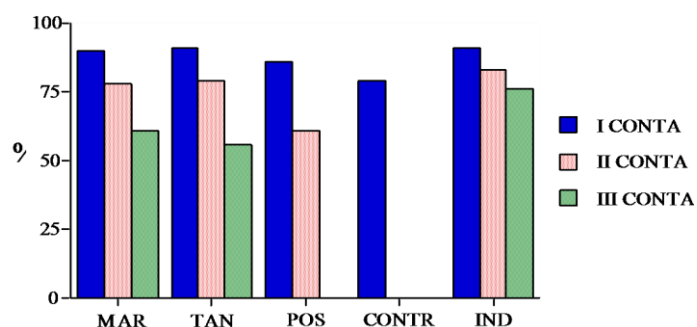


Figura 9-Sopravvivenza nelle differenti condizioni di allevamento dopo 8, 20 e 37 giorni. **MAR.**= (VS1) rocce marine; **TAN.**= (VS2) tane in PVC; **POS.**= (VS3) simulazione posidonia oceanica; **CONTR.**= (VS4) controllo non arricchita; **IND.**= (GS1) allevamento in singole celle individuali.

La conta relativa all'ottavo giorno ha riscontrato tassi di sopravvivenza elevati nelle postazioni sociali arricchite con rocce marine e tane in PVC (VS1 e VS2) e nella griglia standard (GS1) ad allevamento individuale. La vasca sperimentale (VS3) arricchita con poseidonia oceanica artificiale e la vasca (VS4) non arricchita, hanno presentato tassi di

sopravvivenza più bassi. Per evitare una eccessiva perdita di individui il campione di riferimento (VS4) è stato dismesso procedendo all'allevamento in celle individuali.

La conta relativa al ventesimo giorno ha riscontrato i tassi di sopravvivenza più elevati nelle postazioni sociali arricchite con rocce marine e tane in PVC (VS1 e VS2) e nella griglia standard (GS1) ad allevamento individuale. La vasca sperimentale (VS3) arricchita con poseidonia oceanica artificiale ha presentato tassi di sopravvivenza inferiori ai casi precedenti. Per evitare una eccessiva perdita di individui si è scelto di dismettere il campione, (VS3).

Nella conta finale dopo 37 giorni la vasca arricchita con rocce marine (VS1) ha riscontrato un tasso di sopravvivenza inferiore ai valori riscontrati in allevamento individuale (GS1). La sopravvivenza riscontrata nella vasca (VS2) ha presentato valori minori rispetto ai casi precedenti.

L'analisi statistica (Test χ^2 CHI-QUADRATO) ha mostrato un effetto significativo della condizione sperimentale in tutte e tre le conte effettuate anche se in maniera meno marcata nella prima (prima conta, $\chi^2= 9.6$ df=4 p= 0.05; seconda conta, $\chi^2=15.3$ df=3 p=0.002; terza conta, $\chi^2= 9.4$ df=2 p=0.009, Figura 10).

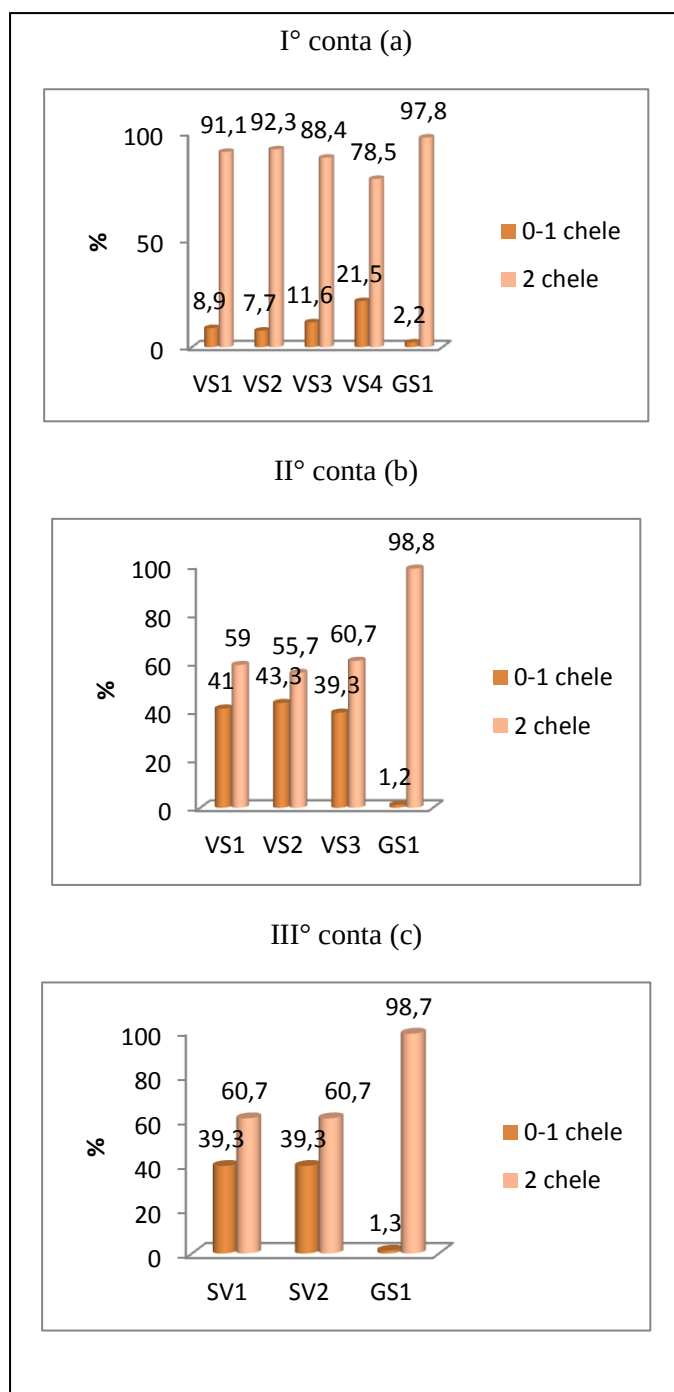
(a)	COND SPER	SopravOsserv1	SopravAttesi1	MortiOsserv1	MortiAttesi1	Totale
	VS1	90	87,4	10	12,6	100
	VS2	91	87,4	9	12,6	100
	VS3	86	87,4	14	12,6	100
	VS4	79	87,4	21	12,6	100
	GS1	91	87,4	9	12,6	100
	Totale	437		63		500

(b)	COND SPER	SopravOsserv2	SopravAttesi2	MortiOsserv2	MortiAttesi2	Totale
	VS1	78	75,25	22	24,75	100
	VS2	79	75,25	21	24,75	100
	VS3	61	75,25	39	24,75	100
	VS4					
	GS1	83	75,25	17	24,75	100
	Totale	301		99		400

(c)	COND SPER	SopravOsserv3	SopravAttesi3	MortiOsserv3	MortiAttesi3	Totale
	VS1	61	64,333	39	35,667	100
	VS2	56	64,333	44	35,667	100
	VS3					
	VS4					
	GS1	76	64,333	24	35,667	100
	Totale	193		107		300

Figura 10-Dati relativi la sopravvivenza dei giovani bentonici. **(a)** = Prima conta dopo 8 giorni; **(b)** = Seconda conta dopo 20 giorni; **(c)** = terza conta dopo 37 giorni.

I dati riguardanti le condizioni degli individui in termini di presenza delle chele riscontrati durante i tre controlli sono riportati in Figura 11.



Durante la prima conta avvenuta dopo 8 giorni, la vasca non arricchita di controllo (VS4) ha presentato la percentuale maggiore pari al 21,5% di individui mancanti di una o di entrambe le chele, mentre la griglia sperimentale (GS1), ha presentato una bassa percentuale pari al 2,2% dovuta alla perdita delle chele non per le interazioni sociali, in quanto allevati singolarmente ma presumibilmente per il contatto con la rete disposta sul fondo. Durante la seconda conta avvenuta dopo 20 giorni, tutte le vasche sperimentali sociali hanno presentato una percentuale elevata di individui mancanti di una o di entrambe le chele, mentre la griglia sperimentale (GS1), ha presentato una percentuale pari al 1,2%. Durante la terza conta avvenuta dopo 37 giorni, la vasca sperimentale allestita con rocce marine (VS1) e la vasca allestita con tane in PVC (VS2) hanno presentato

Figura 11-Condizioni degli individui dopo 8 giorni (I° conta, a), 20 giorni (II° conta, b), 37 giorni (III° conta, c); VS1= rocce marine; VS2= tane; VS3= simulazione poseidonia; VS4= controllo non arricchita; GS1= allevamento in singole celle individuali.

una percentuale elevata pari al 39.3% di individui mancanti di una o di entrambe le chele, mentre la griglia sperimentale (GS1), ha presentato una percentuale pari al 1.3%.

L'analisi statistica (Test χ^2 CHI-QUADRATO) ha mostrato un effetto significativo della condizione sperimentale in tutte e tre le conte effettuate anche se in maniera meno marcata nella prima. (Prima conta, $\chi^2= 18.6$ df= 4 p= 0.0009; Seconda conta, $\chi^2= 47.0$ df= 3 p= 0.0000001; Terza conta, $\chi^2= 36.1$ df= 2 p= 0.0000001, Figura 12).

Conta (a)	2 chele osserv1	2 chele attese1	0-1 chela osserv1	0-1 chela attese1	Totale
VS1	82	80,938	8	9,062	90
VS2	84	81,838	7	9,162	91
VS3	76	77,341	10	8,659	86
VS4	62	71,046	17	7,954	79
GS1	89	81,838	2	9,162	91
Totale	393		44		437

Conta (b)	2 chele osserv2	2 chele attese2	0-1 chela osserv2	0-1 chela attesa2	Totale
VS1	46	54,159	32	23,841	78
VS2	44	54,853	35	24,146	79
VS3	37	42,355	24	18,645	61
VS4					
GS1	82	57,631	1	25,369	83
Totale	209		92		301

Conta (c)	2 chele osserv3	2 chele attese3	0-1 chela osserv3	0-1 chela attesa3	Totale
VS1	37	46,145	24	14,855	61
VS2	34	42,363	22	13,637	56
VS3					
VS4					
GS1	75	57,492	1	18,508	76
Totale	146		47		193

Figura 12- Dati relativi la condizione dei giovani bentonici. **(a)** = Prima conta dopo 8 giorni; **(b)** = Seconda conta dopo 20 giorni; **(c)** = terza conta dopo 37 giorni.

2.6.4-Valutazione dei parametri comportamentali sociali

Il primo test effettuato tra coppie di individui familiari ha mostrato in generale un tempo di latenza al primo contatto elevato. Nel caso degli individui allevati con rocce marine e simulazione di posidonia oceanica i valori sono stati maggiori rispetto a quelli allevati con tane in PVC, ma non è stata riscontrata alcuna differenza significativa ($F_{2,39} = 0.81$; $p = 0.45$; Figura 13).

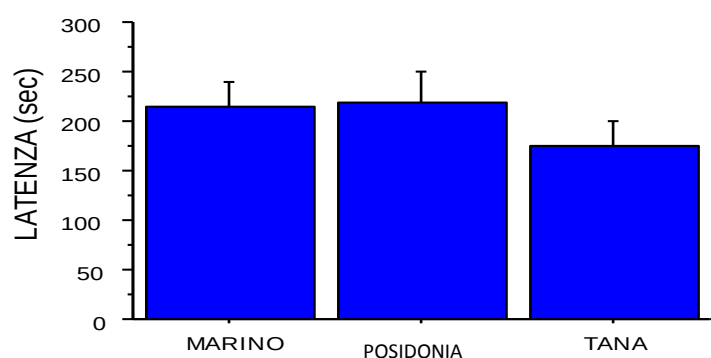


Figura 13-Latenza media al primo contatto tra coppie di individui familiari allevati in differenti condizioni di arricchimento ambientale.

La durata media del contatto tra le coppie degli individui è stata di 5.1 secondi nel caso del campione appartenente alla vasca allestita con rocce marine, di 4.6 secondi nel campione appartenente alla vasca allestita con tane in PVC, mentre nel campione appartenente alla vasca allestita con posidonia oceanica simulata il contatto tra individui ha avuto una durata inferiore rispetto ai casi precedenti pari a 1.4 secondi. ($F_{2,18} = 2.73$; $p = 0.09$; Fisher's PLSD; $p = 0.03$ Figura 14).

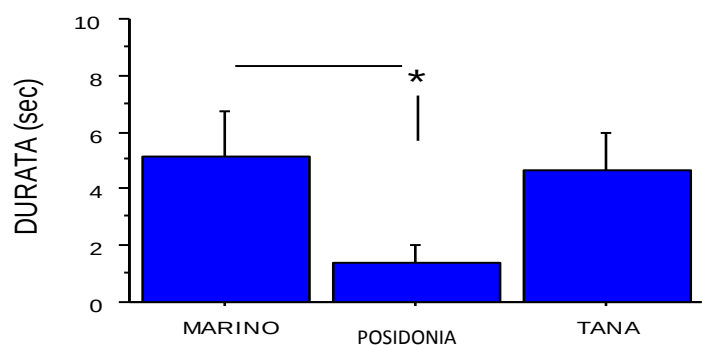


Figura 14-Durata media del contatto tra gli individui riscontrata tra le coppie allevate nelle differenti condizioni di arricchimento ambientale.

La frequenza dei contatti tra gli individui dei differenti campioni è stata di 3.3 per ciascuna coppia testata nel caso del campione appartenente alla vasca allestita con rocce marine, di 2.6 nel caso del campione appartenente alla vasca allestita con tane in PVC e di 1.6 nel campione appartenente alla vasca allestita con poseidonia simulata. Non è stata riscontrata alcun effetto significativo ($F_{2,18} = 1.2$; $p = 0.33$ Figura 15).

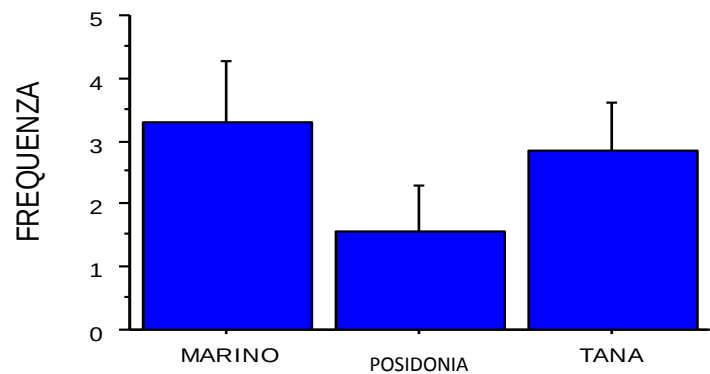


Figura 15-Frequenza media di contatto degli individui riscontrata tra le coppie allevate nelle differenti condizioni di arricchimento ambientale .

Il secondo test effettuato tra coppie appartenenti alle differenti vasche sperimentali e individui appartenenti alla griglia standard (non familiari) ha riscontrato i valori significativamente minori di latenza negli individui appartenenti alla griglia ad allevamento individuale e negli individui allevati con poseidonia oceanica, mentre i valori maggiori sono stati riscontrati negli individui del campione allevato con rocce marine. ($F_{3,80} = 4.7$; $p = 0.005$ Fisher's PLSD $p_s < 0.02$; Figura 16).

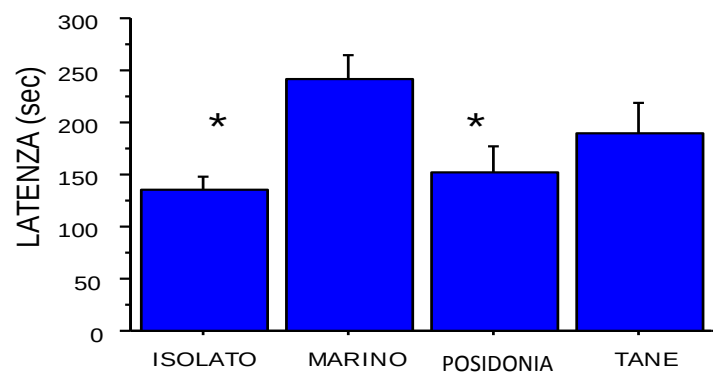


Figura 16-Latenza media al contatto tra di individui appartenenti alle differenti vasche sperimentali allevate nelle differenti condizioni di arricchimento ambientale e individui appartenenti alla griglia standard.

La durata media del contatto tra gli individui dei differenti campioni e gli individui allevati singolarmente è stata di 2.3 secondi per le coppie testate nel caso del campione (Marino - Isolato), mentre nel caso del campione (Tana - Isolato) la durata media del contatto totale è stata di 6.1 secondi. Nel campione (Posidonia - Isolato) il contatto tra individui ha avuto una durata pari a 5.7 secondi. I risultati sono riportati in Figura 17.

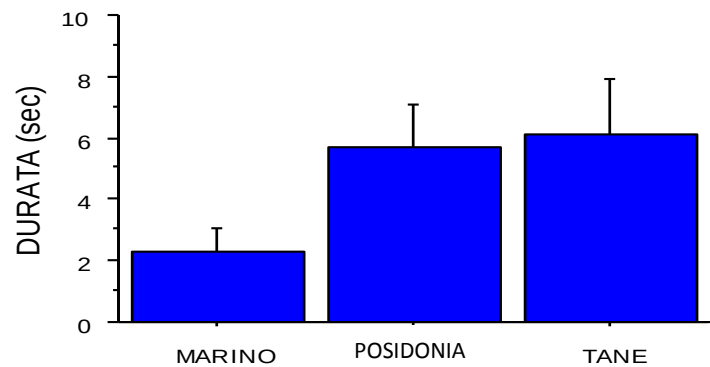


Figura 17-Media della durata del contatto totale tra individui appartenenti alle differenti vasche sperimentali allevate nelle differenti condizioni di arricchimento ambientale e individui appartenenti alla griglia standard.

La frequenza dei contatti tra gli individui dei differenti campioni è stata in media di 1.7 per ciascuna coppia testata nel caso del campione (Marino - Individuale), nel caso del campione (Tana - Individuale) la media è stata di 4 e nel campione (Posidonia - Individuale) di 4.1 come riportato in Figura 18.

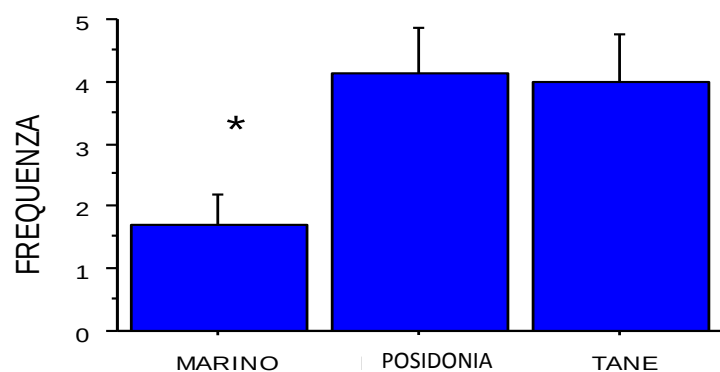


Figura 18-Frequenza media di contatto tra individui appartenenti alle differenti vasche sperimentali allevate nelle differenti condizioni di arricchimento ambientale e individui appartenenti alla griglia standard.

2.2.5-Discussione

I dati ottenuti sulla sopravvivenza degli individui nell'allevamento in comune (paragrafo 2.6.4) suggeriscono che l'arricchimento ambientale costituisce un elemento molto importante per minimizzare il cannibalismo intraspecifico. Risultati paragonabili a quelle ottenuti nelle procedure standard di allevamento individuale sia in termini di sopravvivenza che in termini di condizioni degli individui sono stati riscontrati entro otto giorni dall'inizio della fase bentonica (Figura 9). I migliori risultati sono stati ottenuti con l'arricchimento "marino" (rocce organiche marine) e "Tana" (100 tane in PVC). La postazione di controllo (senza alcun arricchimento) ha mostrato il valore inferiore e decrescente al punto che dopo la prima settimana è stata dismessa per evitare una eccessiva perdita di individui.

La caratterizzazione del comportamento in contesto sociale (interazioni diadiche) suggerisce che l'allevamento in comune, almeno nelle condizioni e densità (0.35 larve/l) adottate nel presente studio, sembrerebbe diminuire i livelli di aggressività rispetto all'allevamento individuale (Figura 16). Tali risultati suggeriscono che l'utilizzo dell'allevamento in comune, che presenta numerosi vantaggi in termini di tempo, spazio e costi per il mantenimento e cura degli animali, potrebbe essere utilizzato per rilasci pianificati nella prima settimana della fase bentonica. Il rilascio durante questo periodo potrebbe avere buone possibilità di successo anche in considerazione dello spiccato comportamento esplorativo e di attrazione verso la tana che osservato nei test comportamentali (Paragrafo 2.7.3 Figura 3, Figura 4 e Figura 5).

Il Centro potrebbe dunque ospitare un numero pari a 16 vasche di allevamento sociale in grado di ospitare ogni settimana circa 1.400 astici bentonici da rilasciare durante la fase immediatamente successiva alla metamorfosi.

2.7-Valutazione di parametri comportamentali non sociali di giovani astici allevati in differenti condizioni

Mentre la biologia degli astici adulti è stata ampiamente studiata, le informazioni riguardanti i requisiti ecologici e il comportamento dei giovani sono molto limitate (Linnane et al. 2001).

Nei programmi di *restocking* la sopravvivenza in seguito rilascio è funzione dell'abilità individuale nel comportamento antipredatorio e nelle competenze sociali. In natura i giovani individui al di fuori dalla tana sono molto vulnerabili ai predatori (Mercer et al. 2001). Giovani allevati in singole celle non arricchite tendono a cercare un rifugio e cominciano a scavare il substrato dopo pochi minuti dal rilascio (John F., Wickins & Daniel O'C.data). Studi in condizioni di allevamento controllato che consentivano agli animali di scavare il substrato evidenziano che tale esperienza è probabilmente necessaria per animali che superano i 3 mesi di età (Wickins & Barry 1996).

Nel presente studio si è scelto di valutare una serie di parametri comportamentali non sociali legati all'utilizzo di un riparo allo scopo di ottenere informazioni utili a migliorare la qualità degli individui e dunque migliorare le probabilità di successo del rilascio in natura.

2.7.1-Animali e protocollo sperimentale

Sono stati utilizzati 45 individui bentonici provenienti dalla femmina F11 schiusi il 14/03/2011 e alloggiati nelle vasche di allevamento planctonico fino al raggiungimento della fase bentonica. Dopo 14 giorni dalla nascita nel momento in cui gli individui sono divenuti bentonici, il 28/03/2011, ha avuto inizio l'esperimento, prelevando in maniera randomizzata gli individui dai vari incubatoi e alloggiandoli in celle standard (diametro 7 cm, altezza 3 cm, altezza livello acqua 2 cm) della griglia GS2 alloggiata nel circuito chiuso CC2. Gli individui sono stati assegnati in maniera randomizzata a tre gruppi sperimentali (A,B,C) di 15 individui ciascuno. Ciascun gruppo differiva nelle condizioni di arricchimento ambientale nelle modalità riportate in Tabella 1.

GRUPPO	CONDIZIONE	N
A	TANA	15
B	TAPPO	15
C	NON ARRICCHITA	15

Tabella 1-Condizioni di allevamento dei gruppi sperimentali.

Gli individui del gruppo A sono stati allevati in celle contenenti una tana (doppia entrata; 2 cm diametro x 2 cm lunghezza); gli individui del gruppo B sono stati allevati in celle contenenti un tappo in plastica (diametro 3 cm x 1 cm altezza); gli individui del gruppo C di controllo sono stati allevati in celle senza alcuna tipologia di arricchimento.

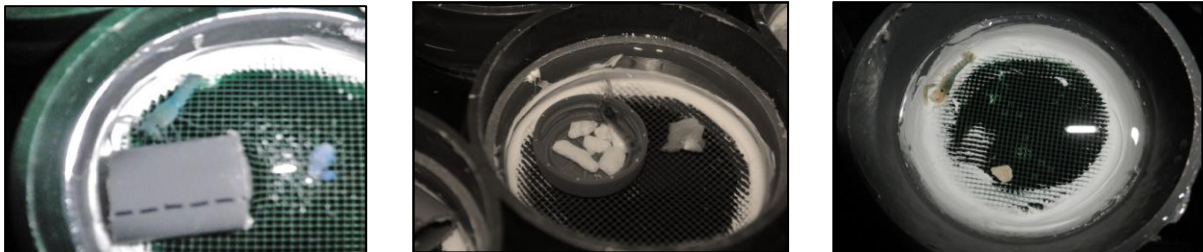


Figura 1-Tipologie di arricchimento utilizzate nei differenti gruppi sperimentali.

Durante il periodo di stabulazione ciascun gruppo è stato sottoposto a un test comportamentale esplorativo che consisteva nell'immissione dell'individuo nella bacinella sperimentale arricchita con una tana a doppia entrata 2 cm diametro x 2 cm lunghezza. Il test per ciascun gruppo sperimentale è stato replicato quattro volte, almeno 5 giorni dopo la muta precedente. La sequenza temporale dei test è illustrata in Figura 2.

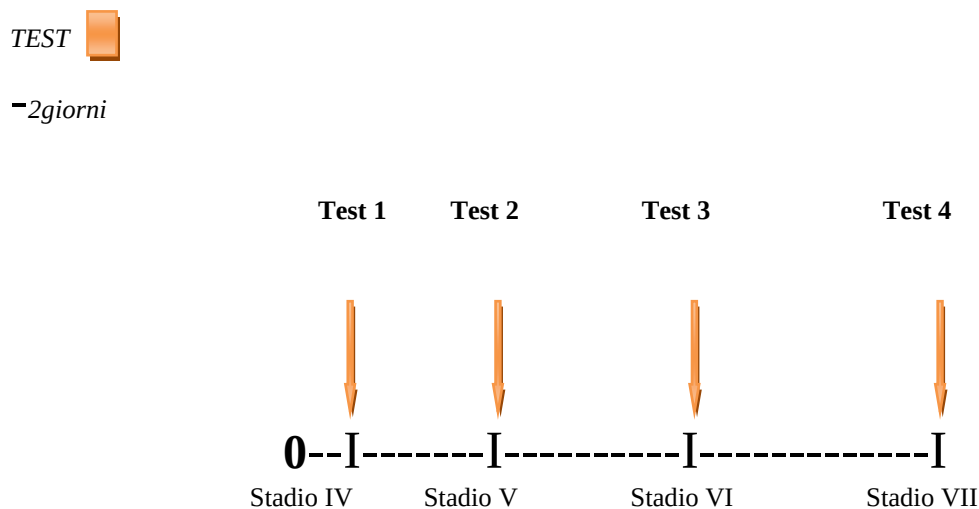


Figura 2-Scala temporale dei test comportamentali effettuati per ciascun gruppo sperimentale. Ciascuno stadio corrisponde a una muta.

I test hanno avuto una durata di 5 minuti per ogni individuo considerato. Gli individui sono stati rilasciati al centro della bacinella e il comportamento è stato filmato. Utilizzando l'analisi delle videoregistrazioni è stato messo a punto un etogramma riportato in Tabella2 che comprende una

serie di elementi comportamentali definiti in maniera operativa per il singolo animale volti a valutare parametri esplorativi legati all'utilizzo di un rifugio

CATEGORIE COMPORTAMENTALI NON SOCIALI

a) AREE ESPLORATE

a1) Opposto alla tana: presenza dell'individuo nella metà della bacinella opposta alla tana;

a2) Area della Tana: presenza dell'individuo nella metà della bacinella in cui è presente la tana;

a3) Tana: presenza dell'individuo nella zona prossima alla tana di 4x4cm.

b) AREE ESPLORATE

b1) Bordo vasca: presenza dell'individuo lungo il bordo della bacinella;

c) CATEGORIE COMPORTAMENTALI

b1) Locomozione a chele aperte: individuo in movimento con le chele che formano un angolo uguale o superiore a 90°;

b2) Locomozione a chele chiuse: individuo in movimento con le chele posizionate in avanti e in linea con il corpo;

b3) Inattività a chele aperte: individuo fermo con le chele che formano un angolo uguale o maggiore di 90°;

b4) Inattività a chele chiuse: individuo fermo con le chele posizionate in avanti in linea con il corpo;

b5) Inattività con movimento delle chele: individuo fermo con movimento delle chele dalla posizione aperta fino ad arrivare all'apparato boccale;

b6) Locomozione all'indietro: individuo in movimento che retrocede;

b7) Presenza dell'individuo in tana: Indica la presenza dell'individuo nella tana posizionata nella bacinella sperimentale.

d) CATEGORIE COMPORTAMENTALI

d1) Giro orario o antiorario: considerato qualora l'individuo ricopre un angolo maggiore di 360° su se stesso;

d2) Contatto con la tana: si intende il tocco da parte dell'individuo della tana sperimentale;

d3) Latenza tana: tempo intercorso tra l'inizio dell'esperimento e il primo contatto con la tana.

Tabella 2-Etogramma non sociale:variabili misurate durante i test comportamentali di esplorazione.

In tutti i casi sono stati misurati la frequenza e la durata; per il contatto della tana è stata considerata soltanto la frequenza.

Oltre a quantificare i parametri comportamentali è stato assegnato uno *score* di esplorazione che andava da 1 a 6 riportato in Tabella 3.

Punteggi	Modalità
0	Mai nell'area tana
1	Almeno una volta nell'area tana
2	Almeno una volta nell'area prossima alla tana
3	Almeno una volta contatto con la tana
4	Contatto con la tana entro il primo minuto
5	Almeno una volta in tana
6	In tana entro il primo minuto

Tabella 3-Definizioni degli *score* di esplorazione assegnati.

2.7.2-Analisi statistica dei dati

I dati riguardanti i parametri comportamentali analizzati negli individui provenienti da allevamento individuale e sottoposti a differenti tipologie di arricchimento sono stati selezionati (*Score*, latenza al contatto con la tana, permanenza nella zona prossima alla tana e attività totale dell'individuo) e analizzati con un modello di analisi della varianza parametrica (ANOVA). La condizione (3 livelli) ha costituito il fattore tra gruppi mentre i test (4 livelli) hanno costituito il fattore entro gruppi.

2.7.3-Valutazione dei parametri comportamentali

Per quanto riguarda lo *score* di esplorazione si è osservato un profilo generale di diminuzione dopo 20 giorni (test II). Gli individui allevati con tana hanno presentato nel complesso valori significativamente più elevati, quelli allevati con tappo valori intermedi e quelli senza arricchimento valori inferiori (condizione: $F_{2,93} = 15.7$; $p = 0.0001$; test: $F_{3,93} = 5.7$; $p = 0.001$; Figura 3).

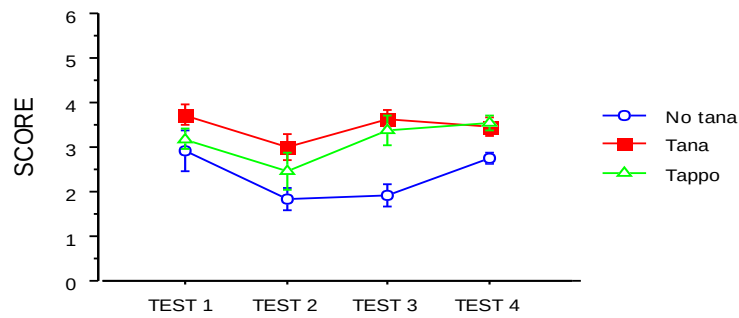


Figura 3-Andamento medio dello score nei differenti gruppi sperimentali allevati in differenti condizioni. **A:** Tana N=15, **B:** Tappo N=15, **C:** Non arricchita N=15

Nel complesso le latenze sono aumentate dopo 20 giorni (test II) per poi diminuire marcatamente negli individui allevati con tana e tappo, ma rimanendo elevati negli individui allevati senza arricchimento (condizione: $F_{2.75} = 4.8$; $p = 0.02$; test: $F_{3.75} = 9.9$; $p = 0.0001$; test x condizione: $F_{6.75} = 1.9$; $p = 0.09$; Figura 4).

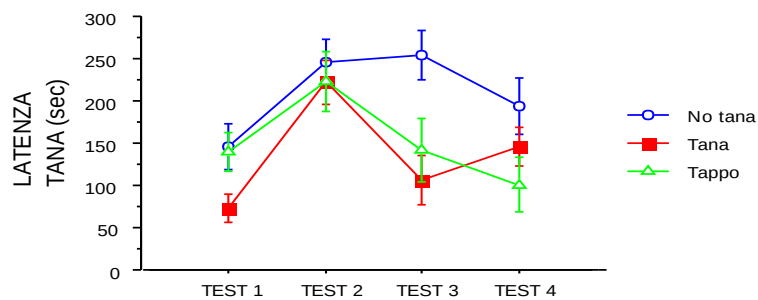


Figura 4-Andamento della latenza al contatto con la tana nei differenti gruppi sperimentali.

Il tempo medio di permanenza nella zona prossima alla tana per i differenti gruppi sperimentali è riportato in Figura 5. Gli individui allevati con tana hanno presentato in tutti i casi valori di permanenza più elevati rispetto agli individui dei gruppi allevati senza arricchimento (condizione: $F_{2.93} = 8.0$; $p = 0.002$; test: $F_{3.93} = 1.8$; $p = 0.16$; test x condizione: $F_{6.93} = 0.88$; $p = 0.51$)

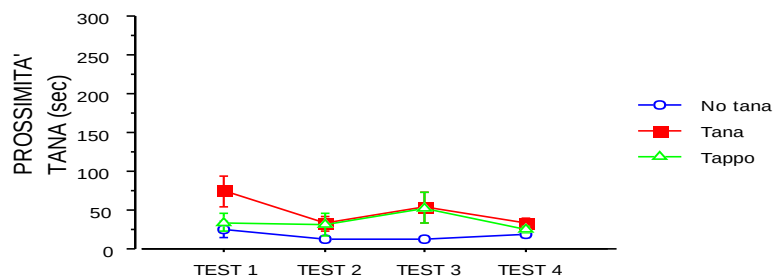


Figura 5-Andamento del tempo di permanenza nella zona prossima alla tana nei differenti gruppi sperimentali.

Tutti gli individui hanno mostrato valori elevati e generalmente costanti nel tempo di attività. Gli individui allevati con tana hanno mostrato attività più elevate rispetto a quelli allevati senza arricchimento. Gli individui allevati con il tappo hanno mostrato valori intermedi (condizione: $F_{2.84} = 5.5$; $p = 0.001$; test: $F_{3.84} = 1.1$; $p = 0.34$; test x condizione: $F_{6.84} = 1.0$; $p = 0.41$; Figura 6). Durante i test è stato notato che gli individui dei gruppi senza tana, e in particolare di quello senza arricchimento, mostravano più pause locomotorie ai bordi della bacinella o in zone d'ombra.

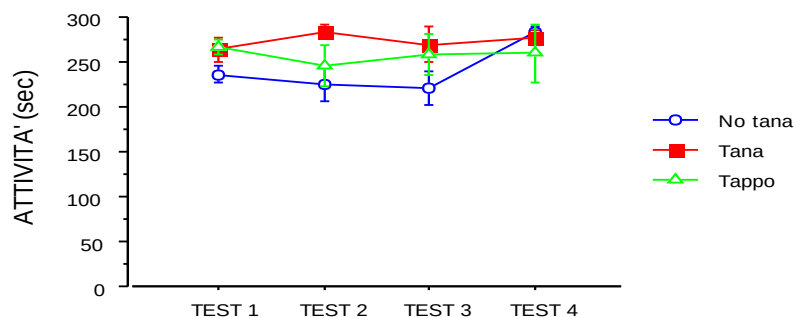


Figura 6-Andamento dell'attività nei differenti gruppi sperimentali.

2.7.4-Discussione

La ricerca della tana da parte degli individui è particolarmente marcata durante il primo test, effettuato dopo la prima settimana di vita bentonica. Nel complesso tutti gli animali hanno mostrato un profilo iniziale neofilico di attrazione rispetto alla tana, ma sono divenuti più neofobici all'aumentare dell'età. Ciò potrebbe indicare questa fase come più idonea per effettuare il rilascio in natura. Nel complesso gli individui allevati con la tana hanno mostrato maggiore familiarità e attrazione verso l'oggetto tana "nuovo" rispetto soprattutto a individui allevati senza arricchimento, mentre quelli allevati con tappo hanno spesso mostrato profili intermedi. Ciò è evidenziato anche dal maggior tempo trascorso in prossimità della tana durante il test negli individui allevati con tana, in particolare durante il primo test.

Tali risultati suggeriscono che i giovani astici destinati a progetti di *restocking* potrebbero beneficiare di simili procedure di arricchimento ambientale volte a migliorare lo sviluppo delle competenze motorie, sensoriali e cognitive degli individui.

CAPITOLO 3: IL RILASCIO IN MARE

3.1-Area di rilascio

La corretta scelta del luogo in cui effettuare le operazioni di ripopolamento influisce inevitabilmente sul buon esito dello stesso, e deve essere effettuata su alcuni fattori chiave (Scovacricchi 1999) quali:

- Praticità di localizzazione;
- Disponibilità di dettagliati rilievi topografici;
- Analisi ambientali che ne descrivano il profilo;
- Limitata “appetibilità” dell’affioramento.

Il sito di rilascio prescelto è stato individuato in prossimità della costa appartenente al Comune di Montalto Marina, in quanto si presentava conforme alle caratteristiche generali descritte. L’area non necessita di una lunga tempistica per essere raggiunta, ed è collocata nelle vicinanze di un SIC (Sito di Interesse Comunitario) per la protezione della posidonia oceanica.

Alcuni studi effettuati per valutare le preferenze dei giovani astici per vari tipi di substrati naturali (Linnane et al 2000) evidenziano una netta preferenza per substrati caratterizzati da presenza di ripari e tane ben strutturate (Figura 2). I giovani sono stati seminati su quattro tipi di fondali differenti: sabbioso, alghe coralline, ciottoloso e biogeno, per la durata di nove mesi. Già dopo un primo periodo di 30 giorni è stata osservata una distribuzione non casuale (Figura 1). I giovani si erano maggiormente concentrati su fondali ciottolosi e biogeni. Nessun esemplare si è stabilito sulla sabbia.

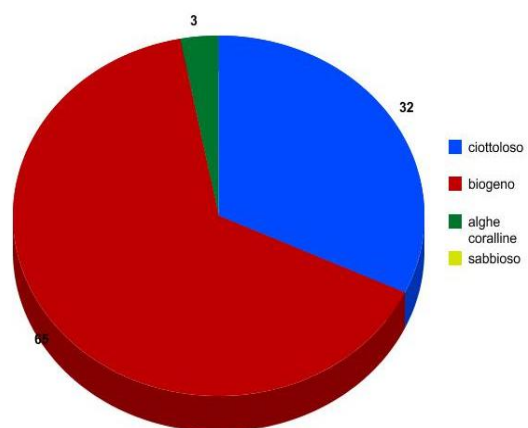


Figura 1- Percentuale di astici presenti su quattro differenti substrati dopo 1 mese.

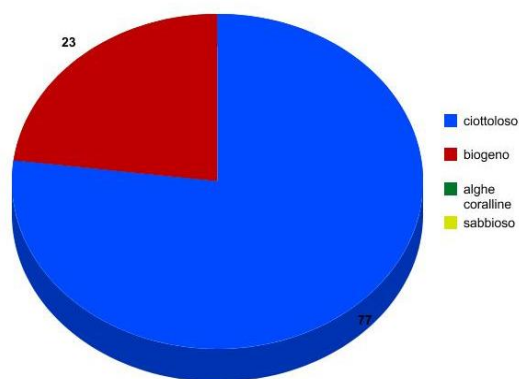


Figura 2-Percentuale di astici presenti su quattro differenti substrati dopo 9 mesi.

Inoltre la densità degli esemplari che avevano colonizzato i fondali ciottolosi era l'unica a mantenersi costante nel tempo.

Questi studi confermano come la morfologia dell'habitat sia un fattore chiave per determinare il numero di organismi che lo abitano.

Le possibilità di sopravvivere dei piccoli astici non sono legate solamente alla qualità dei rifugi disponibili, ma anche al loro numero.

L'astice europeo non accetta di condividere la propria tana con i suoi simili. A causa di questo orientamento alcuni animali potrebbero trovarsi esposti ai predatori a causa della mancanza di una tana o alla scarsa qualità della stessa. Questo rischio trova conferma nel fatto che questi animali arrivano a predarsi a vicenda se costretti a vivere a stretto contatto e aumenta per gli individui che stanno svolgendo le operazioni di muta. Normalmente però questo rischio sembra essere assente in habitat naturali idonei intermini di presenza nutrimento e tane disponibili.

Presa visione del fondale roccioso tramite le carte topografiche a disposizione e attraverso l'utilizzo di un ecoscandaglio che ha permesso di verificare la natura del fondale marino, è stata individuata la zona particolarmente predisposta al rilascio dei giovani. Per il rilascio è opportuno provvedere a garantire una buona qualità dell'habitat che offra la massima protezione cercando di minimizzare la pressione di predazione. L'effettiva forma e le caratteristiche del territorio in natura sono definite dalla topografia dell'area, la distribuzione di barriere come le rocce, oppure massi, sono preferiti dagli astici (Jensen et al. 1993). Il fondale in questa zona si presentava per lo più roccioso con alcune alternanze di poseidonia oceanica. Inoltre l'area prescelta rappresentava il punto di provenienza della maggior parte delle femmine ovigere reperite, rappresentando quindi una zona che la specie frequenta in natura; ciò può darci informazioni utili sia sulla presenza di cibo che sull'adeguatezza del fondale preso in considerazione.

Il rilascio è stato effettuato durante l'ultima settimana del mese di Maggio 2010 con temperatura dell'acqua sul fondo di circa 13°C. La stagione estiva non è stata considerata per la probabile presenza di un numero maggiore di predatori presenti. La pressione che i

predatori esercitano sui giovani astici cambia ovviamente con le stagioni e aumenta con temperature dell'acqua elevate. L'alto tasso di predazione causato dai pesci e le risposte difensive degli astici sono stati oggetto di alcuni studi (Van der Meeren 1991, 1993, 2000 e 2001). In Nord Europa per osservare questo fenomeno sono stati catturati dopo il ripopolamento alcuni potenziali predatori dei giovani astici ed è emerso che la maggiore densità di predatori presenti nel sito si è registrata nei mesi estivi. Un buon numero di essi si era evidentemente nutrito dei giovanili di astice da poco rilasciati. Tali studi hanno fatto emergere come l'elevato tasso di crescita che i giovani astici hanno in estate non sia sufficiente a contrastare la grande presenza di predatori che si riscontra in questa stagione (Van der Meeren 1993 e 2000). Inoltre bisogna considerare che queste indagini sono state svolte prendendo in considerazione predatori di dimensioni consistenti, non considerando alcuni molluschi, gamberi e cnidari ecc., che risultano comunque pericolosi. Per questo motivo si è arrivati a capire che la semina dei giovani ha maggiori probabilità di successo se effettuata escludendo i mesi estivi con temperature dell'acqua elevate.

Inoltre le basse temperature riducono l'attività metabolica, la quale si traduce inevitabilmente in una ridotta aggressività e in una minore tendenza a lasciare le tane.

Le coordinate, la profondità e la temperatura dell'acqua dell'area dove è stato effettuato il rilascio sono riportate in Tabella 1.

Tipologia fondale	Coordinate	Profondità media	Temperatura
Roccioso	42° 18.345 N	14 metri	13°C
	11° 35.706 E		

Tabella 1-Coordinat, profondità e temperatura del punto di rilascio

3.2-Tecniche di trasporto e di rilascio

L'unico sistema per trasportare grosse quantità di giovanili è quello di alloggiarli in contenitori comuni, senza acqua, mantenuti ad una temperatura che varia dai 3 agli 8 °C (Van Der Meeren 1991, Linnane et al. 1997). A causa del freddo il metabolismo degli animali rallenta visibilmente, rendendoli meno aggressivi e quindi meno propensi ad attaccarsi a vicenda. Questo metodo però richiede ai giovanili un certo tempo di acclimatazione una volta che vengono immessi in mare. I giovani possono impiegare anche un'ora prima di recuperare totalmente il pieno controllo delle proprie facoltà e durante questo periodo risultano particolarmente esposti agli attacchi dei predatori.

Nel caso in cui invece non si debbano seminare grosse quantità di giovanili, essi possono essere trasportati in singoli sacchetti pieni di acqua di mare fino al sito scelto per il rilascio. I tipi di semina effettuati negli ultimi anni sono stati principalmente due: la semina di molti esemplari (più di 5000) e quella di un numero minore (meno di 1000).

Nel nostro caso si è scelto di utilizzare provette Eppendorf da 50 ml riempiti per metà di acqua prelevata dal circuito chiuso e tenute immerse in acqua di mare per effettuare l'acclimatazione termica durante il trasporto.

Durante l'ultima settimana di Maggio sono rilasciati 2000 astici delle dimensioni comprese tra 2,5 e 4,5 cm. Ogni rilascio effettuato in una giornata ha compreso 200 astici, impiegando quindi un totale di cinque giorni. Il lasso di tempo necessario, dal prelievo degli individui presso il centro al rilascio in mare è stato in media di 4 ore circa. La metodologia di trasporto attuata in tutti i casi non ha presentato morti dei giovanili, inoltre essi si presentavano al momento del rilascio vitali e in buone condizioni.

Dato che le giovani larve sono particolarmente vulnerabili nel momento in cui attraversano la colonna d'acqua e visto che i predatori sono sicuramente il primo pericolo che i giovani astici incontrano una volta liberati in mare si è scelto di effettuare il rilascio mediante l'ausilio di sub che hanno trasportato gli individui sul fondale marino (Figura 3, Figura 4) riducendo in tal modo la possibilità di essere predati.



Figura 3-Individui bentonici rilasciati sul fondo.



Figura 4-Individuo rilasciato su fondale roccioso.

CAPITOLO 4: CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha avuto per oggetto lo studio di fattibilità di allevamento di giovani astici (*Homarus gammarus*) presso il CISMAR, finalizzato al rafforzamento della popolazione locale. Particolare attenzione è stata dedicata alla valutazione delle metodologie da applicare nelle differenti fasi di allevamento della specie, con lo scopo di ottenere indicazioni utili a fornire giovani astici idonei al rilascio in natura sia in termini quantitativi che qualitativi. Le fasi considerate e analizzate sono state le seguenti:

Stabulazione delle femmine ovigere: sono state valutate differenti postazioni di stabulazione soggette a differenti parametri chimico-fisici dell'acqua allo scopo di individuare quelle che conferissero alle femmine il minore stress possibile valutato considerando la perdita delle uova durante l'incubazione.

Allevamento planctonico: in questa fase sono stati allestiti e messi a punto appositi circuiti di allevamento e protocolli alimentari valutati in termini di sopravvivenza e accrescimento.

Allevamento bentonico: sono state allestite celle ad allevamento individuale ed è stata valutata la tipologia di alimentazione migliore in termini di sopravvivenza degli individui. Inoltre sono state effettuate caratterizzazioni comportamentali dei giovani astici allo scopo di migliorare sia le tecniche di allevamento, sia il successo del rilascio in natura. E' stato caratterizzato il profilo comportamentale sia in contesto sociale (interazioni agonistiche tra conspecifici) che non sociale (comportamento esplorativo) in individui allevati in differenti condizioni di arricchimento ambientale.

Per le femmine ovigere il miglior successo di stabulazione si è ottenuto in postazioni a circuito chiuso in cui, rispetto ad altri tipi di postazioni, i parametri chimico-fisici dell'acqua sono stabili e facilmente controllabili. Le altre possibilità valutate, i circuiti aperti e gli acquari, hanno causato la perdita delle uova da parte delle femmine e una produttività assai ridotta. Presso il CISMAR sono disponibili due circuiti chiusi composti rispettivamente da 10 e 7 vasche. E' possibile quindi ospitare un totale di 17 femmine ovigere ed esercitare un controllo sui tempi di schiusa mediante l'utilizzo degli impianti di controllo della temperatura, potendo fornire in tal modo una rotazione delle schiuse, utile ad accrescere il potenziale di produzione.

Il confronto tra le differenti tipologie di alimentazione planctonica ha mostrato che i naupli di artemia salina viva sono associati a un tasso di sopravvivenza molto basso, probabilmente dovuto a una cattiva circolazione del cibo nella colonna d'acqua. Anche i molluschi surgelati non hanno dato una buona sopravvivenza e l'accrescimento delle larve non è stato soddisfacente. L'artemia surgelata arricchita ha fornito un buon accrescimento, ma la circolazione di questa tipologia di cibo nella colonna d'acqua non è stata soddisfacente ed era associata a un tasso di sopravvivenza intermedio. Il mysis surgelato ha invece prodotto un buon tasso di sopravvivenza, anche se la colorazione degli individui appariva troppo chiara. E' stata dunque effettuata una scelta di alimentazione integrata

mantenendo il mysis per garantire la presenza di cibo nella colonna d'acqua, anche per minimizzare il cannibalismo tra gli individui, integrando artemia surgelata arricchita per garantire la qualità delle larve in termini di colorazione e accrescimento. Con queste metodologie di allevamento e alimentazioni e a una densità di 7.5 larve planctoniche/l ogni circuito è stato in grado di produrre circa 1800 larve bentoniche, con una sopravvivenza totale del 63% rispetto agli individui immessi. Il Centro possiede lo spazio per l'allestimento di altri due circuiti di allevamento larvale, potendo in tal modo aumentare il potenziale di produzione a 3.600 larve bentoniche per ciclo.

I risultati ottenuti in termini di sopravvivenza degli individui bentonici allevati in singole celle e sottoposti a differenti tipologie di alimentazione indicano che gli individui allevati con mangime commerciale per crostacei, Krill surgelato e l'integrazione di queste due tipologie di alimentazione hanno mostrato i tassi di sopravvivenza migliori e le larve apparivano di buon aspetto e vitalità, mostrando una sopravvivenza di circa l'80%. Il Centro con tale metodologia di allevamento è in grado di ospitare 1.700 astici bentonici.

Le analisi comportamentali non sociali legate all'utilizzo di una tana indicano che la ricerca della tana è particolarmente marcata durante il periodo immediatamente successivo alla transizione alla fase bentonica. Infatti tutti gli animali hanno mostrato un profilo iniziale neofilico di attrazione rispetto alla tana, ma sono divenuti più neofobici all'aumentare dell'età. Ciò potrebbe indicare questa fase come più idonea per effettuare il rilascio in natura. Nel complesso gli individui allevati con la tana hanno mostrato maggiore familiarità e attrazione verso l'oggetto tana rispetto a individui allevati senza arricchimento. Tali risultati suggeriscono che i giovani astici destinati a progetti di *restocking* potrebbero beneficiare di simili procedure di arricchimento ambientale volte a migliorare lo sviluppo delle competenze motorie, sensoriali e cognitive degli individui.

Una sperimentazione mirata a valutare tecniche di allevamento in condizioni di allevamento comune, in genere non adottate a causa del cannibalismo e dell'elevata mortalità è stata effettuata immettendo le larve in vasche a circuito chiuso contenenti centinaia di individui e allestite con differenti tipologie di arricchimento ambientale (rocce marine, tane in PVC, finta poseidonia). Durante la prima settimana i tassi di sopravvivenza nel caso delle rocce marine e delle tane in PVC non sono stati inferiori a quelli riscontrati nella stabulazione individuale ma sono diminuiti in seguito. Inoltre la caratterizzazione del comportamento in contesto sociale (interazioni diadiche) suggerisce che l'allevamento in comune, almeno nelle condizioni e densità (0,35 larve/l) adottate nel presente studio, sembrerebbe diminuire i livelli di aggressività rispetto all'allevamento individuale. Tali risultati indicano che l'utilizzo dell'allevamento in comune, che ha notevoli vantaggi in termini di tempo, spazio e costi per il mantenimento e la cura degli animali, potrebbe essere utilizzato per rilasci pianificati nelle

prime settimane della fase bentonica. Il rilascio in natura durante questo periodo potrebbe avere buone possibilità di successo anche in considerazione dello spiccato comportamento esplorativo e di attrazione verso la tana che è stato osservato nei test comportamentali. Il Centro può ospitare 16 vasche per l'allevamento sociale accrescendo notevolmente il potenziale di produzione a circa 1.400 bentonici prodotti ogni settimana da utilizzare per rilasci pianificati nella fase del primo stadio bentonico dei giovani astici.

Dai risultati ottenuti analizzando le differenti fasi di allevamento (stabulazione delle femmine ovigere, allevamento planctonico e allevamento bentonico) possiamo affermare che il CISMAR è in grado di realizzare piani di ripopolamento, in quanto possiede un'elevata potenzialità di produzione paragonabile a quella dei paesi Nord Europei (Norvegia, Germania, Scozia) volta a garantire una buona produttività sia in termini quantitativi che qualitativi.

SOMMARIO

La tesi ha avuto per oggetto la messa a punto di metodologie per l'allevamento di giovani astici (*Homarus gammarus*) a scopo di *restocking*. Sono stati valutati una serie di parametri cercando di minimizzare il principale fattore limitante costituito dal cannibalismo, che rende necessario l'allevamento individuale delle larve a partire dalla fase bentonica. Il lavoro è consistito in: (i) indagine sullo *status* della specie; (ii) progettazione e rodaggio di strutture necessarie al mantenimento in cattività degli individui adulti (femmine) e all'allevamento delle larve; (iii) sperimentazione di differenti tecniche di allevamento; (iv) individuazione di aree idonee al rilascio. Particolare attenzione è stata dedicata all'ambiente di crescita delle larve per ottenere individui idonei al *restocking* in termini quantitativi e qualitativi (valutazione della condizione e del comportamento). E' stato possibile ottenere un elevato numero (migliaia) di individui bentonici con una sopravvivenza in questa fase superiore all'80%, simile a quanto già ottenuto in paesi del Nord Europa. L'allevamento in comune di centinaia di individui in ambienti opportunamente arricchiti, che minimizzano i fenomeni di cannibalismo, è possibile almeno nelle prime fasi dello stadio bentonico. Le analisi comportamentali suggeriscono che le larve presentano una marcata neofilia e ricerca della tana nelle prime due settimane, e maggior neofobia e probabilmente aggressività dopo la seconda settimana della loro vita bentonica. Procedure mirate di arricchimento ambientale (presenza di tana) durante l'ontogenesi negli individui allevati singolarmente potrebbero conferire uno sviluppo migliore delle competenze motorie, sensoriali e cognitive.

SAMMARY

This work aimed to set up methodologies for rearing juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) for restocking purposes. A number of parameters for achieving the production of good individuals for restocking actions have been evaluated, trying to circumvent the most critical limiting factor, intra-specific cannibalism, which is usually reduced by individual rearing. The thesis work has consisted of: (i) investigation on the status of the species, especially in Italy; (ii) planning and validation of the necessary structures and equipments for housing both adult females and juveniles; (iii) experimentation of different rearing techniques; (iv) localization of appropriate sites for release. Particular focus has been given to the rearing environment both in quantitative (optimization of procedures) and qualitative (e.g. evaluation of condition and behaviour of the individuals) aspects. It was possible to obtain a high number (thousands) of benthonic individuals, similar to what already obtained in Northern Europe, with a survival rate above 80%. Moreover, specific experiments have shown that communal rearing of hundreds of individuals is possible in enriched environments with shelters, rocks or material to hide that minimizes cannibalism. The behavioural analyses suggest that the juveniles are neophilic and perform active shelter search in the first weeks, while they become neophobic, and presumably more aggressive, after the second week of their benthonic life. Enrichment procedures (shelter in the rearing environment) during ontogenesis seem to confer a better development of motor, sensory and cognitive abilities, thus improving the quality of the individuals.

ALLEGATO A STRUTTURA INIZIALE DELL'AVANNOTTERIA SPERIMENTALE PRESSO IL CISMAR

Leggenda



Sterilizzatore UV



Filtro biologico



Filtro meccanico

PRODUZIONE

FITOPLANCTON

ZOOPLANKTON

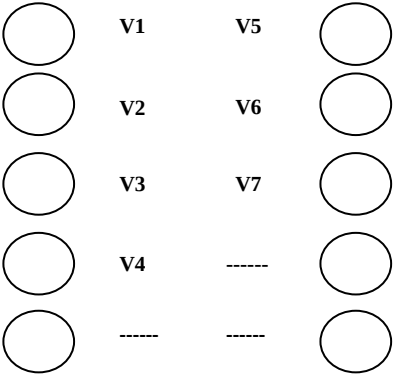
E ACQUARIO

BOX

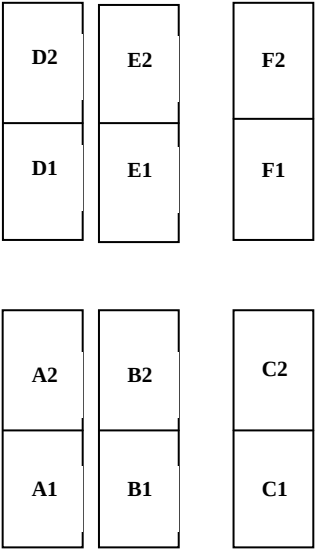
ALGHE

Sistema a circuito chiuso (CC2)

Vasca di raccolta

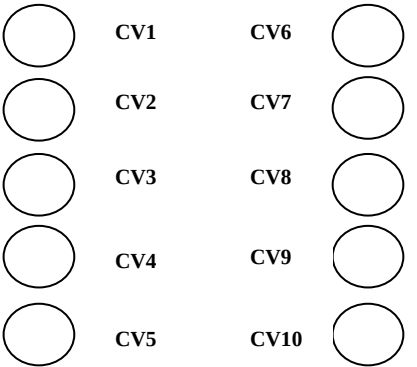


Sistema a circuito aperto (CA)



Sistema a circuito chiuso (CC1)

Vasca di raccolta



**Stanza sperimentale test
comportamentali**



ALLEGATO B ALIMENTAZIONE DELLE LARVE PLANCTONICHE

Artemia viva arricchita

Artemia salina del Gran Lago Salato nello stato dell'Utah negli USA

	GRAN LAGO SALATO	
	UOVA	NAUPILI
Proteine	50	41-47
Grassi	14	21-23
Carboidrati	-	11
Ceneri	9	10

Valori nutrizionali di uova e naupili espressa in % del peso secco.

L'artemia salina utilizzata (Coppus International bv Larval feed Premium) è stata alimentata con alga viva *Isocrysis galbana*, la somministrazione veniva effettuata anche 2 ore prima dell'alimentazione agli astici planctonici, in tal modo i naupili di artemia risultavano arricchiti, non avendo perso tramite la digestione le proprietà peculiari dell'alga. L'artemia utilizzata aveva da 1 a 3 giorni di vita, si tratta quindi di naupili giovani caratterizzati da una buona presenza di acidi grassi e amminoacidi essenziali ottimi per la somministrazione a larve appena nate. I valori nutritivi per i naupili sono pari circa al 22% di grassi e al 44% di proteine. Per la somministrazione i naupili sono stati filtrati attraverso un retino da fitoplancton, e pesati tramite bilancia analitica.

Artemia adulta surgelata

I valori nutritivi tra naupili ed adulti sono molto differenti. A differenza dei naupili ricchi in acidi grassi e amminoacidi l'artemia adulta presenta un alto contenuto proteico adatta quindi a individui più grandi. I valori nutritivi sono per gli adulti pari circa a 10% grassi e 60% proteine. Si è scelto quindi di utilizzare una qualità arricchita con alga spirulina ed acidi grassi in particolare Omega 3 (Ocean Nutrition Aquarium foods, importato da Ocean Nutrition Europe buba, www.oceannutrition.net). Un cubetto del peso di 3g è costituito da 2g di alimento e 1g di acqua. Per la somministrazione i cubetti surgelati sono stati disciolti in acqua dolce e opportunamente risciacquati.

Mangime commerciale

Il mangime utilizzato rappresenta un mangime base per gamberi e granchi (Tetra) e le caratteristiche nutrizionali comprendono la presenza di acidi grassi e astaxantine per la colorazione del carapace. Per la somministrazione si è proceduto a pesare la quantità necessaria tramite una bilancia analitica.

Cozze e gamberi surgelati

Cozze Noribérica frozen food, polpa di cozze cilene 200-300/PF. Allevate in Cile, Oceano Pacifico Zona Fao: n°87.

Gamberi indo pacifici sgusciati congelati, *Metapeneus affinis*. Pescato nell' Oceano Indiano Zona Fao:n°51.

Questi alimenti sono ricchi di proteine e possiedono astaxantine, le cozze presentano buoni valori di acidi grassi e carboidrati mentre i gamberi ne presentano in quantità minore; nello specifico i valori nutrizionali sono riportati nella tabella seguente

	VALORI NUTRIZIONALI	
	COZZE	GAMBERI
Proteine	62	70
Grassi	5	4
Carboidrati	16	7

Valori nutritivi espressa in % sul valore totale.

Per la somministrazione, gli alimenti sono stati sminuzzati finemente e opportunamente risciacquati in acqua dolce, asciugati e pesati.

Misys surgelato

(Ocean Nutrition Aquarium foods, importato da Ocean Nutrition Europe buba, www.oceannutrition.net). Un cubetto del peso di 3gr è costituito da 2gr di alimento e 1gr di acqua. Per la somministrazione i cubetti surgelati sono stati disciolti in acqua dolce e opportunamente risciacquati.

ALLEGATO C ALIMENTAZIONE DELLE LARVE BENTONICHE

Mangime commerciale

Il mangime utilizzato rappresenta un mangime base per gamberetti, gamberi e granchi, (Tetra) e le caratteristiche nutrizionali comprendono la presenza di acidi grassi e astaxantine per la colorazione del carapace. Per la somministrazione si è proceduto a pesare la quantità necessaria tramite una bilancia analitica.

Krill superba surgelato

(Ocean Nutrition Aquarium foods, importato da Ocean Nutrition Europe buba, www.oceannutrition.net). Un cubetto del peso di 3gr è costituito da 2gr di alimento e 1gr di acqua. Per la somministrazione i cubetti surgelati sono stati disciolti in acqua dolce e opportunamente risciacquati.

Fresco

Salmone norvegese fresco prodotto in allevamento tale; alimento risulta essere ricco di acidi grassi e astaxantine.

Gamberi freschi provenienti dall'Argentina pescati in Atlantico Sud Occidentale, Zona Fao:n°41

BIBLIOGRAFIA

- Addison, J.T. & Bannister, R.C.A.** 1994. Re-stocking and enhancement of clawed lobster stocks: a review. *Crustaceana*, **67**, 131-155.
- Agnalt A-L., van der Meeren, G.I., Jørstad, K.E., Naess, H., Farestveit, E., Nøstvold, E., Svåsand, T., Kørsoen, E. & Ydstebø.** 1999. Stock enhancement of European Lobster (*Homarus gammarus*); a large-scale experiment off south-western Norway (Kvistøy). In: Stock Enhancement and Sea Ranching. Edited. by Howell, B., Moksness, E. & Svåsand, T. *Fishing News Books, Blackwell Science*, Oxford, 401-419.
- Agnalt, A.-L., Jørstad, K.E., Kristiansen, T.S., Nøstvold, E., Farestveit, E., Næss, H.O.I. & Svåsand, T.** 2004. Enhancing the European lobster (*Homarus gammarus*) stock at Kvitsøy Islands: Perspectives of rebuilding Norwegian stocks. In: Stock Enhancement and Sea Ranching. Edited by Leber, K.M., Kitada, S., Blankenship, H.L. & Svåsand, T. *Blackwell Science*, Oxford, 415-426.
- Agnalt, A-L.** 2008. Fecundity of the European lobster (*Homarus gammarus*) off southwestern Norway after stock enhancement; do cultured females produce as many eggs as wild females?. *ICES Journal of Marine Science*, **65**, 164-170.
- Aiken, D.E. & Waddy S.L.** 1995. Aquaculture In: Biology of the lobster *Homarus americanus*. Edited by Factor, J.R. New York, 153-175.
- Aiken, D.E. & Waddy, S.L.** 1980. Reproductive biology. In: The Biology and Management of Lobsters. Edited by Cobb, J.S. & Phillips, B.F. *Physiology and Behaviour*, London, 215-276.
- Anonymus,** 1980-2008. Die kleine Hochsee- und Küstenfischerrei. Jahresbericht des Amtes für landliche Räume Kiel-Abt. Fischerei. In: Amt für landliche Räume Kiel (Eds.), Das Fischerblatt, Ohle Druck.

- Atema, J.** 1986. Review of sexual selection and chemical communication in the lobster *Homarus americanus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **43**, 2283-2390.
- Bannister, R.C.A.** 1986. Assessment and population dynamics of commercially exploited shellfish in England and Wales. In: North Pacific Workshop on Stock Assessment and Management of Invertebrates. Edited by Jamieson G.S. & Bourne, N. *Fisheries and Aquatic Science*, **92**, 182-194.
- Bannister, R.C.A., Addison, J.T., & Lovewell, S.R.J.** 1994. Growth, movement, recapture rate and survival of hatchery-reared lobsters (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758) released into the wild on the English East Coast. *Crustaceana*, **67**, 156-172.
- Bannister, R.C.A.** 1995. Lobster stocking: progress and potential. Significant results from U.K. lobster restocking studies 1982 to 1995. MAFF Directorate *Fisheries Research*, Fisheries Laboratory, Lowestoft, 11pp. Beard, T.W., Richards, P.R. & Wickins, J.F. 1985. The techniques and practicability of year-round production of lobster, *Homarus gammarus* (L.) in laboratory recirculation system. MAFF *Fisheries Research Technical Report*, **79**, 22pp.
- Bannister, R.C.A. & Addison, J.T.** 1998. Enhancing lobster stock: a review of recent European methods, results and future prospects. *Bulletin of Marine Science*, **62**, 369-387.
- Beard, T.W. & Wickins, J.F.** 1992. Techniques for the production of juvenile lobster (*Homarus gammarus* (L.)). *Fisheries Research Technical Report* MAFF Directorate Fisheries Research Lowestoft, UK, **92**, 22pp.
- Beard, T.W., Richards, P.R. & Wickins, J.F.** 1985. The techniques and practicability of year-round production of lobster, *Homarus gammarus* (L.), in laboratory recirculation systems. *Fisheries Research*, Lowestoft, **79**, 22pp.

- Beard, T.W. & McGregor, D.** 2004. Storage and care of live lobster. *The Centre for Environment, Fisheries & Aquaculture Science*, **66**, 5-26.
- Branford, J.R.** 1978. Incubation Period for the lobster *Homarus gammarus* at Various Temperatures. *Marine Biology*, **47**, 363-368.
- Brock, J.A.** 1993. A synopsis of pathology, diseases, and production problems of cultured Macrobrachium, with an emphasis on experiences in Hawaiian prawn farming. *Crustacean Aquaculture*, **1**, 361-486.
- Browne, R.M., Mercer, J.P. & Duncan, M.J.** 2001. An historical overview of the Republic of Ireland's lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus) fishery, with reference to European and North American (*Homarus americanus* Milne Edwards) lobster landings. *Hydrobiologia*, **465**, 49-62.
- Browne R., Benavente G.P., Uglem, I & Balsa J.C.M.** 2009. An illustrated hatchery guide for the production of clawed lobsters. (Using a green water technique). *Aquaculture Explained*, **23**, 34pp.
- Burton, C.A.** 1992. Techniques of lobster stock enhancement. *Seafish Report, Sea Fish Industry Authority, Marine Farming Unit, Ardtoe, U.K.*, **396**, 55pp.
- Castro, K.M., Cobb, J.S., Wahle, R.A. & Catena, J.** 2001. Habitat addition and stock enhancement for American lobster, *Homarus americanus*. *Marine and Freshwater Research*, **52**, 1253-1262.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M. & Aiken, D.E.** 1991. Metamorphosis in the lobster *Homarus americanus* (Decapoda): A review. *Journal of Crustacean Biology*, **11**, 481-495.
- Charmantier, G. & Mounet-Guillaume, R.** 1992. Temperature-specific rates of embryonic development of the European lobster *Homarus gammarus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **1600**, 61-66.

- Charmantier, G., Haond, C., Lignot, J. & Charmantier-Daure`s, M.** 2001. Ecophysiological adaptation to salinity throughout a life cycle: a review in homarid lobsters. *Journal. Experimental Biology*, **204**, 967 – 977.
- Cobb, J.S. & Castro, K.M.** 2006. Homarus species. In: Ediction by Phillips, B. Lobsters: *Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Oxford, Blackwell,. 310–340.
- Cobb, J.S., Wang, D. & Campbell, D.B.** 1989. Timing and settlement by postlarval lobsters, *Homarus americanus*, fi eld and laboratory evidence. *Journal of Crustacean Biology*, **9**, 60-66.
- Dybern, B.I.** 1973. Lobster burrows in Swedish waters. Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, **24**, 401-414.
- Doherty, P.J.** 1999. Recruitment limitation is the theoretical basis for stock enhancement in marine populations. In: Edited by Howell, B., Moksness, E. & Svåsand, T. Stock Enhancement and See Ranching. *Bleckwell Scientific*, London, 9-12.
- Dow, R.L.** 1980. The clawed lobster fisheries. In: Edited by Cobb, J.S. & Phillips, B.F The Biology and Management of lobster. *Ecology and Management*, New York, 265-316.
- Factor, J.R.M.** 1995. Biology of the lobster *Homarus americanus*. *Academic Press*, New York and London, 528 pp.
- FAO** 2006. *Fishery Statistics*, <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>.
- Ferguson A.** 2002. Genetic diversity in the European lobster (*Homarus gammarus*): population structure and impacts of stock enhancement. <http://www.qub.ac.uk/bb/prodohl/GEL/gel.html>.
- Fishery Statistics**, 1999-2006. *Eurostat database of European Commission*. <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>

Fishery Statistics, 1950-2007. *Eurostat database of European Commission*.
<http://epp.eurostat.ec.europa.eu>

Gendron, L. 1998. Proceedings of a Workshop on Lobster Stock Enhancement held in the Magdalen Island (Quebec) from 29 to 31 October 1997. *Fisheries and Aquatic Sciences*, **224**, 135pp.

Goemann, O. 1990. "Echt" Helgoländer Hummer. Kohlrenken Verlag Oldenburg, Oldenburg, 82pp.

Grossman, G.D., Jones, G.P. & Seaman, W.J. 1997. Do artificial reefs increase regional fish production? A review of existing data. *Fisheries*, **22**, 17-23.

Harzsch, S., Miller, J. & Benton, J. 1999 From embryo to adult: persistent Neurogenesis and apoptotic cell death shape the lobate deutocerebrum. *The Journal of neuroscience*, **19**, 3472-3485.

Helluy S. & Sandeman, D. 1993. Comparative brain ontogeny of crayfish and clawed lobster: implication of direct and larval development. *The Journal of Comparative Neurology*, **335**, 343-354.

Holthius, L.B. 1974. The lobster of the superfamily Nephropidae of the Atlantic Ocean (Crustacea: Decapoda). *Bullettin Marine Science*, **24**, 723-884.

Holthius, L.B. 1991. FAO Species Catalogue. Marine lobster of the World. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries Known to date. FAO *Fisheries Synopsis*, **125**, 13pp.

Incze, L.S. & Wahle, R.A. 1991. Recruitment from pelagic to early benthic phase in lobsters, *Homarus americanus*. *Marine Ecology*, **79**, 77-8.

- Jensen, A.C., Collins, K.J., Free, E.K. & Bannister, C.A.** 1993. Lobster (*Homarus gammarus*) movement on an artificial reef: The potential use of artificial reefs for stock enhancement. *Crustaceana* **67**, 198-211.
- John F., Wickins & Daniel O'C. Lee** 2002. Crustacean Farming. Ranching and culture. *Blakwell Science*, 199-211.
- Jorstad, KE., Agnalt, A.-L., Kristiansen, TS. & Nostvold, E.** 2001. High survival and growth of European Lobster juveniles (*Homarus gammarus*) reared communally on natural-bottom substrate. *Marine Freshwater Research*, **52**, 1431-1438.
- Klimpel, J.** 1965. Die neuzeitliche Entwicklung der Inselgemeinde Helgoland unter besonderer Berücksichtigung des Fremdenverkehrs. Verlagsanstalt Konstanz, Konstanz.
- Kristiansen, T.S., Drengstig, A., Bergheim A., Drengstig T., Svensen, R., Kollsgård, I., Nøstvold, E., Farestveit, E. & Aardal, L.** 2004. Development of methods for intensive farming of European lobster in recirculated seawater. Results from experiments conducted at Kvitsøy lobster hatchery from 2000 to 2004. *Fisken og havet*, **6**, 51pp.
- Latrouite, D. & Lorec, J.** 1991. L'expérience française de forçage du recrutement du homard européen (*Homarus gammarus*): resultants preliminaries. *ICES Science Symposia*, **192**, 93-98.
- Lindberg, W.J.** 1997. Can science resolve the attraction-production issue?. *Fisheries*, **22**, 10-13.
- Linnane, A., Uglem, I., Grimsen, S. & Mercer, J. P.** 1997. Survival and cheliped loss of juvenile lobsters *Homarus gammarus* during simulated out-of-water transport. *Progressive Fish-Culturist*, **59**,
- Linnane, A., Brendan, B., Mercer, J.P., Browne R., vann de Meeren G., Ringvold, H., Bannister, C., Mazzoni, D. & Munday, B.** 2001. Searching for the early benthic phase (EBP) of the European Lobster: a trans-European study of cobble fauna. *Hydrobiologia* **465**, 63-72.

- Linnane A., Mazzoni, D. & Mercer, J.P.** 2000. A long-term mesocosm study on the settlement and survival of juvenile European lobster *Homarus Gammarus* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **249**, 51-64.
- MacDiarmid, A.B. & Saint-Marie, B.** 2006. Reproduction. In: *Lobster Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Edited by B.F. Phillips. *Blackwell Publishing*, Oxford, 45-68.
- MacKenzie, B.R.** 1988. Assessment of temperature effects on interrelationship between stage durations, mortality, and growth in laboratory-reared *Homarus americanus* Milne Edwards larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **116**, 87-98.
- Mehrtens F., Stolpmann, M., Buchholz, F., Hagen, W. & Saborowski, R.** 2005. Locomotory activity and exploration behavior of juvenile European lobster (*Homarus gammarus*) in the laboratory. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, **38**, 105-116.
- Mehrtens, F.** 2008. Untersuchungen zu den Entwicklungsbedingungen des Europäischen Hummers (*Homarus gammarus*) bei Helgoland in Freiland und Labor. *PhD thesis*, Universität Hamburg, Germany.
- Mercer, J.P., Bannister, R.C., Van der Meeren, G.I., Debuse, V., Mazzoni D., Lovewell, S., Browne, R., Linnane A. & Ball, B.** 2000. An overview of the LEAR (Lobster Ecology and Recruitment) project: the results of field and experimental studies on the juvenile ecology of *Homarus gammarus* in cobble. *Marine and Freshwater Research* **52**, 1291-1302.
- Nichols, J.H. & Lawton, P.** 1978. The occurrence of the larval stages of the lobster *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758) off the northeast coast of England in 1976. *Journal du Conseil – Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, **38**, 234-243.
- Perkins, H.C.** 1972. Developmental rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*Homarus americanus*). *Fishery Bulletin U.S.*, **70**, 95-99.

- Phillips, B.F., Cobb, J.S. & George, R.W.** 1980. General Biology. In: "The biology and management of lobsters". Edition by Cobb, J.S. & Phillips B.F. *Physiology and Behaviour*, London and New York, 1-82.
- Rørvik, C.J. & Tveite, S.** 1982. A stock assessment of lobster (*Homarus gammarus*) on the Norwegian Skagerrak coast. *International Council for the Exploration of the Sea*, 1987/K, 7-20.
- Sastry, A.N. & Zeitlin-Hale, L.** 1977. Survival of communally reared larval and juvenile lobster, *Homarus americanus*. *Marine Biology*, **39**, 297-303.
- Schmalenbach, I.** 2009. Studies on the developmental condition of the European lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758) at the rocky Island of Helgoland (German Bight, North sea). *phD Hamburg University*, 171 pp.
- Scovacricchi, T.** 1998. Primi tentativi di rafforzamento degli stock di astice, *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758), in Alto Adriatico. *Biologia Marina Mediterranea*, **5**, 1455-1464.
- Scovacricchi, T.** 1999. Preliminary studies on stocking depleted populations of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.) (Decapoda, Nephropidae) onto the natural beach rock outcrops in the Northern Adriatic Sea. In: "Stock Enhancement and Sea Ranching", edited by B.H. Howell, E. Moksness & T. Svåsand, published by *Blackwell Science Ltd.*, *Fishing News Books*, Oxford, U.K., Chapter, **27**, 393-400.
- Sheehy, M.R.J., Shelton, P.M.J., Wickins, J.F., Belchier M. & Gaten, E.** 1996. Ageing the European lobster *Homarus gammarus* by the lipofuscin in its eyestalk ganglia. *Marine Ecology* **143**, 99-111.
- Smedstad, O., Salvanes, A.G.V., Fosså, H.J. & Nordeide J.T.** 1994. Enhancement of cod in Masfjorden: an overview. *Aquaculture and Fisheries Management*, **25**, 117-128.

- Stollewerk , A. & Simpson,** 2005 Evolution of early development of the nervous system: a comparison between arthropods. *BioEssay*, **27**, 874-883.
- Templeman, W.** 1936. The influence of temperature, salinity, light and food condition on the survival and growth of the larvae of the lobster (*Homarus americanus*). *Journal of Biology Board of Canada*, **2**, 485-497.
- Talbot, P. & Helluy, S.** 1995. Reproduction and embryonic development. In:.. Biology of the lobster *Homarus americanus*. Ediction by Factor J.R. San Diego,177–216.
- Tully, O.** 2004. The Biology and Management of Clawed lobster (*Homarus gammarus*, L.) in: *Europe Fisheries Resource*.Ediction by Board Iascaigh Mhara, Dun Laoghaire, Ireland.
- Tully, O., Roantree, V. & Robinson, M.** 2001. Maturity, fecundity and reproductive potential of the European lobster (*H. gammarus*) in Ireland. *Journal Marine Biology*,. **81**, 61-68.
- Tully, O., Bell, M., O’Leary A., McCarthy, A., O’Donovan, V. & Nee, D.** 2006. The lobster (*Homarus gammarus* L.) fishery: Analysis of the resource in 2004/2005. *Fisheries Resource Series 5*.
- Uglen, I., Pérez Benavente, F.G. & Browne, R.** 2006. A regional development strategy for stock enhancement of clawed lobster (*Homarus gammarus*) –Development of juvenile lobster production methodologies. *NINA Report*, **211**, 39pp.
- Ulrich, I., Müller, J., Schütt, C. & Buchholz, F.** 2001. A study of population genetics in the European lobster *Homarus gammarus* (Decapoda, Nephropidae). *Crustaceana*, **74**, 825-837.
- van der Meeren, G. I.** 1991: Out-of-water transportation effects on behaviour in newly released juvenile atlantic lobsters *Homarus gammarus*. *Aquacultural Engineering*, **10**, 55–64.

- van der Meeren, G. I.** 1993: Initial response to physical and biological conditions in naive juvenile lobsters *Homarus gammarus* L. *Marine Behaviour and Physiology*, **24**, 79–9.
- van der Meeren, G. I.** 2000: Predation on hatchery-reared lobsters *Homarus gammarus* released in the wild. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **57**, 1784–1793.
- van der Meeren, G. I.** 2001: Effects of experience with shelter in hatchery-reared juvenile European lobsters *Homarus gammarus*. *Marine and Freshwater Research*, **52**, 1487–1494.
- van der Meeren, G.I.** 2003. The potential of ecological studies to improve on the survival of cultivated and released aquatic organisms: insights from functional morphology and behaviour studies of the European lobster *Homarus gammarus*. *phD*, University of Bergen.
- van der Meeren, J.I., Svåsand, T., Grimsen, S., Kristiansen, A. & Farestveite, E.** 1990. Large scale release experiment of juvenile lobster, *Homarus gammarus*, in Norway. *International Council for the Exploration of the Sea*, Council meeting, 1990/K, **2**, 9pp.
- van der Meeren, G.I. & Tveite S.** 1998. Fishery and management of the lobster (*Homarus gammarus*) in Norway. *Fisken og Havet*, **13**, 72-76.
- Van Olst, J.C., Carlberg, J.M. & Ford R.F.** 1975. Effect of substrate type and other factors on rearing system. *Proceedings Annual Meeting World Mariculture Society*, **6**, 261-274.
- Waddy, S.L.** 1988. Farming the homarid lobsters: state. *World Aquaculture*, **19**, 63-71.
- Wickins, J.F. & Barry, J.** 1996. The effect of previous experience on the motivation burrow in early benthic phase lobsters (*Homarus gammarus* (L.)). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, **28**, 211-228.

Wickins, J.F. 1986. Simulation of crusher claw development in cultured lobsters, *Homarus gammarus* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management*.

Williams, A.B. 1988. Lobster of the world – an illustrated guide. *Osprey Books*, Huntington, New York.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il professor Giuseppe Nascetti che mi ha dato la possibilità di realizzare il presente lavoro, un ringraziamento speciale è dedicato al Dott. Claudio Carere che con estrema disponibilità e pazienza mi ha supportato.

Ringrazio il professor Enrico Alleva che ha messo a disposizione le strumentazioni necessarie all'elaborazione della sezione comportamentale del lavoro.

Ringrazio la Dott.ssa Agnalt Ann-Lisbet e la Lobster Farm CAME che mi hanno ospitato presso le loro strutture.