

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI ECOLOGIA E SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA

ECOLOGIA E GESTIONE DELLE RISORSE BIOLOGICHE - XXIV Ciclo.

Variabilità intraspecifica e *trade-offs* nel foraggiamento e nel comportamento anti-predatorio di *Liza aurata* (Cefalo dorato)

BIO/07 - BIO/09

Coordinatore: Prof. Roberta Cimmaruta

Firma

Tutor: Dott. Paolo Domenici

Firma

Dottorando: Fabio Antognarelli

Firma

12 Gennaio 2012

Alle onde del Sínis....

Indice

INTRODUZIONE	5
1. Comportamento Alimentare	5
1.1 Comportamento alimentare nei Mugilidi.....	6
2. Il Metabolismo nei pesci	8
2.1 Energetica	8
2.2 Tasso metabolico	10
3. Il nuoto nei pesci	11
3.1. Struttura morfologica dell'apparato locomotore.....	12
3.2 La prestazione di nuoto	16
3.3 Valutare la prestazione di nuoto aerobico.....	19
3.4 Valutare la prestazione di nuoto anaerobico.....	22
3.4.1 La risposta di fuga.....	22
4. Il rischio di predazione	25
4.1 La presa di rischio	26
4.2 La lateralizzazione comportamentale	27
4. Variabilità individuale	29
4.1 Trade-offs, tipi e sindromi comportamentali	30
4.2 Implicazioni evolutivistiche, fisiologiche ed ecologiche.....	32
5. Liza aurata (Risso, 1810).....	33
6. Obiettivi.....	35
MATERIALI E METODI.....	37
7. Animali utilizzati negli esperimenti	37
7.1 Condizioni di mantenimento presso l'Università de La Rochelle (FR).....	38
7.2 Condizioni di mantenimento presso l'IAMC-CNR di Oristano.....	38
8. Set-up e protocolli sperimentali	39
8.1 Comportamento alimentare.....	39
8.2 Capacità metabolica.....	42
8.3 Attività spontanea di nuoto.....	44
8.4 Risposta di fuga	45
8.5 L'audacia.....	47
8.6 Lateralizzazione comportamentale	48
RISULTATI.....	50
9.1 Comportamento alimentare	50
9.2 Capacità Metabolica	55
9.3 Attività spontanea di nuoto.....	56
9.4 Risposta di fuga	59
9.5 L'audacia.....	64
9.6 Lateralizzazione comportamentale.....	66
9.7 Correlazione tra diversi tratti misurati	67
9.7.1 Attività spontanea di nuoto e Risposta di fuga.....	67
9.7.2 Lateralizzazione comportamentale e Audacia	70
9.7.3 Lateralizzazione comportamentale e Risposta di fuga.....	71
9.7.4 Capacità metabolica e Audacia.....	73

9.7.5 Capacità metabolica e Attività spontanea di nuoto	74
DISCUSSIONE.....	76
10.1 Comportamento alimentare	76
10.2 Capacità metabolica	77
10.3 Attività spontanea di nuoto	78
10.3 Risposta di fuga.....	79
10.4 Presa di rischio	80
10.5 Lateralizzazione comportamentale	82
10.6 Relazioni tra i parametri misurati	82
10.6.1 Attività spontanea e risposta di fuga.....	83
10.6.2 Lateralizzazione e Presa di rischio	83
10.6.3 Risposta di fuga e Lateralizzazione	84
10.6.4 Presa di rischio e capacità metabolica	84
10.6.5 Capacità metabolica e Attività spontanea di nuoto	84
Conclusioni	86
Bibliografia.....	88

INTRODUZIONE

1. Comportamento Alimentare

A livello intrinseco il comportamento alimentare, oltre ad essere determinato dal metabolismo individuale, è regolato dall'appetito (Figura 1), a sua volta regolato (meccanicamente) dalla distensione delle pareti stomacali e dalla concentrazione di alcuni nutrienti nel sangue. La distensione delle pareti dello stomaco trasmette al cervello degli impulsi che innescano il senso di sazietà; quest'ultimo aumenta durante il riempimento dello stomaco fino alla cessazione dell'attività di foraggiamento. La digestione, e in particolare lo svuotamento dello stomaco (con il passaggio del cibo verso l'intestino), comporta il graduale ritorno del senso di appetito e la conseguente ricerca di nuovo foraggio. In maniera simile, anche la concentrazione dei nutrienti nel sangue e il metabolismo hanno un'influenza diretta sul comportamento alimentare dell'individuo (DeSilva & Anderson, 1995).

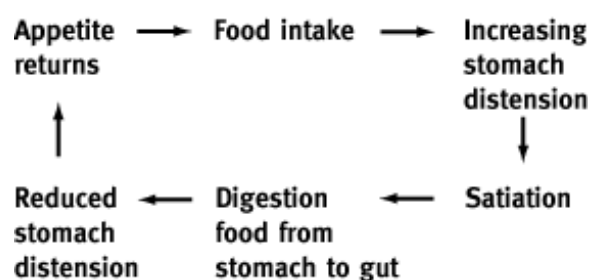


Figura 1: processo di riempimento e svuotamento dello stomaco e conseguenze comportamentali.

Il comportamento alimentare può essere considerato una risposta alla richiesta energetica (capacità metabolica) di un individuo. Una dieta con alimenti dal basso valore energetico, considerando anche i limiti di assunzione derivanti dalla dimensione dello stomaco, viene compensata da una maggiore frequenza di foraggiamento (Volkoff & Peter, 2006). La velocità con la quale avvengono i processi di riempimento e svuotamento dello stomaco è il fattore principale nella determinazione della frequenza di foraggiamento nell'arco delle 24 ore. Generalmente essa è molto più alta negli erbivori che nei carnivori.

Il comportamento alimentare di un animale, oltre ad essere influenzato dall'ecologia e dalla fisiologia della specie, è frutto della complessa interazione che s'instaura tra l'animale e l'ambiente. L'influenza ambientale, con particolare riferimento alla sua componente abiotica, è riconducibile principalmente a fattori quali, la temperatura, la salinità, l'ossigeno disciolto, l'intensità luminosa, la stagionalità, etc. Questi agiscono sulla fisiologia a diversi livelli influenzando la capacità metabolica, il sistema endocrino, fino ad arrivare alla

percezione sensoria (Volkoff & Peter, 2006).

Il fattore ambientale che influenza maggiormente il metabolismo, e conseguentemente l'assunzione di energia, è la temperatura. La variazione di temperatura corporea all'interno dell'intervallo tollerato dalla specie ha conseguenze sul tasso metabolico (Claireaux et al., 2007) e sulla fisiologia in generale. Agli estremi dell'intervallo di tolleranza abbiamo: a temperature più elevate un innalzamento del tasso metabolico fino al punto di squilibrio dei processi endogeni (es. snodamento delle proteine, degradazione delle strutture terziarie delle proteine) e al conseguente collasso; a temperature più basse la diminuzione della velocità dei processi fino alla loro inibizione (congelamento). L'influenza della temperatura ambientale sul metabolismo si riflette quindi anche sui processi digestivi con conseguenze sul comportamento alimentare.

In generale i pesci, come tutti i Pecilotermi, non possiedono una temperatura corporea stabile; non potendo generare calore devono adattarsi alla temperatura ambientale e ai suoi cambiamenti ciclici (giornalieri e stagionali). I grandi nuotatori rappresentano un'eccezione a questa regola generale. I Tunnidi, ad esempio, grazie alla possente muscolatura e all'elevata attività di nuoto aerobico, producono una grande quantità di energia in forma di calore.

La digestione è un processo esoergonico; negli omeotermi i livelli di isolamento nei tessuti del corpo consentono solo un lento rilascio di questo calore verso l'esterno. Nei pecilotermi questo calore viene velocemente disperso; questo spiega la potenziale capacità dei pesci, al contrario dei mammiferi, di riempire completamente lo stomaco per raggiungere la sazietà (DeSilva & Anderson, 1995).

Il comportamento alimentare è influenzato anche da fattori biotici, in primo luogo dalla disponibilità di cibo e dalla presenza di potenziali predatori. Com'è stato possibile osservare in regime di cattività, anche le interazioni sociali tra conspecifici, che competono per lo spazio e le risorse, hanno una forte influenza sul comportamento alimentare dei pesci (De Silva & Anderson, 1995).

Studi condotti sul comportamento alimentare hanno dimostrato un'ampia variabilità all'interno di una stessa popolazione; essa può essere determinata dalle complesse interazioni che si stabiliscono negli organismi in funzione di fattori intrinseci nell'individuo come il metabolismo, l'attività spontanea di nuoto (vagilità), la presa di rischio (audacia), la lateralizzazione comportamentale, la sua capacità di evitare la predazione con una risposta di fuga.

1.1 Comportamento alimentare nei Mugilidi

I Mugilidi sono Teleostei, ampiamente distribuiti nelle acque costiere dei mari temperati e tropicali di tutta la terra. Le specie appartenenti a questa famiglia spendono l'intero ciclo vitale in zone costiere, compiendo migrazione trofiche stagionali in acque di transizione, come lagune costiere e fiumi (Lousy, 2006).

Tali specie sono state tradizionalmente considerate erbivore, onnivore, planctofaghe o predatrici di piccoli crostacei (Bruslè, 1981). Molti autori hanno studiato la composizione della dieta e gli aspetti ecologici (es.

stagionalità) legati all'attività di foraggiamento (e.g. Blaber and Whitfield 1977; Almeida 1993; Cardona, 1996; Cardona & Castello, 1994; Ferrari & Chiericato, 1981; Laffaille et al., 2002; 1998; Shapiro, 1998). Attraverso l'esame dei contenuti stomacali le preferenze alimentari dei Mugilidi sono state descritte in una grande quantità di studi, riassunti in alcuni lavori come quelli di Pillay (1953), Albertini-Berhaut (1973) e Zismann et al. (1975).

La plasticità nel comportamento alimentare, in termini qualitativi, è riscontrabile nel grande numero di appellativi usati in letteratura per descrivere il regime alimentare osservato: mangiatori di fango (*mud-eaters*, Zenkevich, 1963), iliofagi (Pillay, 1953), mangiatori di detrito (Rajan, 1964), mangiatori di alghe (Hiatt, 1994), mangiatori di micro e meio-benthos (Hickling, 1970), onnivori microfagi di benthos (*Benthic microphagous omnivores*; Blaber & Whitfield, 1977), mangiatori dell'interfaccia (Odum, 1970), mangiatori di depositi (*Deposit feeders*; Fagade & Olaniyan, 1973), limnobentofagi (Laffaille et al., 2002).

Rispetto alle altre specie di teleostei presenti negli ambienti di transizione dei mari temperati, i mugilidi sono avvantaggiati dalla capacità di cibarsi direttamente della produzione primaria dell'ecosistema, contribuendo significativamente al flusso di energia e di materia organica tra l'ambiente di transizione e il mare (Brusle, 1981). Il loro ruolo nell'ecosistema e la loro abbondanza rendono i mugilidi i più importanti rappresentanti della comunità animale presente nelle acque di transizione.

I muggini, cibandosi anche di detrito e biofilm (diatomee e alghe incrostanti), occupano i livelli trofici più bassi (Odum, 1970) e vengono predati da numerosi teleostei carnivori. Queste caratteristiche, insieme alla grande capacità di adattamento alle variazioni ambientali dell'ecosistema, rendono le specie afferenti alla famiglia dei Mugilidi interessanti da un punto di vista sia ecologico, sia produttivo; per questo esse attirano l'interesse dell'acquacoltura sperimentale, in particolare nei paesi in via di sviluppo (es. Brusle, 1981; Lee et al., 1992; Dankwa et al., 2000).

Nei contenuti stomacali di tutte le specie studiate sono state trovate grandi quantità di particelle inorganiche, derivate dall'ingestione del sedimento mischiato alla componente organica; questo suggerisce l'impiego meccanico di tali particelle per la degradazione della componente vegetale della propria dieta (Brusle, 1981). Esistono evidenze della capacità dei Mugilidi di selezionare il particolato, organico e non, attraverso l'apparato faringo-branchiale; tale selezione non è solo frutto di una scelta meccanica basata sulle dimensioni, ma in tale operazione è coinvolto anche l'olfatto (Pillay, 1953).

Nonostante i numerosi lavori condotti sulle specie afferenti a questa famiglia, non risultano studi di laboratorio aventi come finalità: la caratterizzazione quantitativa del comportamento alimentare, l'influenza della temperatura su di esso e la sua variabilità inter-individuale all'interno di una popolazione.

2. Il Metabolismo nei pesci

Il metabolismo è il complesso delle reazioni chimiche e fisiche che avvengono in un organismo o in una sua parte. Molte di queste trasformazioni della materia sono reversibili e sono legate a variazioni della condizione energetica.

Le reazioni metaboliche che avvengono all'interno delle cellule sono la fonte di tutte le macromolecole utili alla vita dell'organismo; l'insieme dei processi di sintesi di questi prodotti finali complessi viene chiamato Anabolismo. Il Catabolismo è invece l'insieme dei processi chimici che degradano le macromolecole liberando energia. L'energia libera, prodotta dai processi catabolici, è utilizzata dall'organismo per assolvere ai numerosi processi fisiologici che sono alla base della sua vita e delle relazioni con gli altri organismi e con l'ambiente.

2.1 Energetica

Il flusso di energia attraverso un sistema biologico e il fabbisogno energetico intrinseco del sistema sono coperti dalla bioenergetica. Per organismi che nella piramide trofica sono considerati "consumatori" (come i pesci), la fonte di energia è il cibo. Questo fornisce l'energia necessaria ai processi chimici che consentono la produzione di nuovi tessuti, l'osmoregolazione, la digestione, ecc. L'energia assunta da un pesce viene spesa fondamentalmente in tre modi: crescita, processi metabolici e escrezione.

Durante la digestione, i principali componenti della dieta (proteine, carboidrati e grassi) sono degradati in anidride carbonica e acqua, con la produzione, come sottoprodotto, di calore che viene rapidamente dissipato nell'ambiente circostante. L'energia liberata viene temporaneamente immagazinata in forma di Adenosintrifosfato (ATP) che viene poi utilizzato in diversi processi, come ad esempio la contrazione muscolare.

Ogni cibo possiede un determinato contenuto energetico, ma non tutto il pacchetto energetico contenuto in un alimento è disponibile dopo l'ingestione; una parte dell'energia contenuta, infatti, non viene assimilata e viene persa attraverso le escrezioni, le branchie e in forma di calore. Come mostrato in figura 2, generalmente si stima una perdita di energia di circa 1/3 dell'ingerito; i restanti 2/3 vengono divisi tra crescita e attività (mantenimento delle funzioni; DeSilva & Anderson, 1995).

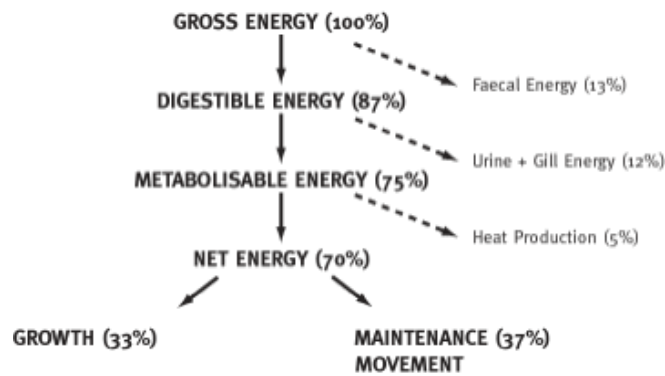


Figura 2: Trasporto di energia attraverso l'organismo (DeSilva & Anderson, 1995).

I principali componenti della dieta, in termini energetici, sono: proteine, grassi e carboidrati. Le proteine vengono degradate in aminoacidi, i carboidrati in zuccheri semplici e i grassi in glicerolo e acidi grassi liberi (FFA).

L'esecuzione di ogni attività, compreso il nuoto, richiede un dispendio energetico. L'energia viene accumulata in forma di legami fosfato ad alta energia e in particolare in molecole di ATP. I meccanismi per la produzione di ATP dall'Adenosinadifosfato (ADP) e dal fosfato inorganico sono brevemente riassunti nella figura 3.

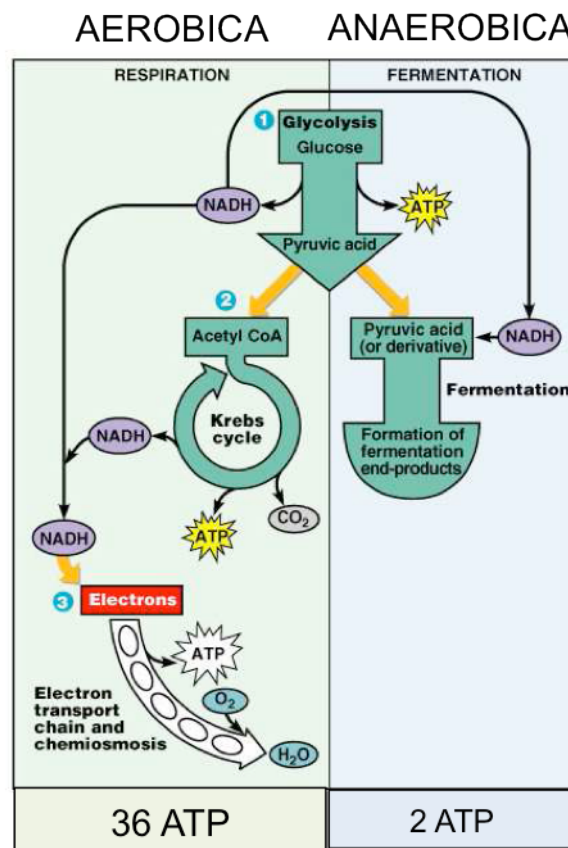


Figura 3: Processo aerobico (glycolysis, Krebs cycle, and oxidative phosphorylation) e anaerobico (glycolysis) della respirazione cellulare.

Le reazioni del ciclo possono essere sintetizzate considerando il destino del glucosio come substrato respiratorio. La prima parte del trattamento metabolico del glucosio, chiamata glicolisi, comporta la produzione di due molecole di acido piruvico per ogni molecola di glucosio. In questa fase sono prodotte due molecole di ATP. In assenza di ossigeno (condizioni anaerobiche), l'acido piruvico è trasformato in lattato, che si accumula. In condizioni aerobiche l'acido piruvico entra nel ciclo di Krebs, dove è ulteriormente metabolizzato. Il ciclo di Krebs comprende le reazioni della fosforilazione ossidativa, che porta alla produzione di ulteriori 34 molecole di ATP. Così il metabolismo aerobico del glucosio porta a una produzione totale di 36 molecole, 2 prodotte dalla glicolisi e 34 prodotte aerobicamente (Figura 3).

2.2 Tasso metabolico

Il metabolismo è l'insieme dei processi biochimici che avvengono all'interno di un organismo. Poiché queste reazioni emettono calore come sottoprodotto, il modo diretto per misurare il metabolismo è attraverso il calore ceduto dall'animale. Nei pesci questo metodo è stato applicato (es. Davies, 1966) ma con grandi difficoltà tecniche, a causa dell'elevata capacità termica dell'acqua.

Universalmente il tasso metabolico è misurato mediante la valutazione quantitativa del consumo di ossigeno. L'ossigeno è infatti l'accettore finale nella fosforilazione ossidativa e il tasso di ossigeno consumato è normalmente utilizzato, quindi, per misurare la produzione di ATP.

Il metabolismo nei pesci è tipicamente categorizzato in 3 livelli distinti. Il metabolismo basale (*Standard metabolic rate* - SMR) si riferisce alla quantità minima di energia che l'organismo necessita per svolgere le sue funzioni normali, in condizioni di post-assorbimento. Il Tasso metabolico ordinario (*Routine metabolic rate* - RMR) oltre alle funzioni misurate dallo SMR, comprende il contributo richiesto per funzioni come la locomozione e la maturazione delle gonadi. Il tasso metabolico cresce proporzionalmente rispetto all'intensità delle attività dell'organismo, fino a un valore massimo indicato come il tasso metabolico massimo (*Maximum metabolic rate* - MMR). L'MMR è definito come la capacità massima dell'apparato cardio-respiratorio di provvedere alle richieste di nutrienti e di ossigeno.

La differenza tra MMR e SMR è la capacità metabolica (*Aerobic metabolic scope* - AMS) che rappresenta la capacità di un organismo di fornire ossigeno per tutte le sue funzioni ad esclusione di quelle basali (SMR; figura 4).

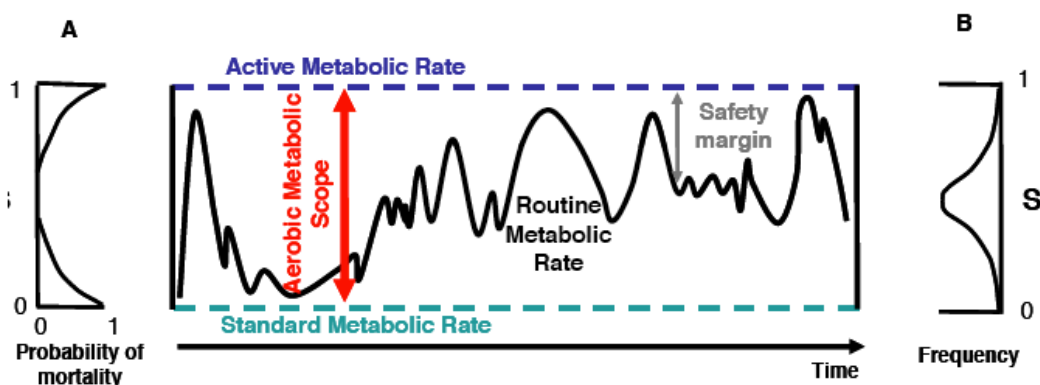


Figura 4: diagramma della variazione nel tasso metabolico di routine, confinato tra il tasso metabolico attivo (AMR o tasso metabolico massimo) e il metabolismo basale (SMR). La differenza tra i due determina la capacità metabolica AMS (entro la quale vari il tasso metabolico di routine; Priede, 1985).

Il tasso metabolico varia a diversi livelli fino a quello individuale all'interno della specie. Il significato ecologico della variazione individuale nel tasso metabolico non è stata ancora sufficientemente compresa, ma sembrerebbe collegata a numerosi aspetti fisiologici e comportamentali di rilevanza ecologica (Biro & Stamps 2010). In generale negli ectodermi, in individui con un metabolismo elevato è stato riscontrato un tasso di crescita più alto (Priede 1985; Alvarez & Nicieza 2005), nonché, rispetto ai conspecifici, una maggiore capacità di competizione per il territorio e le risorse in generale (Metcalf et al. 1995; Cutts et al. 1998).

3. Il nuoto nei pesci

La locomozione è una caratteristica fondamentale della vita di un pesce e tutte le specie, almeno in una fase del loro ciclo vitale, nuotano. Il foraggiamento, le interazioni preda-predatore, le migrazioni e la riproduzione, sono tutte attività dipendenti dalla locomozione (Webb, 1986; Garland & Carter, 1994); rappresentando circa la metà delle 55.000 specie di vertebrati viventi, i pesci hanno sviluppato un'ampia gamma di modi di nuotare.

In genere i pesci nuotano mediante ondulazioni di tutto o di parte del corpo, o soltanto del peduncolo caudale (come avviene per la maggioranza delle specie). Alcuni pesci compiono anche movimenti ondulatori delle pinne pari (pesci scatola, notopteridi, ecc).

Negli anni sono stati proposti numerosi schemi volti a riassumere e classificare i differenti tipi di locomozione nei pesci; sei sono quelli ritenuti maggiormente esaustivi (Breder, 1926; Weihs, 1973; Lindsey, 1978; Webb, 1984; Drucker & Jensen, 1996; Graham & Dickson, 2000).

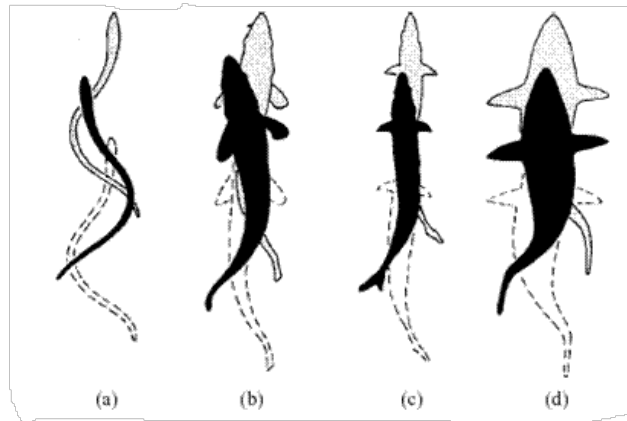


Figura 5: Classificazione di Breder (1929) basata sul tipo di nuoto: anguilliforme (a), subcarangiforme (b), carangiforme (c) e tunniforme (d) (Lindsay, 1978).

Una delle classificazioni più diffuse, è quella di Breder (1926; Figura 5), basata sulla forma dell'onda generata sul corpo, durante la locomozione, da esemplari di specie e famiglie diverse. Per esempio, pesci che nuotano con un'ampia ondulazione del corpo, con un'onda che si propaga sull'intero corpo, sono riconosciuti come "anguilliformi", caratteristica che contraddistingue alcune specie tra cui il genere *Anguilla*. Le altre categorie, ordinate secondo una proporzione decrescente della porzione di corpo interessata dall'ondulazione, sono: Subcarangiformi, Carangiformi e Tunniformi (Lindsay, 1978).

Questa classificazione, seppur molto utile, non si basa su un'analisi quantitativa della locomozione da un punto di vista cinematico ed è basata su una rappresentazione bidimensionale del piano orizzontale, ignorando la geometria tridimensionale dei pesci.

Webb (1998) classificò il nuoto dei pesci in 4 categorie funzionali basate sull'uso delle pinne. I *Body and caudal fin swimmers* (BCF) usano il corpo e la pinna caudale e sono suddivisi in: BCF *periodic*, che utilizzano questa modalità per un nuoto costante, e BCF *transient*, che la usano occasionalmente per sfuggire ai predatori (movimenti di fuga) e per curve strette. Le altre due categorie proposte da Webb sono: i nuotatori *Median and paired fin* (MPF) che usano tutte le pinne nel nuoto e i *Non Nuotatori*. Esistono altri schemi per la classificazione del nuoto nei pesci, ma nessuno preso singolarmente è sufficiente a categorizzare le diverse tipologie di locomozione. Per cercare di spiegare una tale complessità e diversità nella locomozione dei pesci, è necessario rivedere la fisiologia e la morfologia delle strutture coinvolte nel nuoto.

3.1. Struttura morfologica dell'apparato locomotore

Il nuoto è un'attività garantita dal lavoro muscolare. La maggior parte delle specie ittiche nuota attraverso l'ondulazione del corpo e della coda e il movimento è garantito da grandi blocchi di muscoli posti ai lati della linea dorsale. In molte specie il nuoto può essere generato anche da muscoli intrinseci che controllano il movimento di altre pinne, come ad esempio le pettorali.

Il corpo di un pesce è caratterizzato da un setto mediano che lo divide in due parti, dalla testa alla coda. La colonna vertebrale, con i suoi processi spiniformi, rappresenta il supporto di questo setto. Su entrambi i lati di questo, s'inseriscono grossi blocchi di fibre muscolari (Miomeri). Le fibre muscolari si suddividono in tre categorie basate sul colore delle fibre stesse (rosse, rosa e bianche) e sul contenuto di emoglobina (Figura 6) che riflette la capacità ossidativa delle diverse fibre.

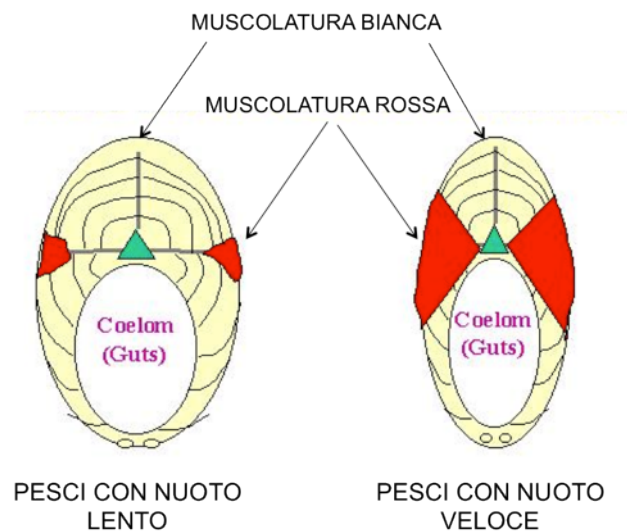


Figura 6: confronto della muscolatura di pesci (vista in sezione) con un nuoto di crociera lento e veloce. Il muscolo rosso rappresenta un sottile foglio appena sotto la pelle e si estende per una profondità del 10% (la sezione trasversale del muscolo rosso è accentuata a scopo illustrativo) nei pesci con nuoto di crociera lento. nei pesci con nuoto di crociera veloce la muscolatura rossa presenta un rapporto e una profondità maggiore.

3.1.1 Le fibre muscolari

Le fibre rosse sono comunemente considerate lente (in base alla loro risposta meccanica), ossidative (in base al loro profilo metabolico) o fibre di tipo I (in base alle isoforme delle catene pesanti della miosina).

Le fibre rosse rappresentano il 10% della massa muscolare totale (Sanger and Stoiber, 2001). Queste fibre hanno un diametro relativamente piccolo ($\sim 30 \mu\text{m}$), un elevato contenuto in mioglobina e lipidi e un'intensa irrorazione da parte dei vasi sanguigni. Le fibre rosse possiedono inoltre un reticolo sarcoplasmatico abbastanza sviluppato e un'attività relativamente bassa di ATPasi e Creatinchinasi. L'elevata presenza di mitocondri (fino al 50% del volume cellulare) è necessaria a supportare l'alto tasso di fosforilazione ossidativa che serve per il lavoro muscolare, in particolare laddove la capacità glicolitica è bassa. Queste fibre sono specializzate nel generare una potenza di contrazione relativamente bassa, atta a sostenere il nuoto aerobico.

Le fibre muscolari bianche costituiscono circa il 90% del tessuto muscolare di un pesce e sono chiaramente specializzate per una contrazione potente ma breve. Queste fibre hanno un diametro relativamente grande di circa $75 \mu\text{m}$ (a volte maggiore) e una lunghezza variabile a livello di specie. Le fibre bianche si presentano con una bassa concentrazione di mioglobina (da cui deriva il loro caratteristico colore), un basso contenuto lipidico, una scarsa capillarizzazione da parte del sistema circolatorio (circa 1/6 rispetto le fibre rosse). Il

reticolo sarcoplasmatico risulta, invece, molto sviluppato con un'alta concentrazione di parvalbumina. Conseguentemente le fibre bianche hanno un'attività ATPasica miofibrillare molto alta e con elevata attività da parte della creatina fosfochinasi. Avendo una scarsa capacità aerobica, queste fibre affidano la produzione di ATP alla fosforilazione del substrato in particolare attraverso la glicolisi (Johnston, 1980a, 1981; Bone et al., 1986; Sanger and Stoiber, 2001); queste fibre rappresentano il 75-95% dell'intero volume miofibrillare (Sanger and Stoiber, 2001).

Le fibre rosa sono relativamente poco conosciute, sembrerebbero una categoria con caratteristiche intermedie tra le fibre rosse e le bianche, in riferimento a: distribuzione, capacità ossidativa, diametro, resistenza all'affaticamento, cinetica, potenza prodotta, frequenza di contrazione ottimale, ecc. (Sanger and Stoiber, 2001). Solo recentemente le fibre rosa hanno cominciato ad essere tenute nella dovuta considerazione; esse risultano impiegate nel nuoto a velocità intermedia e il loro profilo metabolico ne suggerisce l'impiego, sia nelle contrazioni veloci e potenti, sia nel nuoto sostenuto e prolungato (Johnston et al., 1977; Coughlin and Rome, 1999).

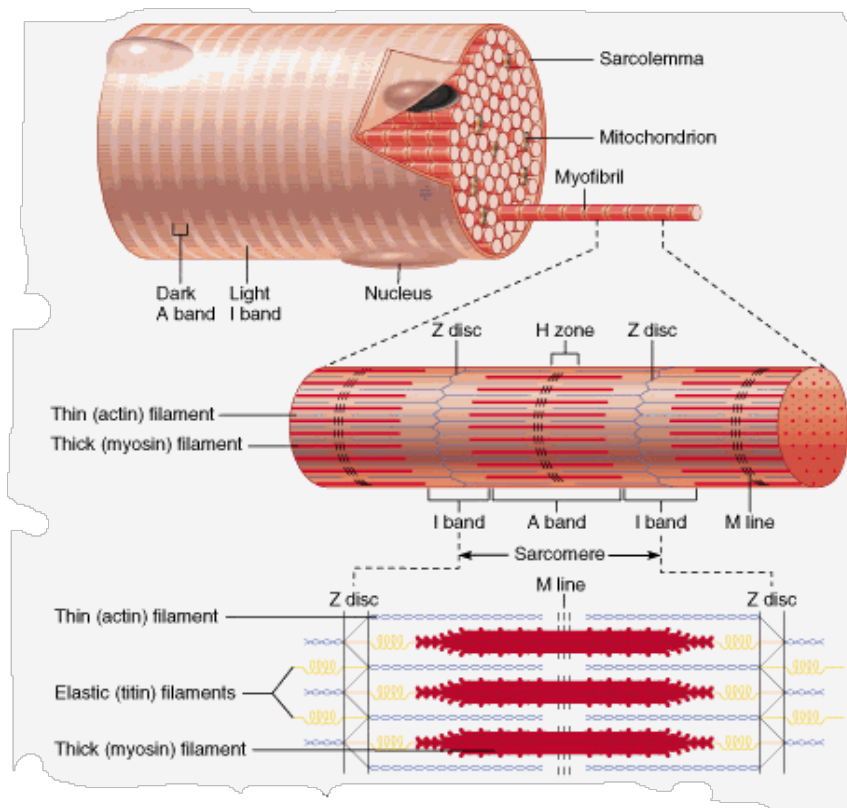


Figura 7: Struttura della fibra muscolare, delle fibrille e dei miofilamenti.

La fibra muscolare è una cellula polinucleata di forma allungata. È costituita da fasci di miofibrille deputate alla contrazione e al rilassamento del muscolo (figura 7). A un esame microscopico si possono individuare nelle fibrille diverse zone: bande chiare e bande scure che si ripetono regolarmente. Queste bande sono poi delimitate da due linee sottili, dette linee Z, costituite da proteine di ancoraggio. I sarcomeri (così si

chiamano queste unità) sono costituiti da fasci di filamenti paralleli e alterni di due tipi: filamenti sottili, costituiti da actina, una proteina ad α -elica, attorcigliati ad un filamento di una proteina regolatrice, la tropomiosina; filamenti spessi, costituiti principalmente da una proteina globulare, la miosina. Quando un muscolo è rilassato, i filamenti sottili e quelli spessi sono vicini ma non collegati, mentre, durante la fase di contrazione, sono collegati.

3.1.2 La contrazione muscolare

Le specie ittiche che utilizzano una locomozione di tipo BCF presentano una contrazione muscolare che attraversa l'intero corpo del pesce con un'onda contrattile che si estende dal capo alla coda. La contrazione è generata da un impulso iniziale (figura 8) da parte del sistema nervoso centrale, come attività volontaria da parte del cervello o come arco riflesso a livello del midollo spinale. Un motoneurone nel corno ventrale del midollo spinale viene attivato; questo genera un potenziale d'azione che viene trasmesso verso l'esterno attraverso l'assone. Lo stimolo, propagato attraverso le fibre nervose, giunge al bottone sinaptico dove determina il rilascio del neurotrasmettitore (solitamente acetilcolina). L'acetilcolina funge da ligando per alcuni canali del Na^+ (ligando dipendenti); causandone l'apertura, questo determina una depolarizzazione della membrana plasmatica della fibra. Questa prima minima depolarizzazione causa a sua volta l'apertura di canali ionici per il Ca^{2+} , i canali diidropiridinici. L'apertura dei canali diidropiridinici causa, tramite cambiamenti conformazionali, l'apertura dei recettori rianodinici, canali ionici del Ca^{2+} situati a livello del reticolo sarcoplasmatico. Dal reticolo sarcoplasmatico (compartimento cellulare in cui il Ca^{2+} è solitamente sequestrato tramite apposite proteine) il Ca^{2+} diffonde per tutta la cellula, raggiungendo ogni miofibrilla grazie ad un espediente morfologico della cellula, le triadi. Il Ca^{2+} va a legarsi alla troponina, sulla subunità C; così facendo determina un cambiamento conformazionale che causa il trascinarsi della subunità I, legata a sua volta alla tropomiosina. Questo movimento lascia libero il sito d'attacco per la miosina sull'actina, prima occupato dalla tropomiosina. La liberazione del predetto sito sull'actina dà il via alla fase di contrazione vera e propria. Lo scorrimento della miosina ed i suoi cambiamenti conformazionali, cause primarie della contrazione del muscolo, sono essenzialmente dovute alla diversa affinità della proteina per actina, ATP e ADP. Durante lo scorrimento le teste di miosina si legano a quelle di actina con una precisa angolazione di 45° . Nella fase di rilassamento, invece, il procedimento sarà il contrario. Possiamo suddividere la contrazione e il rilassamento muscolare in tre fasi principali: la contrazione, il rilassamento ed infine la fase latente, fase che segue lo stimolo ma nella quale non c'è risposta. Questo complesso sistema di reazioni chimiche determinerà lo scorrimento di un filamento sull'altro e quindi la contrazione del sarcomero. A seguito della contrazione, la troponina rilascia ioni Ca^{2+} che tornano nel reticolo sarcoplasmatico.

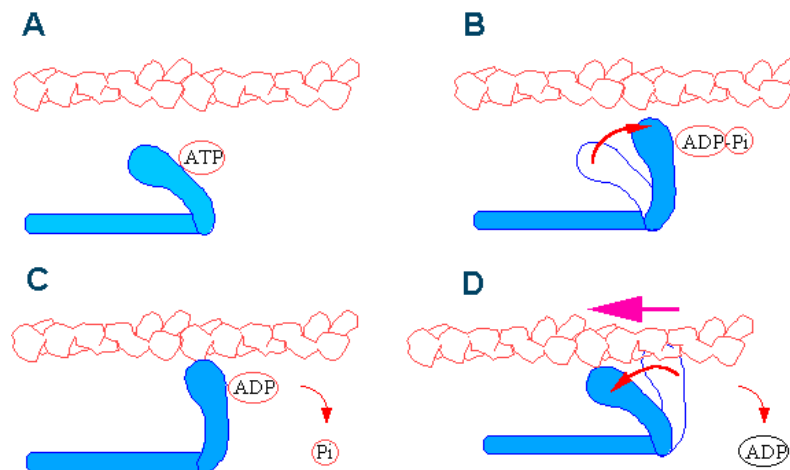


Figura 8: *The Myosin Cross-bridge Cycle.* (A) L'ATP si lega nella parte posteriore della testa dell'actina, causando una conformazione che impedisce il legame con la miosina; (B) L'ATP viene idrolizzato, la testa dell'actina si sposta all'indietro di circa 5mm, in questa fase l'ADP e il Pi rimangono legati. (C e D) sono le fasi che generano la forza, quando il gruppo fosfato perde il legame con la miosina, l'ADP viene rilasciato dalla testa dell'actina che ritorna alla conformazione di partenza causando lo spostamento della miosina. La stessa testa di actina ripete più volte questo movimento di agganciamento e spostamento dell'actina, che si muove sempre più all'interno della struttura producendo l'accorciamento del sarcomero, quindi della cellula muscolare, dei fascetti muscolari ed in fine dell'intero muscolo.

3.2 La prestazione di nuoto

La prestazione di nuoto è universalmente considerata come una delle caratteristiche determinanti nella sopravvivenza di una specie ittica e di un individuo, come per ogni altro organismo acquatico (Jones et al., 1974; Taylor and McPhail, 1986; Graham et al., 1990; Rome et al., 1992a; Young and Cech, 1993; Stobutzki and Bellwood, 1994; Swanson, 1998; Billeberk et al., 2001; Lankford et al., 2001; Ghalambor et al., 2003; Walker et al., 2005). La prestazione di nuoto di un pesce può determinare la capacità di ottenere del cibo, di accoppiarsi, di evitare condizioni sfavorevoli, di evitare la predazione, ecc. (Videler, 1993; Reidy et al., 1995; Drucker and Jensen, 1996; Watkins, 1996; Walker et al., 2005). Così, anche se raramente provato, è comunemente assunto che la prestazione di nuoto può influenzare la fitness della specie (Reidy et al., 2000; Langerhans et al., 2004; Walker et al., 2005; Langerhans, 2009).

3.2.1 I tipi di prestazione di nuoto

Nei pesci la prestazione di nuoto è tipicamente categorizzata in base: alla durata, al tipo di muscolo e al substrato energetico sul quale lavorano (Beamish, 1978; Webb, 1993, 1998; Figura 9). In questa categorizzazione vengono individuati due estremi; ad uno di questi troviamo specie in grado di sostenere un nuoto aerobico per lunghi periodi (molte ore o giorni) senza andare incontro a nessun affaticamento muscolare (es. Tunnidi). Questo tipo di lavoro muscolare è completamente sostenuto dall'attività aerobica e dalla muscolatura rossa (Webb, 1988); i pesci che presentano questa caratteristica presentano un nuoto supportato per lo più da un movimento caudale di intensità e frequenza relativamente basse. L'altro estremo è

rappresentato da nuotatori che possono compiere veloci accelerazioni, della durata di solo pochi secondi, prima dell'insorgere dell'affaticamento muscolare; questo tipo di locomozione comporta un movimento caudale con frequenza e intensità molto elevate generate dalla grande massa di muscolatura bianca (Domenici, 2003). Le categorie intermedie tra questi estremi presentano la capacità di sostenere il nuoto per periodi di tempo prolungati ma che possono comunque portare all'affaticamento muscolare. La fatica può incorrere quando le richieste del metabolismo aerobico da parte della muscolatura rossa (e del cuore) eccedono rispetto alla capacità del sistema respiratorio e cardio-vascolare di fornire ossigeno e nutrienti (Brett, 1964; Claireaux et al., 2005) e/o se l'impiego della muscolatura bianca è troppo frequente e/o troppo prolungato nel tempo (Peake and Farrell, 2004).

La prestazione di nuoto nei pesci è classificata in tre categorie: sostenuto, prolungato e di scatto (*burst*) (Beamish, 1978) (figura 9). La velocità di nuoto sostenuto (U_{ms}) è completamente aerobica e può essere mantenuta per lunghi periodi (>240 minuti). La velocità di nuoto prolungato (U_{ms}) è anch'essa completamente aerobica ma di durata minore rispetto alla precedente (20 s. - 200 min.) e si conclude con un'affaticamento del pesce. Il nuoto di scatto (*burst*) (U_{mb}) è il tipo di nuoto più veloce che un pesce può sostenere ma solo per brevi periodi di tempo (<20s) ed è considerato completamente anaerobico (Plaut, 2001). Il nuoto sostenuto non genera mai un affaticamento muscolare ed è usato per attività di *routine* come le migrazioni, il pascolo o altro. Il nuoto prolungato è difficilmente distinguibile dal precedente in quanto, in natura, difficilmente è possibile determinare l'affaticamento di un individuo; è un tipo di nuoto che viene normalmente determinato in esperimenti di laboratorio, ciò nonostante è generalmente considerato come un comportamento e non solo come una misura fisiologica (Nelson, 1990). Il nuoto di scatto è generalmente usato dai pesci per rispondere ad un attacco o per predare, ma anche per contrastare improvvise condizioni avverse come ad esempio le forti correnti (Reidy et al., 2000).

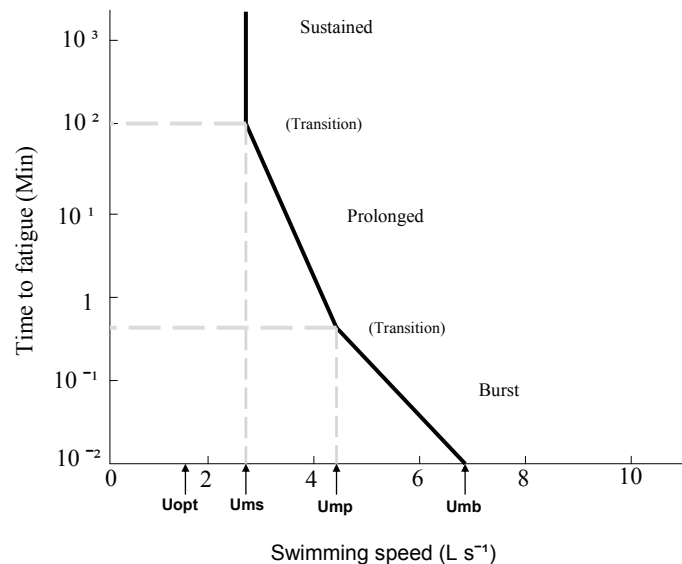


Figura 9: Rappresentazione grafica del rapporto tra il tempo di affaticamento e la velocità di nuoto per il nuoto sostenuto (*sustained*) prolungato (*prolonged*) e di sprint (*burst*) in *Salmo gairdneri*. Uopt = velocità ottimale; Ums = velocità massima sostenibile; Ump = velocità massima prolungata; e Umb = velocità massima di sprint .

3.2.2 Relazioni tra prestazioni di nuoto e le funzioni

Il tasso di attività dell'ATPasi, a livello delle miofibrille, è da 2 a 5 volte inferiore nel muscolo rosso rispetto ai livelli presenti nel muscolo bianco e circa 2 volte inferiore che nel muscolo rosa (Johnston et al., 1977; Johnston, 1980a, 1981; Rome et al., 1999). Di conseguenza, la velocità massima di contrazione (V_{max}) delle fibre rosse è più bassa che nelle bianche (circa la metà nel palombo *Mustellus mustellus*; Lou et al., 2002) e nella muscolatura rosa. Con una cinetica così lenta, le fibre rosse si adattano bene ad ondulazioni del corpo lente e potenti, adatte ad un nuoto costante e prolungato nel tempo, ma non sono in grado di produrre le variazioni rapide di forza contrattile, necessarie a generare rapidi battiti di coda per accelerazioni elevate. Misure dirette confermano che le fibre lente sono attivate durante il nuoto costante, le fibre rosa a velocità intermedie, mentre le fibre bianche, con il loro alto tasso di ATPasi e calcio, sono adatte a potenti e veloci contrazioni per brusche accelerazioni nel nuoto, come gli attacchi, le risposte di allarme, ecc. (ad esempio, Rayner e Keenan, 1967; Johnston et al., 1977, 1993; Bone, 1978; Johnston, 1980 b, 1981; Roma et al., 1984, 1988, 1992a; Sisson e Sidell, 1987; Jayne e Lauder, 1994; Johnson et al, 1994; Hammond et al., 1998; Conoscitore et al., 1999; Shadwick et al, 1999; Coughlin e Roma 1999; Ellerby et al, 2000; Ellerby & Altringham 2001; Sanger & Stoiber 2001).

Anche se le fibre bianche sono la fonte principale di energia durante il nuoto ad alta velocità, il continuo reclutamento di fibre rosse anche ad alta velocità può aiutare la produzione di energia (Johnson et al., 1994) o la trasmissione della forza (Altringham & Ellerby, 1999). Infatti, il reticolo sarcoplasmatico e il sistema di tubuli trasversi nel muscolo rosso di un pesce sono molto ben sviluppati, conferendo al muscolo rosso la possibilità di contribuire a generare la potenza muscolare necessaria a mantenere un nuoto a velocità relativamente alte. Inoltre, misurazioni effettuate nel tonno rosso (*Thunnus thynnus thynnus*) indicano che i

loro muscoli rossi hanno tassi di ATPasi notevolmente più elevati (circa il doppio) rispetto a muscoli rossi della maggior parte degli altri pesci, confermando che i muscoli rossi possono alimentare velocità di nuoto elevate (Johnston & Tota, 1974). Oltre alle fibre rosse, che sono certamente la principale fonte di energia durante il nuoto di crociera a velocità sostenuta, le fibre bianche e rosa risultano contribuire allo sforzo muscolare a queste velocità di nuoto in molti teleostei, anche se Sanger e Stoiber (2001) hanno sostenuto che la limitata capacità aerobica delle fibre bianche limita notevolmente il loro contributo. In particolare, negli elasmobranchi e teleostei primitivi, la ripartizione dei compiti del muscolo rosso per il nuoto costante di "crociera" e del bianco per accelerazioni brusche e intense, è più evidente e assoluto (Bone, 1978; Johnston, 1980a, 1981).

3.3 Valutare la prestazione di nuoto aerobico

3.3.1 Il nuoto prolungato e forzato

Il nuoto aerobico sostenuto a velocità relativamente basse è un tratto fondamentale per molte specie appartenenti alla fauna ittica; è un tipo di nuoto utilizzato per gli andamenti di "crociera", come ad esempio durante le migrazioni, e attività di routine come il pascolo, la ricerca del foraggiamento, etc. La prestazione di nuoto sostenuto e prolungato è comunemente stabilita attraverso due procedure sperimentali ben determinate: il *Fixed velocity stamina test* che misura la resistenza in termini temporali e l'*Incremental velocity test* che misura la velocità critica (massima) di nuoto seguendo un protocollo a velocità incrementale (U_{crit}) (Blazka, 1960; Brett, 1964, 1967).

La velocità di nuoto critico (U_{crit}) è una misura ripetibile a livello individuale, riflette la massima capacità aerobica di un pesce ed è comparabile con altre misure di prestazioni di nuoto. Non è direttamente provato che sia correlata con la *fitness* e la sopravvivenza di un individuo, ma è ragionevole pensare che sia un valido indice della capacità di un pesce di condurre varie attività in cui il nuoto è coinvolto; inoltre è il miglior test sperimentale per accertare l'influenza delle variabili fisiche sulla prestazione di nuoto e sul metabolismo aerobico di un pesce (Plaut, 2001).

Entrambe queste procedure richiedono l'impiego di vasche di flusso o tunnel di nuoto, dove il pesce è obbligato a nuotare in una camera apposita, contrastando la corrente generata da un motore elettrico o da una pompa. Nel tempo sono stati prodotti molti tipi di strumenti atti a misurare il consumo di ossigeno rispetto la prestazione di nuotodi; attualmente i più utilizzati e meglio caratterizzati sono il *Blazka type* e il *Brett-type* (Brett 1964).

Delle procedure sperimentali la U_{crit} è senza dubbio quella impiegata maggiormente, in quanto permette di condurre l'esperimento sul singolo individuo in un tempo relativamente più breve e richiede un minor numero di individui per raggiungere la significatività statistica (Hammer, 1995).

Nonostante la popolarità e l'affidabilità dell' U_{crit} test, questo richiede molto tempo e non è senza limiti (Hammer, 1995; Peake & Farrell, 2006; Farrell, 2007). Infatti, come originalmente raccomandato da Brett (1967), questo protocollo richiede un tempo sperimentale maggiore alle 10 ore per il singolo individuo; in seguito sulla spinta della necessità di poter disporre di un test meno lungo, Beamish (1978) e Hammer (1995) apportarono una serie di modifiche metodologiche che accorciarono la durata nell'applicazione del protocollo.

Essi, insieme a Farlinger & Beamish (1977), conclusero che la durata del singolo *step* di nuoto (intervallo di nuoto ad una determinata velocità) tra 20 e 60 minuti, non influiva significativamente sulla determinazione del consumo di ossigeno; lo stesso genere di valutazione fu fatta sull'incremento di velocità tra gli *step*, che poteva essere spostato dal 10% (originario) fino al 25% rispetto il precedente. Questi cambiamenti portarono ad una sensibile riduzione del tempo necessario a condurre il singolo esperimento. Jain et al. (1997) introdusse il *Ramp-Ucrit* test che rappresenta oggi il *test* di durata minore; questo test con le variazioni e aggiustamenti che ne seguirono (Randall et al., 1987; Brauner et al., 1994) è stato validato in laboratorio su esperimenti condotti su avannotti di *Salmo salar* (Salmone) (Farrell et al., 1998, 2003; Jain et al., 1998; Lee et al., 2003).

L'attività aerobica è universalmente misurata in esperimenti di laboratorio mediante il consumo di ossigeno da cui è possibile ricavare una stima del tasso metabolico massimo, basale e intermedio. Attualmente, Il sistema più diffuso per misurare la prestazione di nuoto di un pesce e il consumo di ossigeno (MO_2) è il respirometro a flusso di nuoto *swimming tunnel* sviluppato da Brett. In questo respirometro, il pesce viene alloggiato in una apposita camera di nuoto, oscurata nella parte superiore (per motivare il pesce ad occupare quella posizione). Un filtro plastico con celle a forma di nido di ape e un deflettore a forma di "X", permettono di mantenere un flusso laminare e uniforme (privo di turbolenze) all'interno della camera di nuoto; il flusso è generato da un motore elettrico a elica. Un sensore per l'ossigeno collegato a un ossimetro è utilizzato per misurare la concentrazione di ossigeno in un flusso di acqua (velocità costante) prelevato da una pompa peristaltica; il consumo di ossigeno (MO_2) del pesce è calcolato, in un respirometro completamente isolato con l'esterno, attraverso il calo della concentrazione di ossigeno rispetto alla concentrazione iniziale secondo l'equazione:

$$MO_2 = slope * (VOL_{resp} - VOL_{fish}) - MO_2_{bcgd}$$

MO_2 è la quantità di ossigeno assunto, la *slope* è come diminuisce la concentrazione di O_2 nel tempo ($MO_2 = \Delta [O_2]_{H_2O} / \Delta t$), Vol_{resp} è il volume del Respirometro, Vol_{fish} è il volume del pesce assumendo una densità di 1g/ml e MO_2_{bcgd} è il consumo di ossigeno a respirometro vuoto (senza pesce). Il consumo di ossigeno è ulteriormente corretto per le differenze di massa corporea secondo la relazione:

$$MO_{2corr} = MO_{2meas} * \left(\frac{m_{fish}}{m_{std}} \right)^{1-A}$$

dove MO_{2corr} è il consumo di ossigeno corretto, MO_{2meas} è la misura registrata (attuale), m_{fish} la massa del pesce, m_{std} la massa standard del pesce e “A” è il coefficiente di massa calcolato empiricamente e differente per ogni specie (Claireaux and Lagardère, 1999).

Il tasso metabolico Massimo (AMR, $mgO_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) è universalmente misurato attraverso la determinazione del consumo di ossigeno durante l'esercizio aerobico forzato (protocollo Ucrit; figura 10); da tale valore è possibile ricavare il metabolismo basale (SMR) necessario all'espletamento delle sole funzioni vitali, e lo scopo metabolico (AMS) cioè il pacchetto energetico a disposizione di ogni singolo individuo per la crescita, il nuoto, la riproduzione, i rapporti sociali, etc.

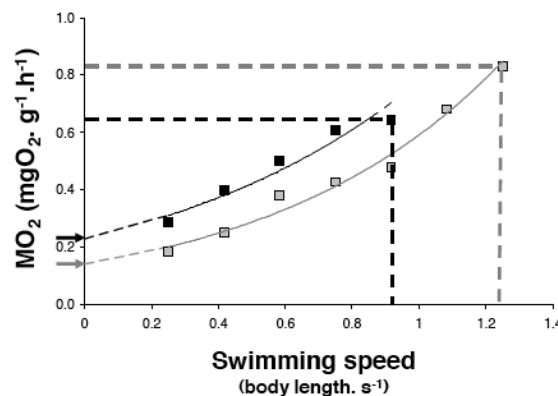


Figura 10: diagramma (esempio) di consumo medio di ossigeno in relazione alla velocità di nuoto.

3.3.2 L'attività spontanea di nuoto

Il nuoto spontaneo è un'attività fondamentale nella vita dei pesci. Esso, nelle diverse specie, può assumere significati e modalità differenti, direttamente riconducibili alle funzioni primarie per l'organismo.

Nel loro ambiente naturale, l'attività di nuoto dei pesci può essere influenzata da molti fattori come: la presenza di predatori, la temperatura, la durata del giorno, l'intensità luminosa, il comportamento territoriale, l'attività di foraggiamento, la disponibilità di ossigeno, etc. (Schurmann 1994).

In laboratorio molti di questi fattori possono essere eliminati e, sebbene se ne introducano di nuovi, è possibile concentrare l'attenzione su singole variabili fisiche ed ecologiche, al fine di valutarne gli effetti sull'attività spontanea. Uno dei metodi utilizzati per la misurazione dell'attività di un organismo è basato sul tempo speso nel nuoto in condizioni prive di qualsiasi motivazione (Schurmann, 1994). Relativamente pochi studi sono stati condotti sull'attività spontanea di nuoto e sempre in relazione agli effetti di una variabile abiotica come ad esempio la temperatura (Yliff and Poncin, 2003), l'ossigeno disciolto (Schurmann, 1994), la torbidità (Meager, 2007), l'intensità luminosa (Reebs, 2002) e/o biotica su di essa.

In generale è parere diffuso che, quando le condizioni ambientali diventano sfavorevoli, l'incremento dell'attività di nuoto è considerata come una fuga verso condizioni più favorevoli (Dizon, 1977); questo comporta un dispendio energetico maggiore che sommato alle condizioni avverse può portare all'esaurimento fisico dell'animale. Al contrario, il decremento dell'attività può essere vantaggioso dal punto di vista della resistenza a livello temporale, in quanto riduce le esigenze fisiologiche ma diminuisce anche la probabilità di incappare in un ambiente più favorevole (Schurmann & Steffensen, 1994; Domenici et al. 2000; Herbert & Steffensen, 2005).

Sono stati compiuti anche studi finalizzati a correlare questa caratteristica individuale con tratti comportamentali; Werner & Anholt (1993) dimostrarono come il livello di attività risulta direttamente riconducibile alla capacità potenziale di assumere energia e nel sottoporsi al rischio di predazione. Secondo Meager (2007) l'attività è un potenziale indicatore dell'assunzione di energia e del grado individuale di esposizione al rischio di predazione. Nonostante le diverse e controverse ipotesi che coinvolgono questo tratto, e i numerosi collegamenti possibili a tratti comportamentali e fisiologici, il campo della variabilità individuale nell'attività spontanea, e le sue relazioni con tratti ad essa collegati, risulta ancora poco studiato.

Dal punto di vista metodologico si è passati da Clark & Green (1990) che misurarono l'attività di nuoto spontaneo in *Gadus morhua* (Merluzzo Atlantico), in laboratorio, utilizzando dei tags acustici che trasmettevano la posizione del pesce ogni 2 minuti, a Schurmann (1994), che introdusse per primo un sistema di *videotracking* computerizzato. Nonostante le due metodologie mostrassero valori solo leggermente diversi, il *videotracking* si è affermato nei lavori successivi (Yliff and Poncin, 2003; Meager, 2007; Reeb, 2002) ed è oggi la metodologia più diffusa nello studio di questa caratteristica.

3.4 Valutare la prestazione di nuoto anaerobico

Il nuoto anaerobico, supportato dalla muscolatura bianca, è usato dai pesci principalmente per predazione, nelle risposte di fuga da un predatore o per manovrare e contrastare forti correnti avverse.

3.4.1 La risposta di fuga

La risposta di fuga (*Escape response*), nella fauna ittica, è una caratteristica fondamentale per la sopravvivenza di un individuo, in quanto l'organismo ricorre ad essa come ultima possibilità per evitare la predazione (Domenici, 2010). Questa è descritta in letteratura come una risposta sensori-motoria di breve durata (30-100 ms) che permette ai pesci di sfuggire ai pericoli.

La risposta di fuga una volta innescata, rappresenta un'attività non modulata in cui viene espressa la massima prestazione muscolare e neurale; può quindi essere usata come modello per lo studio della variabilità inter e intraspecifica e/o per la risposta a condizioni ambientali o particolari trattamenti.

Al contrario dei mammiferi, i teleostei compiono semplici risposte di fuga, nelle quali la neuroanatomia è più facilmente osservabile. La risposta di fuga nei pesci ha, quindi, attratto l'attenzione di varie discipline scientifiche, comprese la neurofisiologia (Eaton et al., 2001), la biomeccanica (Wakeling, 2006), la cinematica (Domenici and Blake, 1997) e l'etoeologia (Godin, 1997).

Il successo nella fuga è determinato da fattori legati alla locomozione (es. la velocità angolare di curvatura, la performance a livello di velocità e accelerazione) e non (es. la distanza di reazione, latenza di fuga) (Domenici, 2010; Walker et al., 2005).

Nei pesci, la risposta di fuga mostra una variabilità inter-individuale e prestazioni con valori estremi, con latenze anche inferiori a 5 ms (Kohashi & Oda, 2008) e accelerazioni superiori a $10\text{-}100\text{m/sec}^2$ e velocità angolari nell'ordine di $100\text{-}10.000\text{ deg./sec}$ (Domenici, 2001). La risposta di fuga è stata studiata in varie specie, rivelando un'alta variabilità interspecifica, a livello cinematico e comportamentale.

La risposta motoria ad uno stimolo (meccanico, acustico, visivo, etc.) è normalmente mediata da una coppia di neuroni giganti, le cellule di Mauthner (MC), associate al sistema neurale reticolo-spinale (Eaton et al., 2001). Questi neuroni ricevono stimoli da diversi *inputs* sensoriali, in particolare quelli meccanici, acustici e quelli visivi (Eaton et al., 2001; Wakeling, 2006).

Le MC sono studiate da oltre 50 anni (Eaton et al., 2001; Korn and Faber, 2005) ed una enorme quantità di informazioni è disponibile circa la loro anatomia, organizzazione sinaptica, fisiologia e plasticità (Faber and Korn, 1978). L'attivazione delle MC è uno dei principali fattori alla base della variabilità nella cinematica della risposta di fuga.

Queste sono presenti in molti amnioti: lamprede, squali, pesci teleostei e anfibi (Korn and Faber, 2005; Zottoli, 1978). Sono i più grandi tra i neuroni reticolospinali e sono facilmente riconoscibili grazie proprio alle loro dimensioni. Esse si trovano in una determinata posizione, nel romboencefalo, e sono presenti sempre con un unico paio di cellule. Entro dei limiti, le MC hanno sempre la stessa morfologia, neurofisiologia, meccanismi recettoriali e connettività sinaptica. Il soma è estremamente grande (sino a $100\text{ }\mu\text{m}$ ed oltre), così come il loro assone (sino a $50\text{ }\mu\text{m}$ ed oltre), il quale può essere immediatamente identificato in sezioni coronali del midollo allungato. La MC è caratterizzata da un dendrite dorsale e uno ventrale. Il VII nervo crea sinapsi giganti e miste che insistono sulla regione distale del dendrite dorsale, anche le sinapsi inibitorie sono organizzate secondo un ordine spaziale.

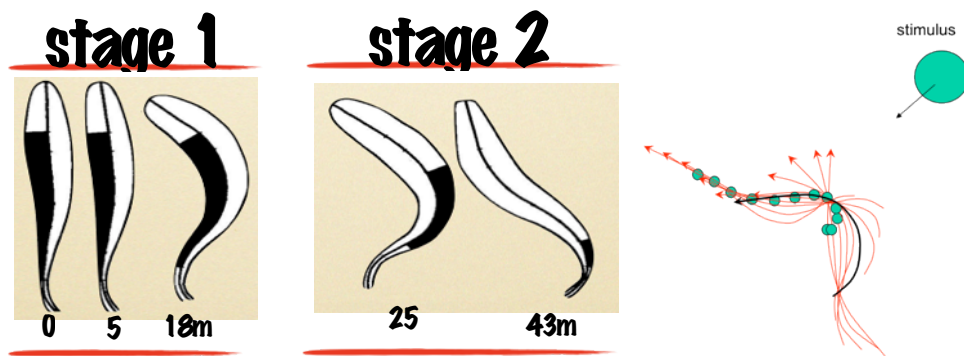


Figura 11: (a) Fasi della risposta di fuga nei pesci, fase 1 - contrazione unilaterale della muscolatura assiale, fase 2 - contrazione della muscolatura controlaterale opposta. (b) Esempio di ricostruzione vettoriale di una risposta di fuga da stimolo meccanico, il vettore indica la posizione del corpo e il pallino in verde il centro di massa dell'animale.

La tipica risposta di fuga nei pesci, mediata dalle MC, è composta di una contrazione unilaterale della muscolatura assiale (*Stage 1*), normalmente opposta alla direzione dello stimolo, che comporta il piegamento del corpo in una caratteristica forma a "C" (figura 11), seguito da una contrazione controlaterale opposta (*Stage 2*, colpo di coda). Questo tipico comportamento di fuga può presentare una grande variabilità in diversi aspetti, come ad esempio l'assenza di uno stage 2, una contrazione su entrambi i lati (ad esempio, S-starts) (Hale, 2002), risposte non mediate dalle cellule di Mauthner (Eaton and Hackett, 1984).

Le differenti prestazioni in risposta di fuga, oltre ad essere influenzate dalle variabili ambientali (Domenici, 2010), sono determinate da fattori intrinseci come l'ontogenesi, la trasmissione neurale, la massa muscolare, la forma del corpo, la taglia, etc. (Domenici and Blake, '97; Wakeling, 2006). Quindi, la variabilità intrinseca rappresenta una componente fondamentale del comportamento anti-predatorio (Domenici, 2002).

La prestazione in risposta di fuga viene valutata attraverso la misurazione di variabili locomotorie e non-locomotorie che vengono comunemente impiegate per descrivere e valutare tale prestazione (Domenici et al., 2007b, 2010); tra queste troviamo:

- a) Reattività (*Responsiveness*): definita come la proporzione degli individui che reagiscono ad un segnale di pericolo sul totale degli individui testati.
- b) Latenza di fuga (*Escape latency*): definita come il tempo che intercorre tra la somministrazione dello stimolo e la prima reazione visibile da parte del pesce.
- c) Direzionalità (*Directionality*): i.e. La risposta viene definita come "away" (allontanamento) o "towards" (avvicinamento) rispetto al modello di predatore.
- d) La performance locomotoria (*Distance time performance*) del centro di massa (CoM) (velocità e accelerazione).
- e) Velocità angolare di curvatura (*Turning rate*): è definita come la velocità angolare del segmento che va dall'apice della testa al centro di massa del pesce (CoM).

La risposta di fuga è generalmente misurata attraverso la ripresa con telecamere ad alta velocità (HS, 500 frame per secondo); le singole immagini (*frames*) che compongono il filmato, sono state analizzate con un software che utilizzano un sistema di coordinate cartesiane digitalizzate (X,Y) utilizzando come riferimento il centro di massa e l'apice del muso del pesce.

4. Il rischio di predazione

Sulla base del celebre modello teorico di Ydenberg e Dill del 1986 sull'economia della fuga dal predatore (*The Economics of Fleeing from Predators*), molti studi si sono incentrati sui diversi aspetti comportamentali e fisiologici che contribuiscono alla determinazione del tipo di fuga dal predatore. Infatti, la fuga da un predatore ha un costo in termini di energia spesa per l'intenso sforzo muscolare richiesto e persa a causa dell'abbandono dell'attività intrapresa (ad esempio il foraggiamento). Questo spiega perchè un animale non sempre fugge alla percezione di un predatore, dimostrando l'esistenza di una modulazione nel meccanismo di fuga.

La distanza minima alla quale una preda fugge da un predatore è chiamata distanza di reazione ed è il risultato di un bilancio tra il vantaggio conseguente l'attività intrapresa e l'abbandono di questa per sfuggire alla predazione. In natura, la distanza di reazione, la prestazione nella risposta di fuga, le caratteristiche fisiche, ecologiche e comportamentali, nonché le variabili ambientali determinano, in generale, il comportamento anti-predatorio di una specie come di un individuo (figura 12) (Domenici, 2010).

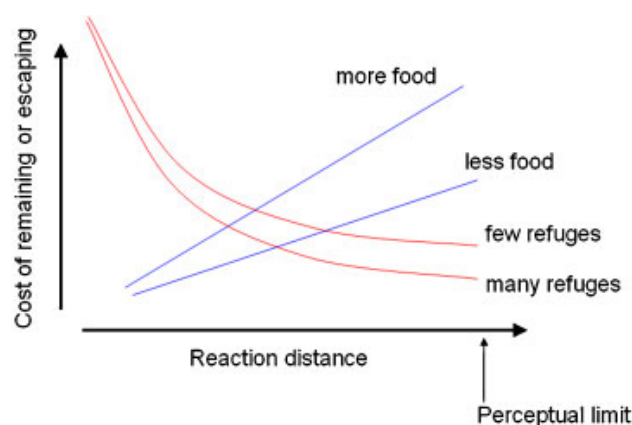


Figure 12: Il costo della fuga dal predatore (asse y) rispetto alla distanza di reazione (asse x), il costo della mancata fuga dal predatore (rischio di essere predati) può essere modulato a seconda del contesto. Un habitat molto eterogeneo diminuisce questo costo, le prede possono avere una distanza di reazione più bassa. Il costo della fuga dal predatore aumenta in modo lineare con la distanza e può essere influenzato da altri fattori come la presenza di cibo. (Domenici, 2010).

Le specie soggette a predazione devono confrontarsi quotidianamente con la decisione di mantenere un costoso atteggiamento anti-predatorio attivo e la possibilità di intraprendere attività collegate alla *fitness*, come il foraggiamento e la riproduzione (Grant et al., 2006). Il foraggiamento, come altre attività di routine,

comporta un aumento dell'attività di un individuo, rendendolo più visibile e quindi potenzialmente predabile (e.g. Martel & Dill 1995; Biro et al. 2006; Sundt-Hansen et al. 2009) e riducendo la soglia di attenzione verso l'attacco dei predatori (Godin & Smith 1988; Watson et al. 2007, Killen 2011).

4.1 La presa di rischio

Studi precedenti hanno dimostrato differenze consistenti nella personalità animale; alcuni individui risultano più audaci e più esploratori mentre altri timidi e mansueti (Wilson et al. 1994; Brown et al. 2007). Gli audaci hanno una maggiore tendenza esploratoria e sono generalmente più attivi; questo comporta un incremento nel dispendio energetico indipendentemente dal contesto ambientale ed ecologico (Careau et al, 2008).

L'audacia, in individui sogetti a predazione, oltre ad essere una caratteristica intrinseca dell'individuo, è espressione del compromesso tra la crescita e la mortalità (Stamp, 2007); animali audaci hanno maggiori occasioni di foraggiamento ma soffrono di un più elevato tasso di mortalità (Smith & Blumstein, 2008). Questo compromesso riflette, più in generale, le differenze evolutive nei rapporti preda-predatore.

Tradizionalmente il comportamento alimentare, in termini di tempi, luoghi e frequenza, è stato considerato frutto dell'obiettivo di massimizzare la rata netta di energia assunta. Questo è stato riscontrato in diversi studi effettuati in campo come in laboratorio (Stephens e Krebs 1986).

Alcuni esperimenti hanno mostrato come l'esposizione al rischio di predazione può alterare profondamente il comportamento alimentare (Sih, 1982a,b; Gilliam and Fraser, 1987; Abrahams, 1989) e il comportamento in genere. Questi esperimenti dimostrarono l'esistenza di relazioni funzionali tra il beneficio derivato dal foraggiamento e il costo di una fuga dal predatore (dispendio energetico e rinuncia al cibo), rispetto al rischio di essere predati. Queste differenze sono state riscontrate anche all'interno della singola specie in funzione delle abitudini individuali nel foraggiamento; infatti individui che abitualmente si cibano frequentemente e con piccole razioni, mostrano distanze di reazione più piccole rispetto ad individui che mostrano un comportamento alimentare opposto (Webb, '86).

Lo studio dell'audacia individuale è il tratto comportamentale più studiato nel mondo animale (Wilson et al., 1994). Molti animali mostrano una sostanziale variazione di questo tratto all'interno della propria specie (Sih et al., 2004); questa variazione è comunemente ritenuta come un bilancio tra costi e benefici (Reddon & Hurd, 2009).

Il foraggiamento in un ambiente nuovo, l'abbandono del rifugio, la confidenza verso un oggetto sconosciuto sono, in studi di laboratorio, considerati una "presa di rischio" (*risk taking*); l'individuo essendo mentalmente impegnato nel foraggiamento, deve necessariamente abbassare la soglia di vigilanza che mantiene in altre circostanze (es. durante il pascolo), esponendosi al rischio di essere predato. Krause and Godin ('96) dimostrarono come, ad esempio, anche la posizione nel foraggiamento ha un'influenza sull'efficienza della risposta antipredatoria.

L'impegno di un pesce in attività collegate alla *fitness*, ha un effetto non solo sul suo comportamento antipredatorio, ma anche sulla prestazione di fuga espressa (Domenici *in prep.*).

Il rapporto preda-predatore è cruciale nella vita di un pesce; esso è quindi fondamentalmente riconducibile a due fattori principali: il “*risk-taking*” cioè quanto un pesce è disposto a rischiare (in termini di predazione), e la prestazione in “*escape response*” (ER) cioè l'efficienza di fuga dal predatore di un individuo (o di una specie). In letteratura, individui della stessa popolazione esprimono differenti livelli di presa di rischio nel foraggiamento come nella risposta di fuga; non è ancora chiaro se tale variabilità dipende semplicemente dell'espressione fenotipica, indice della plasticità della popolazione, o se in ogni individuo si stabiliscono dei compromessi (*trade-offs*) o delle relazioni tra caratteristiche funzionalmente legate che co-evolvono.

4.2 La lateralizzazione comportamentale

La lateralizzazione comportamentale è la tendenza a favorire l'uso della parte sinistra o destra del corpo durante lo svolgimento delle diverse attività (Domenici, 2011).

La lateralizzazione delle funzioni cognitive conferisce potenziali vantaggi rispetto alla selezione naturale (Vallortigara & Rogers, 2005); evidenze dirette sono state riscontrate in numerosi contesti ecologici in: invertebrati, pesci, anfibi, rettili, uccelli e primati (McGrew & Marchant, 1999; Bisazza & Dadda, 2005; Vallortigara & Rogers, 2005; Dadda, 2010, Domenici 2011).

Nei pesci, gli individui lateralizzati mostrano una maggiore efficienza nello *schooling* (Bisazza & Dadda, 2005), nella presa di rischio (Reddon & Hurd, 2009), nell'orientamento spaziale (Sovrano et al, 2005), nella predazione (Takeuchi & Hori, 2008) e nella risposta di fuga da un predatore (Dadda et al. 2010). Tali prestazioni sono attribuibili a una più efficiente elaborazione cerebrale parallela, che porta a una maggiore capacità di calcolo neurale, anche in individui coinvolti contemporaneamente in più attività (Dadda & Bisazza, 2006).

La lateralizzazione comportamentale può esistere a livello di popolazione o a livello individuale (Denenberg, 1981; Lehman, 1981). A livello di popolazione, è riferita ad un gruppo d'individui la cui maggioranza risulta significativamente lateralizzata in una sola direzione (destra o sinistra). La lateralizzazione a livello individuale, invece, si ha quando la popolazione mostra preferenze in entrambe le direzioni (alcuni individui verso destra e altri verso sinistra; Domenici 2011).

La lateralizzazione comportamentale di una popolazione è stata spiegata da Vallortigara & Rogers (2005) attraverso la lateralizzazione celebrale; questa consente l'elaborazione simultanea di differenti tipi di informazioni in aree diverse del cervello, permettendo l'uso separato e parallelo dei due emisferi cerebrali (Dadda, 2006).

Sebbene un cervello lateralizzato risulti più efficiente, questo aspetto è indipendente da quale lato del cervello è impiegato (Takeuchi & Hori, 2008). Così non risultano motivazioni sufficienti per affermare che i processi

evolutivi procedano verso la selezione preferenziale di una parte del cervello (Rogers, 1989).

La lateralizzazione potrebbe rappresentare un compromesso tra la capacità di esprimere prestazioni elevate (in diversi compiti) e la capacità di interagire con stimoli ambientali (Vallortiga & Rogers, 2005; Dadda & Bisazza, 2009; Domenici 2011).

Nonostante l'esistenza di un'ereditabilità di questo tratto (Figura 13; Bisazza et al, 2000), e il vantaggio selettivo che ne consegue, una buona parte degli individui osservati risultano scarsamente lateralizzati. Questo suggerisce la potenziale esistenza di un costo associato alla lateralizzazione degli individui.

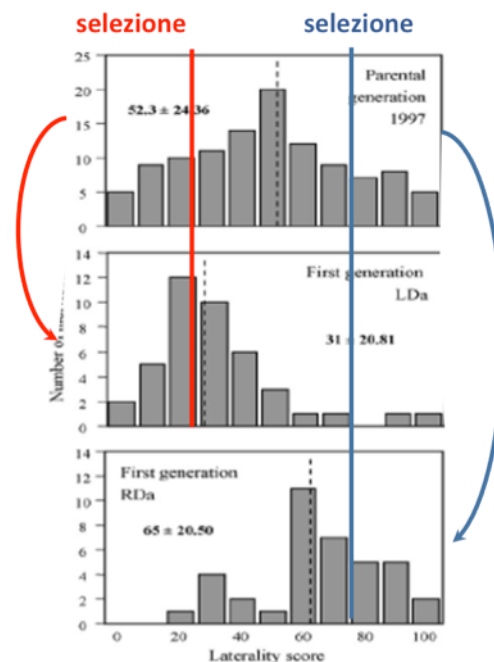


Figura 13: Ereditabilità nella lateralizzazione comportamentale (Bisazza et al, 2000).

Tradizionalmente, l'asimmetria comportamentale veniva considerata come una fluttuazione asimmetrica (FA) di un tratto morfologico (Collins et al., 1993). La FA è una deviazione casuale dalla simmetria laterale ed è stata riscontrata in numerosi taxa tra cui i pesci (Marques et al., 2005).

La FA è generalmente considerata come una conseguenza di esperienze d'instabilità durante la fase di sviluppo (Mather, 1953; Soule, 1982). In studi condotti da Cantalupo et al. (1996) e Bisazza et al. (1997) la FA è risultata indipendente dalla lateralizzazione comportamentale, infatti non sono stati individuati fattori che possono influenzare la presenza di una lateralizzazione comportamentale. Pertanto, il significato ecologico ed evolutivo della lateralizzazione comportamentale nei pesci rimane un argomento poco chiaro (Takeuchi, 2007).

In esperimenti di laboratorio, la lateralizzazione comportamentale viene misurata attraverso un indice di lateralità (*Lt index*) che viene espresso in valori percentuali (%).

L'indice di lateralizzazione può essere relativo (L_R) o assoluto (L_A): il primo prende in considerazione anche la direzione presa, il secondo solo se esiste una preferenza significativa senza tenere conto della direzione (sinistra o destra).

Per misurare il grado di lateralizzazione viene utilizzato il *Detour Test* di Bisazza et al., (1998). Questo test è stato in precedenza impiegato, con successo, su pesci e uccelli (Bisazza et al. 1998; Vallortigara et al. 1999).

I pesci vengono introdotti in un corridoio di corsa a forma di "T" e la loro decisione di voltare a destra o a sinistra, alla fine del corridoio, viene registrata. Per ogni individuo sono effettuate 10 repliche; da questo dato vengono calcolati l'indice di lateralità relativo (L_R , da -100 a +100, che considera la preferenza per la parte destra o sinistra) e l'indice di lateralità assoluto (L_A , da 0 a 100, che corrisponde al valore assoluto di L_R) (Dadda et al., 2011).

4. Variabilità individuale

Generalmente, gli studi tradizionalmente condotti su aspetti ecologici e fisiologici nei pesci erano incentrati sulla comprensione dei meccanismi fondamentali che sono alla base del loro funzionamento, e si basavano sui valori medi calcolati. In quest'ottica, un'eccessiva variabilità del dato era considerata un indesiderato rumore di fondo. Questa visione restrittiva della diversità animale, che è invece alla base dell'evoluzione, è stata messa in discussione da Bennet (1987) nel suo celebre *The tyranny of the Golden Mean*; in esso Bennet afferma: "una visione dei fenomeni naturali incentrata solo sull'interpretazione dei valori medi limita la visione dei dati e restringe il quadro concettuale, in modo da rendere impossibile la possibilità di sfruttare l'analisi della variazione biologica ". Ci sono, infatti, molti motivi interessanti per esplorare le cause e le conseguenze della variabilità individuale in una popolazione.

Lo studio della variabilità individuale è di fondamentale importanza per la comprensione dei meccanismi che sono alla base dei processi evolutivi, la diversità fenotipica è, generalmente, indice di una diversità genetica e può essere considerata un indice della plasticità, ovvero della capacità adattativa, di una popolazione (Hayes & Jenkins 1997; Bolnick et al. 2003; Sears et al. 2009).

La variabilità tra popolazioni appartenenti alla stessa specie è normalmente ricondotta all'influenza di fattori biotici e abiotici (McKenzie and Claireaux 2009), infatti, durante il corso della loro vita, gli animali possono avere cambiamenti nella fisiologia e morfologia in relazione alla variazione delle condizioni ecologiche (cambiamenti stagionali, migrazioni verso ambienti diversi, etc.).

Consistenti differenze sono riscontrabili anche a livello individuale all'interno della stessa popolazione, infatti, negli ultimi anni come testimoniato dai numerosi studi condotti, si è manifestato un crescente interesse verso lo studio della variabilità individuale nella prestazione del suo significato ecologico (Nicoletto, 1991; O'Steen et al., 2002; Ghalambor et al., 2004; Blake et al., 2005; Langerhans et al., 2005; Karino et al., 2006; Kruesi & Alcaraz, 2007).

4.1 Trade-offs, tipi e sindromi comportamentali

Individui della stessa taglia e sesso, e provenienti dalla stessa popolazione, spesso differiscono in aspetti legati al comportamento (Clark & Ehlinger 1987; Magurran 1993; Wilson 1998), ad esempio, alcuni individui sono generalmente più aggressivi (Killen 2011).

Quando negli individui di una popolazione esiste una correlazione tra due tratti di tipo differenti, in maniera stabile nel tempo e in contesti ambientali differenti, questa può essere definita una "sindrome comportamentale" (Sih et al. 2004 a,b). Quando, invece, un individuo si distacca dalla generale tendenza di una popolazione, mostrando una particolare configurazione di alcuni tratti comportamentali, può essere considerato un "tipo comportamentale" (Bell, 2007; Figura 14).

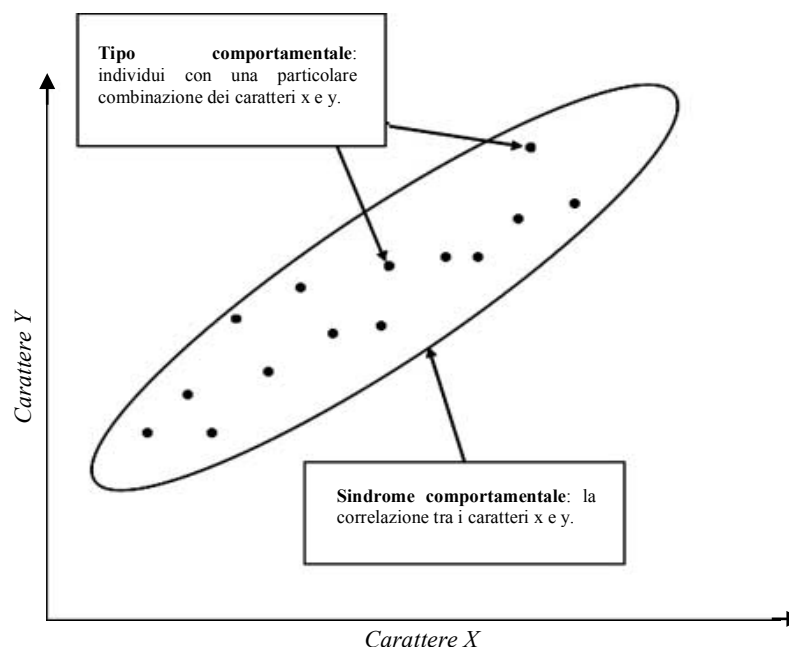


Figura 14: Definizione di tipo comportamentale e di sindrome comportamentale . Ogni punto rappresenta un individuo di una data popolazione.

Un'ampia variabilità in alcuni tratti può suggerire l'esistenza di *trade-offs* (figura 15), cioè di un compromesso o una relazione negativa, in cui ogni fenotipo espresso può potenzialmente rappresentare un costo o un beneficio in funzione dell'ambiente in cui vive l'animale (Mangel & Stamps 2001; Stamps 2007, Killen 2011).

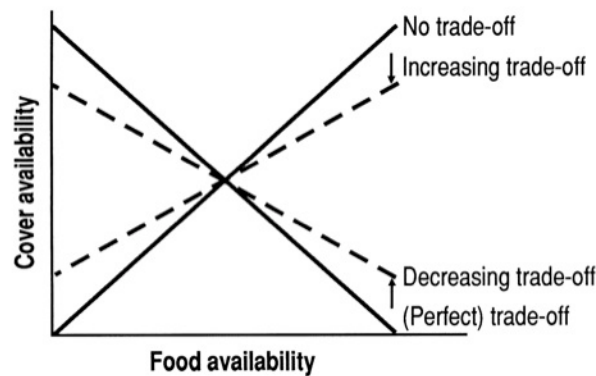


Figura 15: Esempio grafico di trade-off (correlazione negativa).

Non è chiaro se le elevate capacità in una determinata funzione sia compensata con una prestazione relativamente inferiore nell'altra (*trade-off*), in questo Bennet (1987) nota "se due fattori sono funzionalmente collegati, questi devono essere significativamente correlati tra gli individui a livello di specie.

Da un punto di vista ecologico, l'esistenza di questi *trade-offs* può rappresentare una compensazione naturale che garantisce il mantenimento della variabilità genica e la plasticità della popolazione (Bell, 2007). Rappresenta il costo pagato, in termini di fitness, quando un cambiamento favorevole in un tratto è collegato al peggioramento di un'altro (Stearns, 1989).

Un esempio di trade-off è dato dall'esistenza di un compromesso, nei vertebrati terrestri, tra la resistenza muscolare alla locomozione aerobica e la locomozione di *sprint* anaerobica (Garland and Losos, 1994, Vanhooydonck et al., 2001). Questa differenza è stata spiegata nella differenza nel rapporto di fibre bianche e rosse nella massa muscolare (Garland and Losos, 1994, Vanhooydonck et al., 2001). Anche studi sul comportamento animale sono stati incentrati proprio sulla dimostrazione dell'esistenza di diversi *trade-offs* coinvolgendo anche aspetti cinematici, fisiologici e neurobiologici. Ma contrariamente a quanto postulato, nei pesci, solo alcuni *trade-offs* sono stati dimostrati.

4.1.1 Il compromesso tra foraggiamento e rischio di predazione

Fra tutti i *trade-offs*, quelli maggiormente descritti in letteratura descrivono il compromesso tra il tasso di crescita e la mortalità (*Growth-mortality*), nei quali il pesce deve bilanciare la necessità di foraggiare con il conseguente rischio di esporsi al rischio di predazione (Mangel, 2001). Evidenze dell'esistenza di questi *trade-offs* sono state indirettamente fornite anche da studi condotti sulla pesca, in cui spesso individui pescati nello stesso campionamento mostravano che alcuni individui giovani avevano dimensioni maggiori di individui adulti (Lee, 1912).

Questo compromesso è stato indagato sotto diversi aspetti e riassunto da Stamp (2001), considerando i lavori che confrontavano tratti collegati alla fitness come: il foraggiamento, la crescita (in taglia), la maturazione delle gonadi, il rischio di predazione, lo sviluppo somatico, le funzioni immunitarie, la resistenza agli stress fisiologici. Tra questi il *trade-offs* più studiato nei pesci è quello tra il foraggiamento e il rischio di predazione. In generale individui con un tasso di crescita maggiore hanno tassi di mortalità più alti; questo spesso porta a un tasso di foraggiamento intermedio che bilancia rischi e benefici (Stamp, 2001).

Studi sperimentali sulle relazioni preda-predatore hanno mostrato compromessi funzionali tra il rischio di predazione e l'attività di foraggiamento in tratti ecologici, comportamentali, fisiologici e cinematici (Lima & Dill, 1989; Abrahams, 1997; Jones, 2010; Reddon, 2008; Biro et al. 2004, 2006; Anholt and Werner, 1995, 1998, Finstad et al. 2007; Huntingford et al. 2010; Killen 2011).

Nei pesci, il tasso metabolico può essere collegato con la predisposizione a rischiare di essere predati durante il foraggiamento (Finstad et al. 2007; Careau et al. 2008; Huntingford et al. 2010). L'incremento nella richiesta energetica in individui con un tasso metabolico più elevato, comporta la necessità di foraggiare più frequentemente esponendosi maggiormente al rischio di predazione (Abrahams & Sutterlin 1999; Finstad et al. 2007; Huntingford et al. 2010). Gli animali devono quindi bilanciare il rischio di digiuno con quello di essere predati, influenzando il loro comportamento alimentare (Jones, 2010).

Ad oggi, solo pochi studi hanno dimostrato l'esistenza di una relazione tra il tasso metabolico e la presa di rischio durante il foraggiamento (Finstad et al. 2007; Huntingford et al. 2010; Killen 2011)

La capacità di evitare e sfuggire ai predatori è una caratteristica importante nel determinare la *fitness* in tutti gli animali soggetti a predazione, ed è quindi comprensibile, da un punto di vista ecologico, l'influenza sul comportamento alimentare ed altri tratti collegati alla sua *fitness*.

4.2 Implicazioni evoluzionistiche, fisiologiche ed ecologiche

Tradizionalmente se una variazione in un dato tratto è dimostrata come stabile, questa può essere collegata ad implicazioni evoluzionistiche, fisiologiche ed ecologiche. I fisiologi generalmente assumono che un dato tratto funzionale deve avere un significato adattativo per l'animale, che può avere conseguenze (dirette o indirette) sulla sopravvivenza e il potenziale riproduttivo. Quest'assunzione è, comunque, raramente direttamente testata (Arnold, 1983; Smith and Skulason, 1996; Vamosi, 2005, Langerhans, 2006; Langerhans, 2009).

La variazione individuale di un tratto che è temporaneamente stabile, potrebbe, in teoria, essere usata per valutare l'importanza ecologica, a livello di selezione naturale, del tratto stesso, correlando questo ad un indicatore di fitness. Calcolando la frequenza di distribuzione si possono avere indicazioni della strada intrapresa dalla selezione naturale riguardo quel tratto (Endler, 1986; Robinson and Wilson, 1994; Endler, 1995; Smith & Skulason, 1996; Vamosi, 2005).

La selezione può essere "direzionale" e quindi favorire l'affermarsi di un carattere che rappresenta un estremo del range di variazione (Figura 16A). Ad esempio, pesci più veloci o più resistenti al nuoto prolungato, in ambiente pelagico, hanno una maggiore probabilità di arrivare all'età riproduttiva. La selezione può essere "stabilizzante", con una distribuzione modale per un dato carattere, riducendo la variazione verso gli estremi e favorendo la tendenza verso i valori medi nella distribuzione di frequenza del dato carattere all'interno della popolazione (Figura 16B). In questo caso individui molto veloci e molto lenti sono selezionati negativamente. La selezione è distruttiva quando favorisce la selezione dei caratteri che rappresentano entrambi gli estremi del range di distribuzione del carattere, favorendo l'ampliamento del range stesso (Figure 16C) (Langerhans, 2006; Langerhans, 2009).

Quindi, lo studio della variabilità individuale permette di capire come un dato carattere, in una popolazione naturale, viene selezionato dall'ambiente in cui vive.

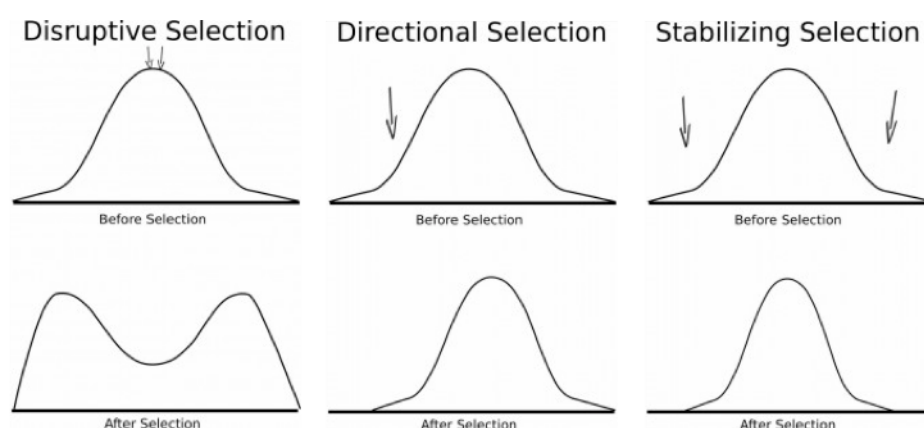


Figura 16: Nella selezione Direzionale (A) i valori estremi di un tratto vengono selezionati rispetto i valori dell'estremo opposto, comportando uno slittamento dei valori medi in direzione del primo. Nella selezione stabilizzante (B), gli estremi, vengono selezionati negativamente in favore dei valori medi e la media rimane costante. Nella selezione distruttiva (C) i caratteri estremi (di entrambe le direzioni, vengono selezionati positivamente a scapito dei valori medi, con la tendenza verso un'andamento bimodale).

5. *Liza aurata* (Risso, 1810)

Liza aurata, comunemente chiamata Cefalo dorato (o Lotregano), è un pesce dal corpo slanciato, leggermente compresso ai lati; presenta una testa breve e appiattita dorsalmente, coperta di squame generalmente non estese oltre le narici. Bocca grande in posizione terminale. Denti minuti ma ben evidenti. Labbro superiore liscio e sottile. Mascellare non visibile a bocca chiusa. Palpebra adiposa rudimentale, ridotta ad una sottile membrana attorno all'occhio. Pinne pettorali senza processo ascellare; relativamente lunghe e ripiegate in avanti superano il bordo posteriore dell'occhio. Stomaco provvisto di 7-10 appendici piloriche.

La livrea, di colore grigio bruno con riflessi metallici, più scura sul dorso, progressivamente più chiara sui fianchi, ventre biancastro con riflessi dorati. Sui fianchi si osservano alcune bande longitudinali scure. Presenta una macchia dorata sull'opercolo molto evidente ed affiancata da un'altra più piccola, situata dietro all'occhio (Figura 17). Pinne traslucide, grigiastre o dello stesso colore del dorso. Negli avannotti è visibile sul fianco una disposizione a "spina di pesce" dei cromatofori. Gli adulti hanno in media una lunghezza compresa tra 15 e 40 cm, raramente superano i 50 cm.



Figura 17: Il cefalo dorato (*Liza aurata*, Risso 1810)

Tra tutti i mugilidi presenti nelle acque europee, *L. aurata* è la specie con una tolleranza relativamente minore alle oscillazioni di temperatura e di salinità. Vive in mare, lungo le coste, raramente supera i 10 metri di profondità. Negli estuari rimane al margine della zona di risalita della marea. Frequente nelle lagune con fondali fangosi ricchi di vegetazione litorale, raramente risale in acqua dolce. Conduce vita gregaria, di preferenza in mare, ma trascorre parte della sua fase di accrescimento in acque dolci. Specialmente gli avannotti si spostano nelle acque salmastre interne per alimentarsi e trovare rifugio. La montata degli avannotti si svolge in un periodo piuttosto lungo che ha il suo picco più significativo nel periodo compreso tra aprile e maggio.

L. aurata raggiunge la maturità sessuale alla lunghezza di circa 20 - 30 cm. La specie si riproduce soltanto in mare, durante il periodo che va da settembre a dicembre. Come tutte le specie che possiedono uova pelagiche, il cefalo dorato è molto prolifico. Ogni uovo ha un diametro compreso tra 1,08 e 1,14 mm, per favorire la galleggibilità può presentare al suo interno fino a cinque gocce oleose che maturando

confluiscono in un'unica goccia. Alla schiusa le larve misurano circa 4 mm e presentano una pigmentazione gialla concentrata lungo il tronco, mentre il profilo dorsale e ventrale è delineato da pigmento nero.

Gli adulti del cefalo dorato sono in grado di filtrare il sedimento attraverso l'apparato faringo-branchiale, tendono a nutrirsi principalmente di microalghe bentoniche (Biofilm) e detrito (Brusle, 1981). Nella dieta rientrano anche invertebrati bentonici come diversi policheti, larve d'insetti e piccoli crostacei. Gli avannotti hanno dieta quasi esclusivamente composta da microinvertebrati e plancton.

Il cefalo dorato ha un'elevata importanza commerciale dovuta alla buona qualità delle carni, che non risentono dell'inquinamento per la tendenza di questa specie a sostare in acque più pulite rispetto agli altri Mugilidi. Questa specie è oggetto d'intensa pesca nelle lagune, dove è catturato principalmente impiegando il lavoriero, e in mare con reti da posta. La specie riveste un notevole interesse per la pesca professionale e sportiva.

6. Obiettivi

Tradizionalmente, gli studi sulle relazioni preda-predatore e sulla loro influenza sul comportamento alimentare sono stati focalizzati sulle risposte medie di un gruppo d'individui, senza considerare la variabilità individuale all'interno della popolazione. Tale variazione può essere importante, in quanto, la variabilità fenotipica è espressione della diversità genetica ed è la misura nella quale una popolazione può reagire a diversi contesti ecologici e condizioni ambientali.

Questo studio si pone l'obiettivo di indagare aspetti che descrivono il comportamento alimentare, l'influenza su di esso della taglia e della temperatura ambientale e tratti fisiologici e comportamentali ad esso collegati sia dal punto di vista teorico sia funzionale. I tratti studiati sono:

- La capacità metabolica, attraverso la misurazione del metabolismo attivo e di base, quali variabili intimamente collegate alla necessità di assumere energia durante l'esercizio aerobico.
- L'attività spontanea di nuoto: quale indice della naturale tendenza individuale alla vagilità.
- La prestazione nella risposta fuga, componente fondamentale del comportamento anti-predatorio.
- L'audacia (o presa di rischio), quale espressione del compromesso tra il rischio di essere predati e la possibilità di ottenere foraggio.
- La lateralizzazione comportamentale, sia a livello individuale sia di popolazione, quale indice di sviluppate capacità neurobiologiche.

Le possibili relazioni individuali in aspetti e tratti collegati al foraggiamento, al comportamento, alla fisiologia e alle prestazioni anti-predatorie sopradescritte, possono rappresentare una delle fonti del

mantenimento di un'elevata variabilità nel comportamento alimentare individuale. La variabilità di tratti chiave come quelli presi in considerazione può, altresì, spiegare l'elevata capacità adattativa, stabile in contesti diversi, tipica di *Liza aurata* e dei Mugilidi in genere.

Oltre alla comprensione dei meccanismi, che sono alla base del mantenimento della variabilità genetica all'interno di una popolazione di un organismo modello come *L. aurata*, gli esperimenti condotti forniranno dati per l'implementazione di un modello eco-fisiologico basato sugli individui (IBM). Questo tipo di modello è in grado di simulare accuratamente, per ogni individuo, i processi fisiologici e comportamentali, le relazioni trofiche e la risposta di questi al variare delle condizioni ambientali. La risposta di tutti gli individui viene integrata a livello di popolazione, fornendo un utile strumento per la gestione degli stock ittici nello stagno di Cabras (Oristano, Sardegna; preso come modello). Tale strumento permette di formulare scenari ("*what-if? predictions*") sulla produttività in stagno in relazione alle variabili ambientali, che in ambiente lagunare sono particolarmente intense e repentine, influenzando sul tasso di crescita degli organismi.

MATERIALI E METODI

7. Animali utilizzati negli esperimenti

Un totale di 150 giovanili di *Liza aurata* (Risso 1810) (figura 18) sono stati catturati attraverso un lavoriero costiero, presso la "Peschiera Fli. Manca" nella laguna di Mistras (Cabras, Ovest Sardegna; figure 19 a,b). I pesci, dopo la cattura, sono stati trasportati in appositi contenitori ossigenati nello stabulario dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del Consiglio Nazionale delle Ricerche di Oristano (IAMC-CNR). I pesci in base alle dimensioni sono stati suddivisi in tre popolazioni aventi dimensioni (TL - lunghezza totale): $9,7 \pm 0,9$ cm; $16 \pm 1,2$ cm e $14,05 \pm 0,8$ cm. Dopo la cattura, gli animali sono stati mantenuti in ampie vasche con acqua filtrata e ossigenata (parametri ambientali costanti) presso lo stabulario dell'IAMC-CNR per 30 giorni.



Figura 18: Esemplare di *Liza aurata* fotografata durante la fase sperimentale.

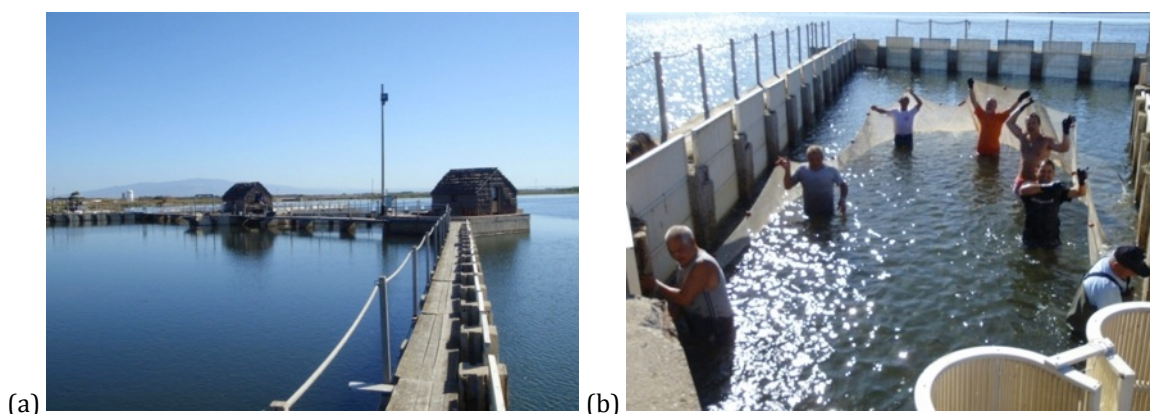


Figura 19: (a) la peschiera di Mistras (Cabras, W Sardegna); (b) la cattura mediante lavoriero costiero.

In seguito, 100 individui appartenenti alle classi di taglia: $9,7 \pm 0,9$ cm e $16 \pm 1,2$ cm, sono stati trasportati presso la stazione marina di “Le Maree” dell’Università de La Rochelle (FR). Qui sono stati svolti una parte degli esperimenti, condotti nell'ambito del progetto di ricerca VASIREMI. I restanti 50 individui della classe di taglia di $14,05 \pm 0,8$ cm sono stati mantenuti presso IAMC-CNR di Oristano, dove si sono svolti la seconda parte degli esperimenti previsti dal progetto di dottorato.

7.1 Condizioni di mantenimento presso l'Università de La Rochelle (FR)

I pesci sono stati trasportati singolarmente, con acqua di mare (1/3) e ossigeno puro (2/3), presso la Stazione marittima di *Le Maree* dell’Università de La Rochelle. Una volta in laboratorio, sono stati acclimatati e mantenuti ad una temperatura compresa di $17 \pm 0,2$ °C (media $\pm$ deviazione standard) e a una salinità di $32 \text{‰} \pm 0.3$. I pesci sono stati mantenuti in vasche circolari (1000lt) dotate di sistema di filtrazione a circuito semichiuso e aeratori. Il fotoperiodo è stato di 12 ore di luce e 12 di buio. Per i 30 giorni che hanno proceduto gli esperimenti parte degli individui, di entrambe le classi di taglia, sono stati mantenuti ad una temperatura di $10 \pm 0,5$ °C altri a $20 \pm 0,5$ °C.

I pesci sono stati nutriti con mangime sfarinato e *periphyton* algale coltivato su appositi substrati porosi (strisce di rete per zanzariere 1mm di maglia; Richard et al., 2004). Il *periphyton* algale è normalmente usato come integrazione alimentare in sistemi di produzione acquatici (Richard et al., 2004). La quantità di cibo somministrato è stata pari al 2% del peso degli animali. L'alimentazione è stata sospesa nelle 24 ore precedenti ai test sperimentali.

7.2 Condizioni di mantenimento presso l'IAMC-CNR di Oristano

Gli esemplari di *L. aurata* stabulati presso l'IAMC-CNR di Oristano (Lunghezza totale 14.05 ± 0.10 cm, peso 22.18 ± 0.38 g), sono stati mantenuti in condizioni ambientali che in letteratura rappresentano il loro *optimum* fisiologico, ovvero una temperatura di 21 ± 1 °C e una salinità di $36 \pm 0,5\text{‰}$. Le vasche di stabulazione sono state dotate di un sistema di filtrazione e aereazione a circuito chiuso con un ricambio di acqua settimanale del 30%. Il fotoperiodo è stato di 12 ore di luce e 12 di buio.

I pesci sono stati alimentati con un impasto di mangime sfarinato e alghe secche polverizzate (reidratate), la quantità di cibo somministrato è stata pari al 2% del peso degli animali e somministrato una volta al giorno. L'alimentazione è stata sospesa nelle 24 ore precedenti ai test sperimentali.

Circa 30 giorni prima dell'inizio degli esperimenti i pesci sono stati anestetizzati (MS 222) e marcati con pit-tags (Loligo system) sottocutanei inseriti in posizione dorsale anteriore (figure 20 a,b,c,d).

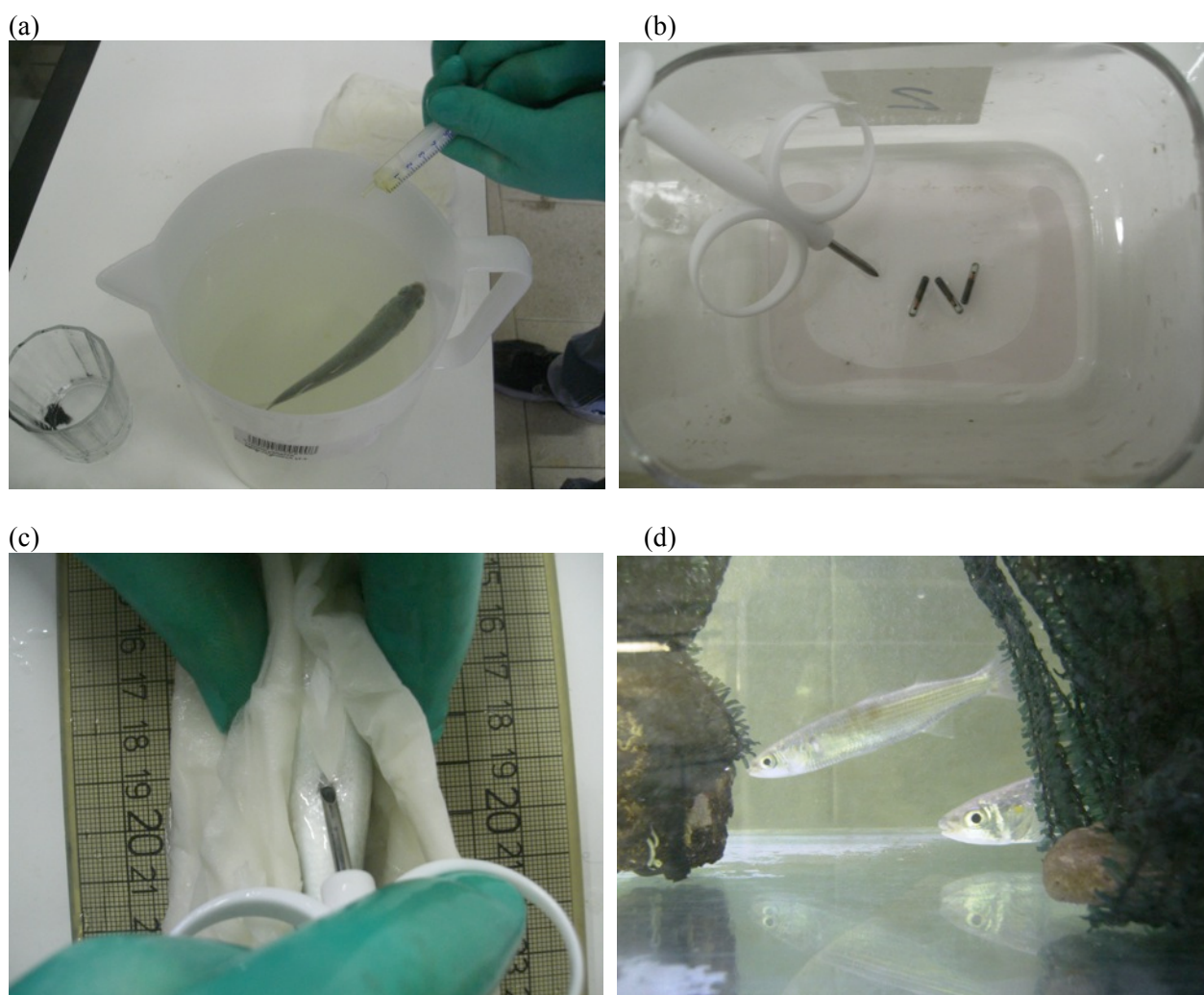


Figura 20: immagini della marcatura degli individui sottoposti ad esperimenti: (a) anestesia; (b) Pit-tags (Loligo system); (c) l'inserimento del tag; (d) alcuni individui in acquario (dopo la marcatura) durante il risveglio dall'anestesia.

La stabulazione e gli esperimenti condotti presso l'IAMC-CNR di Oristano (Stabilimento utilizzatore con Decreto Ministero della salute N°136/2011-A) sono stati condotti nel rispetto del benessere animale, secondo il Decreto Legge 116/92, le raccomandazioni della Commissione europea 2007/526/CE e le linee guida della UE 63/2010.

8. Set-up e protocolli sperimentali

8.1 Comportamento alimentare

Lo studio sul comportamento alimentare è parte di un progetto più ampio (VASIREMI) che ha come obiettivo quello di valutare i flussi di energia tra l'ambiente di marea e il mare aperto. Presso la stazione marittima dell'Università de La Rochelle (Francia) è stata realizzata, in una stanza silenziosa e climatizzata,

una vasca sperimentale (mesocosmo) con un volume pari a 4000 litri e avente dimensioni 4x1x1m; Figura 20 a). Il fotoperiodo è stato impostato per avere un ciclo di luce/buio di 12 ore. La vasca è stata suddivisa in due parti comunicanti attraverso una porta scorrevole, una parte dedicata all'acclimatazione dei pesci, l'altra provvista sul fondo di pannelli sui quali è stato coltivato un biofilm algale. Il mesocosmo è stato dotato di un sistema di filtrazione e aerazione dell'acqua a circuito chiuso e di un sistema di termoregolazione. Su un lato della vasca sperimentale sono state posizionate 4 telecamere (webcam 25 frame/sec) collegate ad un sistema video di digitalizzazione e registrazione.

Il *biofilm* presente sui pannelli posti sul fondo della vasca sperimentale è stato ricostruito dal prelievo in natura dei primi 2mm del sedimento. I sedimenti sono stati setacciati (500 µm) posizionati su appositi pannelli in plastica, inoculati con alghe micro-fitobentoniche (figura 20 b) e coltivati per 15 giorni. Al fine di ricostruire le condizioni naturali di crescita, il biofilm è stato coltivato in un serra da agricoltura all'interno di vasche collegate ad un sistema di accumulo di acqua e pompe idrauliche che riproducono il ciclo di marea.

24 ore prima di ogni esperimento, 3 individui venivano marcati attraverso il posizionamento di *tag* visivi sull'opercolo dei pesci. La marcatura è stata realizzata con materiale plastico riflettente e colla veterinaria (Krazy glue®). La marcatura è stata realizzata sotto anestesia (0,08 g l⁻¹ of MS222) (Mc Farland and Klontz, 1969), questa procedura veniva conclusa per ogni individuo in un tempo massimo di 2 minuti e successivamente, al fine di eliminare lo stress indotto dalla manipolazione, gli individui sono stati trasferiti nella camera di acclimatazione all'esperimento e lasciati riposare per almeno 12 ore (Lefrançois et al., 2005).

Dopo il periodo di acclimatazione i pesci, in gruppi da tre individui, sono stati introdotti dalla camera di acclimatazione a quella sperimentale attraverso il sollevamento di una porta scorrevole, l'esperimento aveva inizio quando uno dei tre individui cominciava a brucare il biofilm e terminava dopo 180 minuti. Le telecamere sono state attivate durante l'ingresso dei pesci nella camera sperimentale (Figura 21).

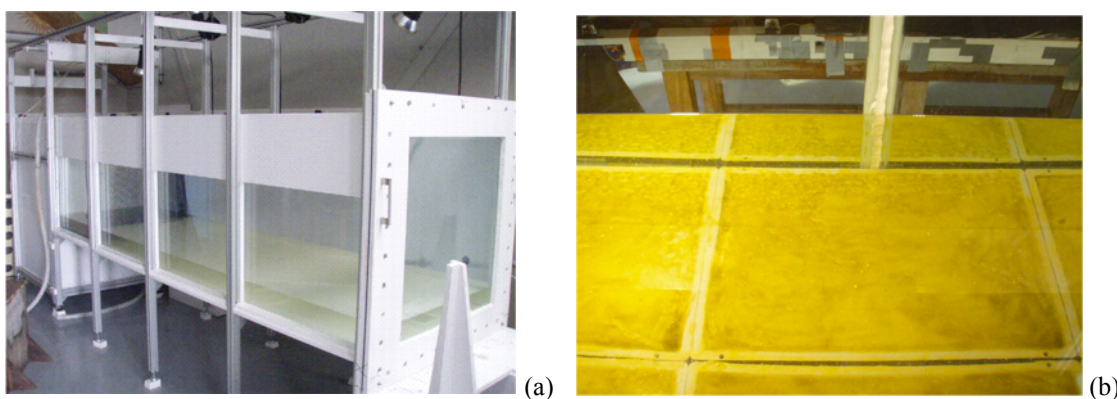


Figura 20: (a) Immagine del mesocosmo sperimentale per lo studio del comportamento alimentare; (b) immagine di dettaglio dei piatti utilizzati per la crescita del biofilm, posizionati sul fondo del mesocosmo.

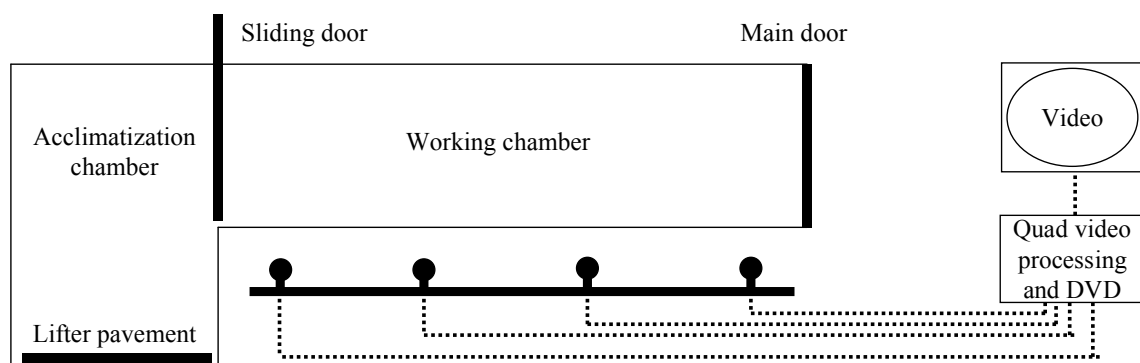


Figura 21: Schema del set-up sperimentale utilizzato nello studio del comportamento alimentare.

Gli esperimenti sono stati ripetuti in due differenti periodi dell'anno, una prima parte in Aprile e la seconda in Giugno, alle rispettive temperature di 10 e 20 °C. Le temperature sono state scelte in relazione dell'andamento delle temperature del precedente anno nella baia di Aiguillon (Vendée) nella costa Atlantica della Francia (luogo di provenienza dei sedimenti). Le temperature e la salinità nelle vasche di mantenimento dei pesci e nel sistema di coltura del biofilm sono riportate nella tabella 1.

	<i>Fase di Acclimatazione (n=30)</i>				<i>Coltura Biofilm (n=12)</i>				<i>Mesocosmo Sperimentale</i>			
	Max	Min	Mean	SE	Max	Min	Mean	SE	Max	Min	Mean	SE
<i>Temperature (°C)</i>												
Aprile	11	9	10	0.1	19	13	16	0.6	11	10	11	0.0
Giugno	21	19	20	0.1	26	16	21	1.5	21	19	20	0.0
<i>Salinità(Psu)</i>												
Aprile	32	29	30	0.2	36	33	34	0.3	32	32	32	0.0
Giugno	35	33	33	0.1	38	35	36	0.3	36	35	35	0.0

Tabella 1: Massimi, minimi e valori medi ($\pm$ SE) dei parametri ambientali di temperature e salinità registrati durante la fase di acclimatazione, nel sistema di coltura del biofilm e nel mesocosmo durante gli esperimenti nelle rispettive date (Aprile e Giugno 2010).

L'esperimento è stato effettuato su individui appartenenti a due classi di taglia: medi 16 ± 1.2 cm (lunghezza totale - TL) e piccoli 9.7 ± 0.9 cm. Per ogni combinazione tra classi di taglia e temperatura sono state realizzate 6 repliche sperimentali per un totale di 72 individui testati.

Il comportamento alimentare e in particolare l'attività di *grazing* (brucamento) di *L. aurata* è stata stimata mediante analisi dei video prodotti. Le seguenti variabili sono state misurate: tempo di *grazing* effettivo (s), frequenza (n/h), e velocità di *grazing* (cm/s).

Il tempo speso nel foraggiamento è stato calcolato registrando la durata di ogni singolo evento di *grazing* per singolo individuo per tutta la durata dell'esperimento, l'analisi è stata fatto mediante il programma di analisi immagini ODRoc (Observational Data Recorder). I *tags* posizionati sull'opercolo branchiale hanno permesso il riconoscimento visivo dei singoli individui.

La velocità di foraggiamento (cm/s) è stata calcolata come lo spazio di *grazing* (bidimensionale) coperto nell'unità di tempo con il programma WINalyze 2.1.

La superficie brucata (m^2/h) è stata stimata utilizzando il rilievo delle biometrie dell'apparato boccale, il

tempo medio speso nel foraggiamento e la velocità media, secondo la seguente formula:

$$\text{Tempo speso nel foraggiamento (s)} * \text{apertura boccale (m)} * \text{Velocità di foraggiamento (m/s)}$$

Nell'ambito dello stesso progetto (VASIREMI), la biomassa algale (peso secco) presente in ogni pannello di Biofilm utilizzato negli esperimenti è stata calcolata attraverso la valutazione della concentrazione di clorofilla ([Chl]µg) per unità biomassa ([Chl]µg/g) e di superficie ([Chl]µg/m²).

La biomassa algale (peso secco) media ingerita ([Chl]µg/g) è stata calcolata secondo la seguente formula:

$$\text{superficie brucata (m}^2\text{/h)} * \text{biomassa algale biofilm ([Chl]µg/m}^2\text{)}$$

Il coefficiente di variazione (CV = SD/media) è stato calcolato per valutare il grado di variabilità dei parametri scelti nel descrivere il comportamento alimentare.

Al fine di testare l'effetto della temperatura (10 e 20 °C) e della taglia (piccoli e medi) sul comportamento alimentare, i valori medi ottenuti sono stati messi a confronto mediante *Two Way* ANOVA. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.). Una probabilità inferiore al 5% (P<0,05) è stata presa come limite per la significatività statistica.

8.2 Capacità metabolica

Il consumo di ossigeno (MO₂) e le prestazioni di nuoto sono state misurate in uno strumento chiamato "respirometro a tunnel di nuoto" (*Swimming tunnel* – LOLIGO System; figura 22) (descritto in dettaglio in McKenzie et al., 2001). Lo strumento è costituito da una vasca esterna di volume pari a 100 litri nella quale è presente una vasca ermetica di forma ovale. Nella vasca interna (60 litri) un motore elettrico genera un flusso d'intensità nota, deflettori e setti a nido d'ape permettono la distribuzione omogenea del flusso evitando turbolenze nella camera di nuoto (dimensioni: 38 cm lunghezza, 10 cm altezza e 10 cm di larghezza), dove viene alloggiato il pesce. La velocità del flusso è stata tarata in funzione del voltaggio misurato dal motore mediante un flussimetro posizionato al centro della camera di nuoto (Hontzsch HFA, Waiblingen, Germany).

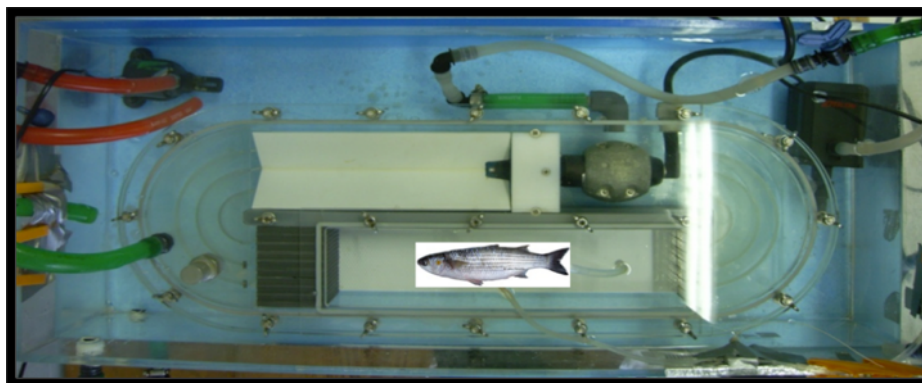


Figura 22: Il respirometro a tunnel di nuoto (*Swimming tunnel respirometer* - Loligo System, DK).

Dalla camera di nuoto una pompa peristaltica (Ismatec MV-GE) preleva un campione d'acqua (costante nel tempo) generando un flusso in un raccordo a forma di "T", all'interno del quale è alloggiata una fibra ottica (PreSens GmbH, Germany) collegata a un ossimetro (Microx TX₃, PreSens), il tasso di ossigeno disciolto (mgO₂kg⁻¹h⁻¹) è stato registrato durante tutto l'esperimento con un intervallo di 30 secondi.

I dati ottenuti dall'ossimetro sono stati archiviati elettronicamente da un apposito programma. Il sensore per l'ossigeno è stato calibrato quotidianamente alla temperatura di 20°C e a pressione ambientale. Il respirometro è stato collegato ad un sistema di termoregolazione della temperatura e ad un salinometro per il controllo della salinità, i valori sono stati rispettivamente di 20±0.5 °C e 36±0.5 ‰.

I pesci sono stati introdotti individualmente nella camera di nuoto (in presenza di un debole flusso < 5 cm s⁻¹) e lasciati in acclimatazione al nuovo ambiente per 15 ore, nel trasferimento è stata evitata l'esposizione all'aria e ogni contatto con l'operatore.

Gli esperimenti sono stati condotti applicando il protocollo U_{crit} che prevede una velocità incrementale, a intervalli definiti, fino allo sfinimento fisico dell'animale (Jain et al., 1997). Al fine di standardizzare piccole differenze nella classe di taglia rispetto la velocità del flusso, la velocità è stata misurata in *Bodylengths* per secondo (bl s⁻¹). Partendo da una velocità di acclimatazione di 0.5 bl s⁻¹, il protocollo ha previsto *step* (intervalli) di nuoto di 20 minuti con un incremento della velocità di 0,25 bl s⁻¹ per intervallo. Tra i diversi *step* il livello di ossigeno nel respirometro era ricondotto a livelli di normossia (circa 10mg/l), mettendo in comunicazione per 5 minuti il respirometro con la vasca esterna, durante questo intervallo avveniva un graduale passaggio tra le diverse velocità. Lo sfinimento fisico dell'animale è stato definito come il momento in cui non riuscendo più a contrastare la corrente, il pesce si adagiava sulla griglia di protezione.

Nei pesci, la relazione tra la velocità e MO₂ è di tipo esponenziale fino al raggiungimento di una soglia in cui viene coinvolta la muscolatura assiale anaerobica (poco prima dello sfinimento fisico).

Il consumo di ossigeno (MO₂; mgO₂ kg⁻¹ h⁻¹) è stato calcolato come descritto in letteratura da Lefrançois and Claireaux (2003), secondo la seguente formula:

$$MO_2 = (\Delta O_2 / \Delta T) * (V / m)$$

dove ΔO₂ è il decremento dell'ossigeno dalla condizione iniziale di saturazione e che corrisponde al consumo del pesce, ΔT è l'intervallo di tempo di misurazione, V il volume del respirometro (60 lt.) e m il peso dell'individuo testato. Per ogni individuo, i valori medi di ΔO₂ per intervallo di velocità di nuoto sono stati correlati con il tempo ΔT nella regressione lineare; al fine di accertare la precisione delle misure effettuate, il coefficiente di regressione della relazione lineare (r²) è stato determinato. Per permettere un confronto tra gli individui testati, data la forte relazione tra la massa corporea e il metabolismo, i valori di MO₂ (mgO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) calcolati, sono stati standardizzati per un peso pari a 100 grammi (Lefrançois & Claireaux, 2003):

$$MO_{2cor} = MO_2 \times (m / m_{cor})^{1-A}$$

dove MO_{2cor} ($mgO_2 Kg^{-1} h^{-1}$) è il consumo di ossigeno corretto per il peso corporeo, m_{cor} è un valore costante di 100 grammi e m è il peso del pesce. A è il coefficiente che descrive la relazione tra il tasso metabolico e il peso corporeo, che in molti teleostei è stato calcolato in 0.8 (Schurman & Steffensen, 1994). Il consumo batterico MO_2 è stato misurato al termine di ogni esperimento per 30 minuti e sottratto al consumo registrato (MO_2).

Il tasso metabolico di base (SMR, *Standard metabolic scope*) è stato determinato estrapolando la relazione tra velocità e MO_2 e la velocità, a una velocità nulla (Claireaux et al., 2006). La velocità raggiunta all'esaurimento fisico del pesce corrisponde alla velocità critica (U_{crit} , Hammer, 1995) e il consumo di ossigeno associato corrisponde al tasso metabolico attivo (AMR, *Active metabolic rate*). La capacità metabolica (AMS, *Active metabolic scope*) sarà calcolata come la differenza tra AMR e SMR (Claireaux et al., 2006).

Al termine dell'esperimento i pesci sono stati sedati (*Caryophylli Aetheroleum* olio essenziale, $0.3 ml l^{-1}$) e ne sono state rilevate le biometrie: lunghezza totale (TL) e peso (g). Al termine è stato misurato il consumo di ossigeno batterico per un intervallo di 30 minuti e a una velocità di $30 cm s^{-1}$.

Il coefficiente di variazione ($CV = Deviazione\ standard / media$) è stato calcolato per valutare il grado di variabilità in AMS, SMR e AMR. Le relazioni tra le variabili sono state statisticamente testate mediante regressione lineare, una probabilità inferiore al 5% ($P < 0,05$) è stata presa come limite per la significatività statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.).

8.3 Attività spontanea di nuoto

L'attività spontanea di nuoto è stata misurata in 48 individui, all'interno di una arena circolare (diametro 85cm, profondità 20cm) posizionata all'interno di una vasca di volume pari a $1m^3$. Dopo un periodo di acclimatazione al nuovo ambiente pari a 30 minuti, l'individuo è stato filmato per 60 minuti con una camera (webcam) a 25 frame/s ($640 \times 480 pixels$). L'immagine digitalizzata era direttamente processata da un software di *video-tracking* (LoliTrack 1.1; figura 23), il programma riconosce il profilo del pesce e colloca in automatico un punto cospicuo nel centro di massa del pesce. Questo sistema fornisce una posizione in coordinate cartesiane (X,Y), con una frequenza di 5 Hz (una ogni decimo di secondo).

Al fine di fornire un'immagine con un sufficiente contrasto per il tracciamento automatico da parte del programma, l'individuo è stato filmato dal basso con una camera puntata su uno specchio posto a 45° , rispetto la camera. La luce proveniente dall'alto da lampade a fluorescenza dotate di un diffusore in materiale plastico (Polivex) che diffonde la luce in modo uniforme. Questo sistema, oltre a garantire il miglior funzionamento del sistema di tracciamento, isola completamente il pesce dall'ambiente esterno, privandolo di ogni possibile stimolo che potrebbe influenzare la sua naturale tendenza al nuoto. Gli esperimenti sono

stati condotti a parametri ambientali costanti uguali alle condizioni di stabulazione (21 ± 1 °C e a salinità di $36 \pm 0,5$ ‰).

Il coefficiente di variazione ($CV = \text{deviazione standard} / \text{media}$) è stato calcolato per valutare il grado di variabilità per le variabili che descrivono l'attività spontanea di nuoto.

Le variabili misurate sono state: percentuale di tempo speso nel nuoto (%), distanza totale percorsa nell'unità di tempo (m h^{-1}), velocità media (m s^{-1}) e velocità media cumulativa (m s^{-1}). Le relazioni tra le variabili sono state analizzate statisticamente utilizzando il test di regressione lineare. Una probabilità inferiore al 5% ($P < 0,05$) è stata presa come limite per la significatività statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.).

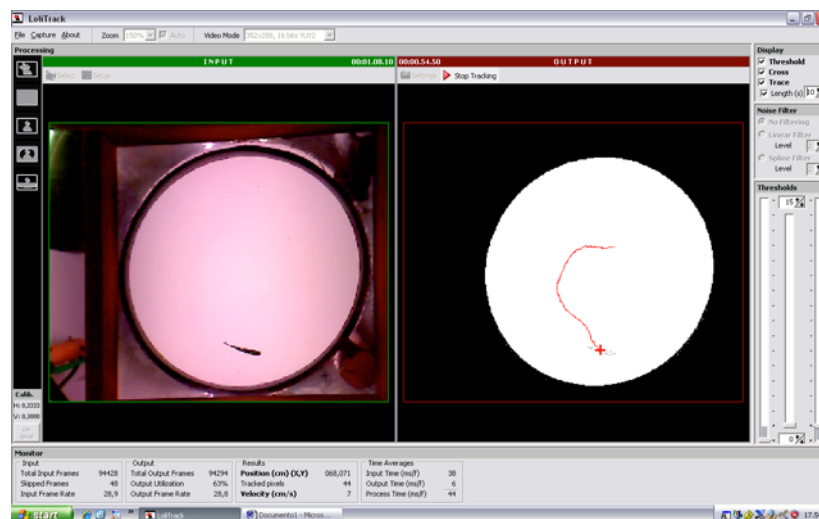


Figura 23: Schermata di out-put del software di video-tracking (LoliTrack 1.1).

8.4 Risposta di fuga

La valutazione della prestazione nella risposta di fuga è stata condotta in un'arena sperimentale circolare (diametro 85cm, profondità 20cm), dotata di un cilindro di plastica posto appena sopra la superficie dell'acqua a una distanza fissa di 30 cm dall'area di foraggiamento. Non appena il pesce veniva a contatto con il cibo (dopo aver abbandonato il rifugio), da un'elettrocalamita veniva rilasciato un corpo sferico (diametro 4 cm, peso 38,5g) che attraversando il tubo colpiva la superficie dell'acqua, generando un'onda pressoria circolare (stimolo meccanico) che simula l'attacco di un predatore (un uccello) (figura 24 a).

La risposta di fuga è stata filmata dal basso con una telecamera ad alta velocità (*Red Lake* - Motion scope) puntata su uno specchio posto a 45° (figura 24 b).

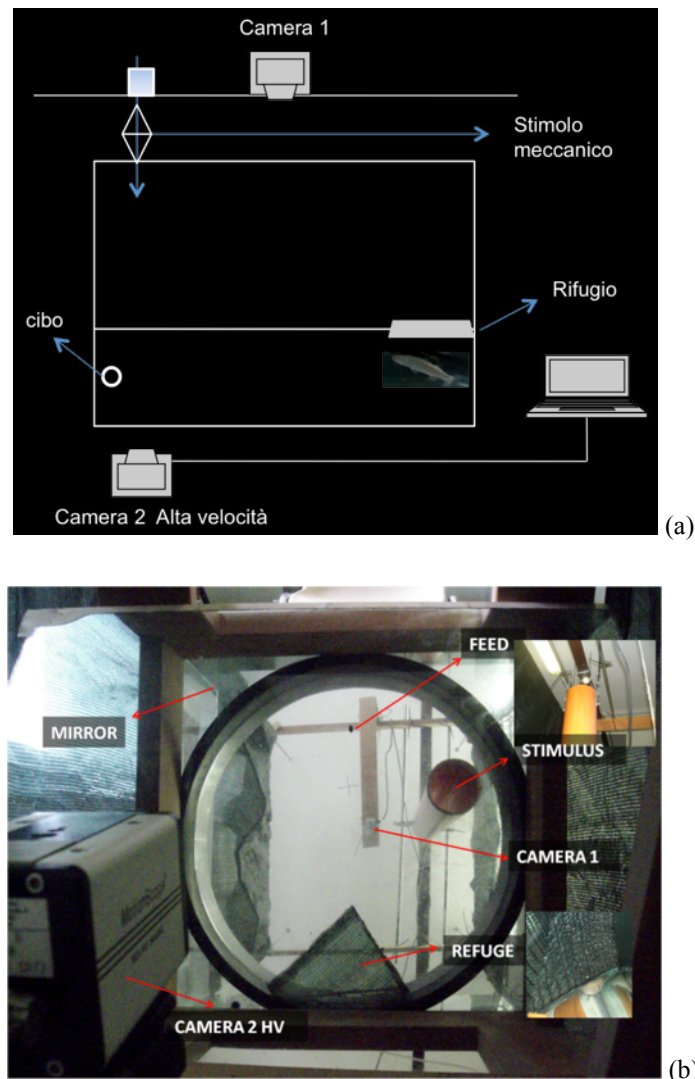


Figura 24: (a) schema della visione trasversale del set-up dell'esperimento; (b) immagine del set-up sperimentale per la risposta di fuga (e test dell'audacia) visto dal basso.

In totale sono state riprese 48 risposte di fuga di altrettanti individui, i filmati sono stati realizzati ad una frequenza di 500 immagini al secondo (frame/s) e analizzati con un apposito programma (WinAnalyze 2.1). Le variabili locomotorie sono state calcolate mediante un sistema con coordinate digitali X , Y prendendo come punti cospicui la punta del muso e il Centro di Massa (CM) del pesce. La posizione di quest'ultimo è stata calcolata in 40% della lunghezza totale del corpo (TL) partendo dalla punta del muso (Lefrançois, et al. 2005).

Sulla base dei filmati prodotti e delle coordinate ottenute dall'analisi digitale, è stato possibile calcolare le variabili locomotorie e comportamentali, che descrivono la prestazione nella risposta di fuga operata da ogni individuo nelle stesse condizioni ambientali ($20 \pm 0,5$ °C e $36 \pm 0,5$ ‰). In accordo con quanto descritto in Domenici et al. 2010, le variabili misurate sono state:

- Reattività (*Responsiveness*): definita come la proporzione di individui che reagiscono ad un tipo di stimolazione rispetto al totale degli individui testati.

- Latenza di Fuga (*Escape Latency*): definita come il tempo che intercorre tra il contatto dello stimolo sulla superficie dell'acqua e il primo movimento di reazione visibile da parte del pesce.
- Direzionalità (*Directionality*): definita come *away* (allontanamento) o *towards* (avvicinamento) rispetto al modello di predatore.
- Velocità (*Distance-time performance*): come la distanza percorsa nell'unità di tempo, rispetto il centro di massa (CM), durante le due fasi della risposta di fuga.
- Velocità angolare di curvature (*Turning rate*): è definita come la velocità angolare del segmento che va dall'apice della testa al centro di massa del pesce (CM).

Il coefficiente di variazione ($CV = \text{deviazione standard} / \text{media}$) è stato calcolato per valutare il grado di variabilità per le variabili che descrivono la prestazione in risposta di fuga.

Le relazioni tra le variabili sono state testate utilizzando il test di regressione lineare, una probabilità inferiore al 5% ($P < 0,05$) è stata presa come limite per la significatività statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.).

8.5 L'audacia

L'esperimento è stato condotto in una vasca circolare (diametro 80 cm, profondità 15 cm) dotata di sistema di filtrazione e termoregolazione a circuito chiuso ($20 \pm 0,5$ °C e $36 \pm 0,5$ ‰), esterno all'arena sperimentale. I pesci sono stati introdotti singolarmente e lasciati in acclimatazione per 17 h.

Ad una delle estremità dell'arena sperimentale è stata posizionata una struttura galleggiante di forma triangolare, che genera un'ombra sottostante. Questa, è generalmente percepita dai Mugilidi come un rifugio sicuro; l'area di foraggiamento è stata posta a una distanza costante di 40 cm (centro vasca). L'esperimento è stato filmato da una camera fissa (webcam 25 frame/sec). Dall'analisi dei filmati è stato possibile misurare: l'intervallo di tempo tra l'inizio dell'esperimento (introduzione del cibo - T_0) e l'abbandono del rifugio (primo evento) da parte del pesce (ΔT_{explo}), l'intervallo tra l'inizio dell'esperimento e il foraggiamento del pesce (ΔT_{feed}), il numero di uscite dal rifugio (n) prima del foraggiamento (Figura 25). Il test di audacia (*Boldness test*) è stato realizzato su un totale di 48 individui.

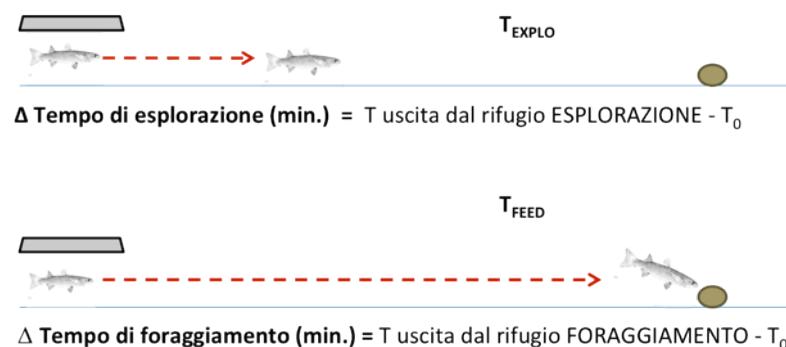


Figura 25: rappresentazione grafica del set-up e delle variabili misurate.

Il coefficiente di variazione ($CV = \text{deviazione standard} / \text{media}$) è stato calcolato per valutare il grado di variabilità per le variabili utilizzate per determinare il grado di audacia.

Le relazioni tra le variabili sono state testate utilizzando la regressione lineare, una probabilità inferiore al 5% ($P < 0,05$) è stata presa come limite per la significatività statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.).

8.6 Lateralizzazione comportamentale

Il grado di lateralizzazione celebrale comportamentale è stato misurato mediante il *Detour test* (Bisazza et al. 1998; Dadda 2010). L'apparato sperimentale usato in questo esperimento è stato descritto in dettaglio da Dadda et al. (2010), consiste in una ampia vasca di forma rettangolare avente dimensioni: lunghezza 100cm, larghezza 50cm, altezza 50cm 15 cm. All'interno un corridoio di corsa a forma di "T" alla fine del quale è posto un ostacolo (perpendicolare al corridoio), che impone al pesce di scegliere se affrontare l'ostacolo svoltando a destra o a sinistra di questo (figura 25). L'acqua ha avuto profondità pari a 11 cm. I pesci sono stati introdotti individualmente nel corridoio di corsa e lasciati in acclimatazione per 2 min (Dadda et al. 2010).

Durante ogni test il pesce è stato gentilmente indirizzato a nuotare lungo al corridoio di corsa e lasciato libero (senza intervento da parte dell'operatore) di scegliere se aggirare la barriera sul lato destro o sinistro. Dieci repliche consecutive sono state eseguite per ogni individuo in un totale di 48 individui.

Al fine di comparare le preferenze dei singoli individui nel *Detour test*, è stato utilizzato l'Indice di Lateralizzazione (L_R), seguendo la formula proposta da Bisazza et al. 1998:

$$[(\text{svolte a destra} - \text{svolte a sinistra}) / (\text{svolte a destra} + \text{svolte a sinistra})] * 100$$

Sulla base dei valori ottenuti nell'indice di lateralità, gli individui sono stati classificati tra due valori estremi di '100' (pesci che hanno voltato tutte le dieci volte verso destra) e '-100' (pesci che hanno voltato tutte le dieci volte verso sinistra).

Basandosi sull'indice L_R è stato calcolato l'indice di lateralizzazione assoluto (L_A) in modo da poter comparare individui con alti o bassi valori nel *Detour* test indipendentemente dalla preferenza specifica per il lato destro o sinistro (Dadda et al. 2010).

I risultati ottenuti sono stati analizzati tramite distribuzione di frequenza e testati statisticamente al fine di accertare il grado di lateralizzazione comportamentale. A livello di popolazione è stato utilizzato il *t*-test sull'indice di lateralizzazione assoluto (L_A). A livello individuale, utilizzando il G-test sull'indice di lateralizzazione relativa (L_R) (Domenici, 2011).

Le correlazione tra le variabili sono state accertate mediante regressione lineare, in cui una probabilità inferiore al 5% ($P < 0,05$) è stata presa come limite per la significatività statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando SigmaPlot V.11 (Systat Software, Inc.).

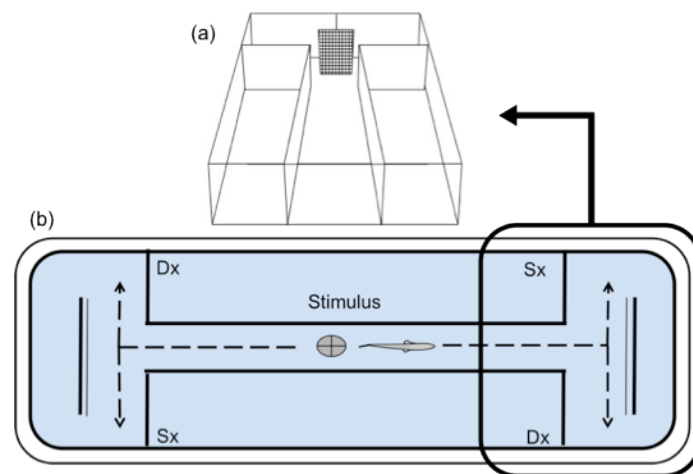


Fig. 25: Schema del set-up sperimentale del *Detour* test: (a) visione in pianta della vasca; (b) ingrandimento prospettico dell'area in cui l'individuo aggira la barriera.

RISULTATI

9.1 Comportamento alimentare

Gli individui di taglia piccola alla temperatura di 10°C spendono mediamente $12,32 \pm 10,67$ minuti (pari a $6,84 \pm 5,93\%$; media $\pm$ deviazione standard) nell'attività di foraggiamento. Questo valore varia tra gli individui in un intervallo di valori compreso tra 45,21 minuti e un minimo di 1,95 minuti, che corrispondono rispettivamente al 25,12% e 1,08%. Alla stessa temperatura gli individui di taglia media spendono mediamente $4,95 \pm 3,81$ minuti ($2,75 \pm 1,81\%$). L'intervallo di valori registrati risulta più piccolo rispetto al precedente con un massimo di 12,71 minuti (7,06%) e un minimo di 1,73 minuti (0,96%) (figura 26).

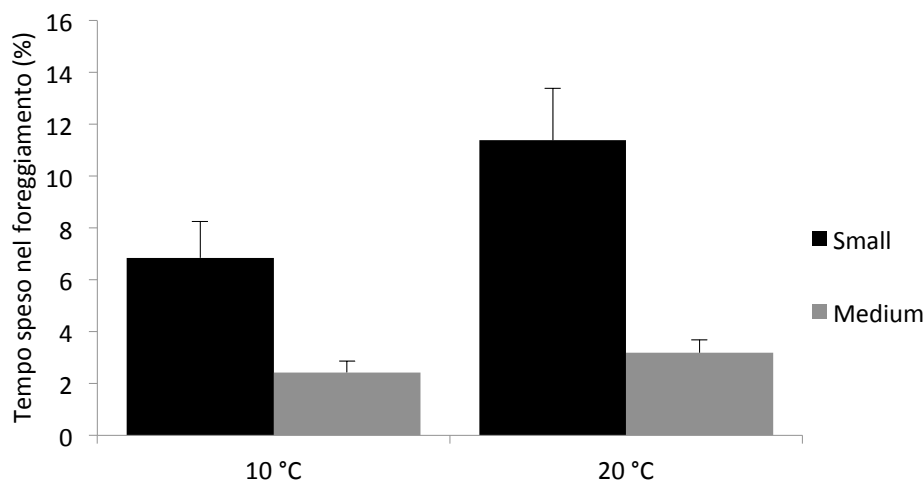


Figura 26: Rappresentazione grafica dei valori medi di tempo speso nel foraggiamento alle due temperature (10°C, 20°C) e alle diverse taglie (piccoli e medi).

Alla temperatura di 20°C, gli individui di taglia piccola spendono mediamente $20,49 \pm 15,22$ minuti ($11,38 \pm 8,45\%$), con una variazione sui tempi individuali di foraggiamento che va da un minimo di 5,98 minuti (3,32% sul totale) a un massimo di 63,52 minuti (35,29% sul totale) (figura 26). Gli individui di taglia media hanno speso mediamente $5,71 \pm 3,80$ minuti ($3,17 \pm 2,11\%$) nel foraggiamento, con un intervallo di valori, più ristretto del precedente, con un massimo di 16,69 minuti (9,27%) e un minimo di 5,98 minuti (0,84%; figura 26).

L'analisi statistica ha evidenziato una differenza significativa nel tempo speso nel foraggiamento tra individui di taglia piccola e media, sia a 10°C (*two-way* ANOVA; $P < 0,05$) che a 20°C (*two-way* ANOVA; $P < 0,001$; tabella 2).

In particolare gli individui di taglia piccola mostrano una differenza significativa nel tempo speso nel foraggiamento alle due differenti temperature (*two-way* ANOVA; $P < 0,05$). Tale differenza non è stata riscontrata in individui di taglia media ($P = 0,814$; tabella 2).

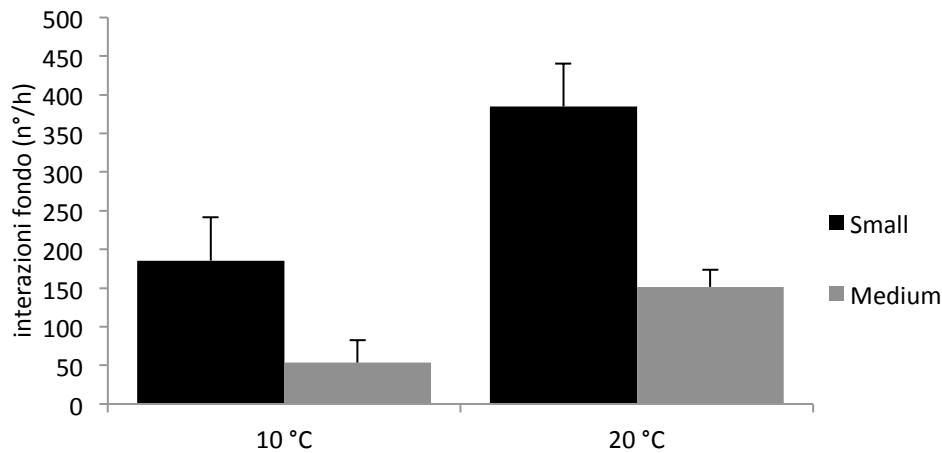


Figura 27: rappresentazione grafica dei valori medi del numero di interazioni (n°/h) con il fondo durante il foraggiamento alle due differenti temperature (10°C, 20 °C) e alle diverse taglie (piccoli e medi).

La frequenza media di foraggiamento (n° interazioni con il fondo in 60 minuti) è stata per gli individui di taglia piccola a 10 °C pari a $185,54 \pm 124,87$, i valori massimi e minimi registrati sono stati rispettivamente di 512,33 e 49. Gli individui di taglia Media alla stessa temperatura (10 °C) hanno mostrato una frequenza media di foraggiamento pari a $53,63 \pm 41,35$, un intervallo di valori più ristretto con un massimo di 162,33 e un minimo di 18,67 interazioni con il fondo (figura 27).

Alla temperatura di 20°C la frequenza media d'interazioni con il fondo è stata di $384,50 \pm 238,12$ per gli individui di taglia piccola e $151,41 \pm 94,04$ per i medi. Gli individui di taglia media alla stessa temperatura (20°C) hanno mostrato un numero di interazioni con il fondo con un massimo di 410,67 e un minimo di 41,33, mentre negli individui di taglia piccola un massimo di 1067 e un minimo di 141,67 (figura 27).

Dall'analisi statistica risulta una differenza significativa tra le classi di taglia (*two-way* ANOVA; $P < 0,001$) e tra le temperature (*two-way* ANOVA; $P < 0,001$), non risulta nessuna interazione significativa tra i due fattori (*two-way* ANOVA; $P = 0,140$; tabella 2).

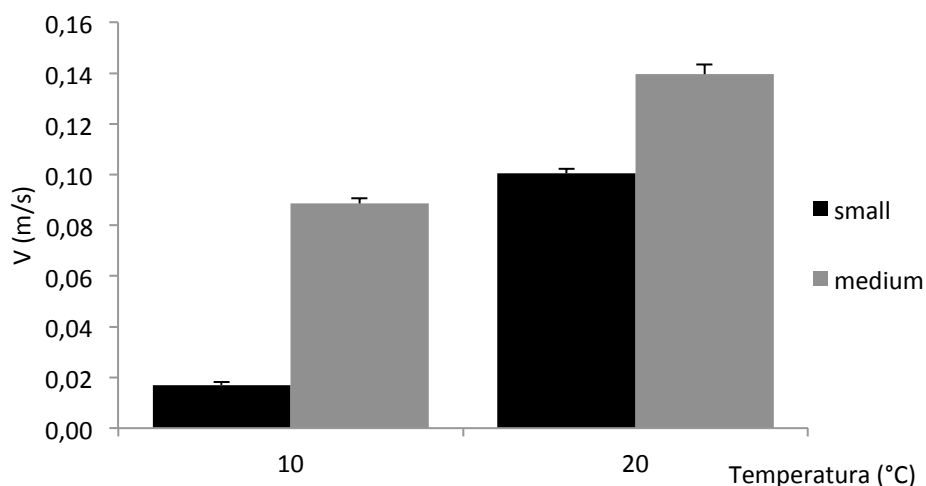


Figura 28: Rappresentazione grafica dei valori medi della velocità calcolata (m/s) durante il foraggiamento alle due differenti temperature (10°C, 20 °C) e alle diverse taglie (piccoli e medi).

La velocità media di foraggiamento a 10°C è stata di $0,088 \pm 0,002 \text{ ms}^{-1}$ per i medi e $0,017 \pm 0,001 \text{ ms}^{-1}$ per i piccoli. A 20°C, la media calcolata è stata di $0,139 \pm 0,003 \text{ ms}^{-1}$ per i medi e $0,1 \pm 0,002$ per i piccoli.

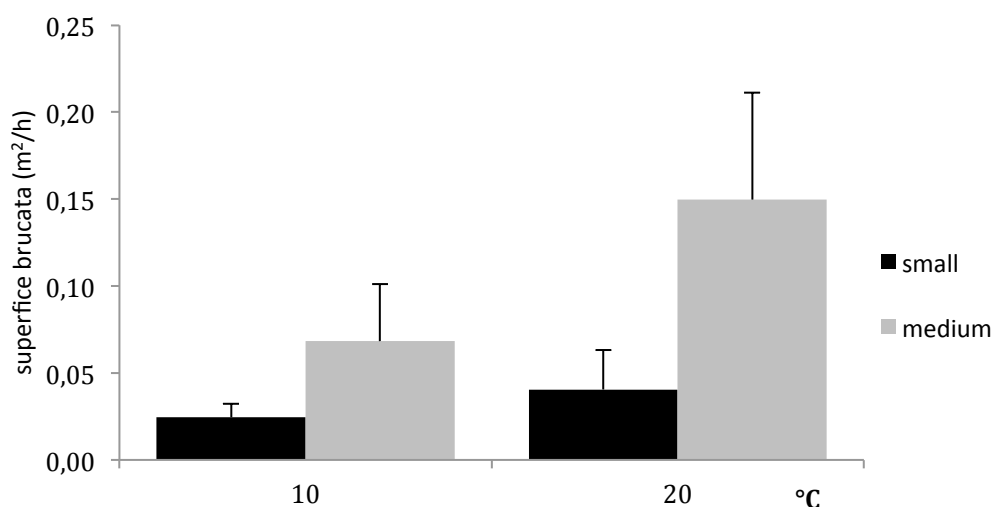


Figura 30: Rappresentazione grafica dei valori medi della superficie di fondo (Biofilm) (m^2/h) durante il foraggiamento alle due differenti temperature (10°C, 20 °C) e alle diverse taglie (piccoli e medi).

La superficie media brucata a 10°C è stata di $0,068 \pm 0,033 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$ per gli individui di taglia media e $0,024 \pm 0,008 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$ per quelli di taglia piccola (figura 30). A 20°C i medi hanno brucato una superficie media pari a $0,149 \pm 0,062 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$, i piccoli $0,040 \pm 0,023 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$ (figura 30).

L'analisi della varianza mostra una differenza significativa tra le temperature rispetto al totale degli individui (10, 20 °C; *two-way* ANOVA; $P < 0,001$). Tuttavia, tale differenza risulta solo negli individui di taglia piccola (*two-way* ANOVA; $P < 0,05$), mentre negli individui di taglia media non risulta significativa (*two-way*

ANOVA; $P=0,114$). Inoltre, non risultano invece differenze significative tra gli individui appartenenti alle diverse classi di taglia alle singole temperature (piccoli e medi; *two-way* ANOVA; $P= 0,942$; tabella 2).

La biomassa algale presente in ogni pannello di Biofilm utilizzato negli esperimenti è stata calcolata attraverso la valutazione della concentrazione di clorofilla ($[Chl]\mu g$) per unità biomassa ($[Chl]\mu g/g$) e di superficie ($[Chl]\mu g/m^2$) e riportata rispettivamente nelle tabelle 3 e 4.

	Piccoli		Medi	
T (°C)	Media ($[Chl]\mu g/g$)	Dv.st	Media ($[Chl]\mu g/g$)	Dv.st
10	45,65	5,98	43,13	15,2
20	69,69	23,81	53,61	10,96

Tabella 3: concentrazione media di clorofilla ($[Chl]\mu g$) per unità di biomassa (g) nel Biofilm utilizzato nelle diverse condizioni sperimentali.

	Piccoli		Medi	
T (°C)	Media ($[Chl]\mu g/m^2$)	Dvst	Media ($[Chl]\mu g/m^2$)	Dvst
10	1307,47	186,4	775,31	221,96
20	1318,02	315,55	1119,4	327,52

Tabella 4: concentrazione media di clorofilla ($[Chl]\mu g$) per unità di superficie (m^2) nel Biofilm utilizzato nelle diverse condizioni sperimentali.

A 10°C gli individui piccoli hanno ingerito $31,379 \pm 0,149 [Chl]\mu g/h$, i medi $52,721 \pm 7,257 [Chl]\mu g/h$; a 20°C i piccoli hanno ingerito $166,790 \pm 20,306 [Chl]\mu g/h$ e i medi $52,721 \pm 7,32 [Chl]\mu g/h$ (tabella 5).

	Piccoli		Medi	
T (°C)	Media ($[Chl]\mu g/h$)	Dvst	Media ($[Chl]\mu g/h$)	Dvst
10	31,37928	0,14912	52,72108	7,32468
20	52,7208	7,25765	166,7906	20,30624

Tabella 5: Biomassa media (espressa in concentrazione di clorofilla; $[Chl]\mu g$) ingerita nell'unità di tempo (h).

L'analisi della varianza, mostra una differenza significativa tra le temperature (10, 20 °C) (*two-way* ANOVA; $P<0,05$) sulla biomassa ingerita. Non risultano, invece differenze significative tra gli individui appartenenti alle diverse classi di taglia (piccoli e medi) (*two-way* ANOVA; $P= 0,552$).

Variabili del comportamento alimentare	Taglia (valore P)	Temperatura (valore P)
Tempo speso nel foraggiamento (%)	P<0,001	P=0,054 (piccoli P<0,05; medi P=0,814)
Frequenza di foraggiamento (n h ⁻¹)	P<0,001	P<0,001
Superficie brucata (m ² h ⁻¹)	P= 0,942	P<0,05 (piccoli P<0,05; medi P=0,114)
Biomassa algale ingerita ([Chl]µg/h)	P=0,552	P<0,05

Tabella 2: tabella riassuntiva dei risultati ottenuti dall'analisi della varianza (*Two-way* ANOVA) delle variabili misurate nel comportamento alimentare.

Il coefficiente di variazione inter-individuale (CV) delle variabili che descrivono il comportamento alimentare mostra una variabilità nel tempo speso nel foraggiamento dei piccoli di 86, 61% a 10°C e 74,28% a 20°C. I medi, invece, hanno un CV di 76,93% a 10°C e 66,57 a 20°C (figura 31, tabella 6).

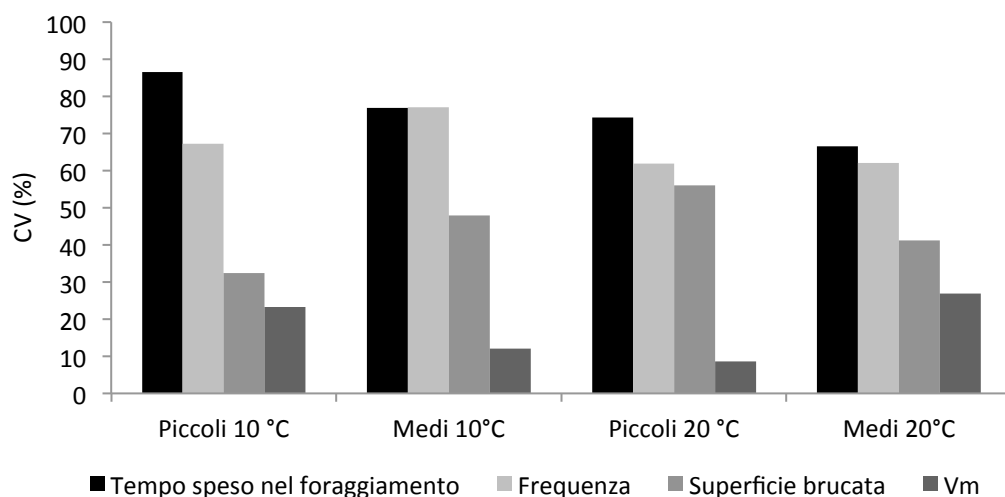


Figure 31: Coefficiente di variazione delle 4 variabili misurate (tempo speso nel foraggiamento, frequenza, superficie brucata e velocità media di foraggiamento) nelle diverse condizioni sperimentali (piccoli, medi, 10°C, 20°C).

Temperatura	10 °C		20 °C	
Taglia	Piccoli	Medi	Piccoli	Medi
Tempo di foraggiamento	86,61	76,93	74,28	66,57
Frequenza	67,30	77,11	61,93	62,11
Superficie brucata	32,43	48,01	55,96	41,17
Velocità media	23,30	12,02	8,68	26,91

Tabella 6: I valori calcolati per il coefficiente di variazione (CV) delle variabili che descrivono il comportamento alimentare, per le due classi di taglia (piccoli e medi) e per le due temperature sperimentali (10°C e 20°C).

9.2 Capacità Metabolica

Nel nuoto aerobico forzato è stato calcolato un valore medio di U_{crit} (velocità massima) di $7,02 \pm 1,53 \text{ bl s}^{-1}$, che corrisponde ad una velocità media di $1,05 \pm 0,22 \text{ m s}^{-1}$. La massima prestazione di nuoto registrata è stata di 11 bls^{-1} (pari a $1,56 \text{ m s}^{-1}$), la minima di 4 bls^{-1} pari a $0,54 \text{ m s}^{-1}$.

Il valore medio del massimo metabolico (AMR) è stato di $692,91 \pm 285,419 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (media $\pm$ deviazione standard; figura 32), l'intervallo dei valori calcolati presenta un massimo di $1577,01 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e un minimo di $256,29 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Per il metabolismo basale (SMR) è stato calcolato un valore medio pari a $109,13 \pm 78,31 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (figura 32). Quindi, la capacità metabolica media calcolata (AMS) è stata pari a $583,78 \pm 257,24 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (figura 32). L'AMS presenta un'ampia variabilità con un massimo di $1164,04 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e un minimo di $173,76 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, questi valori sono stati registrati in individui che hanno espresso prestazioni di nuoto simili e rispettivamente di 8 e 7 bls^{-1} (figura 32).

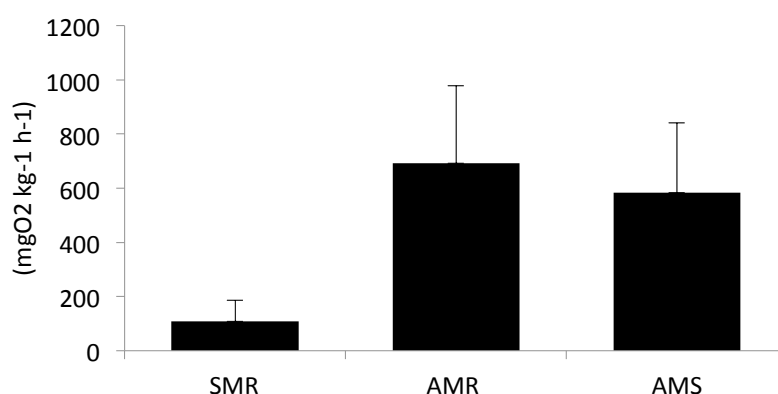


Figura 32: Rappresentazione grafica dei valori medi di metabolismo basale (SMR), massimo metabolico (AMR) e capacità metabolico (AMS).

Risulta una correlazione significativa tra i valori calcolati per l'SMR e l'AMR nella regressione lineare ($P < 0,05$; $R^2 = 0,229$; figura 33).

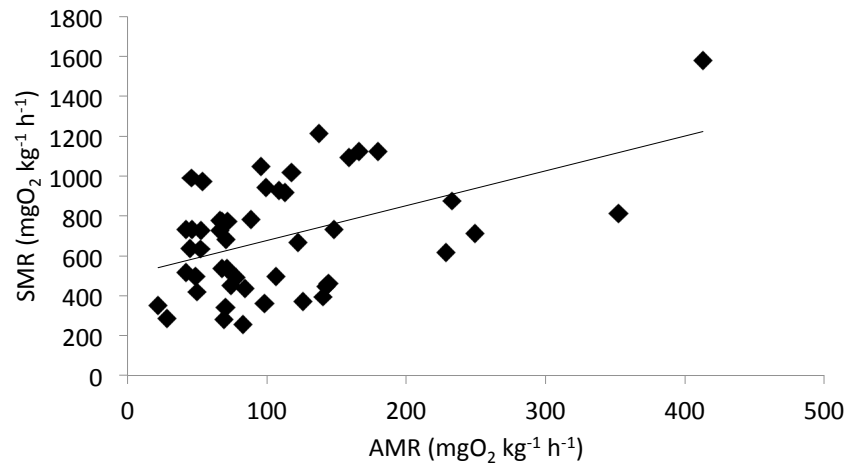


Figura 33: Rappresentazione grafica della correlazione tra i valori calcolati per l'SMR e l'AMR ($R^2 = 0,229$).

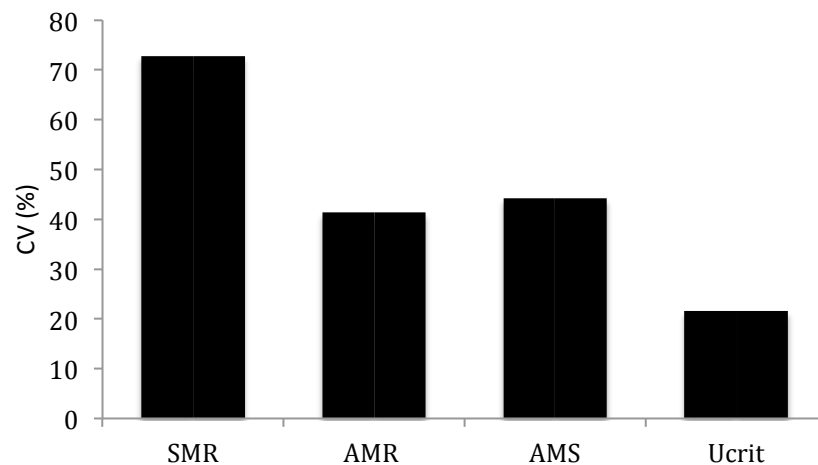


Figura 34: Coefficiente di variazione delle variabili misurate (SMR, AMR, AMS, U_{crit}) nel metabolismo individuale.

La variabilità individuale delle variabili misurate nel metabolismo aerobico dal coefficiente di variazione (CV), risulta del 72,79% per l'SMR, 41,35% nell'AMR, 44,25% nell'AMS. la prestazione di nuoto massima (U_{crit}) ha avuto una variabilità di minore ampiezza, con un valore del 21,53% (figura 34).

9.3 Attività spontanea di nuoto

In generale *L. aurata* tende ad avere un nuoto costante intorno al perimetro circolare della vasca sperimentale, con momenti d'immobilità e occasionali brevi accelerazioni (*burst*) di velocità.

In media, la percentuale di tempo speso nel pascolo è stata di $62,85 \pm 2,78 \%$ (media $\pm$ deviazione standard). La distribuzione di frequenza, di questo parametro, presenta un ampio intervallo di classi di valori (figura 35) con un massimo di 93,90 % e un minimo di 24,62 %. Tale distribuzione mostra un andamento trimodale con tre categorie indentificabili nei seguenti range: 0-50%; 55-70% e 75-95% (figura 35).

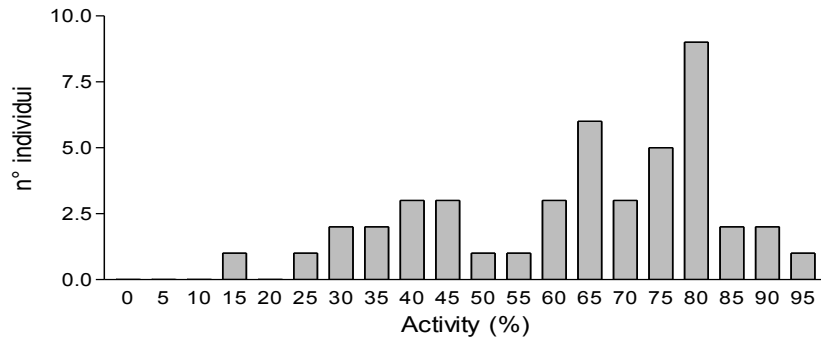


Figura 35: Distribuzione di frequenza delle percentuali di attività individuale, calcolata rispetto il tempo speso nel nuoto.

Tra gli individui testati, la distanza percorsa nell'attività di nuoto spontaneo ha registrato un valore massimo di $1057,33 \text{ m h}^{-1}$ e un minimo di $103,82 \text{ m h}^{-1}$; in media gli individui hanno percorso $350,85 \pm 180,31 \text{ m h}^{-1}$.

La velocità media di pascolo, calcolata in base alla distanza totale percorsa sull'unità di tempo risulta pari a $0,097 \pm 0,050 \text{ ms}^{-1}$ (che corrisponde a $0,651 \pm 0,334 \text{ Bls}^{-1}$) con un massimo di $0,294 \text{ ms}^{-1}$ ($1,960 \text{ Bls}^{-1}$) e un minimo di $0,029 \text{ ms}^{-1}$ ($0,192 \text{ Bls}^{-1}$). Non tutti gli individui hanno nuotato per tutta la durata degli esperimenti (figura 36), la velocità media cumulativa è stata quindi calcolata sulla base alla velocità registrata dal sistema di tracciamento video solo durante la locomozione. Questa ha dato valori relativamente maggiori, rispetto la velocità media) con una media di $0,14 \pm 0,04 \text{ ms}^{-1}$ ($0,967 \pm 0,256 \text{ Bls}^{-1}$), un massimo di $0,313 \pm 0,192 \text{ ms}^{-1}$ ($2,090 \pm 1,282 \text{ Bls}^{-1}$) e un minimo di $0,107 \pm 0,020 \text{ ms}^{-1}$ ($0,714 \pm 0,134 \text{ Bls}^{-1}$).

Dalla distribuzione di frequenza, è possibile osservare che, fatta eccezione per alcuni individui per i quali sono stati registrati valori estremi, la quasi totalità della popolazione ha una velocità media di pascolo compresa in un ristretto intervallo di classi di valori, compreso tra $0,120$ e $0,160 \text{ ms}^{-1}$ (figura 36).

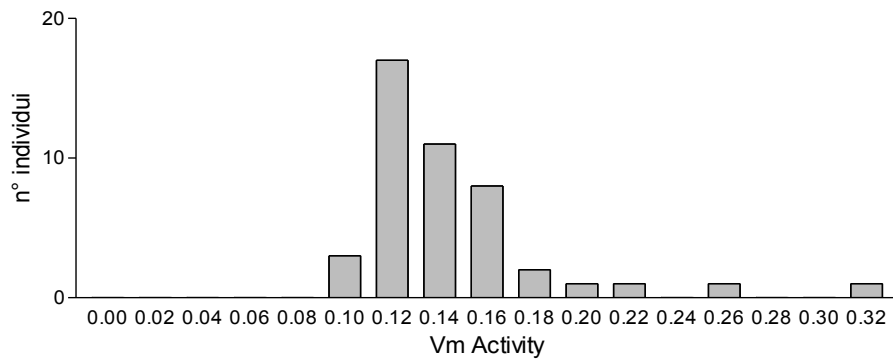


Figura 36: Distribuzione di frequenza delle velocità medie individuali registrata durante l'intero esperimento (60 minuti).

Come evidenziato in figura 37, la velocità media individuale e la distanza percorsa (in 60 minuti) risultano significativamente correlate alla regressione lineare ($P < 0,001$; $R^2 = 0,795$).

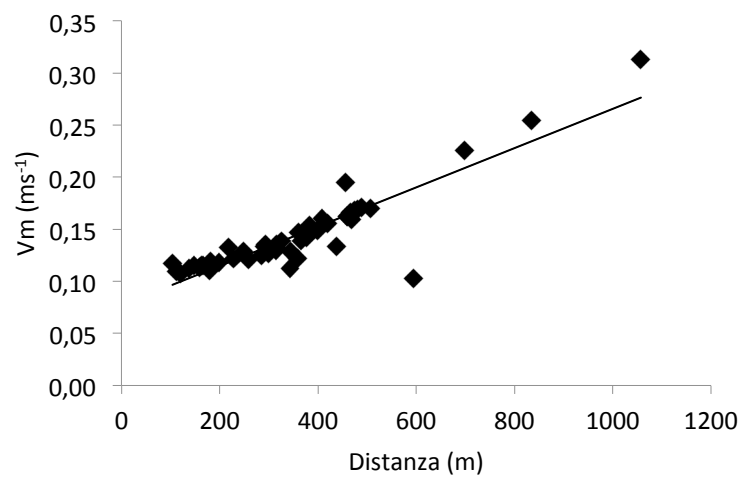


Figura 37: Rappresentazione grafica della Correlazione esistente tra la distanza totale percorsa (m) e la velocità media individuale (ms⁻¹) ($R^2 = 0,795$).

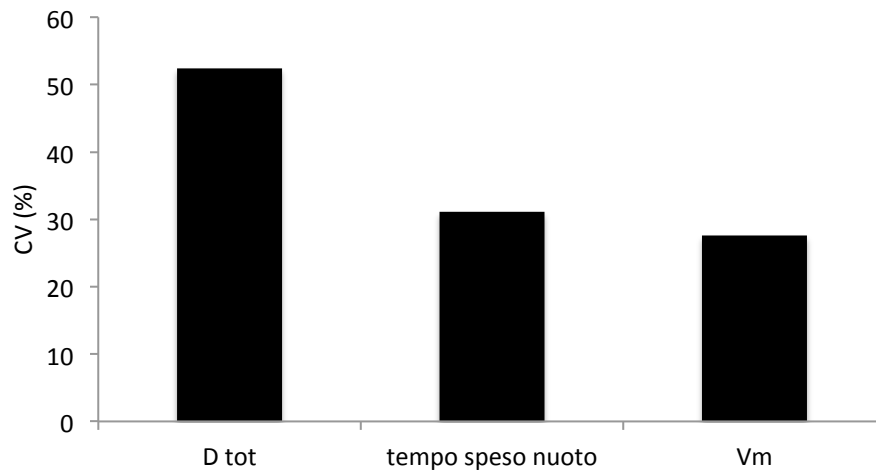


Figura 38: Coefficiente di variazione delle 3 variabili misurate (distanza totale percorsa, tempo speso nel nuoto e velocità media di nuoto) nelle diverse condizioni sperimentali.

La variabilità individuale calcolata, nei parametri misurati nell'attività spontanea di nuoto, dal coefficiente di variazione CV risulta del 52,38% per la distanza totale percorsa, 31,10% nella proporzione di tempo speso nel nuoto e 27,63% nella velocità media di nuoto (figura 38).

9.4 Risposta di fuga

Su un totale di 48 individui testati solo un pesce non ha risposto alla stimolazione meccanica, per una capacità di risposta (*Responsivness*) del 91,67%. La direzionalità osservata è stata di 63,64% risposte che si dirigono lontano dallo stimolo (*away*, figura 39 a) e il restante 36, 36% che si è diretto verso di esso (*towards*, figura 39 b).

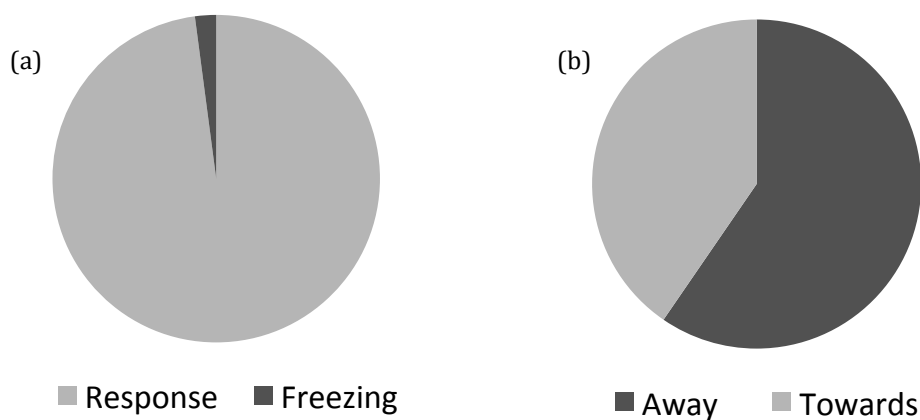


Figura 39: rappresentazione grafica della: (a) percentuale di individui che hanno risposto alla stimolazione meccanica con una risposta di fuga (*Response*); (b) percentuale di individui che, durante la risposta di fuga, si dirigono verso (*towards*) e lontano (*away*) dallo stimolo somministrato ($n=48$).

La latenza media di fuga è stata di $85,52 \pm 179,51$ ms. In questo parametro, in base a: l'elevata variabilità del dato, alle categorie evidenziate nella distribuzione di frequenza (figura 40) e secondo quanto descritto da Domenici (2011,b), gli individui sono stati suddivisi in due categorie a seconda della latenza di fuga registrata. Queste sono: individui con "Risposte Veloci" (0-50 ms; RV) e individui con "Risposte lente" (>50 ms; RL).

Nelle risposte veloci (RV), la latenza media di fuga è stata di $22,78 \pm 10,03$ ms, con un massimo di 48 ms e un minimo di 8 ms, nelle risposte lente (RL) è stata di $284,73 \pm 295,45$ ms, con un massimo di 840 ms e un minimo di 52 ms.

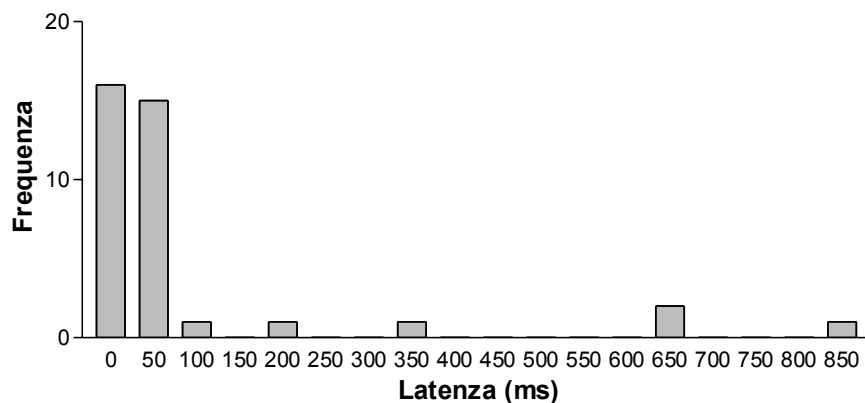


Figura 40: Distribuzione di frequenza della latenza di fuga (ms) negli individui che hanno risposta allo stimolo con una risposta di fuga ($n=47$).

I valori medi di *turning rate* e *turning rate massimo* sono stati, sul totale degli individui testati, rispettivamente di $2218,08 \pm 1012,25$ deg. s^{-1} e $3153,34 \pm 1337,12$ deg. s^{-1} . Nei gruppi d'individui RV e RL sono stati rispettivamente di $2546,51 \pm 973,33$ deg. s^{-1} e $1431,07 \pm 846,03$ deg. s^{-1} (figura 41). Tra i gruppi d'individui RV e RL, risulta una differenza significativa (unpaired *t*-test; $P < 0,05$).

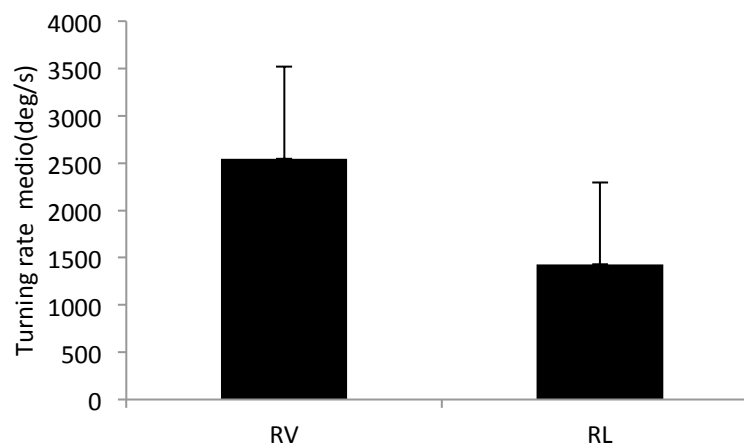


Figura 41: Valore medio del *turning rate* (deg s^{-1}) in individui con latenze brevi (<50 ms - RV) e in individui con latenze maggiori (>50ms - RL $n=36$) e in individui con latenze maggiori (>50ms - RL; $n=11$).

I valori medi di *turning rate massimo* calcolati nei gruppi RV e RL sono stati rispettivamente di $3609,86 \pm 1210,25 \text{ deg. s}^{-1}$ e $2321 \pm 1232,76 \text{ deg. s}^{-1}$ (figura 43). Risulta una differenza significativa (*unpaired t-test*; $P < 0,05$) tra i due gruppi.

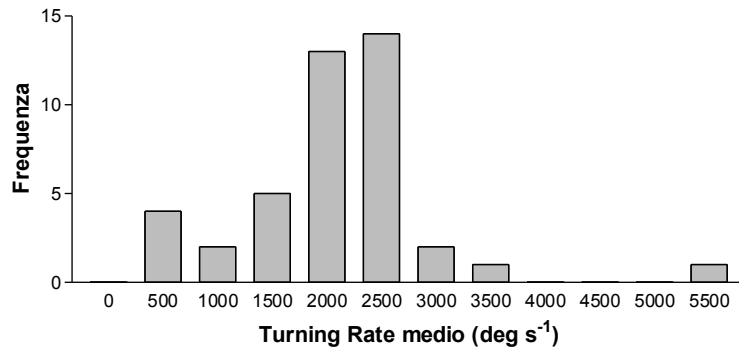


Figura 42: Distribuzione di frequenza del *turning rate* medio (deg s^{-1}) negli individui che hanno risposto allo stimolo con un risposta di fuga ($n=47$).

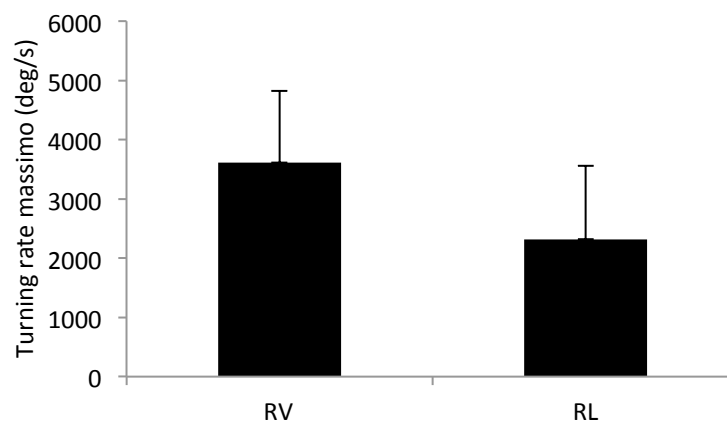


Figura 43: Valore medio del *turning rate massimo* (deg s^{-1}) in individui con latenze brevi ($< 50 \text{ ms}$ - RV; $n=36$) e in individui con latenze maggiori ($> 50 \text{ ms}$ - RL; $n=11$).

La velocità media della risposta di fuga (V_m) è stata di $0,64 \pm 0,37 \text{ ms}^{-1}$. Nei gruppi d'individui RV e RL è risultata rispettivamente di $0,75 \pm 0,36 \text{ ms}^{-1}$ e $0,41 \pm 0,27 \text{ ms}^{-1}$ (figura 44). Risulta una differenza significativa (*unpaired t-test*; $P < 0,05$ figura JJ) tra i due gruppi (RV, RL) all'analisi statistica.

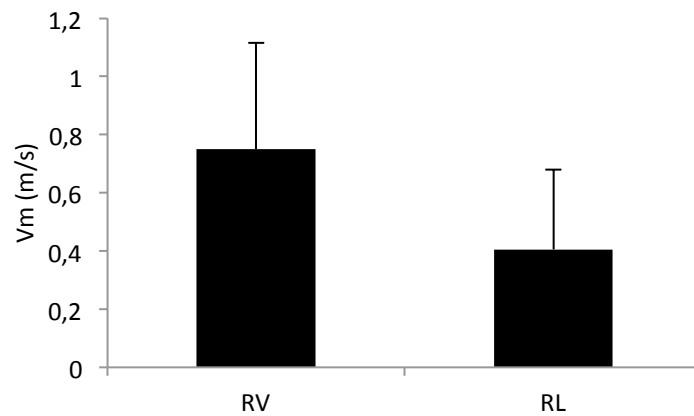


Figura 44: Velocità media durante la risposta di fuga (V_m ; m/s) in individui con latenze brevi (<50 ms - RV; $n=36$) e in individui con latenze maggiori (>50ms - RL; $n=11$).

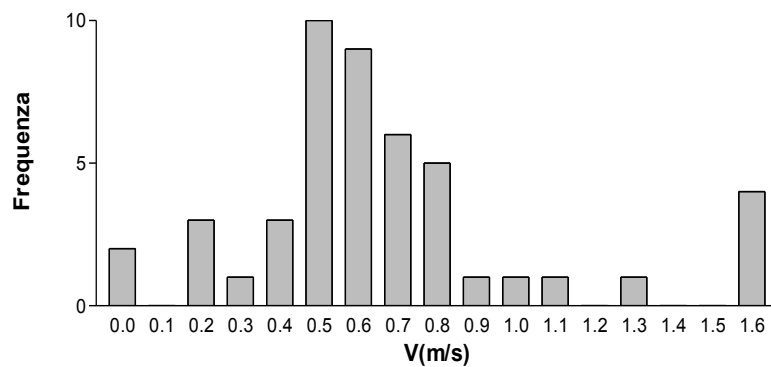


Figura 45: Distribuzione della velocità media ($m\ s^{-1}$) negli individui che hanno risposto allo stimolo con un risposta di fuga ($n=47$).

Il tempo medio totale (T_{tot}) speso per eseguire la risposta di fuga è stato di $59,06 \pm 19,26$ ms. Gli individui RV hanno impiegato $53,17 \pm 12,81$ ms e i RL $78,36 \pm 24,46$ ms, tra i due gruppi risulta una differenza significativa all'analisi statistica (*unpaired t-test*; $P < 0,001$ figura 46).

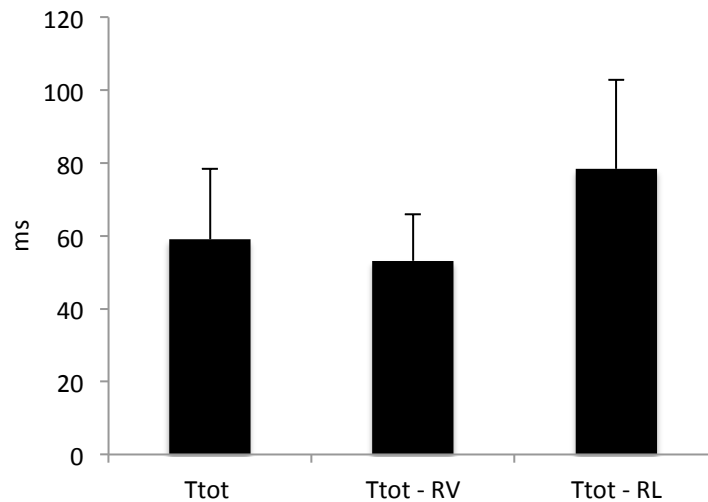


Figura 46: Valori medi del tempo totale per eseguire la risposta di fuga (Ttot) (ms); in individui con latenze brevi (Ttot - RV; $n=36$) e in individui con latenze maggiori (Ttot RL - RL; $n=11$).

La variabilità individuale misurata nel coefficiente di variazione CV è stata misurata per le variabili locomotorie e comportamentali che descrivono le prestazioni di fuga analizzate ($n=47$) e per gli individui con risposta di fuga RV ($n=36$) e RL ($n=11$). Sul totale degli individui i valori calcolati sono 209,90% per la latenza di fuga, 45,64% per il *turning rate*, 42,40% per il *turning rate* massimo, 32,38% per l'intervallo di tempo in cui viene eseguita la risposta e 58,31% per la velocità media in cui viene effettuata la risposta (figura 47).

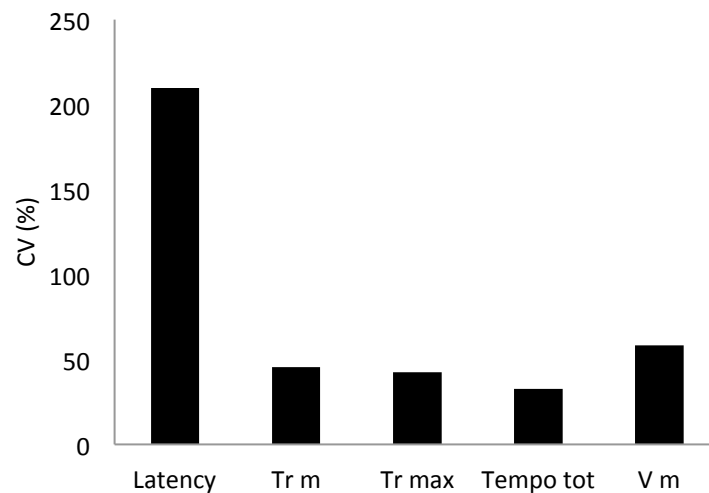


Figure 47: Coefficiente di variazione delle variabili misurate (Latenza di fuga, turning rate medio, turning rate massimo, tempo tot di fuga, e velocità media espressa nella risposta di fuga) nella prestazione di fuga di tutti gli individui ($n=48$).

Negli individui RV i valori calcolati sono stati: 44,04% per la latenza di fuga, 38,22% per il *turning rate*, 33,53% per il *turning rate* massimo, 24,08% per l'intervallo di tempo in cui viene eseguita la risposta e

48,59% per la velocità media in cui viene effettuata la risposta (figura 48). Invece per gli individui RL i valori calcolati sono stati: 103,77% per la latenza di fuga, 60,38% per il *turning rate*, 53,11% per il *turning rate massimo*, 31,21% per l'intervallo di tempo in cui viene eseguita la risposta e 67,70% per la velocità media in cui viene effettuata la risposta (figura 48).

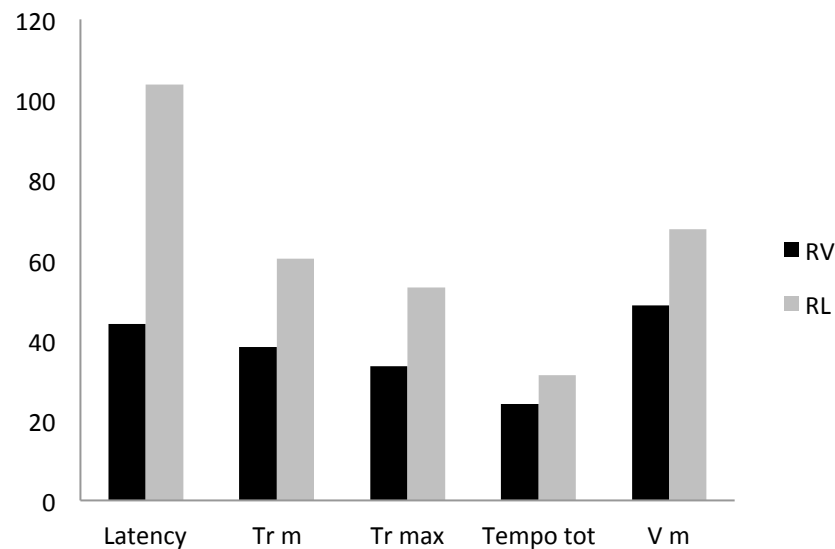


Figura 48: Coefficiente di variazione delle variabili misurate (Latenza di fuga, *turning rate* medio, *turning rate* massimo, tempo tot di fuga, e velocità media espressa nella risposta di fuga) nella prestazione di fuga individuale in individui con risposta di fuga veloce (RV; n=36) e individui a risposta di fuga lenta (RL; n= 11).

9.5 L'audacia

I risultati registrati nel test di audacia (*Boldness test*) presentano un ampio spettro di valori, rispetto il totale degli individui testati (n=48), l'intervallo che precede la fuoriuscita dal rifugio (ΔT_{explo}) e l'intervallo di tempo prima del foraggiamento (ΔT_{feed}) sono significativamente correlati tra di loro alla regressione lineare ($P < 0,05$) (figura 51).

A livello di popolazione i valori medi calcolati sono $18,31 \pm 4,34$ minuti (media $\pm$ deviazione standard) per la prima uscita dal rifugio (ΔT_{explo}) e $59,36 \pm 7,60$ min. prima del foraggiamento (ΔT_{feed}).

Come evidenziato dalla distribuzione di frequenza, solo pochi individui hanno foraggiato direttamente (senza esplorazione) o dopo una sola esplorazione dell'ambiente circostante, mostrando percentuali molto basse e rispettivamente di 4,19% e 8,31%, la maggior parte hanno effettuato in media $5,09 \pm 6,31$ uscite dal rifugio prima di abbassare la soglia di vigilanza e foraggiare (figure 52 e 53).

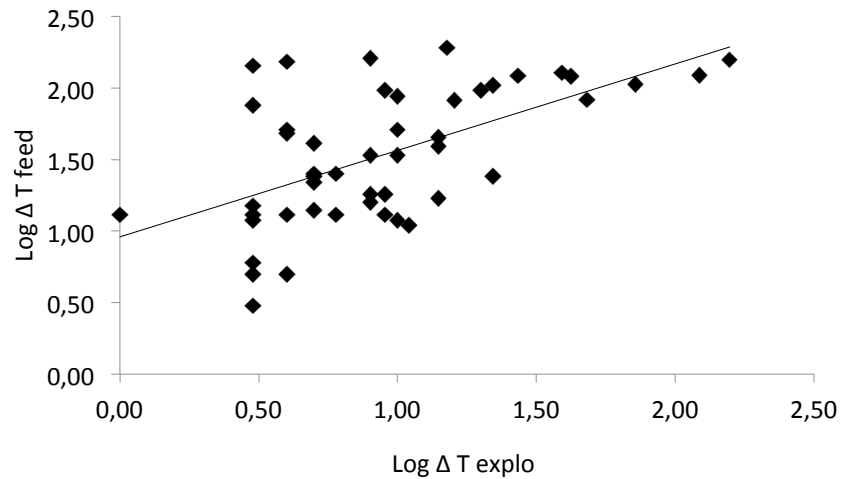


Figura 51: rappresentazione grafica della correlazione tra le variabili misurate per la valutazione dell'audacia individuale: intervallo di tempo prima di andare a mangiare (ΔT_{feed}), intervallo di tempo prima della fuoriuscita dal rifugio (ΔT_{explo} ; $R^2=0,337$).

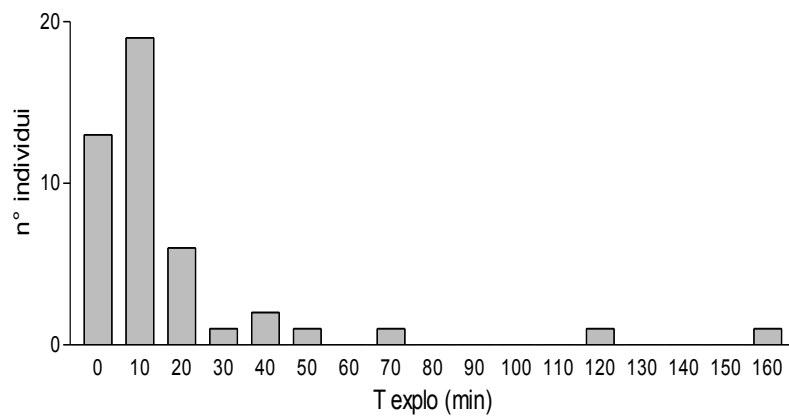


Figura 52: distribuzione di frequenza degli intervalli di tempo di esplorazione (ΔT_{explo}) negli individui testati ($n=48$).

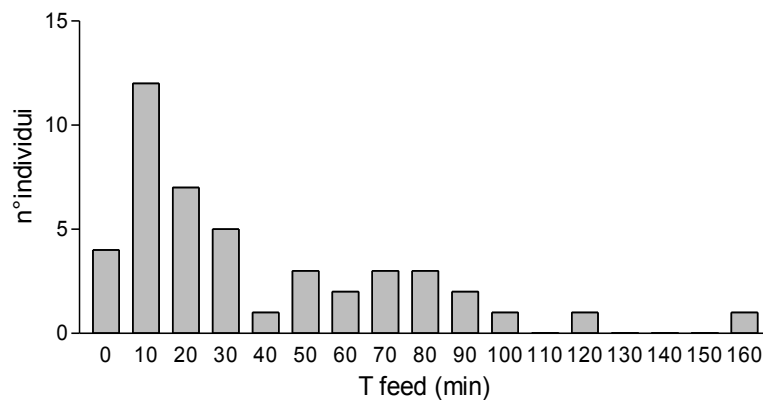


Figura 53: distribuzione di frequenza degli intervalli di tempo di foraggiamento (ΔT_{feed}) negli individui testati ($n=48$).

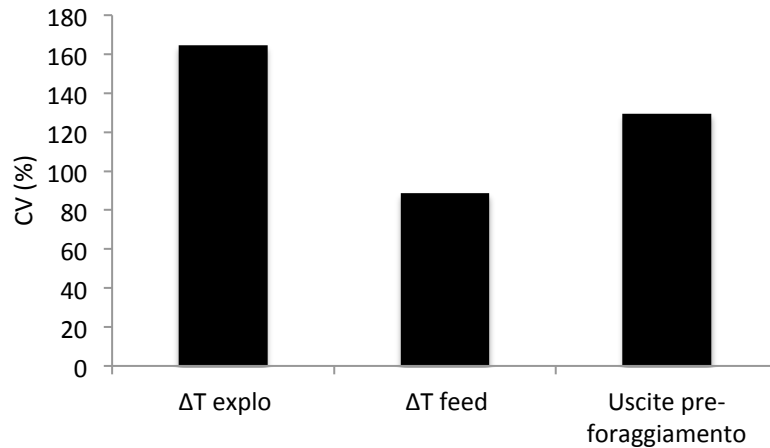


Figura 54: coefficiente di variazione delle variabili misurate (ΔT_{explo} , ΔT_{feed} , numero di uscite dal rifugio prima del foraggiamento) nel test di audacia individuale.

La variabilità individuale misurata nel coefficiente di variazione CV, nelle variabili misurate nel test di audacia, sono state di 164,53% per ΔT_{explo} , 88,70% per ΔT_{feed} e del 129,53% sul numero di uscite dal rifugio prima del foraggiamento. (figura 54)

9.6 Lateralizzazione comportamentale

A livello di popolazione, dall'analisi statistica dell'indice di lateralità assoluta (L_A) (che non considera la preferenza per la destra o la sinistra dei singoli individui), risulta una lateralizzazione comportamentale significativa (*one sample t-test*: $t_{47} = 8,8$; $P < 0,001$; $n=48$) sul totale degli individui testati. Il 37,50% degli individui ha una lateralizzazione assoluta, pari o maggiore di 60 (figura 49).

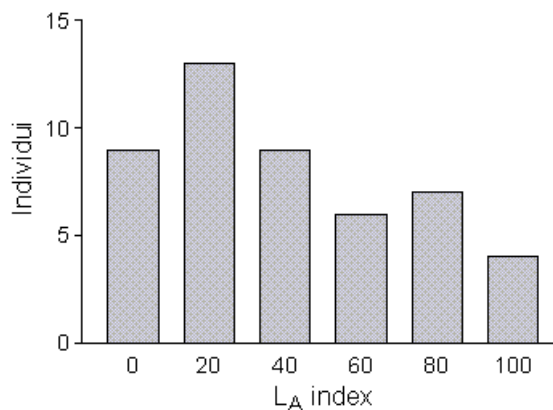


Figura 49: Distribuzione di frequenza dell'indice di Lateralizzazione assoluta (L_A) ($n=48$), i valori espressi sono in percentuale.

I risultati ottenuti dal calcolo dell'indice di lateralità relativa (L_R) mostra una distribuzione dei dati normale (*Kolmogorov - Smirnov distribution* = 0,115, $p=0,109$, $n=48$, figura 50). A livello individuale, comparando L_R con una distribuzione casuale (binomiale) teorica (Zar, 1984) basata sul 50% di probabilità che l'individuo giri a destra o a sinistra, risulta una differenza significativa (*G-tets*; $G = 58,76$; $P<0,0001$).

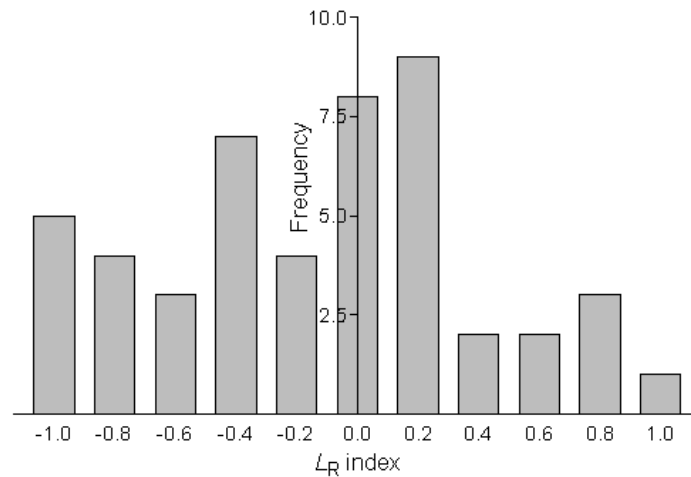


Figura 50: Distribuzione di frequenza dell'indice di Lateralizzazione relativa (L_R) negli individui testati ($n=48$); i valori negativi sono riferiti agli individui che mostrano preferenze per il lato sinistro e i positivi per il destro.

9.7 Correlazione tra diversi tratti misurati

9.7.1 Attività spontanea di nuoto e Risposta di fuga

L'attività spontanea di nuoto misurata con la distanza totale percorsa ($m\ h^{-1}$) (D_{tot}) risulta significativamente correlata, nella regressione lineare, con variabili che appartengono alla componente locomotoria e non della risposta di fuga. In particolare, è significativamente correlata con la latenza di fuga ($P<0,05$; $R^2= 0,085$; figura 55) e il *turning rate* medio ($P<0,05$; $R^2= 0,188$; figura 56).

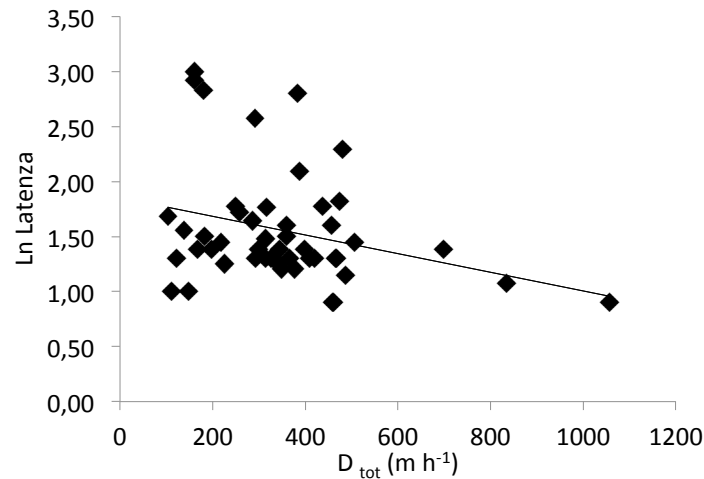


Figura 55: rappresentazione grafica della relazione tra il logaritmo naturale della latenza di fuga (risposta di fuga) e la distanza totale percorsa (attività) negli individui testati ($n=47$; $R^2=0,085$).

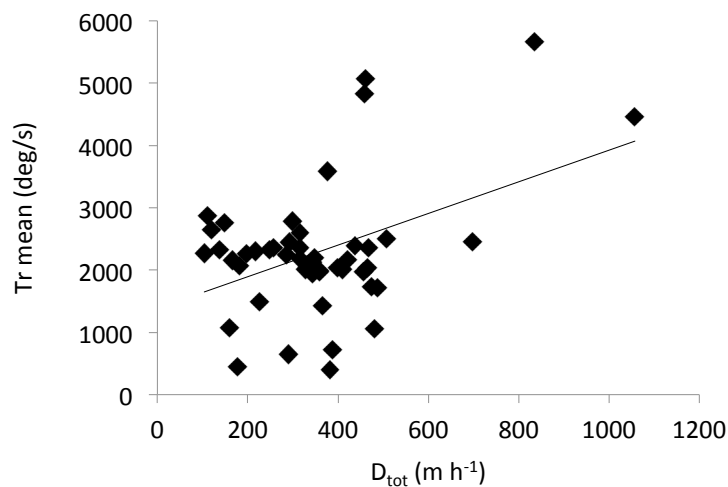


Figura 56: rappresentazione grafica della relazione tra il *turning rate* massimo (deg/s) (risposta di fuga) e la distanza totale percorsa (attività) negli individui testati ($n=47$) ($R^2=0,188$).

Risulta, inoltre, una correlazione positiva significativa tra la velocità media espressa durante l'attività spontanea di nuoto (V_m) e tre variabili della componente locomotoria della risposta di fuga, che sono: la velocità media espressa durante la risposta di fuga (V_m ; $P<0,05$; $R^2=0,188$; figura 57), i valori di *turning rate* medio ($P<0,05$; $R^2=0,165$; figura 58) e *turning rate* massimo ($P<0,05$; $R^2=0,173$; figura 59).

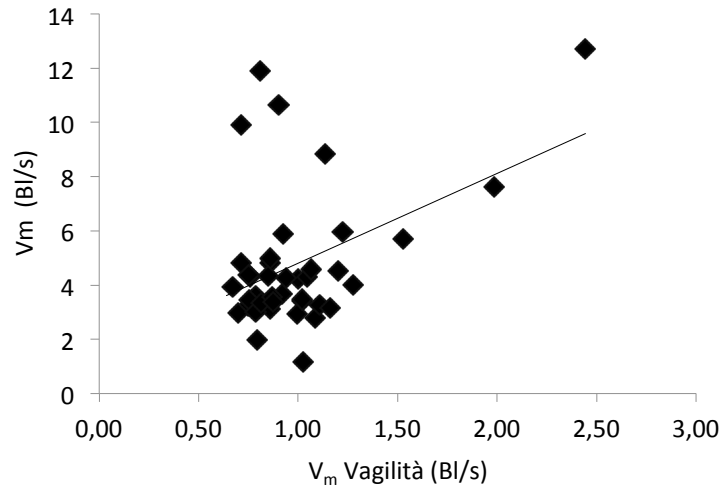


Figura 57: rappresentazione grafica della relazione tra velocità media durante la prestazione di fuga (m/s) e la velocità media di pascolo (Bl/s; attività spontanea di nuoto) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,188$).

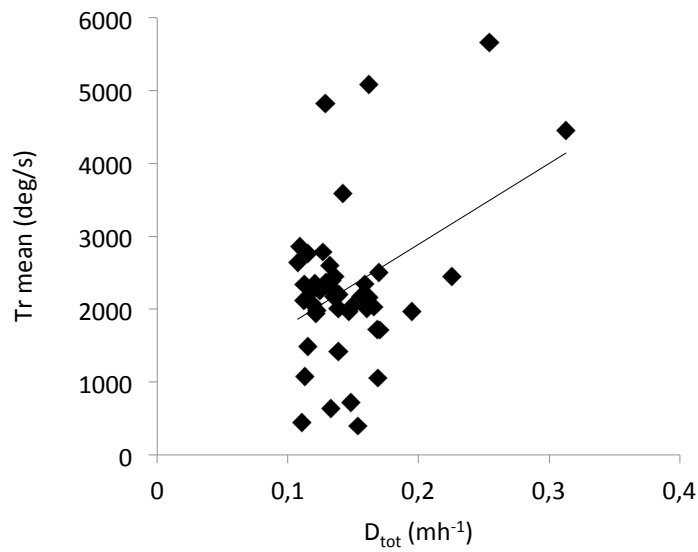


Figura 58: rappresentazione grafica della relazione tra il *turning rate* medio (deg/s) (risposta di fuga) e la velocità media di pascolo (Bl/s; attività) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,165$).

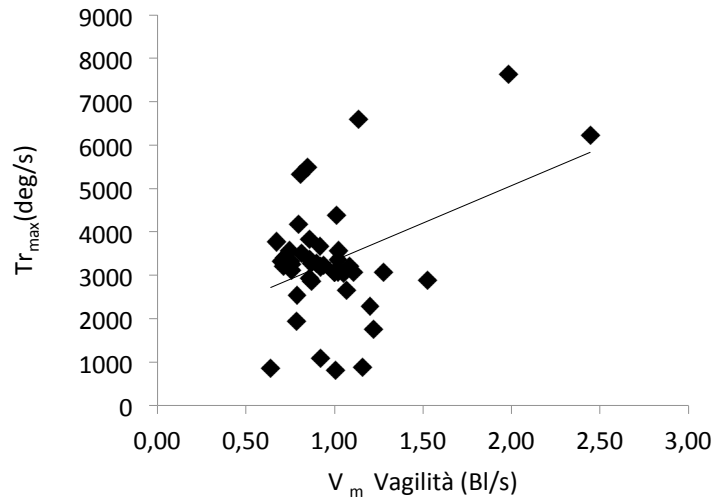


Figura 59: rappresentazione grafica della relazione tra il *turning rate* massimo (deg/s) (risposta di fuga) e la velocità media di pascolo (Bl/s; attività) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,173$).

9.7.2 Lateralizzazione comportamentale e Audacia

L'indice di lateralizzazione comportamentale assoluto (L_A) risulta significativamente correlato, nella regressione lineare, all'audacia individuale, espressa sia nell'intervallo di tempo prima del foraggiamento (ΔT_{feed}) ($P<0,05$; $R^2=0,811$; figura 60) sia nell'intervallo di tempo di esplorazione (ΔT_{explo}) ($P<0,05$; $R^2=0,170$; figura 61).

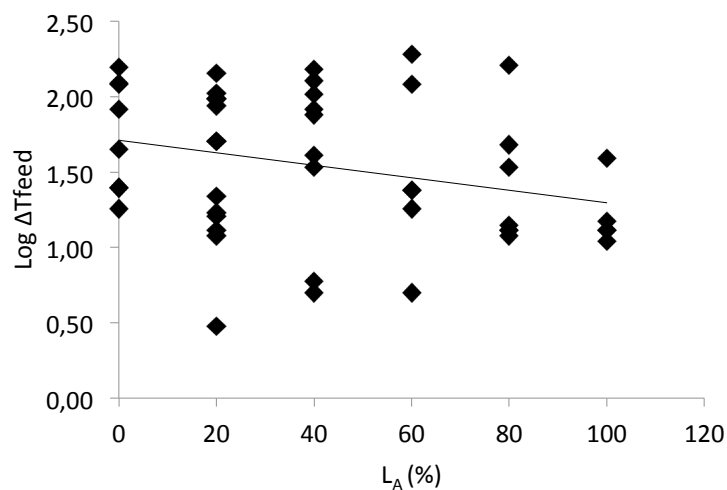


Figura 60: rappresentazione grafica della relazione tra il logaritmo naturale dell'intervallo di tempo di foraggiamento (ΔT_{feed}) e il grado di lateralizzazione cerebrale (L_R) negli individui testati ($n=48$) ($R^2=0,811$).

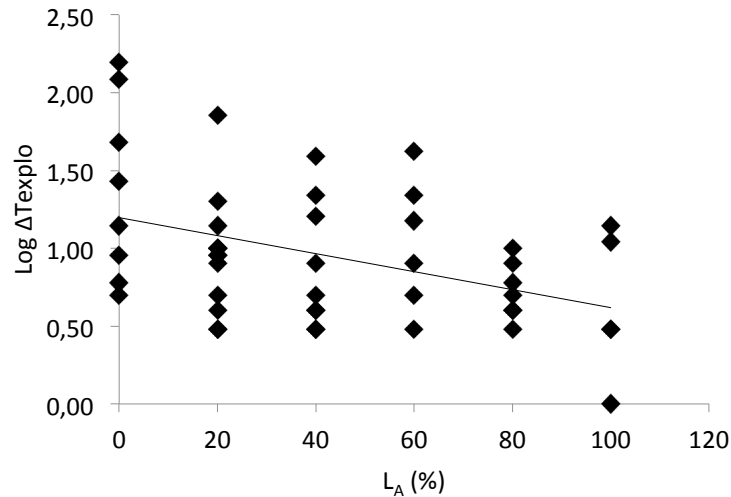


Figura 61: rappresentazione grafica della relazione tra il logaritmo naturale dell'intervallo di tempo di esplorazione (ΔT_{explor}) e il grado di lateralizzazione cerebrale (L_R) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,170$).

9.7.3 Lateralizzazione comportamentale e Risposta di fuga

L'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) non risulta significativamente correlato, nella regressione lineare, alle variabili che descrivono la risposta di fuga dal predatore, in particolare con: latenza di fuga ($P > 0,05$; $R^2=0,0032$; figura 62), *turning rate* medio ($P > 0,05$; $R^2=0,0231$; figura 63), *turning rate* massimo ($R^2=0,0323$; $P > 0,05$; figura 64) e la velocità media ($R^2=0,063$; $P > 0,05$; figura 65).

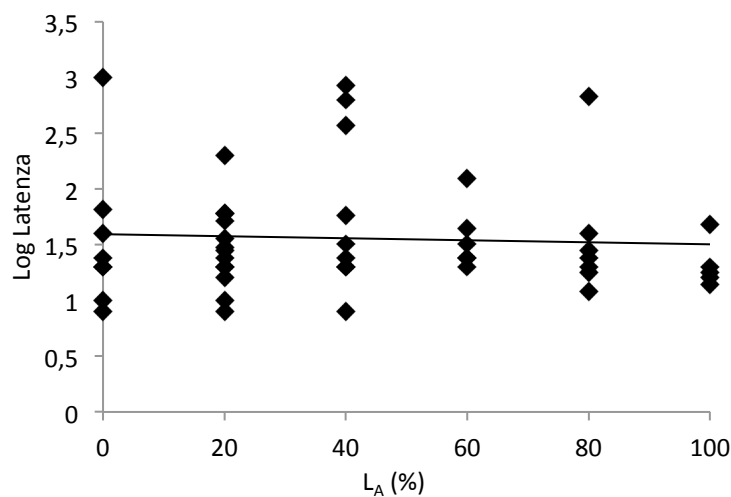


Figura 62: rappresentazione grafica della relazione tra la latenza di fuga nella risposta di fuga e l'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,0032$).

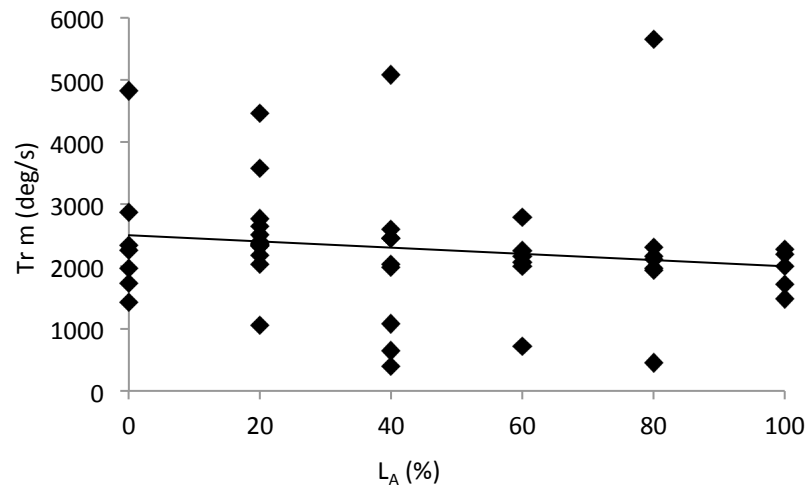


Figura 63: rappresentazione grafica della relazione tra il *turning rate medio* della risposta di fuga e l'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,0231$).

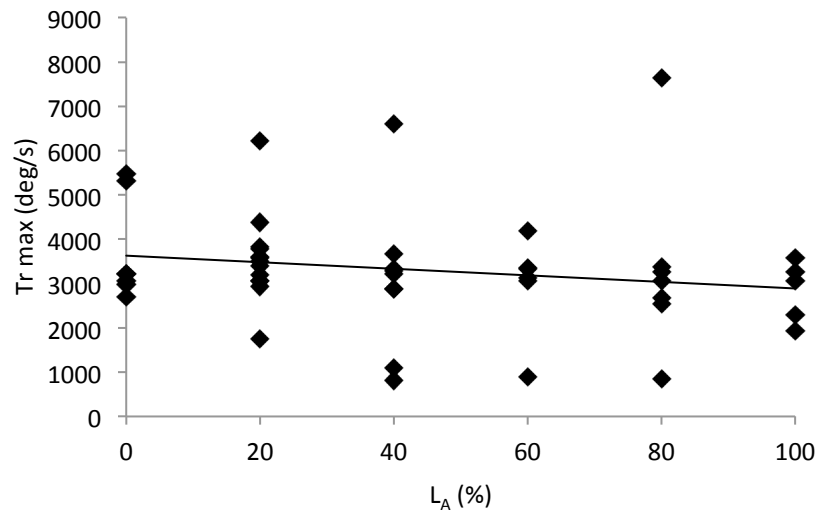


Figura 64: rappresentazione grafica della relazione tra il *turning rate massimo* della risposta di fuga e l'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,032$).

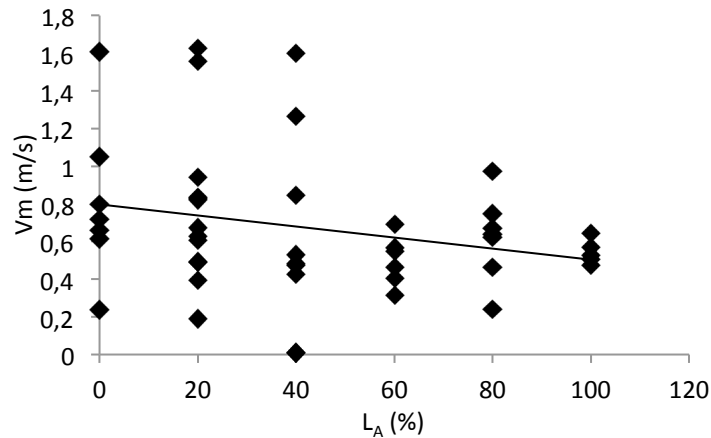


Figura 65: rappresentazione grafica della relazione tra la velocità media nella risposta di fuga e l'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,063$).

9.7.4 Capacità metabolica e Audacia

La capacità metabolica (AMS) non risulta significativamente correlata con l'audacia, espressa sia nell'intervallo di tempo prima del foraggiamento (ΔT_{feed} ; $P > 0,05$; $R^2=0,0155$; figura 66) che nell'intervallo di tempo precedente l'abbandono del rifugio, (ΔT_{explo} ; $P > 0,05$; $R^2=0,0007$; figura 67) nella regressione lineare.

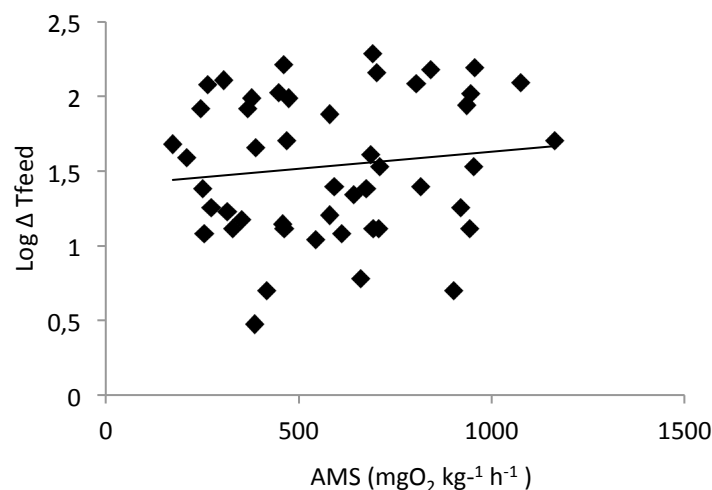


Figura 66: rappresentazione grafica della relazione tra il logaritmo naturale dell'intervallo di tempo di foraggiamento (ΔT_{feed}) e la capacità metabolica (AMS) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,0155$).

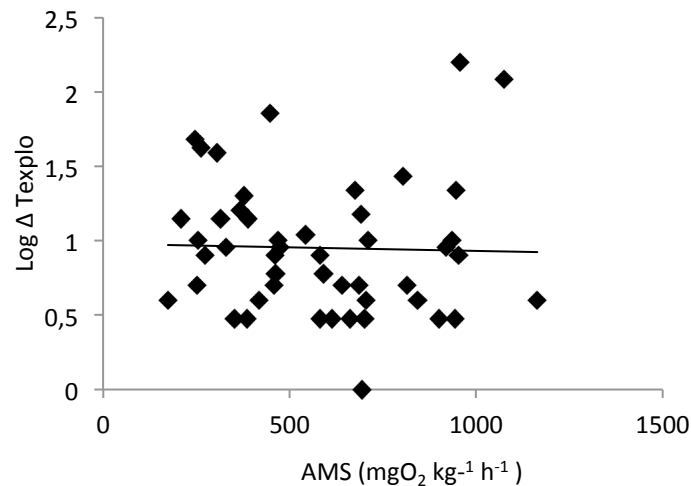


Figura 67: rappresentazione grafica della relazione tra il logaritmo naturale dell'intervallo di tempo di esplorazione (ΔT_{expl}) e la capacità metabolica (AMS) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,0007$).

9.7.5 Capacità metabolica e Attività spontanea di nuoto

La capacità metabolica aerobica individuale (AMS) non risulta, nella regressione lineare, significativamente correlata con l'attività di nuoto spontanea espressa in: distanza totale percorsa (m) ($P > 0,05$; $R^2=0,036$; figura 68), che in percentuale di tempo speso nel nuoto ($P > 0,05$; $R^2=0,031$; figura 69) e velocità media di nuoto (m/s) ($P > 0,05$; $R^2=0,0044$; figura 70).

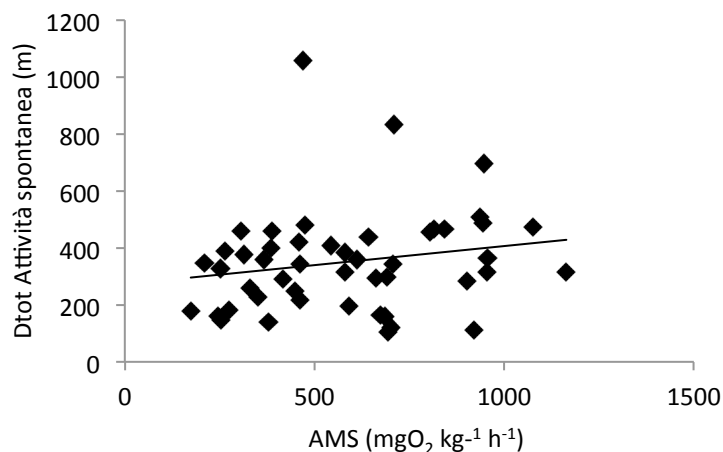


Figura 68: rappresentazione grafica della relazione tra la distanza totale percorsa nell'attività spontanea di nuoto e la capacità metabolica (AMS) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,036$).

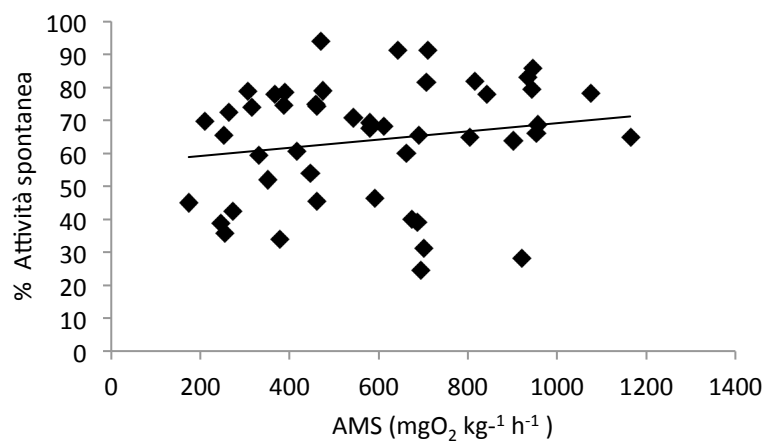


Figura 69: rappresentazione grafica della relazione tra la percentuale di tempo speso nell'attività spontanea di nuoto e la capacità metabolica (AMS) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,032$).

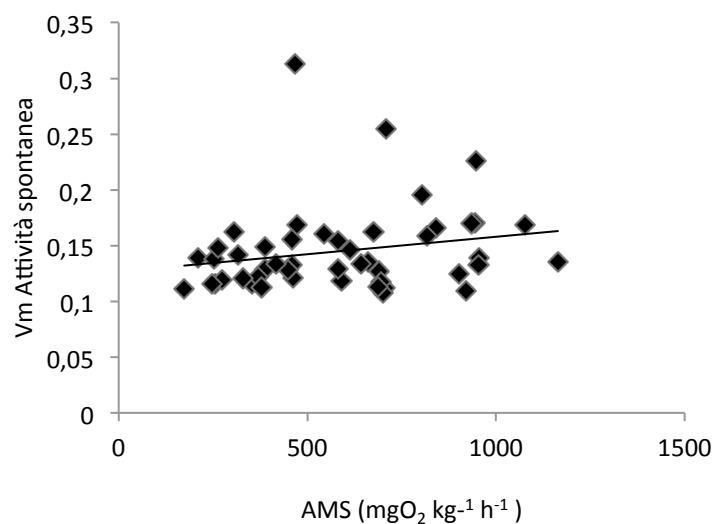


Figura 70: rappresentazione grafica della relazione tra la velocità media durante l'attività di nuoto spontaneo e la capacità metabolica (AMS) negli individui testati ($n=48$; $R^2=0,044$).

DISCUSSIONE

10.1 Comportamento alimentare

Le specie carnivore, che occupano noto i livelli più alti della piramide trofica, riescono a sopportare ampie fluttuazioni nella disponibilità di cibo (Killen, 2011) e hanno una frequenza di foraggiamento relativamente bassa. Il comportamento alimentare di *Liza aurata* mostra invece le caratteristiche tipiche delle specie che occupano i livelli inferiori della piramide trofica, caratterizzate da un regime alimentare a basso contenuto energetico ed essenzialmente erbivoro (Brusle, 1985). Osservando il tempo speso nel *grazing* e la frequenza di foraggiamento, si evince che *L. aurata* si ciba con piccole ma frequenti razioni di cibo, con un conseguente dispendio energetico per la ricerca e l'assunzione del foraggio relativamente alto.

L'analisi statistica ha dimostrato un effetto della taglia sul comportamento alimentare: gli individui di taglia piccola spendono un tempo maggiore nell'attività di *grazing* e hanno una frequenza di foraggiamento più alta rispetto a quelli di taglia media. Questa differenza è stata riscontrata ad entrambe le temperature sperimentali (10°C, 20°C). Nonostante non sia risultata un'interazione statisticamente significativa tra le variabili, questa differenza si è mostrata maggiore ad una più alta temperatura (20°C). Si è inoltre riscontrato che la temperatura ha un effetto sia sulla percentuale di tempo speso per il foraggiamento negli individui di taglia piccola, che sulla frequenza di foraggiamento in entrambe le classi di taglia.

Liza aurata aspira il biofilm superficiale attraverso l'apparato faringo-branchiale e una bocca protrusibile (Brusle, 1981). E' stato riscontrato che tale asportazione viene condotta formando solchi di lunghezza variabile sul sedimento e, solo occasionalmente, in modo puntiforme. Dall'analisi della velocità con la quale vengono realizzati questi solchi, è stato possibile osservare che gli individui di taglia media asportano il biofilm più velocemente rispetto ai piccoli. Questa differenza è pari al 19,32% a 20°C e al 72,94% a 10°C.

Studi precedenti hanno dimostrato come a temperature inferiori la capacità metabolica sia fortemente ridotta, principalmente per una riduzione del metabolismo attivo (Lefrancois & Claireaux, 2003). Essendo il comportamento alimentare legato alla capacità metabolica degli individui, risulta dunque evidente il ruolo della temperatura su di esso.

A 20°C risulta un significativo incremento della superficie brucata (a 10°C) negli individui di entrambe le classi di taglia. Questo risultato conferma l'effetto esercitato dalla temperatura sull'attività di foraggiamento; l'effetto riscontrato sui processi biologici, biochimici e sul controllo dell'attività metabolica (Magnuson et al., 1979; Priede, 1985) lo rende il fattore più influente nella fisiologia degli organismi acquatici (Reynolds and Casterlin, 1979).

I medi, rispetto ai piccoli, foraggiano maggiormente sia a 10°C sia a 20°C, ma non mostrano differenze significative tra le due temperature sperimentali. A 20 °C risulta un incremento significativo ($P < 0,05$) della superficie brucata negli individui di taglia piccola. Questo risultato è in linea con quanto descritto in letteratura: l'effetto della temperatura è superiore negli individui di taglia piccola, poiché essi generalmente risultano avere una più alta domanda metabolica per unità di massa (Post & Evans 1989; Bystrom et al., 2006).

L'ampia variabilità osservata nel comportamento alimentare individuale dimostra l'esistenza di individui che spendono quantità di tempo differenti nella ricerca del cibo; questa differenza può essere causata da diverse esigenze metaboliche e/o da differenze nel comportamento alimentare. In natura il comportamento alimentare è determinante nella vita di un organismo, in particolare nelle specie soggette a predazione. Una più attiva ricerca del cibo comporta, infatti, una maggiore esposizione al rischio di predazione, in termini di visibilità nei confronti dei predatori (Fuiman, 2010), di abbassamento della *vigilance* (Krause & Godin 1996) e della capacità di sfuggire a un predatore (Domenici *in prep.*).

10.2 Capacità metabolica

La prestazione di nuoto aerobico, oltre ad essere influenzata dalle più importanti variabili ambientali (McKenzie and Claireaux, 2009), presenta, in condizioni ambientali costanti, un'elevata variabilità interspecifica. Le velocità critiche registrate (U_{crit}), in individui appartenenti alla stessa classe di taglia e alla stessa popolazione, ricadono in un intervallo che va da 4 a 11 Bls^{-1} , con un coefficiente di variazione (CV) del 21,53%. Questa differenza può spiegare, almeno in parte, l'ampia variabilità registrata nella capacità metabolica (AMS) di *L. aurata* (CV = 44,25%).

In generale in *L. aurata* è stato riscontrato un tasso metabolico in cui l'intervallo di valori registrati per AMR, SMR e AMS risulta, seppur più ampio, paragonabile a quanto misurato da Killen et al. (2011) sulla stessa specie.

Studi condotti su altre specie applicando il protocollo U_{crit} , hanno dimostrato che il metabolismo massimo (AMR) deve essere almeno 3 volte superiore rispetto al metabolismo basale (SMR) (McKenzie and Claireaux, 2009); in *Oncorhynchus nerka* (Salmone Atlantico) a 20°C l'AMR è risultato 10 volte superiore rispetto l'SMR (Brett, 1964); in *L. aurata* l'AMR è risultato circa 6 volte superiore rispetto all'SMR (valori medi). Un SMR basso, permette ad un individuo di sopperire con più facilità alle esigenze fisiologiche e alla richiesta energetica, in particolare in situazioni ambientali avverse.

Il significato ecologico della variabilità individuale nel metabolismo aerobico è, ad oggi, ancora poco chiaro; alcuni studi hanno accertato effetti sull'ecologia come ad esempio la posizione dell'individuo nel banco (Killen, 2011). Inoltre, è generalmente assunto che la capacità metabolica (AMS) ha un ruolo chiave, ecologico ed evolutivo, nella capacità di adattamento alle variazioni ambientali e quindi nella *fitness*.

Individui con una bassa capacità metabolica, oltre ad avere dei costi di mantenimento del proprio organismo più bassi, possono sopportare meglio periodi di digiuno e quindi esporsi meno alla predazione; allo stesso tempo individui con AMS maggiore hanno tassi di crescita più elevati e sono avvantaggiati nell'accesso alle risorse, nella riproduzione, etc. (Burton et al., 2011). In natura, una caratteristica può essere selezionata positivamente o meno a seconda dell'ambiente in cui viene espressa e delle caratteristiche ecologiche di una specie. Il mantenimento della variabilità genetica è di fondamentale importanza per garantire una variabilità fenotipica da cui dipende la capacità di adattamento di una popolazione e quindi il suo equilibrio dinamico con l'ambiente.

10.3 Attività spontanea di nuoto

Durante il nuoto spontaneo e in assenza di stimoli, *L. aurata* tende a nuotare con una velocità costante lungo il perimetro della vasca sperimentale. La velocità media di pascolo è circa 3 volte maggiore ($0,96 \text{ Bls}^{-1}$ - 20°C) rispetto ad altre specie pelagiche, come ad esempio *Gadus morhua* per il quale sono stati registrati $0,23 \text{ Bls}^{-1}$ (15°C ; Schurmann & Steffensen, 1994).

La velocità di trasporto ottimale (non considerata in questo lavoro) rappresenta la velocità alla quale in dispendio energetico risulta minimo (Weihs and Webb, 1983) e dovrebbe rappresentare la velocità che un individuo, fuori dal banco e in assenza di stimoli, esprime. In natura *L. aurata* vive per lo più in banchi numerosi e serrati; l'elevata variabilità individuale riscontrata nella velocità media (CV 27,63%) suggerisce quindi l'esistenza di una modulazione individuale della velocità di nuoto all'interno del banco. Di conseguenza in *L. aurata* alcuni individui debbono deviare dal costo di trasporto ottimale al fine di mantenere la propria posizione nel banco.

Indipendentemente dalla percentuale di tempo speso nel nuoto, risulta una significativa correlazione tra la distanza percorsa nell'unità di tempo e la velocità media (cumulativa) di pascolo. Quindi, la tendenza alla vagilità individuale in *L. aurata*, oltre ad essere motivata da esigenze funzionali, quali ad esempio la ricerca del cibo, la ricerca di condizioni ambientali più favorevoli, la riproduzione, risulta essere una caratteristica fisiologica intrinseca nell'individuo. Cioè esistono tipologie d'individui che spendono una quantità di tempo maggiore nel nuoto e allo stesso tempo esprimono anche una maggiore velocità media di pascolo.

La tendenza individuale alla vagilità, espressa in percentuale di tempo speso nel nuoto, risulta ampiamente variabile, con un CV del 31,10%; invece la distanza percorsa nell'unità di tempo ha un CV del 52,38%.

Mentre nella velocità media solo pochi individui si discostano dalla media calcolata, nella percentuale di tempo speso nel pascolo si evidenziano 3 diverse classi di valori in cui si distribuisce la popolazione esaminata. La naturale tendenza alla vagilità di una specie e la sua variabilità, possono rappresentare un compromesso con altri tratti comportamentali collegati alla *fitness*. In natura la vagilità è funzionalmente collegata alla ricerca del cibo, di un partner (riproduzione), o più in generale alla ricerca di condizioni

ambientali più favorevoli. La variabilità di questo tratto è quindi probabilmente riconducibile all'esistenza di compromessi funzionali con altri tratti comportamentali e fisiologici.

10.3 Risposta di fuga

In natura, individui che non rispondono a uno stimolo sensoriale di potenziale pericolo hanno un'alta probabilità di essere predati (Fuiman et al., 2006; Domenici, 2010).

Individui cognitivamente impegnati nell'attività di foraggiamento mostrano latenze di fuga significativamente maggiori (Domenici, *in prep.*). Infatti, in questo studio l'intervallo è risultato (8 - 840 ms) più ampio di quanto riscontrato da Lefrançois (2005), che, in individui non impegnati a livello cognitivo, riscontrò valori di latenza di fuga (di *L. aurata*) compresi in un intervallo che va da 15 a 19 ms.

La capacità di risposta di fuga (*responsivness*) di *L. aurata* non sembra invece essere influenzata dall'impegno nel foraggiamento. La percentuale d'individui che ha risposto alla stimolazione rilevata in questo studio (91,67%) è paragonabile a quella ottenuta in studi precedenti condotti su individui non mentalmente impegnati nel foraggiamento; infatti sia nella stessa specie (Lefrançois, 2005), sia in specie con caratteristiche ecologiche simili (Domenici, 2010) sono stati sempre riscontrati valori prossimi al 100%.

Gli individui che non hanno risposto alla stimolazione meccanica hanno esibito un comportamento anti-predatorio chiamato *Freeze*. Il *Freeze* consiste in un completo immobilismo, compresa l'interruzione dell'attività di foraggiamento; questo comportamento è tipico delle specie bentoniche mimetiche che ricorrono a tale strategia per evitare di essere percepite da un potenziale predatore (Godin, 1997).

La direzionalità osservata nelle traiettorie di fuga esaminate si discosta dai valori rilevati in studi precedenti. Infatti, mentre in letteratura risulta una percentuale di risposte *away* pari a circa il 90% (Lefrançois, 2005), in questo studio, pur confermandosi la preferenza ad allontanarsi dal predatore, è risultata una maggiore variabilità nella scelta della direzione di fuga (risposte *away*: 63,64%).

Nei pesci, il tempo medio necessario per eseguire una risposta di fuga ha un intervallo piuttosto ampio che varia in funzione della taglia (Domenici, 2001) e della specie (Domenici & Blake, 1997). Nel presente studio il tempo medio impiegato nella risposta di fuga è stato di $59,06 \pm 19,26$ ms, un tempo relativamente basso rispetto a quanto misurato da Lefrançois (2005) sulla stessa specie (78 ± 20 ms); questa differenza potrebbe essere in parte riconducibile alla diversità di taglia (> 6 cm) degli individui utilizzati nei due studi.

L. aurata risulta molto performante nella componente locomotoria della risposta di fuga, con valori relativamente alti di *turning rate* ($2218,08 \pm 1012,25$ deg s^{-1}), *turning rate* massimo ($3153,34 \pm 1337,12$ deg s^{-1}) e velocità media di fuga ($0,64 \pm 0,37$ ms $^{-1}$). L'elevate prestazioni sono probabilmente dovute alla morfologia del corpo e delle pinne. Webb (1984) ha identificato le caratteristiche morfologiche ottimali per avere elevate prestazioni in accelerazione: un'ampia superficie corporea soprattutto verso la porzione caudale,

una buona flessibilità del corpo, un'alta percentuale di massa muscolare rispetto al peso totale. *L. aurata* sembra possedere tutte queste caratteristiche. La flessibilità del corpo e il rapporto di massa muscolare, rispetto il peso corporeo, sono relativamente elevati se paragonati a quelli di altre specie (Aleev, 1977). Inoltre, secondo l'indice usato da Aleev (1977), la pinna caudale di *L. aurata* ha una forma paragonabile a quella di pesci molto performanti nell'accelerazione, come i generi *Esox* e *Sphyraena*.

Un comportamento è considerato stereotipato quando ha un CV minore del 20% (Domenici, 2010). Le variabili, locomotorie e non, della risposta di fuga raramente sono inferiori al 20% e spesso hanno valori maggiori del 40% (Domenici, 2010). In questo lavoro, i valori di CVs calcolati sono in linea con quanto descritto in letteratura; la variabilità individuale misurata nel coefficiente di variazione ha mostrato valori di *turning rate* (45,64%), di *turning rate* massimo (42,40%) e della velocità media (58,31%) superiori al 40%. Questa elevata variabilità può essere ricondotta alla differenza della proporzione di massa muscolare tra gli individui (Marras, 2011).

La latenza di fuga di *L. aurata* ha un CV che, se confrontato con i risultati ottenuti in altre specie aventi caratteristiche fisiche simili (*Dicentrarchus labrax* - 37%; Marras 2011), può essere definito estremo. Tuttavia valori molto elevati di CV sono stati riscontrati solo in individui con risposta lenta (RL; 103,77%), mentre negli individui con risposta veloce (RV) il CV è superiore ma paragonabile a quello di altre specie (44,04%). Tale differenza è potenzialmente attribuibile alla mancanza, nelle risposte lente, di una mediazione delle cellule di *Mauthner* nella trasmissione dell'impulso motorio.

Gli individui che hanno mostrato una risposta RV risultano significativamente più performanti in tutte le variabili locomotorie misurate. Questo conferma l'esistenza di una relazione tra le variabili locomotorie e comportamentali nella risposta di fuga, nonché l'esistenza di tipi con capacità anti-predatorie differenti all'interno di una popolazione. Gli individui più vigili sono anche più performanti e hanno una minore variabilità fenotipica; individui meno vigili sono meno performanti a livello locomotorio e con caratteristiche molto variabili. In natura, una risposta di fuga performante può essere un costo o un beneficio in funzione del contesto ecologico in cui viene espressa (Domenici, 2010). In un habitat con molti predatori sono infatti vantaggiose una prestazione locomotoria elevata e una bassa latenza di fuga, mentre in un habitat con pochi predatori questi adattamenti possono essere superflui ed energeticamente costosi.

Un'elevata prestazione della muscolatura anaerobica comporta un decremento della prestazione di nuoto aerobico a causa del rapporto tra muscolatura aerobica e anaerobica (Webb, 1984; Webb, 1998) anche all'interno della stessa specie (Oufiero and Garland, 2009).

10.4 Presa di rischio

Specie che occupano un livello basso nella piramide trofica devono mantenere un alto livello di *vigilance* nei

confronti della presenza di potenziali predatori. L'abbandono di un rifugio per il foraggiamento, indipendentemente dal grado di familiarità verso un ambiente, è generalmente riconosciuto come una presa di rischio, una caratteristica adattativa intrinseca nell'individuo, riconducibile al *trade-off* tra il digiuno e il rischio di predazione (Abrahams & Dill, 1989; Jones & Godin, 2010).

Negli esperimenti condotti la maggior parte degli individui ha compiuto, prima di foraggiare, diverse uscite esplorative probabilmente al fine di valutare l'esistenza di potenziali pericoli prima di abbassare la loro soglia di vigilanza. Solo il 4,19% degli individui ha foraggiato senza compiere esplorazioni preliminari dell'ambiente circostante. La presa di rischio nel primo abbandono del rifugio (per l'esplorazione; T_{explo}) e l'intervallo che precede il foraggiamento (T_{feed}), risultano statisticamente correlate. Questa correlazione suggerisce l'esistenza di una personalità individuale, cioè diversi gradi di assunzione di rischio a livello intrinseco. Questa ipotesi trova riscontro in quanto descritto da Stamp (2007), il quale ipotizzava l'esistenza di due tipologie di personalità: "audaci" e "timidi". I primi possiedono una maggiore propensione a rischiare la predazione e conseguentemente un maggiore accesso alle risorse e un tasso di crescita più elevato ma, al contempo, anche un più elevato tasso di mortalità. I timidi, al contrario, rischiando meno, hanno tassi di mortalità relativamente bassi ma allo stesso tempo un minore accesso alle risorse e quindi un tasso di crescita inferiore.

Nella popolazione esaminata, l'intervallo di esplorazione varia all'interno di un ristretto intervallo di tempo (0-20 minuti) e solo pochi individui che se ne discostano seppur con incrementi importanti (fino a 180 minuti). L'intervallo di foraggiamento, al contrario, presenta una variabilità più ampia e, nella distribuzione di frequenza, risulta categorizzabile nelle due tipologie comportamentali descritte da Stamp (2007): audaci ($\Delta T < 40$ minuti) e timidi ($\Delta T > 40$ minuti). Rispetto ad altre specie, anche gli individui audaci di *L. aurata* mostrano un comportamento conservativo, con un'assunzione di rischio relativamente bassa; tale aspetto comportamentale è probabilmente riconducibile al ruolo di questa specie nel suo contesto ecologico e agli effetti dell'isolamento dal banco.

L'elevata variabilità del CV in tutti i parametri presi in esame è tale da non poter definire questo comportamento come "stereotipato", ma al contrario potenzialmente collegato ad altri tratti, fisiologici e comportamentali, da compromessi e/o relazioni funzionali.

Secondo Bisazza (1998), la dominanza di una parte del cervello rappresenta, in organismi con occhi posti lateralmente, una capacità adattativa per prevenire l'inizio simultaneo di risposte incompatibili (Bisazza, 1998).

In *L. aurata* risulta una lateralizzazione comportamentale sia a livello individuale, sia di popolazione. L'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) presenta una distribuzione normale e il 37,50% degli individui è caratterizzato da valori di lateralità assoluta maggiori o uguali a 60; questo dato è paragonabile a quanto riscontrato da Dadda et al. (2010) in *Cymatogaster aggregata* (circa 30%). In relazione all'uso preferenziale del lato destro o sinistro del corpo, è stata riscontrata una preferenza statisticamente significativa per la parte sinistra. Tale asimmetria comportamentale è espressione di una specializzazione celebrale (Domenici, 2011),

la cui presenza è indice di una maggiore efficienza cognitiva che può determinare vantaggi ecologici con conseguenze sulla selezione naturale (Vallortiga & Rogers, 2005).

Una buona parte degli individui testati risultano privi di asimmetria comportamentale ($L_A < 60$). Essendo un carattere ereditario, la presenza e il mantenimento di un fenotipo potenzialmente svantaggioso suggerisce l'esistenza di *trade-offs* con altri tratti comportamentali, dove il costo del vantaggio derivato dall'asimmetria è probabilmente compensato da uno svantaggio in altro. È quindi possibile ipotizzare l'esistenza di relazioni funzionali con altre caratteristiche fisiologiche e comportamentali, sia in individui lateralizzati sia in individui non lateralizzati.

10.5 Lateralizzazione comportamentale

Secondo Bisazza (1998), la dominanza di una parte del cervello rappresenta, in organismi con occhi posti lateralmente, una capacità adattativa per prevenire l'inizio simultaneo di risposte incompatibili (Bisazza, 1998).

In *L. aurata* risulta una lateralizzazione comportamentale sia a livello individuale, sia di popolazione. L'indice di lateralizzazione assoluta (L_A) presenta una distribuzione asimmetrica con il 37,50% degli individui caratterizzato da valori di lateralità assoluta maggiori o uguali a 60; questo dato è paragonabile a quanto riscontrato da Dadda et al. (2010) in *Cymatogaster aggregata* (circa 30%). In relazione all'uso preferenziale del lato destro o sinistro del corpo, è stata riscontrata una preferenza statisticamente significativa per la parte sinistra. Tale asimmetria comportamentale è espressione di una specializzazione celebrale (Domenici, 2011), la cui presenza è indice di una maggiore efficienza cognitiva che può determinare vantaggi ecologici con conseguenze sulla selezione naturale (Vallortiga & Rogers, 2005).

Una buona parte degli individui testati risultano privi di asimmetria comportamentale ($L_A < 60$). Essendo un carattere ereditario, la presenza e il mantenimento di un fenotipo potenzialmente svantaggioso suggerisce l'esistenza di *trade-offs* con altri tratti comportamentali, dove il costo del vantaggio derivato dall'asimmetria è probabilmente compensato da uno svantaggio in altro. È quindi possibile ipotizzare l'esistenza di relazioni funzionali con altre caratteristiche fisiologiche e comportamentali, sia in individui lateralizzati sia in individui non lateralizzati.

10.6 Relazioni tra i parametri misurati

I tratti comportamentali e fisiologici chiave, testati in questo progetto, sono riconducibili al compromesso più generale tra il digiuno e il rischio di predazione. Poiché, da un punto di vista teorico e funzionale, questi tratti dovrebbero presentare delle relazioni, essi sono stati messi a confronto al fine di accertare l'esistenza di correlazioni positive e/o *trade-offs* statisticamente significativi.

10.6.1 Attività spontanea e risposta di fuga

La spontanea tendenza individuale alla vagilità risulta, in *L. aurata*, statisticamente correlata alla capacità di sfuggire all'attacco di un predatore. Individui che tendono ad avere una maggiore dispersione risultano più reattivi in termini di latenza di fuga e più performanti nell'esprimere, durante la fuga, velocità angolari (*turning rate*) relativamente alte. L'esistenza di questa relazione funzionale tra i due tratti è confermata anche dalla correlazione tra la velocità media di pascolo e la velocità media in cui viene espressa la risposta di fuga, nonché il *turning rate* medio e massimo. Quindi, individui con una velocità media di pascolo maggiore risultano più performanti in termini di velocità e velocità angolare (massima e minima) durante la fuga. Le due prestazioni messe a confronto non sono collegate dal punto di vista fisiologico: il tipo di locomozione utilizzata durante il pascolo è di tipo aerobico e impiega la muscolatura rossa, al contrario la risposta di fuga è operata esclusivamente dalla muscolatura bianca. Le correlazioni riscontrate in questo studio non sono quindi frutto di un *trade-off*, ma potrebbero essere riconducibili alla coevoluzione di caratteri che possiedono una storia evolutiva comune: individui più vagili risultano più visibili (o rilevabili) dai predatori e quindi maggiormente soggetti a predazione. Fuiman (2010) riscontrò infatti, in individui più vagili, tassi di mortalità significativamente maggiori. In questo contesto, lo sviluppo di una maggiore efficienza di fuga in individui più vagili, può rappresentare quindi una risposta adattiva di questi "tipi" comportamentali.

10.6.2 Lateralizzazione e Presa di rischio

Studi precedenti hanno dimostrato l'esistenza di una relazione tra la personalità individuale e l'asimmetria celebrale (Andrew, 2006; Redon & Hurd, 2009). Tale ipotesi trova conferma in quanto riscontrato in questo studio: *L. aurata* presenta una correlazione tra le variabili misurate per valutare l'audacia individuale e il grado di lateralizzazione celebrale. Individui con asimmetria comportamentale risultano avere un intervallo di esplorazione e di foraggiamento minore rispetto ad individui scarsamente o non lateralizzati. Quindi individui con capacità cognitive maggiori risultano, durante l'esplorazione di un ambiente e durante il foraggiamento, più audaci nei confronti di un potenziale rischio di predazione. La correlazione di questi due tratti può essere considerata vantaggiosa a seconda del contesto in cui viene espressa. *L. aurata*, frequentando per lo più ambienti con fondi molli e omogenei, è esposta a un rischio di predazione relativamente alto; in questo contesto, quindi, una maggiore capacità cognitiva nell'elaborare i segnali di pericolo può risultare, negli individui più audaci, un adattamento evolutivo vantaggioso.

Tuttavia, questo vantaggio comporta un costo; la specializzazione di una parte del corpo può comportare infatti una maggiore efficienza su un lato, ma anche una carenza sull'altro. In natura, dove un animale è continuamente sottoposto a stimoli sensoriali multidirezionali, questa caratteristica può quindi risultare anche uno svantaggio. Inoltre un comportamento stereotipato, della preda, qual è la lateralizzazione comportamentale consente ad un predatore, in un tempo relativamente breve, di adattare le proprie strategie di predazione su di esso (Vallortiga & Rogers, 2005).

10.6.3 Risposta di fuga e Lateralizzazione

Nonostante in *L. aurata* sia stata accertata l'esistenza di una relazione tra l'asimmetria comportamentale e l'audacia verso il rischio di predazione, non sono state trovate correlazioni con le caratteristiche locomotorie e comportamentali della risposta di fuga da un predatore. Questa correlazione è stata descritta per la prima volta in *Cymatogaster aggregata* da Dadda et. al (2010) il quale riscontrò che individui lateralizzati avevano tempi di latenza inferiori rispetto ad individui scarsamente o non lateralizzati. *L. aurata*, pur presentando un grado di lateralizzazione comportamentale maggiore di *Cymatogaster aggregata*, non mostra correlazioni tra questo tratto e la latenza di fuga o con le altre variabili che descrivono la risposta di fuga da un predatore.

10.6.4 Presa di rischio e capacità metabolica

Da un punto di vista teorico, individui con un tasso metabolico più alto devono sopperire a questa richiesta energetica con un maggiore foraggiamento e quindi mostrare un comportamento più audace, cioè una maggiore propensione a rischiare la predazione pur di soddisfare le esigenze metaboliche (Biro & Stamps, 2010; Killen et al., 2011).

Studi precedenti hanno dimostrato l'esistenza di una relazione tra il grado di assunzione di rischio e il tasso metabolico ma solo dopo un prolungato periodo di digiuno e in funzione del peso corporeo perso (Gotceitas & Godin 1991; Pettersson & Bronmark 1993; Damsgird & Dill 1998; Krause et al. 1998; Killen 2011). In questo studio, la valutazione del grado di presa di rischio è stata preceduta da un digiuno di 72 ore e nelle 24 ore precedenti il test il pesce è stato sottoposto a esercizio aerobico forzato fino allo sfinimento fisico (valutazione della capacità metabolica nel tunnel di nuoto). Avendo speso tutte le riserve energetiche, e secondo quanto descritto in letteratura, era attesa una relazione tra la capacità metabolica (AMS) e l'assunzione di rischio, in particolare verso la possibilità di foraggiare. Non sono invece state riscontrate correlazioni tra le variabili a confronto. In questo studio tale correlazione non è stata rilevata, probabilmente a causa dell'elevata variabilità riscontrata in *L. aurata*. Secondo Stamp (2007), studi volti a determinare, negli individui di una stessa popolazione, l'esistenza del trade-off tra digiuno e rischio di predazione trovano il loro limite nel fatto che, per riscontrare differenze statisticamente significative, sia necessario esaminare una grandi quantità d'individui.

10.6.5 Capacità metabolica e Attività spontanea di nuoto

Generalmente individui con una maggiore capacità metabolica (AMS) dispongono di un quantitativo energetico supplementare da destinare ad attività collegate alla fitness. Di conseguenza, individui con un AMS relativamente elevato dovrebbero mostrare una maggiore tendenza alla dispersione e quindi ad una più elevata attività spontanea di nuoto.

Nonostante sia stata riscontrata la tendenza ad una correlazione positiva tra l'AMS e le variabili usate per

misurare l'attività di nuoto spontaneo (% di attività, distanza totale percorsa e velocità media), questa relazione non è risultata statisticamente significativa.

Probabilmente, data l'elevata variabilità riscontrata nei tratti fisiologici messi a confronto, per ottenere una correlazione statisticamente significativa sarebbe necessario l'impiego di un numero di individui maggiore rispetto a quelli utilizzati ($n=48$) in questo studio.

Conclusioni

Dagli studi condotti, *L. aurata* mostra il comportamento alimentare tipico delle specie erbivore: un foraggiamento frequente e costante, intervallato da momenti di riposo e di pascolo esplorativo. Gli individui di questa specie costituiscono grandi banchi e per questo, per soddisfare le proprie esigenze alimentari hanno bisogno di estese superfici di biofilm; tuttavia l'integrazione con piccoli crostacei e altri organismi bentonici, non considerata in questo studio, potrebbe incidere sulla superficie stimata. Gli individui di taglia piccola mostrano un comportamento alimentare più attivo con una percentuale di tempo e una frequenza di foraggiamento maggiore rispetto agli individui di taglia media. Nonostante un comportamento alimentare più attivo alla temperatura ottimale (20 °C), gli individui di taglia piccola, pur mantenendo una frequenza e un tempo di foraggiamento maggiori rispetto agli individui di taglia media, a 10 °C hanno una velocità di foraggiamento inferiore rispetto ai medi, determinando una significativa riduzione della superficie brucata e della biomassa ingerita. Tutte le componenti del comportamento alimentare misurate in questo esperimento hanno mostrato un'elevata variabilità; tale variabilità aumenta all'aumentare della temperatura e alla diminuzione della taglia.

Dal confronto operato, a livello individuale tra tratti comportamentali e fisiologici, è stata riscontrata una correlazione positiva tra l'attività spontanea di nuoto e alcune delle variabili locomotorie e comportamentali della risposta di fuga. Tale correlazione può rappresentare una coevoluzione di caratteri del rapporto preda-predatore, che contribuisce alla sopravvivenza di questa specie. Infatti, vivendo per lo più in habitat (acquee costiere, estuari, lagune costiere) con fondi molli e poco strutturati e quindi generalmente privi di rifugi, *L. aurata* ha sviluppato una coevoluzione di alcune caratteristiche che possono rappresentare una risposta adattativa all'elevata pressione esercitata dai predatori in tali ambienti. In ambienti omogenei una specie molto vagile, come è risultata *L. aurata*, è più visibile e quindi maggiormente soggetta a predazione.

La presente tesi dottorale ha inoltre dimostrato come gli individui di *L. aurata* siano potenzialmente più vulnerabili alla predazione durante l'attività di foraggiamento. Infatti è stato dimostrato come tale attività aumenti i tempi di fuga e la direzionalità verso un predatore. Un ritardo nella fuga può essere considerato non soltanto la semplice conseguenza della mancata percezione del pericolo o di un ritardo in essa, ma può rappresentare una decisione basata sul compromesso tra il digiuno e il rischio di predazione.

Questo studio ha inoltre contribuito a evidenziare una correlazione tra la lateralizzazione comportamentale e l'audacia individuale, dimostrando come gli individui lateralizzati, quindi più evoluti da un punto di vista cognitivo, siano coloro che rischiano maggiormente la predazione ai fini di un maggiore accesso alle risorse alimentari. Una maggiore efficienza cognitiva potrebbe dunque rappresentare un meccanismo compensativo alla maggiore esposizione al rischio di predazione.

Lo studio della variabilità interindividuale nelle performance misurate in questo lavoro, contribuisce alla comprensione dei meccanismi che determinano l'ampia distribuzione geografica di questa specie. La

presenza di un'elevata variabilità può avere un significato ecologico importante che probabilmente è alla base della capacità di una specie di sopravvivere e colonizzare habitat differenti. Differenti fenotipi consentono infatti a una popolazione di avere sempre un certo numero di individui adattati alle condizioni dell'habitat occupato. La variabilità in tratti che risultano determinanti per la fitness degli individui, e dunque la presenza di un largo *pool* fenotipico all'interno di una popolazione, risulta dunque giocare un ruolo chiave in specie, come *L. aurata*, che occupano durante il loro ciclo di vita habitat differenti, e potrebbe essere alla base della straordinaria capacità adattativa di questa specie.

Bibliografia

- Abrahams M.V. & Dill L. M. 1989. A determination of equivalence of the risk of predation. *Ecology*, 70 (4), 999-1007.
- Abrahams M.V. & Sutterlin A. 1999. The foraging and antipredator behaviour of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon. *Animal behaviour*. 58, 933-942.
- Aleev Y. G. 1977. *Nekton*. The Hague: W. Junk (Ed).
- Álvarez D & Nicieza AG. 2005. Is metabolic rate a reliable predictor of growth and survival of brown trout in the wild? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62: 643-649.
- Anholt B.R. and Werner E.E. 1995. Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. *Ecology*, 76: 2230–2234.
- Anholt B.R. and Werner E.E. 1998. Predictable changes in predation mortality as a consequence of changes in food availability and predation risk. *Evol. Ecol.*, 12: 729–738.
- Arnold S.J. 1983. Morphology performance and fitness. *Amer. Zool.* 23: 347-361
- Albertini-Berhault J. 1973 Biologie des stades juve'niles de te'le'oste'ens mugilidae *Mugil auratus* Risso, 1810, *Mugil capito* Cuvier, 1829 et *Mugil saliens* Risso, 1810. I. Regime alimentaire. *Aquaculture* 2, 251–266.
- Almeida P. R., Moreira F., Costa, J. L., Assis, C. A., & Costa, M. J. 1993. The feeding strategies of *Liza ramada* (Risso, 1826) in fresh and brackish water in the River Tagus, Portugal. *Journal of Fish Biology* 42, 95–107.
- Andrew, R. J. 2006. Partial reversal of the brain generates new behavioural phenotypes. *Cortex*, 42, 110–112.
- Bell A. M. 2007. Future directions in behavioural syndromes research. *Proc. R. Soc. B* 274, 755–761.
- Beamish F. W. H. 1978. Swimming capacity. In *Fish Physiology*, Vol. 7 (Hoar, W. S. & Randall, D. J., eds), pp. 101–187. New York, London: Academic Press.
- Billerbeck J.M., Lankford, T.E. and Conover, D.O. 2001. Evolution of growth and energy acquisition rates. I. Trade-offs with swimming performance in *Menidia menidia*. *Evolution*, 55, 1863–1872.
- Biro P.A., Abrahams M.V., Post J.R. & Parkinson, E.A. 2004. Predators select against high growth rates

and risk-taking behaviour in domestic trout populations. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 271, 2233–2237.

Biro P.A., Abrahams M.V., Post J.R. and Parkinson E.A. 2006. Behavioural trade-offs between growth and mortality explain evolution of submaximal growth rates. *J. Anim. Ecol.*, 75, 1165–1171.

Biro, P.A. & Stamps, J.A. 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate consistent individual differences in behaviour? *Trends in Ecology & Evolution*. 11, 653–659.

Bisazza A., Facchin L., Pignatti R. & Vallortigara G. 1998. Lateralization of detour behaviour in poeciliid fish: The effect of species, gender and sexual motivation. *Behavioural Brain Research*. 91, 157-164.

Bisazza, A. & Dadda, M. 2005 Enhanced schooling performance in lateralized fishes. *Proc. R. Soc. B* 272, 1677–1681.

Blaber S.J.M. and Whitfield A.K. 1977. The feeding ecology of juvenile mullet (*Mugilidae*) in south-east African estuaries. *Biological Journal of the Linnean Society*. 9: 277-284.

Blake, R.W., Law, T.C., Chan, K.H.S. and Li, J.F.Z. 2005. Comparison of the prolonged swimming performances of closely related, morphologically distinct three-spined sticklebacks *Gasterosteus* spp. *Journal of Fish Biology*, 67, 834–848.

Blazka, P. 1960. A new type of respirometer for the determination of the metabolism of fish in an active state. *Physiologica Bohemoslovenica* 9, 553–558.

Bolnick, D.I., Svanback, R., Fordyce, J.A., Yang, L.H., Davis, J.M., Hulsey, C.D. & Forister, M.L. 2003. The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *The American Naturalist*, 161, 1– 28.

Bone, Q. 1978. Locomotor muscle. In ‘‘Fish Physiology, Locomotion’’ (Hoar, W. S., and Randall, D. J., Eds.), Vol. 7, pp. 361–424. Academic Press, New York.

Bone, Q., Johnston, I. A., Pulsford, A., and Ryan, K. P. 1986. Contractile properties and ultrastructure of three types of muscle fibre in the dogfish myotome. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 7, 47–56.

Breder, C.M. 1926. The locomotion of fishes. *Zoologica* 4,159-256

Brett, J. R. 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *J. Fish. Res. Board. Can.* 21, 1183–1226.

Brown, C., Burgess, F. & Braithwaite, V.A. .2007. Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioural. Ecology and Sociobiology*, 62, 237–243.

- Brusle, J. 1981. Food and feeding in grey mullets. In O. H. Oren (Ed.), *Aquaculture of grey mullets* (pp. 185–217). Cambridge: Cambridge University Press.
- Burton T., Killen S.S., Armstrong J.D. and Metcalfe N.B. 2011. What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? *Proceeding of the Royal Society B*. 278, 3465–3473.
- Bystrom P., Andersson J., Kiessling A. and Eriksson L.-O. 2006. Size and temperature dependent foraging capacities and metabolism: consequences for winter starvation mortality in fish. *OIKOS* 00: 00-00.
- Cardona, L., & Castello', F. 1994. Relative importance of plankton and benthos as food for *Mugil cephalus* and *Liza ramada* in Israeli semi-intensive fish ponds. *Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh* 46, 197–202.
- Cardona, L. 1996. Microalgae selection by mullets (*Mugil cephalus* and *Liza ramada*) in Israeli semi-intensive fish ponds. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh* 48, 165–173.
- Carter, C.S., Sonntag, W.E., Onder, G. and Pahor, M. (2002) Physical performance and longevity in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57, B193-7.
- Claireaux, G., Handelsman, C., Standen, E. and Nelson J. A. 2007. Thermal and temporal stability of swimming performance in the European sea bass. *Physiol. Biochem. Zool.* 80, 186–196.
- Claireaux, G., Couturier, C. and Groison, A. L. 2006. Effect of temperature on maximum sustainable speed and cost of swimming in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Experimental Biology*. 209, 3420–3428.
- Claireaux, G., McKenzie, D.J, Genge, A.G., Chatelier, A. Aubin, J. and Farrell, A.P. 2005. Linking swimming performance, cardiac pumping ability and cardiac anatomy in rainbow trout, *Journal of Experimental Biology*. 208, 1775–1784.
- Clark A.B., Ehlinger T.J. 1987. Pattern and adaptation in individual behavioral differences. In: Bateson P.P.G, Klopfer P.H, editors. *Perspectives in ethology*. Plenum Press; New York, NY. 1–47.
- Collins, R. L., Sargent, E. E. & Neumann, P. E. 1993. Genetic and behavioral tests of the McManus hypothesis relating response to selection for lateralization of handedness in mice to degree of heterozygosity. *Behavior Genetics*, 23, 413e421.
- Coughlin D. J., and Rome L. C. 1999. Muscle activity in steady swimming scup, *Stenotomus chrysops*, varies with fiber type and body position. *Biol. Bull.* 196 (2), 145–152.

- Cutts C. J., Metcalfe N. B. and Taylor A. C. 1998. Aggression and growth depression in juvenile Atlantic salmon: The consequences of individual variation in standard metabolic rate. *Journal of Fish Biology*. 52, 1026-1037
- Dadda M., Koolhaas W. H. and Domenici P. 2010. Behavioural asymmetry affects escape performance in a teleost fish. *Biology Letters*. 6, 414–417.
- Dadda, M., Zandona, E., Agrillo, C. & Bisazza, A. 2009 The costs of hemispheric specialization in a fish. *Proc. R. Soc. B* 276, 4399–4407.
- Dadda, M. & Bisazza, A. 2006 Lateralized female topminnows can forage and attend to a harassing male simultaneously. *Behav. Ecol.* 17, 358–363.
- Dadda M. and Bisazza A. 2006. Does brain asymmetry allow efficient performance of simultaneous tasks? *Animal Behaviour*. 72, 523–529.
- Damsgird B. & Dill L.M. 1998. Risk-taking behavior in weight-compensating coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Behavioural Ecology*, 9, 26–32.
- Dankwa H.R., Blay J. Jr, Yankson K. 2000. Food and Feeding Habits of Grey Mullet (Pisces: Mugilidae) in Two Estuaries in Ghana. *West African Journal of applied Ecology*. 8.
- Davies P.M.C. 1966. The energy relations of *Carassius auratus* L. II. The effect of food, crowding and darkness on heat production. *Comp. Biochem. Physiol.* 17, 983-995.
- De Silva S.S & Anderson, T.A. 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall *eds*. London.
- Denenberg V. H. 1981. Hemispheric laterality in animals and the effects of early experience. *Behavioral and Brain Sciences*, 4, 1e21.
- Dizon A.E. 1977. Effect of dissolved oxygen concentration and salinity on the swimming speed of two species of tuna. *Fishery Bulletin* 75, 649–653.
- Domenici P. and Blake, R. W. 1997. Fish fast-start kinematics and performance. *Journal of Experimental Biology*. 200, 1165-1178.
- Domenici P., Steffensen J.F., Batty R.S. 2000. The effect of progressive hypoxia on swimming activity and schooling in Atlantic herring. *Journal of Fish Biology*. 57, 1526–1538.
- Domenici P. 2001. Scaling the locomotor performance in predator-prey interactions: from fish to killer whales. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 131, 169-182.

- Domenici P. 2002. Escape trajectory, ecological. In: El-Shaarawi A., Piegorisch W.W., editors. Encyclopedia of Environmetrics. John Wiley & Sons. Vol. 2, 708–711.
- Domenici, P., Lefrançois, C. and Shingles, A. 2007. Hypoxia and the antipredator behaviours of fishes. Phil. Trans. R.. Soc. B 362, 2105-2121.
- Domenici P. 2010. Context-dependent variability in the components of fish escape response: integrating locomotor performance and behavior. Journal of Experimental Zoology. 313, 59–79.
- Domenici P., Allan B., Mc Cornik M. I., and Munday P. L. 2011. Elevated carbon dioxide affects behavioural lateralization in a coral reef fish. Biology letters. Published on line.
- Drucker E. G. and Jensen J. S. 1996. Pectoral fin locomotion in the striped surfperch. I. Kinematics effects of swimming speed and body size. J. Exp. Biol. 199, 2235-2242.
- Eaton R. C. & Hackett J. T. 1984. The role of Mauthner cells in fast-starts involving escape in teleost .sh. In Neural Mechanisms of Startle Behavior (Eaton, R. C., ed.), pp. 213–266. New York: Plenum Press.
- Eaton R. C., Lee R. K. K. and Foreman M. B. 2001. The Mauthner cell and other identified neurons of the brainstem escape network of fish. Progress in Neurobiology 63, 467-485.
- Ellerby D. J., Altringham J. D., Williams T., and Block B. A. 2000. Slow muscle function of Pacific bonito (*Sarda chiliensis*) during steady swimming. J. Exp. Biol. 203(13), 2001-2013.
- Ellerby, D. J., and Altringham, J. D. 2001. Spatial variation in fast muscle function of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during fast□starts and sprinting. J. Exp. Biol. 204, 2239-2250.
- Endler J. A. (1986). Natural Selection in the Wild. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Endler, J.A. (1995). Multiple-trait coevolution and environmental gradients in guppies. Trends Ecol. Evol. 10, 22– 29.
- Fagade, S. O., & Olaniyan, C. I. O. 1973. The food and feeding interrelationship of the fishes in the Lagos lagoon. Journal of Fish Biology 5, 205–225.
- Farlinger, S. and Beamish, F. W. H. 1977. Effects of time and velocity increments on the critical swimming speed of largemouth bass. Transactions of the American Fisheries Society 106, 436–439.
- Faber, D.S. and Korn, H. 1978. Neurobiology of the Mauthner Cell. Raven Press, NY, USA.
- Ferrari, I., & Chieragato, A. R. 1981. Feeding habits of juvenile stages of *Sparus auratus* L.,

- Dicentrarchus labrax L. and Mugilidae in a brackish embayment of the Po River delta. *Aquaculture* 25, 43–57.
- Finstad A.G., Einum S., Forseth T. and Ugedal O. 2007. Shelter availability affects behaviour, size-dependent and mean growth of juvenile Atlantic salmon. *Fresh water Biology*. 52, 1710-1718.
- Fry, F. E. J. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish physiology*. Vol. VI. (ed. Hoar, S. and Randall, D.J.), pp. 1–99. New York: Academic.
- Fuiman L. A., Rose K.A., Cowan J.H., Smith E.P. 2006. Survival skills required for predator evasion by fish larvae and their relation to laboratory measures of performance. *Animal Behaviour*. 71, 1389–1399.
- Fuiman L. A., Meekan M. G., McCormick M. I. 2010. Maladaptive behavior reinforces a recruitment bottleneck in newly settled fishes. *Oecologia*. 164, 99–108.
- Garland, T. & Carter, P. A. 1994. Evolutionary physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 56, 579–621.
- Ghalambor, C. K., Walker, J. A., and Reznick, D. N. 2003. Multi-trait selection, adaptation, and constraints on the evolution of performance: an empirical example using Trinidadian guppies. *Integr. Comp. Biol.* 42:1234–1234
- Ghalambor C.K., Reznick R.N. and Walker J.A. 2004. Constraints on adaptive evolution: the functional trade-off between reproduction and faststart swimming performance in the trinidadian guppy. *American Naturalist*, 164, 38–50.
- Gilliam J. F., and D. F. Fraser. 1987. Habitat selection under predation hazard: test of a model with foraging minnows. *Ecology* 68:1856-1862.
- Graham J.B. and Dickson K.A. 2000. The evolution of thunniform locomotion and heat conservation in scombrid fish : new insight based on the morphology of *Allothunnus fallai*. *Zool. J. Linn. Soc. Lond.* 129, 419-466.
- Graham J. B., Dewar H., Lai N. C., Lowell W. R. and Arce S. M. 1990. Aspects of shark swimming performance determined using a large water tunnel. *J. Exp. Biol.* 151, 175 192.
- Godin J.- G.J. & Smith, S.A. 1988. A fitness cost of foraging in the guppy. *Nature*, 333, 69–71.
- Godin J-GJ. 1997. Evading predators. In: Godin J-GJ, editor. *Behavioural ecology of teleost fishes*. Oxford: Oxford University Press. p 191–236.
- Gotceitas, V. and Godin, J.-G.J. 1991. Foraging under the risk of predation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effects of social status and hunger. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 29, 255–

Hammer C. 1995. Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 112, 1–20.

Hammond L., Altringham J. D., and Wardle C. S. 1998. Myotomal slow muscle function of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during steady swimming. *J. Exp. Biol.* 201, 1659–1671.

Hammer C. 1995. Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 112, 1–20.

Hayes, J.P. & Jenkins, S.H. 1997. Individual variation in mammals. *Journal of Mammalogy*, 78, 274–293.

Herbert N.A. and Steffensen J.F. 2005. The response of Atlantic cod, *Gadus morhua*, to progressive hypoxia: fish swimming speed and physiological stress. *Mar Biol* 147: 1403–1412.

Hiatt R. W. 1944. Food chains and the food cycles in Hawaiian fish ponds. Part 1. The food and feeding habits of mullet (*Mugil cephalus*), milkfish (*Chanos chanos*), and the tenpounder (*Elops machnata*). *Transactions of the American Fisheries Society* 74, 250–261.

Hickling C. F. 1970. A contribution to the natural history of the English grey mullets (pisces, Mugilidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 50, 609–633.

Jain K. E., Hamilton, J. C. & Farrell A. P. 1997. Use of a ramp velocity test to measure critical swimming speed in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry Physiology* 117, 441–444.

Jayne B. C., and Lauder G. V. 1994. How swimming fish use slow and fast muscle fibers: Implications for models of vertebrate muscle recruitment. *J. Comp. Physiol. A* 175, 123–131.

Johnston T. P., Syme, D. A., Jayne, B. C., Lauder, G. V., and Bennett, A. F. 1994. Modeling red muscle power output during steady and unsteady swimming in largemouth bass. *Am. J. Physiol.* 267, 481–488.

Johnston I. A. 1980b. Contractile properties of fish fast muscle fibres. *Mar. Biol. Lett.* 1,

Johnston I. A. 1981. Structure and function of fish muscles. In “Vertebrate Locomotion” (Day, M., Ed.). *Symp. Zool. Soc. Lond.* 48, 71–113.

Johnston, I. A., Davison, W., and Goldspink, G. 1977. Energy metabolism of carp swimming muscles. *J. Comp. Physiol.* 114, 203–216.

- Johnston, I. A., and Tota, B. 1974. Myofibrillar ATPase in the various red and white trunk muscles in the tunny (*Thunnus thynnus* L.) and the tub gurnard (*Trigla lucerna* L.). *Comp. Biochem. Physiol. B* 49, 367–373.
- Jones, D.R., Kiceniuk, J.W. and Bamford, O.S. 1974. Evaluation of the swimming performance of several fish species from the Mackenzie River, *J. Fish. Res. Board Can.* **31**, 1641–1647.
- Jones K.A. & Godin J.J. 2010. Are fast explorers slow reactors? Linking personality type and anti-predator behaviour. *Proceedings of Royal Society B.* 277, 625–63
- Karino K., Orita K. and Sato A. 2006. Long tails affect swimming performance and habitat choice in the male guppy. *Zoological Science*, 23, 255– 260.
- Killen S.S., Marras S. & McKenzie D. J. 2011. Fuel, fasting, fear: routine metabolic rate and food deprivation exert synergistic effects on risk taking in individual juvenile European sea bass. *Journal of animal ecology.* 80 (5), 1024-1033.
- Kohashi, T. and Oda, Y. 2008. Initiation of mauthner- or non-mauthner-mediated fast escape evoked by different modes of sensory input. *Journal of neuroscience* 28, 10641-10653.
- Korn, H. and Faber, D.S. 2005. The Mauthner cell half a century later: a neurobiological model for decision-making? *Neuron* 47, 13-28.
- Krause J., Loader S.P., McDermott J. & Ruxton G.D. 1998. Refuge use by fish as a function of body length-related metabolic expenditure and predation risks. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265, 2373–2379.
- Kruesi, K. and Alcaraz, G. (2007) Does a sexually selected trait represent a burden in locomotion? *Journal of Fish Biology*, 70, 1161–1170.
- Laffaille P., Brosse S., Feunteun E., Baisez A., & Lefevre J. C. 1998. Role of fish communities in particulate organic matter fluxes between salt marshes and costal marine waters in Mont Saint-Michel Bay. *Hydrobiologia* 373/374, 121–133.
- Laffaille P., Feunteun C., Lefebvre C., Radureau A., Sagan G., & Lefevre J.C. 2002. Can thin-lipped mullet directly exploit the primary and detritic production of European macrotidal salt marshes? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 729–736.
- Langerhans, R. B., Layman, C.A., Shokrollahi, M. and DeWitt, T. 2004. Predator-driven phenotypic diversification in *Gambusia affinis*. *Evolution* 58, 2305–2318.
- Langerhans, R.B., Layman, C.A. & DeWitt, T.J. 2005. Male genital size reflects a tradeoff between

attracting mates and avoiding predators in two live-bearing fish species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102, 7618–7623.

Langerhans, R. B. 2006. Evolutionary consequences of predation: avoidance, escape, reproduction, and diversification. In: *Predation in Organisms: A Distinct Phenomenon* (A.M.T. Elewa, ed.), pp. 177–220. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.

Langerhans, R.B. 2009. Trade-off between steady and unsteady swimming underlies predator-driven divergence in *Gambusia affinis*. *J.evol. Biol.* 22, 1057-1075.

Lankford T. E., Billerbeck J. M. and Conover D. O. 2001. Evolution of intrinsic growth and energy acquisition rates. II. Trade-offs with vulnerability to predation in *Menidia menidia*. *Evolution* 55, 1873-1881.

Lee C.S., Tamaru C. S., Kelly C. D., Moriwake A. and Miyamoto G. T. 1992. The effect of salinity and fertilization in the striped mullet *Mugil Cephalus*. *Aquaculture*, 102. 289-296.

Lee, R.M. 1912. An investigation into the methods of growth determination in fishes. *Cons. Perm. Inter. L'Explor. Mer., Publ. Circ.*, 63: 1–35.

Lefrançois C., Claireaux G. 2003. Influence of ambient oxygenation and temperature on metabolic scope and scope for heart rate of the sole (*Solea solea*). *Mar Ecol Prog Ser* 259, 273–284.

Lefrançois C., Shingles A. and Domenici P. 2005. The effect of hypoxia on locomotor performance and behaviour during escape in *Liza aurata*. *Journal of Fish Biology* 67, 1711–1729.

Lehman R.A.1981. Lateralized asymmetry of behavior in animals at the population and individual level. *Behavioral and Brain Sciences*, 4, 28.

Lima S. L. & Dill L. M. 1990 Behavioral decisions made under the risk of predation—a review and prospectus. *Can. J. Zool.* 68, 619–640.

Lindsey C.C. 1978. Form, function, and locomotory habits in fish In *Fish Physiology*, Vol. 7 (Hoar, W. S. & Randall, D. J., eds), pp. 1–100. New York, London: Academic Press.

Lousy P. 2006. Guida all'identificazione dei pesci marini d'europa e del Mediterraneo.edit. Il Castello, Milano. pp 430.

Magnuson J.J., Crowed L.B., and Medvick P. A. 1979. Temperature as an ecological resource. *Animal Zoology*. 19, 331-343.

Mangel M. & Stamps J. 2001. Trade-offs between growth and mortality and the maintenance of

individual variation. *Evolutionary Ecology Research*, 3, 583–593.

Marques J. F., Costa J. L. & Cabral H. N. 2005. Variation in bilateral asymmetry of the Lusitanian toadfish along the Portuguese coast. *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 205–209.

Magurran A.E. & Seghers B.H. 1994. Predator inspection behaviour covaries with schooling tendency amongst wild guppy, *Poecilia reticulata*, populations in Trinidad. *Behaviour*, 128, 121–134.

Martel G. & Dill L.M. 1995. Influence of movement by coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) parr on the detection by common mergansers (*Mergus merganser*). *Ethology*, 99, 139–149.

Marras S., Killen S., Claireaux G., Domenici P. & McKenzie D. 2011. Behavioural and kinematics components of the fast-start escape response in fish: individual variation and temporal repeatability. *The journal of experimental biology*. 214, 3102–3110.

McGrew, W. C. & Marchant, L. F. 1999. Laterality of hand use pays off in foraging success for wild chimpanzees. *Primates* 40, 509–513.

McFarland W.N. & Klontz G.W. 1969. Anesthesia in fishes. 1535–1540. *Federal Proceedings* (Ed.).

McKenzie D.J., Cataldi E., Owen S., Taylor E.W. and Bronzi P. 2001. Effects of acclimation to brackish water on the growth, respiratory metabolism and exercise performance of Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 1104–1112.

McKenzie D.J. and Claireaux G. 2009. Effects of environmental factors on aerobic exercise performance. In : *Fish Locomotion - an Etho-Ecological Approach*; P. Domenici and B.G. Kapoor (Eds), Science Publishers, Enfield, New Hampshire.

Meager J. J. and Batty R. S. 2007. Effects of turbidity on the spontaneous and prey-searching activity of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Phil. Trans. R. Soc. B.* 362, 2123–2130.

Metcalfe N.B., Taylor A.C. & Thorpe J.E. 1995. Metabolic rate, social status and life-history strategies in Atlantic salmon. *Animal Behaviour*. 49 (2), 431–436.

Nicoletto P.F. 1991. The relationship between male ornamentation and swimming performance in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28, 365–370.

Odum W. E. 1970. Utilization of the direct grazing and plant detritus food chains by the striped mullet *Mugil cephalus*. In J. H. Steele (Ed.), *Marine Food Chains*, 222–240. London: Oliver and Boyd.

O'Steen S., Cullum A.J. and Bennett A.F. 2002. Rapid evolution of escape ability in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Evolution*, 56, 776–784.

Oufiero C. and Garland, T. Jr. 2009. Repeatability and correlation of swimming performances and size over varying time-scales in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Functional Ecology*. 23, 969-978.

Peake S. J., and Farrell, A. P. 2004. Locomotory behavior and post-exercise physiology in relation to swimming speed, gait transition and metabolism in free-swimming smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*). *J. Exp. Biol.* 207, 1563–1575.

Pettersson L.B. and Bronmark C. 1993. Trading off safety against food: state dependent habitat choice and foraging in crucian carp. *Oecologia*, 95, 353– 357.

Pillay T. V. R. 1953. Studies on the food, feeding habits and alimentary tract of the grey mullet *Mugil tade*. *Proc. Natl. Inst. Sci. India*. 19 (6), 777-827.

Post J.R. and Evans D.O. 1989. Size-dependent overwinter mortality of young-of-the-year yellow perch (*Perca flavescens*): laboratory, in situ enclosure, and field experiments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1958_1968.

Priede I.G. 1985. Metabolic scope in fishes. In P Tytler, P Calow, editors. *Fish Energetics: New Perspectives*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 33-66.

Rajan S. 1964. Environmental studies of the Chilka lake. 1. Feeding spectrum of fishes. *Indian Journal of Fish.* 11 (2) 521-532.

Rayner M. D., and Keenan M. J. (1967). Role of red and white muscles in the swimming of the skipjack tuna. *Nature* 214, 392–393.

Reddon A.R. and Hurd P.L. 2009. Individual differences in cerebral lateralization are associated with shy–bold variation in the convict cichlid. *Animal Behaviour*. 77, 189–193

Reeb, S. G. 2002 Plasticity of diel and circadian activity rhythms in fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* 12, 349–371

Reidy, S. P., Nelson, J. A., Tang, Y. and Kerr, S. R. (1995). Postexercise metabolic rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and its dependence upon the method of exhaustion. *J. Fish Biol.* 47, 377–386.

Reidy, S., Kerr, S. R. and Nelson, J. A. 2000. Aerobic and anaerobic swimming performance of individual Atlantic cod. *J. Exp. Biol.* 203, 347–357.

Reynolds W.W., Casterlin M. E. 1979. Behavioral Thermoregulation and the "Final Preferendum" Paradigm. *American Zoologist*. 19 (1), 211-224.

Reznick D. N., Bryant M. J., Roff D., Ghalambor C. K. and Ghalambor D. E. 2004. Effect of extrinsic

mortality on the evolution of senescence in guppies. *Nature* 431, 1095-1099.

Richard P., Fizzala X., Guarini J.-M., Blanchard G., 2006. In situ quantification of microphytobenthos grazing by the grey mullet (*Liza ramada*) on an intertidal mudflat in Marennes-Oléron Bay (France). Communication orale, abstract. - In : Colloquium. Ecological functioning of salt marsh estuarine systems and human societies. Workshop Zones programme of the CNRS's Environment Life and Societies Programme (PEVS: the "Mont Saint-Michel bay and its 37 catchments" and "Mudflats of Brouage (Charente maritime)" / Feunten E., Miramand P. (Eds). *Cah. Biol. Mar.* 47, 121–122.

Robinson B.W. and Wilson, D.S. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *Am. Nat.* 144, 596–627.

Rogers L. J. 1989. Laterality in animals. *International Journal of Comparative Psychology*, 3, 5e25.

Rogers L. J. 2002. Advantages and disadvantages of lateralization. In *Comparative vertebrate lateralization* (eds L. J. Rogers & R. J. Andrew), pp. 126–153. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Rome L.C., Funke R.P., Alexander R.McN., Lutz G., Aldridge H., Scott F. and Freadman M. (1988). Why animals have different muscle fibres. *Nature Lond.* 335, 824-827.

Rome L. C., Loughna P. T., and Goldspink G. 1984. Muscle fiber activity in carp as a function of swimming speed and muscle temperature. *Am. J. Physiol.* 247, 272–279.

Rome L. C., Choi I., Lutz G., and Sosnicki A. A. 1992. The influence of temperature on muscle function in the fast swimming scup. I. Shortening velocity and muscle recruitment during swimming. *J. Exp. Biol.* 163, 259–279.

Rome L. C., Cook C., Syme D. A., Connaughton M. A., Ashley-Ross M., Klimov A., Tikunov B., and Goldman Y. E. 1999. Trading force for speed: Why superfast crossbridge kinetics leads to superlow forces. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 5826–5831.

Sanger A. M., and Stoiber W. 2001. Muscle fiber diversity and plasticity. In “Fish Physiology: Muscle Development and Growth” (Johnston, I. A., Ed.), Vol. 18, pp. 187–250. Academic Press, London.

Schurmann H. and Steffensen J. F. 1994. Spontaneous swimming activity of Atlantic cod *Gadus morhua* exposed to graded hypoxia at three temperatures. *Journal of Experimental Biology.* 197, 129-142.

Sears M.W., Hayes J.P., Banta, M.R. & McCormick, D. 2009. Out in the cold: physiological capacity influences behaviour in deer mice. *Functional Ecology*, 23, 774–783.

Shadwick R. E., Katz S. L., Korsmeyer K. E., Knowler T., and Covell J. W. 1999. Muscle dynamics in

- skipjack tuna: Timing of red muscle shortening in relation to activation and body curvature during steady swimming. *J. Exp. Biol.* 202, 2139–2150.
- Shapiro J. 1998. Food of the thin-lipped grey mullet (*Liza ramada*) in Lake Kinneret, Israel. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh* 50, 3–11.
- Sih A. 1982a. Foraging strategies and the avoidance of predation by aquatic insect. *Ecology* 63, 786–796.
- Sih A. 1982b. Optimal patch use: variation in selective pressure for efficient foraging. *American Naturalist* 120, 666–685.
- Sih A., Bell A. M., Johnson J. C. & Ziemba R. E. 2004. Behavioural syndromes: an integrative overview. *Quarterly Review of Biology*, 79, 241–277.
- Sisson J. E., and Sidell B. D. 1987. Effect of thermal acclimation on muscle fiber recruitment of swimming striped bass (*Morone saxatilis*). *Physiol. Zool.* 60, 310–320.
- Smith T.B. and Skúlason S. 1996. Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 27, 111–113.
- Sovrano V. A., Dadda M. & Bisazza A. 2005 Lateralized fish perform better than nonlateralized fish in spatial reorientation tasks. *Behav. Brain Res.* 163, 122–127.
- Stamps J. A. 2007. Growth-mortality tradeoffs and ‘personality traits’ in animals. *Ecology Letters*, 10, 355–363.
- Stearns S. C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*. 3, 259–268.
- Stephens D. W., and J. R. Krebs. 1986. Foraging theory. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Stobutzki I. C. and Bellwood D. R. 1994. An analysis of the sustained swimming abilities of pre- and post-settlement coral reef fishes. *J. Exp. Biol. Ecol.* 175, 275–286.
- Sundt-Hansen L., Neregard L., Einum S., Hojesjø J., Björnsson B.T., Hindar K., Økland F. & Johnsson J. I. 2009. Growth enhanced brown trout show increased movement activity in the wild. *Functional Ecology*, 23, 551–558.
- Swanson C., Young P. S. and Cech J. J., Jr. 1998. Swimming performance of Delta smelt: Maximum performance, and behavioral and kinematic limitations on swimming at submaximal velocities. *J. Exp. Biol.* 201, 333–345.

- Takeuchi Y. & Hori M. 2008. Behavioural laterality in the shrimp-eating cichlid fish *Neolamprologus fasciatus* in Lake Tanganyika. *Animal Behaviour*. 75, (1359-1366).
- Taylor, E. B., and McPhail, J. D. 1986. Prolonged and burst swimming in anadromous and freshwater threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Can. J. Zool.* 64, 416–420.
- Vallortigara, G. & Rogers, L. 2005. Survival with an asymmetrical brain: advantages and disadvantages of cerebral lateralization. *Behavioral and Brain Sciences*, 28, 575-633.
- Vamosi, S. M. 2005. On the role of enemies in divergence and diversification of prey: a review and synthesis. *Canadian Journal of Zoology*. 83, 894–910.
- Vanhooydonck, B., Van Damme, R. and Aerts, P. 2001. Speed and stamina trade-off in lacertid lizards. *Evolution*, 55, 1040–1048.
- Videler, J. J. 1993. *Fish Swimming*. Chapman and Hall, London.
- Volkoff H. & Peter R. E. 2006. Feeding behavior of fish and its control. *Zebrafish* 3 (2), 131-140.
- Wakeling, J. A. 2006. Fast-start mechanics. In *Fish biomechanics*, R. E. Shadwick and G. V. Lauder (Eds.), pp. 333-368. San Diego: Academic Press.
- Walker, J. A., Ghalambor, C. K., Griset, O. L., McKenney, D. and Reznick, D. N. 2005. Do faster starts increase the probability of evading predators? *Funct. Ecol.* 19, 808–815.
- Watkins, 1996;
- Watson, M., Aebischer, N.J. & Cresswell, W. 2007. Vigilance and fitness in grey partridges *Perdix perdix*: the effects of group size and foraging-vigilance trade-offs on predation mortality. *Journal of Animal Ecology*, 76, 211–221.
- Webb P. W. 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American Zoologist*. 24, 107–120.
- Webb P. W. 1986. Effect of body form and response threshold on the vulnerability of four species of teleost prey attacked by largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43, 763–771.
- Webb P. W. 1994. The biology of fish swimming. In *Mechanics and physiology of animal swimming* (Maddock, L., Bone, Q. and Rayner, J.M.V. ed.) Cambridge Univ. Press, Cambridge. 45-62.
- Webb P. W. 1998. Swimming. In *The Physiology of Fishes*, Evans D. H., (Eds.), 3–24. New York: CRC Marine Science Series.
- Weihs D. 1973. The mechanism of rapid starting of slender fish. *Biorheology* 10, 343–350.

- Weihs D. and Webb P. W. 1983. Optimization of locomotion. In: Fish Biomechanics, P.W. Webb and Weihs (Eds). Praeger, New York, 339-371.
- Werner, E. E. & Anholt, B. R. 1993. Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality-rates mediated by foraging activity. *Am. Nat.* 142, 242–272.
- Wilson, D. S., Clark, A. B., Coleman, K. & Dearstyne, T. 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, 442–446
- Ydenberg, R.C. and L.M. Dill. 1986. The economics of fleeing from predators. *Advances in the Study of Behaviour*. 16: 229-249.
- Yliff M.Y. and Poncin P. 2003. Quantifying spontaneous swimming activity in fish with a computerized color video tracking system, a laboratory device using last imaging techniques. *Fish Physiology and Biochemistry*. 28, 281-282.
- Young, P. S. and Cech, J. J. 1993. Improved growth, swimming performance, and muscular development in exercise-conditioned young-of-the- year striped bass (*Morone saxatilis*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50, 703- 707.
- Zenkevich L.A., 1963. Biology of the seas of the USSR. – Izd. AN SSSR, Moscow, pp.739 (in Russian).
- Zottoli, S.J. 1978. Comparison of Mauthner cell size in teleosts. *J Comp Neurol* 178, 741-57.
- Zismann, L., Berdugo, V. & Kimor, B., 1975. The food and feeding habits of early stages of grey mullets in the Haifa Bay region. *Aquaculture*, 6: 69-75.