



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA

FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI
CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE
DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

**ANALISI DELLA DISTRIBUZIONE VERTICALE NEL SUBSTRATO
SABBIOSO DI DUE SPECIE DI POLICHETI APPARTENENTI AL
GENERE *OPHELIA* Savigny, 1818 LUNGO IL LITORALE PISANO**

Relatore

Prof. ALBERTO CASTELLI

Correlatore:

Dr. FERRUCCIO MALTAGLIATI

Candidata:

CLAUDIA CASTELLANI

ANNO ACCADEMICO 2005-2006

INDICE

Capitolo 1. INTRODUZIONE	Pag.
1.1 Inquadramento sistematico	3
1.2 Descrizione delle due specie	12
1.3 Scopo del lavoro	17
Capitolo 2. MATERIALI E METODI	
2.1 Località e periodi di campionamento	19
2.2 Tecniche di campionamento ed isolamento degli organismi	21
2.3 Tecniche di studio dei campioni raccolti	22
2.4 Analisi dei dati	22
Capitolo 3. RISULTATI e DISCUSSIONE	
3.1 Analisi dei campioni	26
3.2 Analisi dei dati raccolti	40
Capitolo 4. CONCLUSIONI	44
Capitolo 5. BIBLIOGRAFIA	46

1. INTRODUZIONE

1.1. INQUADRAMENTO SISTEMATICO

Secondo l'inquadramento sistematico più aggiornato gli Opheliidae (Rouse & Fauchald, 2001) comprendono 3 gruppi monofiletici corrispondenti in pratica alle sottofamiglie già definite da Grube (1850) e da Hartmann-Schroder (1965): Opheliinae, Ophelininae e Traviinae.

La famiglia degli ofelidi è stata revisionata varie volte a partire dalla sua istituzione; nel 1861 Malmgren ad esempio istituisce la famiglia Scalibregmidae e include in essa *Owenia* e *Scalibregma*, separandoli dagli Opheliidae dove erano stati inclusi da Grube. Negli schemi più aggiornati, gli Ophelidae insieme agli Scalibregmatidae (attuale denominazione degli Scalibregmidi citati in precedenza) appartengono all'ordine Opheliida (Fassari, 1989; Vieitez *et al.*, 2004) o vengono considerati appartenenti al clade Scolecida insieme ad alcune altre famiglie affini (Rouse & Fauchald, 2001; Castelli *et al.*, 2006).

I policheti che appartengono alla famiglia Opheliidae presentano un corpo cilindrico dove è possibile distinguere anteriormente un prostomio conico che non presenta palpi ed antenne; il corpo è poi caratterizzato dalla presenza di setole capillari portate da parapodi ridotti o assenti e da una faringe estroflessibile.

Il resto del corpo può presentare più o meno branchie cirriformi ed una doccia ventrale che percorre tutta la lunghezza del corpo; nel genere *Ophelia* Savigny, 1818 la doccia ventrale è presente solo nella parte posteriore. Posteriormente il corpo termina con un tubo anale sviluppato con o senza papille.

Nella famiglia Opheliidae, il genere *Ophelia* si riconosce per la distinzione lungo il corpo di due regioni; una anteriore rigonfia e cilindrica ed una posteriore con una profonda doccia ventrale e due laterali. Il prostomio è piccolo, conico ed appuntito, privo di appendici, con 3-4 occhi nascosti dal tegumento. Il faringe è estroflessibile. La regione anteriore è formata da 8-10 setigeri abbranchiati. I segmenti successivi presentano ciascuno un paio di branchie cirriformi, assenti invece negli ultimi setigeri. I parapodi sono ridotti e da essi si diparte un fascio di neurosetole e notosetole capillari semplici. Il corpo termina con due grosse papille anali che sono il prolungamento dei rigonfiamenti laterali e molte papille più semplici (Fauvel, 1927).

Le diverse specie presenti all'interno del genere *Ophelia* sono state distinte considerando in particolar modo il numero e la disposizione delle branchie ed il numero totale dei segmenti che vanno da 26 a 40 a seconda della specie; il numero delle branchie si ritiene invece sia abbastanza costante all'interno di ogni singola specie. Nella monografia sui policheti sedentari della "Faune de France", Fauvel (1927) riconosce:

- *Ophelia limacina* (Rathke, 1843) che possiede più di 20 paia di branchie
- *Ophelia neglecta* (Schneider 1887) con 18 paia di branchie
- *Ophelia bicornis* Savigny, 1822 con 15 paia di branchie
- *Ophelia radiata* Delle Chiaje, 1827 con 14 paia di branchie
- *Ophelia radiata* varietà *barquii* Fauvel, 1927 con 13 o 12 paia di branchie

Tale classificazione è stata successivamente oggetto di discussione da parte di vari autori; anche se gli studi su alcune specie della famiglia Opheliidae ed in particolare del genere *Ophelia*, sono numerosi, ci sono stati a lungo molti problemi che riguardano la classificazione sia a livello generico che specifico, a causa della grande variabilità di alcuni caratteri. Si tratta di caratteri morfologici considerati da alcuni Autori basilari per

la differenziazione dei vari *taxa* ed eventualmente per la creazione di nuovi mentre da altri sono considerati caratteri la cui variabilità può rientrare nella variabilità fenotipica di una singola specie.

Nel 1925 Fauvel ha analizzato esemplari di *O. bicornis* Savigny e *O. radiata* Delle Chiaje provenienti dalle coste della Francia e ha diviso gli esemplari appartenenti alle due specie solo in base al numero di branchie: 15 paia per *O. bicornis* e 14 paia per *O. radiata*. Egli stesso si è posto il problema se si trattasse di due specie distinte o solamente di due morfotipi geografici in quanto, durante il suo studio, ritrova un esemplare provvisto di 14 paia di branchie che attribuisce ad *O. bicornis* e non ad *O. radiata* solo perché viene ritrovato insieme ad un gruppo di *O. bicornis* con 15 paia di branchie.

In un secondo momento Fauvel (1927) ha riconosciuto all'interno della specie *O. radiata* la varietà *barquii* che si differenzia per il numero di paia di branchie che può essere 13 ma può ridursi a 12 e persino a 11 paia. Fauvel considera però la varietà *barquii* di *O. radiata* soltanto una varietà locale e non una specie distinta.

Per quanto riguarda il genere *Ophelia*, successivamente, Tebble (1953) ha proposto una formula che utilizza, come caratteri di primaria importanza, la posizione ed il numero dei setigeri con e senza branchie:

$$X_a + X_b + X_c + X_n$$

Dove X indica il numero dei segmenti ed in sequenza antero-posteriore

- a) il numero dei setigeri anteriori senza branchie
- b) il numero di setigeri con branchie
- n) il numero dei segmenti posteriori senza setole

Giordani-Soika (1955) dopo uno studio sul genere *Ophelia* mette in evidenza l'esistenza di differenti "fenotipi" o "razze" all'interno delle popolazioni di *O. radiata* Delle Chiaje ed ammette l'esistenza di due specie distinte. Egli distingue all'interno di *O. radiata* 3 gruppi:

1) Razza A: a livello della quale il primo paio di branchie compare nel XI setigero.

Questa razza si suddivide in:

"forma atlantica": animali con 15 o 14 paia di branchie

"forma mediterranea": animali con 13 o 12 paia di branchie

2) Razza B in cui il primo paio di branchie compare nel XII setigero. Essa mostra solo la forma "mediterranea" con 14, 13 o 12 paia di branchie

3) Razza C (solo 11 esemplari rinvenuti lungo le coste del Promontorio del Circeo) in cui il primo paio di branchie compare nel XII setigero. In 10 individui ci sono 12 paia di branchie, nell'undicesimo solo 11 paia.

Nel Mediterraneo però, sempre secondo Giordani-Soika, si trovano distribuite senza alcuna specificata delimitazione geografica, forme cosiddette "atlantiche" e "mediterranee" della razza A e forme mediterranee della razza B. Egli non sembra tenere in considerazione la varietà *barquii* che farebbe parte indifferentemente dell'una o dell'altra forma.

Nel 1961 Bellan propone di considerare *O. bicornis*, *O. radiata* ed *O. radiata barquii* come appartenenti ad una singola specie polimorfica. Altri autori come Laubier & Paris (1962), non condividono il punto di vista di Bellan e considerano *O. bicornis* ed *O. radiata* due specie distinte.

Cantone e Costa (1975) hanno effettuato successivamente uno studio su una popolazione mediterranea raccolta in un'area localizzata nella Sicilia Orientale. Negli

esemplari raccolti sono analizzati, oltre alle branchie, altri due caratteri che fino a questo momento nessun Autore aveva preso in esame e cioè il numero di papille parietali e quello delle papille che circondano il retto. In questo modo essi prevedevano di poter disporre di un valido strumento, consistente nel tipo di distribuzione delle papille perianali e rettali, con il quale testare il valore della variabilità delle branchie. L'esame delle branchie ha mostrato l'esistenza di una enorme variabilità sia per quel che riguarda il numero sia per la loro disposizione lungo il corpo. Anche a livello del numero delle papille rettali e perianali si è osservato una notevole variabilità.

Il numero delle papille rettali ha presentato valori variabili da 2 a 12; quello delle papille perianali variava da 11 a 23 e la classe più rappresentata tra i 500 organismi esaminati è stato quella con 16 papille.

Con questo studio dunque gli Autori non hanno riscontrato alcuna correlazione tra i caratteri numero di branchie e numero di papille ed hanno sostenuto che gli esemplari esaminati che costituiscono una popolazione ben definita, appartenevano ad un'unica specie (*O. bicornis*) e che tale specie aveva un elevato grado di polimorfismo, non accettando dunque la suddivisione proposta da Giordani-Soika.

Pilato *et al.* (1978) hanno osservato numerosi esemplari di *Ophelia* provenienti dalla costa orientali della Sicilia ed hanno messo in evidenza che tali esemplari non corrispondono esattamente alla descrizione di *O. bicornis* fatta da Cantone e Costa per caratteri diversi dal numero di branchie per il quale, invece, rientrerebbero in modo perfetto nell'ambito della variabilità individuale segnalata per tale specie. Il carattere principale per il quale gli esemplari presi in considerazione differiscono da *O. bicornis* è dato dal numero di nefridiopori che sono soltanto 5 paia invece di 6 paia. Questa differenza è stata considerata molto importante e per Pilato *et al.* (1978) può rappresentare un valido strumento per giustificare una separazione a livello specifico, in

quanto in nessuna specie di *Ophelia* era stata finora riscontrata variabilità individuale a carico del numero di pori nefridiali. Già Tebble (1953) aveva affermato che la posizione ed il numero dei nefridiopori all'interno di ogni singola specie rimane costante.

In tutti gli animali esaminati da Pilato *et al.* (1978), il numero dei pori nefridiali è costante (5), quindi questa popolazione siciliana deve essere considerata come una specie differente da quella, più comune, caratterizzata da 6 paia di pori nefridiali.

Dopo aver condotto uno studio più approfondito tra *O. bicornis*, *O. radiata* e *O. radiata barquii* provenienti da diverse località italiane ed europee, gli stessi autori hanno appurato che *O. radiata* non è distinguibile da *O. bicornis* e che tale specie possiede sempre 6 paia di nefridiopori. Anche esemplari con 13 paia di branchie e quindi identificati come *O. radiata* varietà *barquii*, hanno 6 paia di nefridiopori ad eccezione di 3 esemplari provenienti dalle coste inglesi che presentano 5 paia di pori nefridiali e corrispondono esattamente ai campioni siciliani.

Dunque per Pilato *et al.* (1978) *O. radiata barquii* va considerata non una varietà di specie passata in sinonimia con *O. bicornis* ma una specie che va denominata *Ophelia barquii* Fauvel, 1927.

Britton *et al.* (1982) usando metodi biochimici su popolazioni atlantiche di *Ophelia* mettono in rilievo la presenza di due specie distinte, caratterizzate da alleli differenti, che possono corrispondere ad *O. bicornis* provvista di 6 paia di nefridiopori e *O. barquii* con 5 paia. Questa differenziazione sembrerebbe essere dovuta ad un fenomeno di “speciazione ecologica” in cui la selezione naturale a livello di micro-habitat ha forse giocato un ruolo primario nella differenziazione delle due specie.

Recentemente (Maltagliati *et al.*, 2004, 2005; Casu *et al.*, 2005) hanno messo in risalto una serie di differenze genetiche fra gli individui provvisti di 6 paia di nefridiopori e quelli provvisti di 5 paia di nefridiopori, analizzando campioni provenienti da diverse

località del mediterraneo occidentale ed in particolare dalle coste della Corsica, della Sardegna e della Toscana; in alcune delle località prese in esame le due specie sono state rilevate in apparente simpatria.

Un successivo studio, condotto da Iraci Sareri (2006) nell'ambito della preparazione della tesi di dottorato, che ha preso in esame anche popolazioni provenienti dalle coste della Sicilia, ha confermato l'esistenza delle differenze suddette fra le due specie appartenenti al genere *Ophelia* ed ha permesso di formulare un'ipotesi su un'eventuale separazione di habitat tra le due specie secondo la quale *O. bicornis* colonizza le aree più superficiali e più umettate dalle acque, mentre *O. barquii* colonizza le aree poste ai livelli superiori della fascia di marea, potendo sopravvivere solo negli strati relativamente profondi del substrato dove l'umettazione è comunque assicurata costantemente.

Iraci Sareri (2006) ha basato le sue considerazioni sui risultati di una serie di rilievi e di esperimenti volti a valutare l'influenza della variazione di alcuni parametri sulla distribuzione delle due specie. Poichè entrambe le specie di *Ophelia* vivono infossate nel substrato senza rapporti diretti con la superficie, se non per motivi riproduttivi o accidentali dovuti al mescolamento del substrato in seguito a condizioni idrodinamiche elevate, è stato ritenuto interessante verificare le risposte adattative degli animali ai diversi fattori che caratterizzano l'habitat delle due specie.

Le acque superficiali del Mediterraneo sono caratterizzate da temperature che variano dai 12-14° C in inverno ai 24-28° C durante i periodi estivi-autunnali. Entrambe le specie non risentono, nel loro habitat naturale, direttamente di tali variazioni in quanto l'ambiente che li circonda attutisce le escursioni termiche.

Più probabile è una loro risposta al diverso grado di insolazione che durante il giorno varia notevolmente entro un lasso ristretto di tempo.

Per stabilire la temperatura della sabbia è stato usato un termometro che veniva alloggiato nel sedimento alla profondità di 10 cm. Tali misure hanno permesso di stabilire che a tale profondità la temperatura dell'aria non influisce significativamente sulle condizioni che si creano negli spazi interstiziali del substrato.

Il fatto di vivere in un ambiente interessato sia da fenomeni di essiccazione (insolazione) che di dilavamento (piogge) pone queste specie tra le eurialine, anche se si è visto che le variazioni di salinità del substrato vengono notevolmente attutite entro i primi 10 cm di profondità. Generalmente le specie di *Ophelia* vivono in un ambiente con salinità compresa tra 35 e 39 PSU. Misure ambientali del pH hanno mostrato un intervallo compreso tra 7,5 e 9.

I risultati delle analisi granulometriche hanno mostrato che tutte le località prese in esame presentavano sedimenti sabbiosi di granulometria medio fine e concordano con i dati forniti in letteratura relativi alla presenza di *Ophelia bicornis sensu lato* in ambienti caratterizzati da sabbie medio-fini. La granulometria del substrato non si modificava sensibilmente lungo il profilo del sedimento, almeno per i primi 30-40 cm.

Mentre una serie di studi di Wilson (1948, 1952, 1953a, 1953b, 1954, 1955) ha messo in evidenza che esiste un evidente fattore selezionante che induce le forme giovanili a metamorfosare, e quindi, a stabilirsi preferenzialmente presso sedimenti in cui siano insediate le popolazioni parentali, è stato possibile verificare che gli individui adulti non mostrano esigenze così ristrette.

Diversi dati in letteratura hanno evidenziato che gli individui di *Ophelia bicornis sensu lato* risentono in maniera notevole del grado di umettazione del substrato, Wilson (1948) ha rilevato che i periodi di sopravvivenza in laboratorio aumentavano sensibilmente se le sabbie contenenti gli individui venivano periodicamente sommerse e

fatte percolare nelle ore successive (così facendo egli riuscì a mantenere in vita, per 2-3 settimane, popolazioni stabili su cui condurre studi sulla biologia riproduttiva).

Le osservazioni riportate da Iraci Sareri (2006), basate su dati bibliografici e sui risultati del suo studio forniscono però informazioni solo indicative riguardo ai fattori che possono discriminare l'habitat preferenziale delle due specie quando sono presenti in "apparente" simpatria.

Tali dati però sono derivati da informazioni bibliografiche e da considerazioni effettuate sul diverso comportamento delle due specie in habitat differenti; lungo le spiagge della Sicilia analizzate da Iraci Sareri infatti, le due specie si trovano in località differenti e solo raramente e, probabilmente per cause accidentali, sono state ritrovate in simpatria (Iraci Sareri, 2006).

1.2. DESCRIZIONE DELLE DUE SPECIE PRESE IN ESAME

Ophelia barquii Fauvel, 1927

Descrizione

Specie caratterizzata da un ampio intervallo di dimensioni. Il corpo è fusiforme di colore rosso metallico con sfumature iridescenti, una marcata annulazione secondaria è presente nella regione toracica ma diventa meno evidente nella regione addominale.

Il prostomio di forma conica è ridotto, sono visibili una coppia di organi nucali e 2-3 occhi subepidermici (visibili per trasparenza solo negli esemplari giovanili).

Il torace è cilindrico e presenta dei limiti ben marcati a livello del decimo setigero dove sono presenti due vistose estroflessioni laterali di natura ghiandolare che separano nettamente le due regioni corporee. Una profonda doccia ventrale e due solchi laterali caratterizzano la regione addominale, più assottigliata e composta da 22 setigero (Fig. 1.1A).

Complessivamente il corpo è costituito da 32 setigero. Le branchie sono semplici, coniche e lunghe possono infatti superare il margine dorsale del corpo, in genere il primo e l'ultimo paio sono più brevi.

Il numero delle branchie presenta una certa variabilità, infatti esso oscilla tra 11 e 15; sono frequenti anche casi di asimmetria. Cinque coppie di nefridiopori sono visibili sui segmenti 12-16. La bocca si apre sulla superficie ventrale a livello del primo setigero (Fig. 1.1B).

Le setole sono tutte capillari, nei setigero della regione anteriore esse sono brevi (specie nel primo) e non si notano apprezzabili differenze di lunghezza tra quelle dorsali e quelle ventrali (noto e neurosetole), ad eccezione dei setigero caudali dove le setole

notopodiali appaiono notevolmente più lunghe; dal ventinovesimo all'ultimo setigero le setole sono tutte lunghissime e racchiudono il pigidio in una sorta di gabbia caudale. Organi laterali sono già visibili nel torace ma diventano più evidenti nell'addome. I parapodi sono biramosi ma estremamente ridotti; non si osservano lobi post- o presetali attigui ai fasci di setole. Non si hanno fenestrazioni branchiali. I segmenti anali generalmente retratti sono di diametro ridotto e privi di creste. Il pigidio presenta due vistose papille ventrali coniche con apice leggermente smussato e talvolta debolmente articolate (Fig. 1.1E-F) ed una corona dorsale di papille coniche il cui numero oscilla tra 7 e 20.

Durante la maturità sessuale le femmine appaiono di colore verde scuro a causa dell'enorme numero di uova pigmentate che riempiono la cavità celomatica; similmente i maschi assumono diversa tonalità di rosa fino al bianco a causa degli spermatogoni liberamente fluttuanti nella cavità corporea.

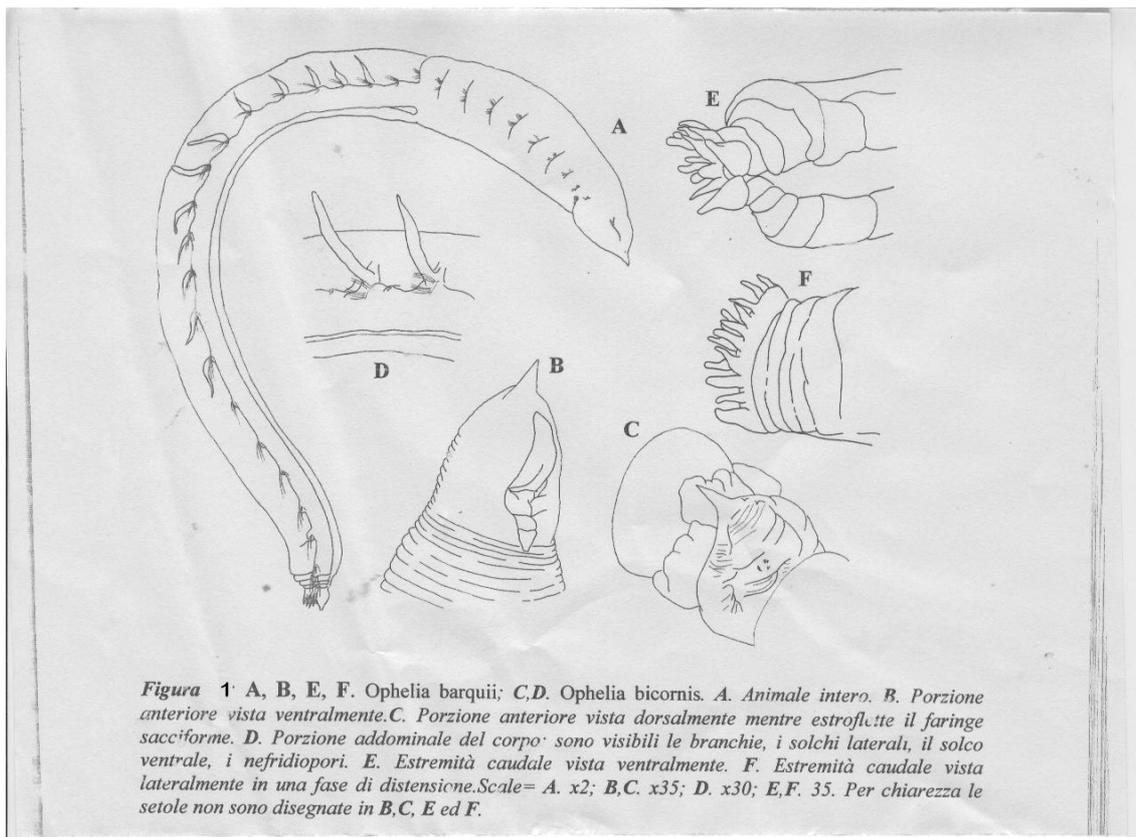
FORMULA BRANCHIALE: È opportuno distinguere questa specie con la formula ricavata dalla descrizione del materiale tipico di Fauvel che istituì questo taxon su esemplari forniti di 13 paia di branchie a partire dall'undicesimo segmento setigero:

$$10a + 13b (2b - 6b) + 9a = 32$$

come emerge dalla descrizione questa specie è caratterizzata da un'elevata variabilità riguardante il numero e la disposizione delle branchie. Ciononostante presenta come caratteri distintivi: un torace formato da 10 setigero, un addome formato da 22 setigero, 5 coppie di nefridiopori a partire dal dodicesimo setigero ed il rigonfiamento glandulare

del decimo setigero; sono inoltre sempre assenti le creste dorsali, le fenestrazioni branchiali ed eventuali segmenti preanali acheti.

ECOLOGIA: si tratta di una specie intertidale diffusa in sabbie fini e medio-grossolane, generalmente presso il limite dell'alta marea entro 10-40 cm dal sedimento.



Ophelia bicornis Savigny 1818

Descrizione

La specie è caratterizzata da una lunghezza di circa 4-10 cm. Il corpo appare classicamente fusiforme. Il colore è rosso metallico negli individui che non sono in fase riproduttiva, tendenzialmente verde nelle femmine e bianco nei maschi maturi sessualmente.

Presenta un prostomio piccolo ed appuntito, una coppia di organi nicali, 2-3 occhi subepidermici visibili solo negli esemplari più giovani, 32 setigeri (torace con 10 ed addome con 22), i solchi laterali e ventrale distinguibili a partire dal decimo segmento che a sua volta presenta un caratteristico rigonfiamento glandulare ai lati. Sono assenti le creste dorsali sugli ultimi segmenti e le fenestrazioni branchiali. Sono caratteristiche invece le 6 coppie di nefridiopori presenti sui setigeri 12-17 (Fig. 1.1D) e le papille perianali leggermente più allungate rispetto alla specie precedente.

Organi laterali sono variamente visibili sui setigeri addominali. Il primo setigero, quasi indistinguibile è collocato in corrispondenza dell'apertura boccale; i parapodi sono biramosi ed estremamente ridotti, non sono presenti lobi pre- o postsetali.

Anche questa specie presenta una spiccata variabilità nel numero delle branchie da 12 a 15. Il materiale tipico presenta 15 branchie a partire dall'undicesimo setigero.

FORMULA BRANCHIALE: per motivi già esposti relativamente al taxon precedente si ritiene opportuno caratterizzare questa specie con la formula:

$$10a + 15b * (2b - 7b) + 7a = 32$$

ECOLOGIA: questa specie è ritenuta abbastanza comune nelle sabbie mesolitorali delle coste sabbiose del Mediterraneo e dell'Atlantico.

In entrambi i casi, come più in generale nelle specie del genere *Ophelia*, si tratta di organismi limnivori che si nutrono di materiale organico che trovano sul fondo ingerendo direttamente la sabbia nella quale scavano e traendo proprio da questa la componente organica che viene utilizzata (Barnes, 1972).

1.3. SCOPO DEL LAVORO

Questo lavoro si è basato sulla separazione delle due specie (*O. bicornis* e *O. barquii*) in base al numero di nefridiopori (5+5 e 6+6), proposta da Pilato *et al.* (1978) e confermata dalle ricerche recentemente condotte da Maltagliati *et al.* (2004, 2005) che hanno rilevato distanze genetiche che corrispondono a quelle esistenti tra specie diverse. In base a tali studi è stato possibile quindi rilevare la presenza nel Mediterraneo Occidentale di *Ophelia bicornis* Savigny e *Ophelia barquii* Fauvel rispettivamente con 6 e 5 paia di nefridiopori.

Data l'elevata potenzialità di dispersione larvale dovuta al fatto che tali specie hanno una fase larvale pelagica che può durare diverse settimane e quindi la possibilità di assicurare un elevato flusso genico anche a grandi distanze, si ritiene che il classico modello di speciazione allopatrica sia da escludere.

Invece è più plausibile che possa essere avvenuta una speciazione ecologica, in cui la selezione naturale a livello di micro-habitat ha probabilmente giocato un ruolo importante nella differenziazione di queste specie.

Esistono vari fattori che potrebbero in qualche modo regolare la presenza e/o la distribuzione di queste due specie che sembra vivono a contatto tra di loro (Iraci Sareri, 2006). Fra questi appaiono particolarmente rilevanti ad esempio:

- la sostanza organica
- la granulometria del sedimento
- la posizione nella zona di marea; questo fattore in alcuni casi può essere importante, come ad esempio quando l'escursione della marea è ampia; questo però non è il nostro caso.

Lungo le coste del litorale pisano, questi fattori non sembrano discriminare habitat differenti in cui possano vivere le due diverse specie, come del resto era stato rilevato anche lungo le coste della Sicilia da Iraci Sareri (2006), secondo cui solo l'ultimo dei tre fattori precedentemente citati (la posizione della specie all'interno della zona intermareale) potrebbe avere qualche importanza discriminante.

Lo scopo di questo lavoro è quindi quello di andare a valutare l'influenza di altri fattori nel determinare la distribuzione delle due specie ed in particolare di valutare se le due specie si distribuiscono diversamente lungo il profilo del sedimento, altro gradiente citato nello studio suddetto, in cui però, come già rilevato nell'Introduzione, non sono state confrontate popolazioni delle due specie presenti in simpatria.

2. MATERIALI E METODI

2.1. Località e periodi di campionamento

Lo studio sulla distribuzione spaziale degli individui potenzialmente appartenenti alle due specie precedentemente citate del genere *Ophelia* è stato condotto su campioni raccolti tra Febbraio 2005 e Ottobre 2005 provenienti da 2 spiagge situate lungo le coste toscane adiacenti alla foce del Fiume Arno: la spiaggia di Tirrenia e quella di San Rossore (Fig. 2.1).

In ciascuna località i campionamenti sono stati effettuati più precisamente nei seguenti siti:

Tirrenia

- Bagno Nettuno
- Bagno Roma

San Rossore

- Fiume Morto
- Gombo

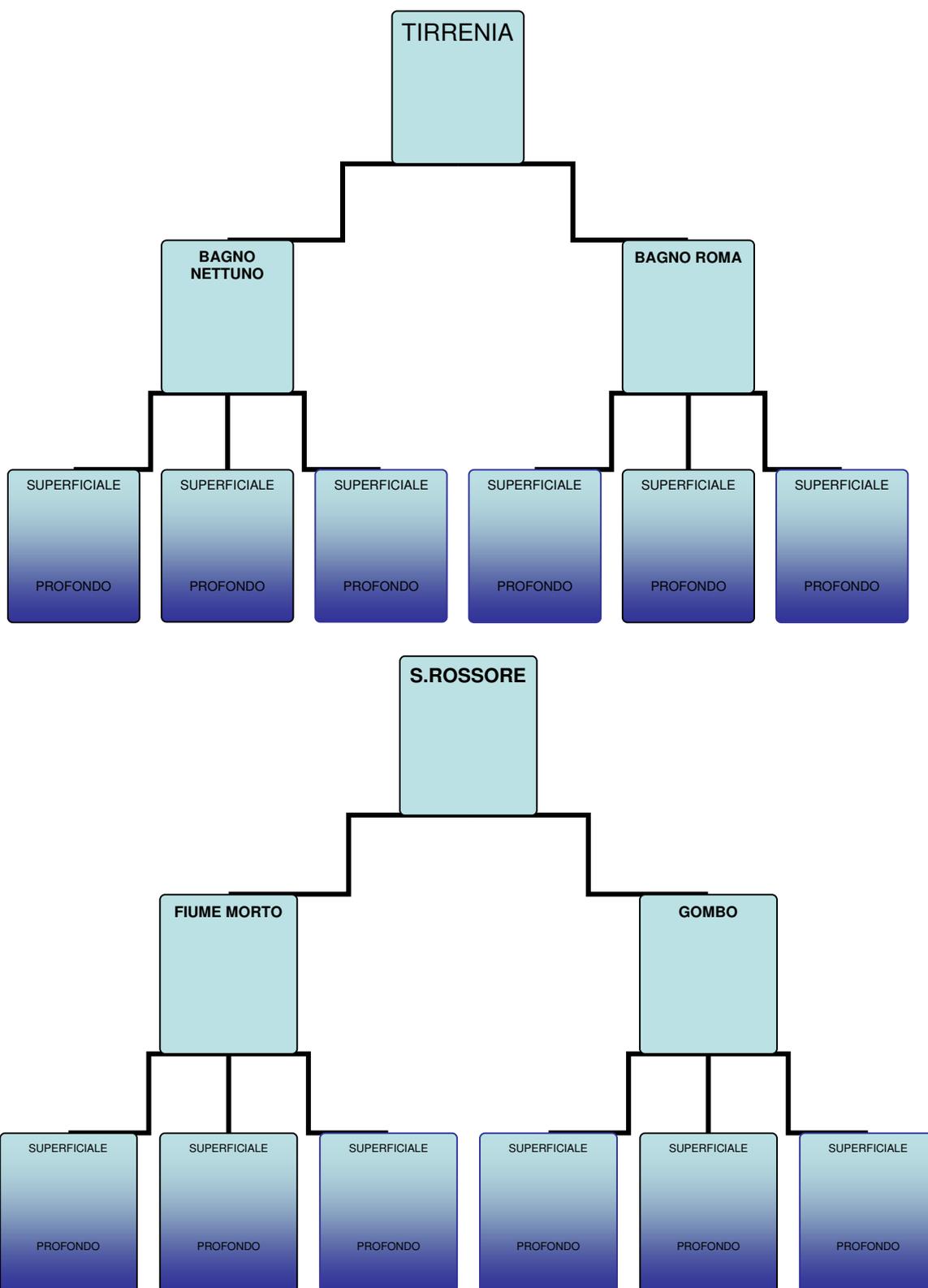


Fig. 2.1. Schema di campionamento. Il campionamento è stato replicato stagionalmente per un periodo che va da Febbraio ad Ottobre.

Sono state svolte 4 campagne di campionamento nel periodo suddetto e in particolare nei mesi di Febbraio, Maggio, Agosto e Ottobre 2005.

2.2. Tecniche di campionamento ed isolamento degli organismi

Il campionamento è stato effettuato nelle località suddette tramite un carotatore in grado di penetrare all'interno del substrato sabbioso della zona di battigia fino alla profondità di 30 cm.

Per ogni periodo di campionamento, in ogni sito sono state effettuate tre repliche scelte casualmente lungo la spiaggia al fine di rappresentare i popolamenti presenti. In ogni località sono stati raccolti quindi sei campioni, tre per sito.

Il carotatore cilindrico di plexiglas usato per il campionamento ha un diametro di circa 25 cm ed è graduato esternamente. Il carotatore è stato scelto dopo una serie di studi pilota, effettuati tra Ottobre 2004 e Gennaio 2005, che hanno permesso di individuare uno strumento di dimensioni adatte a raccogliere un numero significativamente elevato di ofelie. Durante gli studi pilota è stato possibile inoltre verificare la presenza di entrambe le specie nei quattro siti prescelti per lo studio previsto.

Le carote di sedimento estratte sono state divise, durante l'estrazione stessa, in due diverse frazioni corrispondenti a cilindri di sedimenti di sabbia dell'altezza di 15 cm.

Tale livello è sembrato il più adatto in quanto, almeno nei campionamenti effettuati tra Ottobre 2004 e Gennaio 2005, ha permesso il ritrovamento di individui in entrambi gli strati e, almeno un' apparente segregazione quasi totale di una delle due specie (*O. barquii*) nello strato profondo.

Ciascuna frazione è stata setacciata con un setaccio con maglie di 1 mm. Gli esemplari appartenenti al genere *Ophelia* contenuti nelle due diverse frazioni sono stati isolati e

conservati in contenitori di plastica da 1 L contenenti una piccola quantità di sabbia dello stesso sito e acqua di mare.

2.3. Tecniche di studio dei campioni raccolti

In laboratorio sono stati identificati gli organismi raccolti, distinguendo quelli appartenenti a *O. bicornis* da quelli appartenenti a *O. barquii*. L'identificazione, effettuata con l'ausilio di uno stereomicroscopio, è stata effettuata su base morfologica eseguendo il conteggio dei nefridiopori presenti in ciascun individuo; come messo in evidenza nell'introduzione, le due specie sono infatti caratterizzate dal differente numero di paia di pori nefridiali: strutture addominali distribuite lungo la regione mediana del corpo in posizione interbranchiale, costituite da fessure ovoidali costituenti la posizione emergente dei dotti nefridiali; in *O. bicornis* ce ne sono 6 paia, in *O. barquii* 5.

Per facilitare l'osservazione dei caratteri morfologici è stato necessario fissare gli animali in etanolo a 70°; un tentativo di individuare i pori nefridiali negli animali anestetizzati in una soluzione di Cloruro di Magnesio all'8% non è infatti andato a buon fine a causa della difficoltà di individuare il carattere distintivo negli organismi così trattati.

2.4. Analisi dei dati

Al fine di ottenere una rappresentazione grafica delle relazioni fra i campioni raccolti, basata sulla differente distribuzione delle due specie identificate in base alla loro differenza morfologica, i dati sono stati ordinati in uno spazio bidimensionale mediante

multidimensional scaling (MDS). Tale tecnica di ordinamento può essere usata per ottenere una rappresentazione grafica di una matrice di similarità (o dissimilarità) contenente le relazioni tra diverse variabili prese in esame (Shepard, 1962a, 1962b; Kruskal, 1964a, 1964b). Un insieme di campioni può essere pensato come un insieme di informazioni in uno spazio multidimensionale le cui dimensioni sono rappresentate dalle frequenze morfologiche. L'MDS è adatto per ridurre le relazioni multidimensionali tra campioni a poche dimensioni senza una significativa perdita di risoluzione. Mediante l'MDS possono essere descritte le relazioni tra diverse variabili in maniera più efficace rispetto alle tecniche di classificazione mediante una rappresentazione in cluster. L'MDS riesce a trovare un insieme di punti in un numero ridotto di dimensioni, in maniera tale che le distanze in questo spazio a minor numero di dimensioni siano in relazione monotonica con le similarità (o dissimilarità). In generale per un determinato numero di dimensioni la monotonicità non può essere completamente soddisfatta ed è quindi necessario un mezzo per poter valutare il livello al quale una configurazione soddisfa queste richieste.

A questo proposito Kruskal (1964a, 1964b) ha introdotto una misura denominata "stress" che può assumere valori che vanno da zero ad uno, quindi la configurazione migliore è quella che minimizza lo "stress". La tecnica di minimizzazione dello "stress" è descritta in dettaglio da Kruskal (1964b): sostanzialmente inizia da una configurazione iniziale arbitraria e procede in maniera iterativa, effettuando successivi aggiustamenti e correzioni alle coordinate in maniera tale da diminuire lo "stress". Nell'MDS le variabili sono ordinate secondo due o più dimensioni in maniera tale che le distanze relative tra di esse corrispondano il più possibile alle distanze originali esistenti tra di esse (Kruskal e Wish, 1978).

L'MDS permette di usare misure di distanza o similarità morfologica che sono specificatamente adatte al problema in questione.

Uno degli indici di similarità usati per l'analisi morfologica è la similarità di Bray-Curtis.

$$S_{jk} = 100 \left\{ 1 - \frac{\sum_{i=1}^p |Y_{ij} - Y_{ik}|}{\sum_{i=1}^p (Y_{ij} + Y_{ik})} \right\}$$

dove: Y_{ij} rappresenta l'entrata in i riga j colonna della matrice stessa

Y_{ik} rappresenta il conteggio per la specie i in k campione

$|Y_{ij} - Y_{ik}|$ rappresenta il valore assoluto della differenza tra i due valori

Le somme separate a livello del numeratore e denominatore sono entrambe sopra tutte le righe (specie) nella matrice.

Sulle matrici ottenute, per definire la relazione tra due "variabili", $1 -$ il valore di similarità calcolata col il precedente indice, è stata effettuata l'analisi del multidimensional scaling (MDS) considerando la distanza media presente tra gli individui all'interno di ciascuna popolazione.

Per questo studio è stato usato inoltre il test "t" di Student (per dati non appaiati), per confrontare la distribuzione delle due specie nelle diverse situazioni prese in esame.

Questo metodo viene usato per confrontare due medie. La formula di calcolo del valore t è la seguente:

$$t = \frac{m_a - m_b}{s \sqrt{n_a n_b / n_a + n_b}}$$

dove: $m_a - m_b$ corrisponde alla differenza tra le due medie

s corrisponde alla deviazione standard media

ed il rapporto all'interno della radice quadra corrisponde al fattore di dimensione.

Una volta trovato il valore t , esso va confrontato con quelli tabulati al fine di stabilire se la differenza fra le due medie non sia dovuta al caso.

La variabile casuale t di Student è una variabile casuale continua che deve il suo nome allo pseudonimo Student usato da William Sealy Gosset, che ideò l'omonimo test, mentre la variabile casuale stessa venne identificata da Ronald Fisher.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 ANALISI DEI CAMPIONI

Prendendo in esame i risultati relativi alle campagne svolte possiamo rilevare in prima analisi che in entrambe le località sono presenti, almeno apparentemente in simpatria, sia *O. bicornis* che *O. barquii*.

Analizzando in particolare la distribuzione delle due specie nelle due località e nei differenti periodi di campionamento possiamo osservare quanto segue.

Nel primo campionamento avvenuto nel mese di Febbraio 2005 sono stati raccolti a Tirrenia un totale di 56 individui la cui distribuzione è riportata nella Tab. 3.1.

Tab. 3.1

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
FEBBRAIO	B. NETTUNO	R1	Sup.	1	0	1
			Prof.	4	1	5
		R2	Sup.	5	0	5
			Prof.	4	3	7
		R3	Sup.	4	1	5
			Prof.	3	1	4
	B. ROMA	R1	Sup.	3	2	5
			Prof.	5	3	8
		R2	Sup.	1	1	2
			Prof.	1	1	2
		R3	Sup.	3	0	3
			Prof.	6	3	9
	TOTALE			40 (17-23)	16 (4-12)	56 (21-35)

Nel seconda località (San Rossore) sono stati raccolti invece solo 26 individui, presenti in questo caso solo nel sito Fiume Morto; nel sito Gombo, in cui erano stati rinvenuti

esemplari appartenenti al genere *Ophelia* durante gli studi pilota, non sono stati infatti raccolti individui appartenenti alle due specie prese in esame durante il campionamento di Febbraio 2005 (Tab. 3.2).

Analizzando le tabelle suddette, possiamo osservare che a Tirrenia sono stati raccolte ofelie in entrambi gli strati di tutte le sei repliche prelevate nei due siti. Andando più nel particolare, sono stati raccolti in tutti gli strati di tutte le repliche esemplari appartenenti ad *O. bicornis*; *O. barquii* è risultata invece assente nello strato superficiale di 2 repliche della località Bagno Nettuno e di una della località Bagno Roma. Si osserva comunque in generale una maggiore abbondanza e una più costante presenza di *O. bicornis*.

Analizzando la distribuzione lungo la profondità, vediamo infatti che sia nello strato superficiale che in quello profondo, *O. bicornis* è più abbondante (23) rispetto ad *O. barquii*.

Tab. 3.2

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
FEBBRAIO	FIUME MORTO	R1	Sup.	0	0	0
			Prof.	2	4	6
		R2	Sup.	2	2	2
			Prof.	7	2	9
		R3	Sup.	1	3	4
			Prof.	4	1	5
	GOMBO	R1	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
		R2	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
		R3	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
	TOTALE			16 (3-13)	12 (5-7)	26 (21-35)

Nella seconda località (S.Rossore) sono stati rinvenuti esemplari di ofelia solo il località Fiume Morto. L'abbondanza delle due specie è molto simile (*O. bicornis*) è solo leggermente più numerosa.

Per quel che riguarda la distribuzione verticale delle due specie lungo il sedimento vediamo che nella replica R1 a livello dello strato profondo *O.barquii* è più abbondante rispetto ad *O.bicornis*; mentre nello strato superficiale il numero di individui raccolti è risultato nullo.

Nella replica R2 a livello dello strato profondo le *O.bicornis* e *O.barquii* sono in rapporto di 3 a 1, nel senso che il numero di *O.bicornis* (7) è tre volte superiore a quello di *O.barquii* (2). A livello dello strato superficiale *O.bicornis* è assente e *O.barquii* è presente con due individui.

Durante la replica R3 a livello dello strato profondo il numero totale di individui raccolti è 5 suddiviso in 4 *O.bicornis* ed 1 *O.barquii*. Invece nello strato superficiale il numero di individui raccolti è 4 con una proporzione di 3 *O.barquii* e 1 *O.bicornis*.

Confrontando le due aree campionate possiamo osservare che il numero totale di individui raccolti nella area di Tirrenia è 56 mentre nella seconda area S. Rossore è di 26 tutti presenti nel primo sito di campionamento: la foce del fiume Morto.

Quindi da una prima analisi il numero degli individui raccolti a Tirrenia è maggiore rispetto a quelli prelevati a S. Rossore.

Per quel che riguarda la distribuzione delle due specie a livello dei due strati si notano differenze significative nelle due aree in quanto a livello dello strato superficiale dai dati ottenuti si evince che a Tirrenia il numero di *O. bicornis* è maggiore rispetto alle *O. barquii* o in ugual numero, invece a S. Rossore il numero di *O. barquii* è maggiore rispetto alle *O. bicornis* che in alcuni casi risultano anche assenti.

Nello strato profondo sia a Tirrenia che a S. Rossore *O. bicornis* è sempre in numero superiore rispetto alle *O. barquii* tranne che in un solo caso nel sito di S. Rossore nella replica R1.

Durante il secondo campionamento svoltosi nel mese di maggio, nella prima località (Tirrenia) sono stati raccolti in totale 47 individui, la cui distribuzione è riportata in Tab.

3.3. Nella seconda località (San Rossore), sono stati raccolti in totale 60 individui presenti in entrambi i siti presi in considerazioni e distribuiti come in Tab. 3.4.

Tab. 3.3

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
MAGGIO	B. NETTUNO	R1	Sup	4	0	4
			Prof	2	5	7
		R2	Sup	1	0	1
			Prof	4	1	5
		R3	Sup	3	1	4
			Prof.	2	5	7
	B. ROMA	R1	Sup	2	2	4
			Prof	4	3	7
		R2	Sup	1	0	1
			Prof	0	1	1
		R3	Sup	1	0	1
			Prof.	4	1	5
	TOTALE			28 (12-16)	19 (3-16)	47

Confrontando il numero di organismi raccolti in base alla profondità, dai dati disponibili possiamo notare che, nello strato profondo, il numero di individui appartenente a ciascuna delle due specie praticamente si equivale (*O. bicornis* - 16, *O. barquii* - 17); nello strato superficiale *O. bicornis* (12) è nettamente più abbondante maggiore rispetto a *O. barquii* (3).

Analizzando più in particolare i dati relativi alle singole repliche, possiamo osservare che durante la prima replica sono state raccolte un numero leggermente superiore di *O. barquii* (8) rispetto ad *O. bicornis* (6) nello strato profondo, mentre a livello dello strato

superficiale la situazione è opposta in quanto il numero di *O. bicornis* raccolte è superiore rispetto a quello di *O. barquii*.

Durante la replica R2 il numero di individui raccolti appartenenti ad *O. bicornis* è maggiore rispetto a quello di *O. barquii* a livello dello strato profondo come è avvenuto anche a livello dello strato superficiale, a livello del quale non è stata rilevata la presenza di *O. barquii*.

Nella replica R3 il numero di *O. bicornis* raccolte a livello dello strato profondo risulta superiore rispetto a quello di *O. barquii*, mentre a livello dello strato superficiale il numero di *O. bicornis* è superiore.

Tab. 3.4

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
MAGGIO	FIUME MORTO	R1	Sup	2	0	2
			Prof	2	6	8
		R2	Sup.	5	1	6
			Prof.	1	4	5
		R3	Sup	4	0	4
			Prof	12	2	14
	GOMBO	R1	Sup	0	0	0
			Prof.	2	3	5
		R2	Sup.	0	1	1
			Prof.	4	4	8
		R3	Sup	1	1	2
			Prof	3	2	5
	TOTALE			36 (12-24)	24 (3-21)	60

Durante il campionamento effettuato sempre nel mese di Maggio a San Rossore, a livello di repliche totali in entrambi i siti di campionamento (Fiume Morto e Gombo), sono stati raccolti individui di entrambe le specie in ciascuna replica.

Analizzando i dati secondo una distribuzione verticale delle due specie lungo il sedimento, vediamo che durante la replica R1 a livello dello strato profondo *O. barquii*

risulta essere in numero maggiore rispetto ad *O. bicornis* , mentre a livello dello strato superficiale si verifica la situazione opposta in quanto *O. bicornis* risulta essere presente, mentre non è stato raccolto neanche un individuo appartenente ad *O. barquii*.

Durante la replica R2, nello strato profondo il numero di individui di *O. barquii* è maggiore rispetto ad *O. bicornis* , mentre a livello dello strato superficiale si verifica come è avvenuto anche durante la replica R1 la situazione opposta, ossia *O. bicornis* è in numero superiore rispetto ad *O. barquii*.

Nella replica R3 a livello dello strato profondo il numero di individui raccolti di *O. bicornis* è di 15, mentre quello di *O. barquii* è 4, mentre a livello dello strato superficiale sono stati raccolti come avviene a livello dello strato profondo più individui appartenenti ad *O. bicornis*.

Facendo un confronto circa il numero totale di individui raccolti a livello delle due aree di campionamento vediamo che, il numero totale di individui raccolti nella località di Tirrenia è 47, mentre quello degli organismi presi a S. Rossore è di 60, in questo caso è più abbondante il numero di organismi presenti nella seconda località.

Per quel che riguarda invece la distribuzione verticale delle due specie a livello delle due località, possiamo osservare che non esistono differenze rilevanti né nello strato profondo né in quello superficiale.

Durante il terzo campionamento avvenuto nel mese di Agosto, sono stati raccolti in totale 44 organismi nella località di Tirrenia distribuiti a livello dei due siti nel seguente modo (Tab. 3.5).

Tab. 3.5

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
AGOSTO	B. NETTUNO	R1	Sup	5	0	5
			Prof.	5	6	11
		R2	Sup.	2	1	3
			Prof	5	0	5
		R3	Sup.	1	0	1
			Prof.	4	1	5
	B. ROMA	R1	Sup	0	0	0
			Prof.	12	1	13
		R2	Sup.	0	0	0
			Prof.	1	0	1
		R3	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
	TOTALE			35 (8-27)	9 (1-8)	44

Durante questa campagna di campionamento in entrambi i siti di campionamento sono stati raccolti organismi per ciascuna replica.

Nella replica R1 a livello dello strato profondo il numero di individui raccolti di *O. bicornis* è superiore di quello di *O. barquii*, a livello dello strato superficiale gli individui raccolti sono tutti appartenenti ad *O. bicornis*.

Nella replica R2 a livello dello strato profondo sono stati raccolti individui appartenenti soltanto ad *O. bicornis*, a livello dello strato superficiale sono stati raccolti individui soltanto nel primo sito di campionamento (Bagno Nettuno) ed il numero di individui di *O. bicornis* è maggiore anche se di poco rispetto a quello di *O. barquii*.

Nella replica R3 a livello dello strato profondo sono stati raccolti individui solo nel primo sito di campionamento (come è avvenuto nella replica R2) tutti appartenenti ad *O. bicornis*, anche a livello dello strato superficiale sono stati raccolti organismi soltanto nel primo sito di campionamento con un' abbondanza maggiore di organismi appartenenti ad *O. bicornis* rispetto ad *O. barquii*.

Nella località di San Rossore il numero totale di individui raccolti è di 80, distribuiti nei due siti di campionamento come riportato in Tab. 3.6.

Tab. 3.6

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
AGOSTO	FIUME MORTO	R1	Sup	2	1	3
			Prof.	4	4	8
		R2	Sup	4	1	5
			Prof.	2	5	7
		R3	Sup	0	0	0
			Prof	2	5	7
	GOMBO	R1	Sup	5	3	8
			Prof.	6	5	11
		R2	Sup.	0	0	0
			Prof	3	2	5
		R3	Sup	2	1	3
			Prof.	9	1	10
	TOTALE			39 (13-26)	28 (6-22)	67

A livello della seconda area di campionamento S. Rossore, sono stati raccolti entrambe le specie a livello di entrambi i siti di campionamento.

Durante la replica R1 a livello dello strato profondo e superficiale è stato raccolto lo stesso numero di organismi appartenenti ad entrambe le specie.

Nella replica R2 a livello dello strato profondo il numero di *O. barquii* è maggiore rispetto a quello di *O. bicornis*, mentre a livello dello strato superficiale sono stati raccolti individui appartenenti ad *O. bicornis* in numero leggermente superiore di quello di *O. barquii*.

Nella replica R3 a livello dello strato profondo sono stati raccolti il doppio di individui di *O. bicornis* (12) rispetto ad *O. barquii*, a livello dello strato superficiale il numero delle due specie raccolte si equivale.

Analizzando il numero totale di individui raccolti a livello delle due aree di campionamento (Tirrenia e S. Rossore), a Tirrenia sono stati raccolti in totale 44 organismi, mentre a S. Rossore ne sono stati prelevati 87; in questo caso è stata più abbondante la raccolta a livello della seconda area.

Nel quarto ed ultimo campionamento avvenuto nell'Ottobre 2005, nella località di Tirrenia sono stati raccolti 34 individui distribuiti nei due siti in questo modo (Tab. 3.7).

Tab. 3.7

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
OTTOBRE	B. NETTUNO	R1	Sup	0	0	0
			Prof	0	0	0
		R2	Sup	0	0	0
			Prof	11	0	11
		R3	Sup	0	0	0
			Prof	0	0	0
	B. ROMA	R1	Sup	0	0	0
			Prof.	11	1	12
		R2	Sup	0	0	0
			Prof.	2	3	5
		R3	Sup	3	0	3
			Prof.	4	2	6
	TOTALE			31 (3-28)	6 (0-6)	37

Da notare che durante l'ultima campagna di campionamento avvenuta nel mese di Ottobre, nella prima zona di campionamento (Tirrenia), sono stati raccolti individui in entrambi i siti di campionamento, mentre a S. Rossore sono stati raccolti solo a livello del sito Fiume Morto.

Nella prima area di campionamento (Tirrenia), osserviamo che durante la replica R1 a livello dello strato profondo sono stati raccolti individui soltanto nel secondo sito di campionamento (Bagno Roma), ed il numero di *O. bicornis* è maggiore rispetto a quello di *O. barquii*, mentre a livello dello strato superficiale la raccolta è stata nulla..

Nella replica R2 a livello dello strato profondo il numero di organismi appartenenti ad *O. bicornis* è nettamente superiore di quello di *O. barquii*, nello strato superficiale come si è verificato nella replica R1 la raccolta è stata nulla.

Nella replica R3 a livello dello strato profondo sono stati raccolti organismi soltanto a livello del secondo sito di campionamento (Bagno Roma) ed il numero raccolto di *O. bicornis* è maggiore di quello di *O. barquii*, a livello dello strato superficiale gli individui sono stati raccolti nel secondo sito di campionamento (Bagno Roma) e sono tutti appartenenti ad *O. bicornis*.

Nella località di San Rossore sono stati raccolti in totale 15 individui in un solo sito di campionamento: Fiume Morto (Tab. 3.8).

Tab. 3.8

Data	Località	Replica	Strato	<i>O. bicornis</i>	<i>O. barquii</i>	Totale
OTTOBRE	FIUME MORTO	R1	Sup.	0	0	0
			Prof.	5	0	5
		R2	Sup.	3	0	3
			Prof.	5	2	7
		R3	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
	GOMBO	R1	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
		R2	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
		R3	Sup.	0	0	0
			Prof.	0	0	0
	TOTALE			13 (3-10)	2 (0-2)	15

Nella replica R1 a livello dello strato profondo sono stati raccolti in totale 5 organismi appartenenti tutti ad *O. bicornis*, mentre nello strato superficiale non sono stati raccolti organismi.

Nella replica R2 nello strato profondo sono stati raccolti 7 organismi, dei quali 5 appartenenti ad *O. bicornis* e 2 ad *O. barquii*, nello strato superficiale sono stati 3 organismi di *O. bicornis* e nessuno di *O. barquii*.

Nella replica R3 non sono stati raccolti organismi.

Confrontando il numero di individui raccolti a livello delle due aree di campionamento osserviamo che a Tirrenia sono stati raccolti in totale 32 individui mentre a S. Rossore 15 tutti appartenenti al primo sito di campionamento (Fiume Morto).

Dall'esame comparativo dei risultati sopra esposti possiamo vedere che lungo il profilo verticale del sedimento le due specie si distribuiscono diversamente a livello delle due località (Tirrenia e S. Rossore).

Nello strato profondo del primo sito di campionamento *O. bicornis* prevale rispetto ad *O. barquii*, mentre nel secondo sito di campionamento (S. Rossore) prevale *O. barquii*. Per quel che riguarda lo strato superficiale a livello delle due aree di campionamento la situazione è uguale a quella che si verifica a livello dello strato profondo, ed il numero totale di *O. bicornis* è sempre maggiore di quello di *O. barquii*.

Analizzando la Fig. 3.1 che illustra la distribuzione totale degli individui raccolti durante le campagne di campionamento effettuate a Tirrenia e quella di entrambe le specie raccolte, vediamo che il numero totale di individui raccolti è maggiore nel mese di Febbraio, mentre si riduce al minimo nel mese di Ottobre; durante il secondo e il

terzo campionamento (Maggio ed Agosto) il numero di individui raccolti presenta un'abbondanza intermedia alla prima ed ultima campagna.

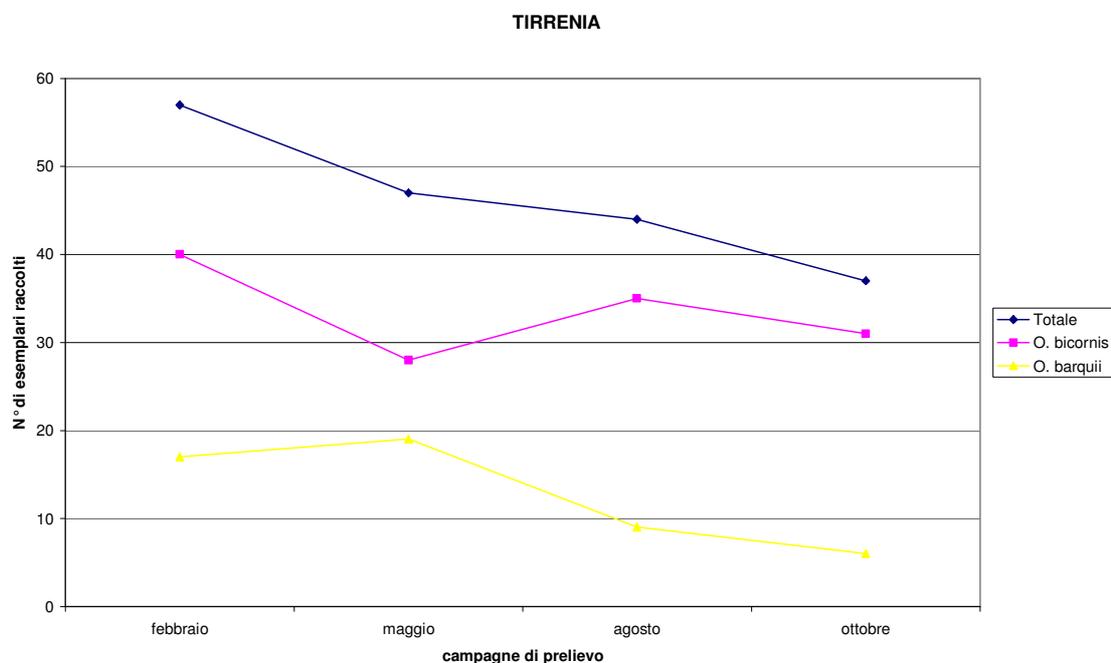


Fig. 3.1. Distribuzione delle due specie nei campionamenti effettuati a Tirrenia.

L'abbondanza di *O. bicornis* risulta costantemente maggiore di quella di *O. barquii*. La maggiore densità è stata osservata anche in questo caso in febbraio; il numero di individui raggiunge in numero minimo in Maggio per poi aumentare in Agosto e diminuire di nuovo nel mese di Ottobre.

La situazione appare diversa per *O. barquii* che raggiunge la massima densità in Maggio e in Febbraio, mentre in Agosto e in Ottobre diminuisce progressivamente.

Analizzando i dati riportati in Fig. 3.2 relativi a San Rossore, possiamo notare che per il massimo numero di individui è stato raccolto nel mese di Agosto seguito dal mese di Maggio, mentre durante i mesi di Febbraio ed Ottobre, il numero di esemplari è notevolmente minore.

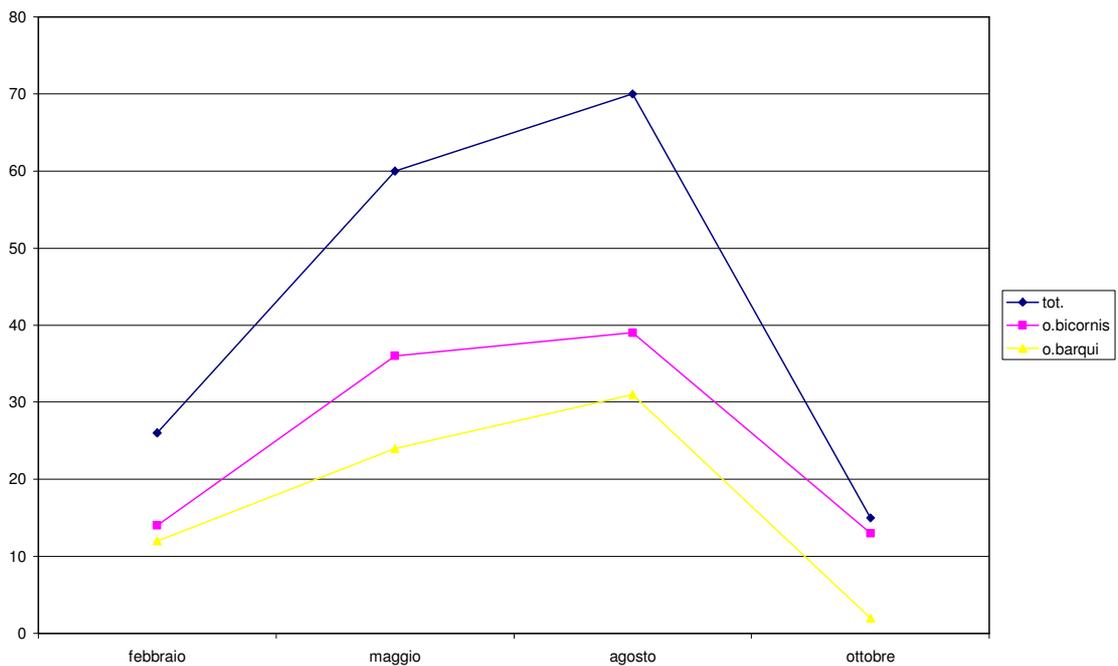


Fig. 3.2. Distribuzione delle due specie nei campionamenti effettuati a San Rossore.

La distribuzione delle due specie ricalca quella del totale degli individui raccolti con un massimo in primavera estate e un minimo in autunno-inverno. Anche in questo caso l'abbondanza di *O. bicornis* è costantemente superiore a quella di *O. barquii*.

In base ai dati riportati in Fig. 3.3 relativa alla distribuzione per strati delle due specie a Tirrenia, possiamo osservare il numero di esemplari di *O. bicornis* raccolti nello strato superficiale è sempre maggiore rispetto al numero di *O. barquii*; infatti analizzando il grafico in base ai mesi di campionamento, *O. bicornis* è stata sempre raccolta in numero più o meno doppio rispetto ad *O. barquii*, la quale risulta completamente assente durante la campagna di campionamento effettuata nel mese di Ottobre, almeno da tale strato.

A livello dello strato profondo, i risultati ottenuti risultano essere un po' diversi, in quanto entrambe le specie sono state raccolte durante tutte e quattro le campagne di campionamento. Nei mesi di Febbraio, Agosto ed Ottobre *O. bicornis* è presente in

numero superiore rispetto ad *O. barquii*, mentre durante il mese di Maggio appare l'abbondanza delle due specie nei campioni raccolti è la stessa.

Nella Fig. 3.4, che riporta la distribuzione delle due specie raccolte durante tutto il periodo di campionamento a San Rossore, possiamo osservare che, nello livello dello strato superficiale, il numero di individui appartenenti a *O. bicornis*, è sempre maggiore di quello di *O. barquii*; da notare che durante l'ultima campagna di campionamento effettuata nel mese di Ottobre non è stato raccolto nessun organismo appartenente ad *O. barquii*.

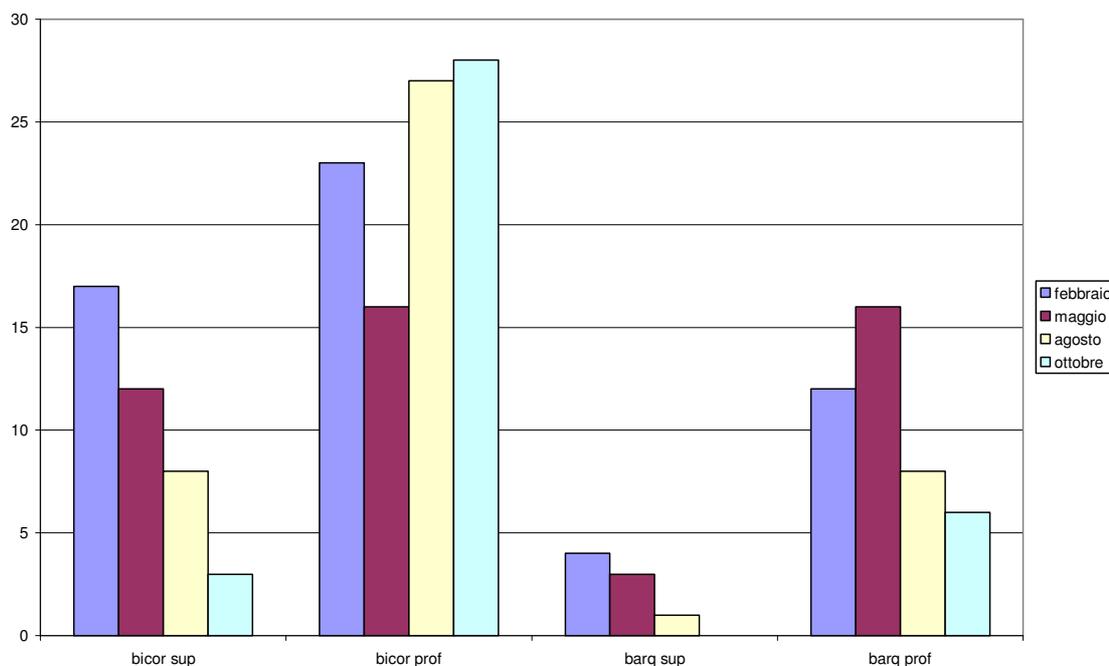


Fig. 3.3. Distribuzione delle due specie negli strati superficiale e profondo, nei campionamenti effettuati a Tirrenia.

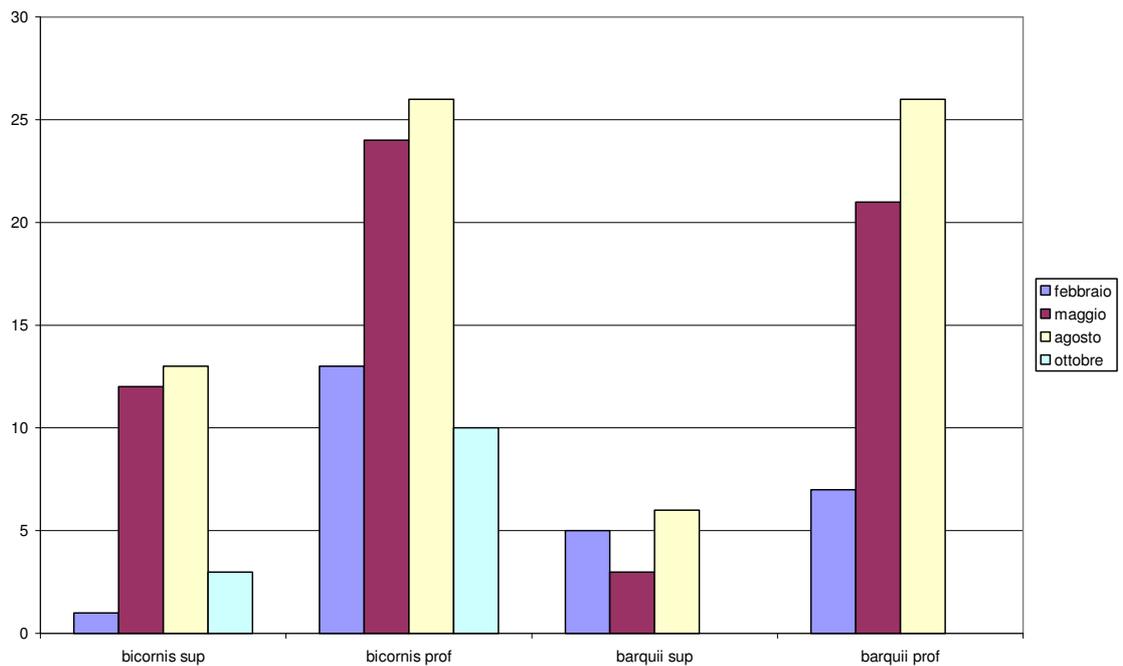


Fig. 3.4. Distribuzione delle due specie negli strati superficiale e profondo, nei campionamenti effettuati a San Rossore.

Mentre per quel che riguarda la distribuzione delle due specie prese in esame a livello dello strato profondo, durante i mesi di Febbraio e Maggio il numero di individui appartenenti ad *O. bicornis* è maggiore di quello di *O. barquii*. Durante la campagna di Agosto è stato raccolto un ugual numero di esemplari appartenente alle due specie, come già verificatosi nella campagna di maggio nella località di Tirrenia.

3.2. ANALISI DEI DATI RACCOLTI

La relazione tra i popolamenti dello strato profondo e superficiale è stata analizzata mediante multidimensional scaling (MDS); l'ordinamento dei dati ha permesso di ottenere la rappresentazione riportata in Fig. 3.5. Nel modello di ordinamento si può osservare una separazione tra i punti relativi agli strati superficiali e quelli profondi abbastanza netta.

La distribuzione dei campioni è stata analizzata tenendo in considerazione tre fattori riconducibili a: Stagione, Strato e Località.

In base a questi tre fattori presi in esame e studiati attraverso l'ANOSIM possiamo vedere che, prendendo in esame la distribuzione delle due specie in funzione della località, non si osserva nessuna differenza oggettiva così come è possibile notare prendendo in esame la distribuzione in base alla stagione di campionamento. Mentre analizzando la distribuzione delle due specie in funzione dello strato sono state rilevate differenze significative (Tab. 3.9) che hanno portato in un primo momento a concordare con la tesi di Iraci Sareri (2006) secondo la quale esisterebbe una stratificazione ben marcata delle due specie, con *O. bicornis* che occupa lo strato superficiale del substrato (0-15 cm) mentre *O. barquii* quello profondo (15-30 cm).

I risultati del test ANOSIM (Tab. 3.9) confermano l'esistenza di una differenza tra il popolamento dei due strati. I test effettuati mostrano infatti assenza di significatività per i fattori "stagione" e "località", mentre, insieme all'MDS, rivelano una differenza significativa nella composizione dei due strati. È presente quindi una tendenza alla segregazione verticale delle due specie di policheti.

Tab. 3.9 ANOSIM

Fattore	Stagione	Località	Strato
	R = -0.030	R = 0.019	R = 0.159
	P = 0.815	P = 0.194	P = 0.001

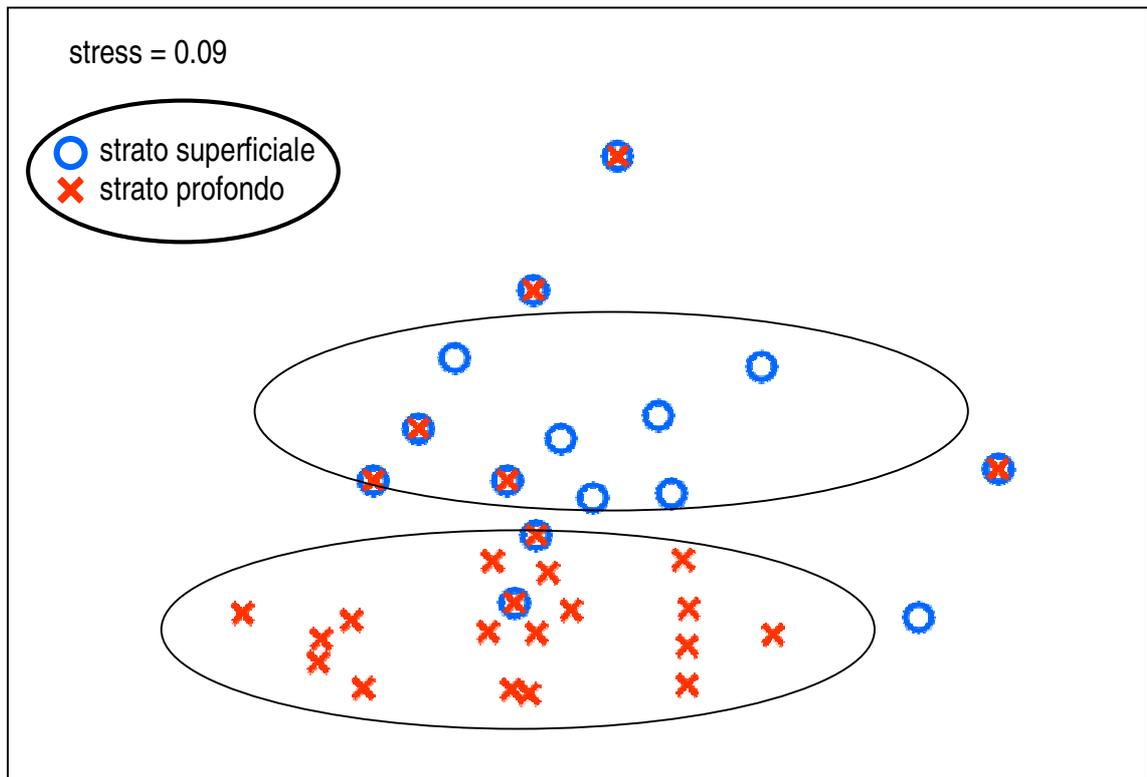


Fig. 3.5. Grafico ottenuto con il multidimensional scaling delle dissimilarità (100-similarità di Bray-Curtis) tra i campioni e risultati del test ANOSIM.

In base ai risultati ottenuti nel nostro studio descritti nelle tabelle e nei grafici precedenti, le due specie non possono essere associate ciascuna ad un unico strato, come si può notare anche nel grafico ottenuto tramite MDS nel quale è possibile notare in alcuni campioni la presenza di entrambe le specie sia nello strato superficiale che in quello profondo.

Le due specie, infatti, alternano la loro maggiore abbondanza nei due strati considerati. È quindi da rigettare l'ipotesi che prevede *O. bicornis* tipica dello strato superficiale e *O. barquii* di quello più profondo.

I risultati dei test-t effettuati per avere un confronto sulla distribuzione di ciascuna specie nei due strati confermano queste considerazioni. Si possono osservare (Tab. 3.10) differenze significative per quel che riguarda l'abbondanza di *O. bicornis* nei due

strati che mettono in evidenza la maggior abbondanza di questa specie nello strato profondo rispetto a quello superficiale.

Non si osservano particolari differenze sulla distribuzione di *O. barquii* nei due strati (Tab. 3.11).

Il confronto tra l'abbondanza delle due specie nello strato superficiale ed in quello profondo (Tabb. 3.12-13) evidenzia nell'analisi complessiva dei dati che in entrambi i casi *O. bicornis* ha un'abbondanza significativamente maggiore rispetto ad *O. barquii*.

variabile	T-test								
	MEAN 1	MEAN 2	t-value	df	p	Valid N 1	Valid N 2	Std.Dev 1	Std. Dev 2
Var2	1.642857	3.976190	-4.17208	82	0.000075	42	42	1.736571	3.181410

Tab. 3.10. Confronto tra la distribuzione di *O. bicornis* nello strato superficiale (1) e nello strato profondo (2) del sedimento.

NOTA: MEAN (1,2): *O. bicornis* nello strato superficiale e profondo
df: gradi di libertà
Valid N 1,2: numero di individui nello strato superficiale e profondo
Std Dev (1,2): deviazione standard strato superficiale e profondo

variabile	T-test								
	MEAN 1	MEAN 2	t-value	df	p	Valid N 1	Valid N 2	Std.Dev 1	Std. Dev 2
Var2	1.642857	0.523810	3.765072	82	0.000312	42	42	1.736571	0.833391

Tab. 3.11. Confronto tra la distribuzione di *O. barquii* nello strato superficiale (1) e nello strato profondo (2) del sedimento.

NOTA: MEAN (1,2): *O. barquii* nello strato superficiale e profondo
df: gradi di libertà
Std Dev (1,2): deviazione standard

<i>variabile</i>	<i>T-test</i>								
	MEAN 1	MEAN 2	t-value*	df	p	Valid N 1	Valid N 2	Std.Dev 1*	Std. Dev 2*
Var2	3.976190	2.238095	3.062683	82	0.002967	42	42	3.181410	1.845357

Tab. 3.12. Confronto tra la distribuzione di *O. bicornis* (1) ed *O. barquii* (2) nello strato superficiale.

NOTA: MEAN (1,2): *O. bicornis* ed *O. barquii* nello strato superficiale
df : gradi di libertà
Std Dev (1,2): deviazione standard *O. bicornis* ed *O. barquii*

<i>variabile</i>	<i>T-test</i>								
	MEAN 1	MEAN 2	t-value*	df	p	Valid N 1	Valid N 2	Std.Dev 1*	Std. Dev 2*
Var2	0,523810	0.523810	0.0	82	1.000000	42	42	0.833391	0.833391

Tab. 3.13. Confronto tra la distribuzione di *O. bicornis* (1) ed *O. barquii* (2) nello strato profondo.

NOTA: MEAN (1,2): *O. bicornis* ed *O. barquii* nello strato profondo
df: gradi di libertà
Std Dev (1,2): deviazione standard *O. bicornis* ed *O. barquii*

Dunque non potendo associare la presenza di una specie ad uno strato, le differenze risultanti dall'MDS e dall'ANOSIM sono legate particolarmente ai rapporti numerici fra le due specie; partendo dal presupposto che è stata riscontrata la presenza di entrambe le specie in entrambi gli strati, esisterebbe soltanto una differenza di abbondanza delle due specie che nella maggior parte dei campioni prevede una maggiore abbondanza di *O. bicornis* rispetto ad *O. barquii* sia a livello dello strato superficiale che dello strato profondo.

Analizzando più in particolare questo aspetto possiamo osservare leggere differenze tra i rapporti numerici fra le due specie nelle due diverse località (Tirrenia e San Rossore);

possiamo infatti rilevare che a Tirrenia *O. bicornis* è quasi sempre più abbondante nello strato superficiale rispetto a quello profondo, mentre a S. Rossore, seguendo tutto il ciclo del campionamento, vediamo che il numero degli individui appartenenti ad entrambe le specie prese in esame è più o meno lo stesso a livello dello strato profondo, nello strato superficiale, come nella maggior parte degli altri casi, *O. bicornis* è più abbondante rispetto ad *O. barquii*.

4. CONCLUSIONI

In base ai dati raccolti è possibile fare le seguenti considerazioni sui fattori che controllano la distribuzione verticale delle due specie, quando si trovano in simpatria nella stessa località.

In primo luogo non è possibile confermare l'ipotesi secondo cui le due specie sono separate in base alla loro distribuzione lungo il profilo verticale del sedimento.

Entrambe le specie, nel complesso, tendono ad aumentare la loro densità con il passaggio dallo strato superficiale a quello profondo. Le dimensioni prescelte per la separazione degli strati potrebbero comunque avere influenzato questo risultato.

Le due specie non sono distribuite in modo omogeneo e con frequenza paragonabile, ma non è possibile osservare una separazione netta delle due specie in corrispondenza della distinzione tra strati da noi scelta, arbitraria. Non è possibile evidenziare attraverso le analisi effettuate una correlazione netta tra uno dei due strati ed una delle due specie.

Dai risultati ottenuti si può quindi respingere l'ipotesi di partenza che prevede la prevalente e costante presenza di *O. bicornis* a livello dello strato superficiale del substrato (0-15 cm) e di *O. barquii* nello strato profondo (15-30 cm), che è stata presa in considerazione sulla base di una serie di rilievi effettuati quando le due specie sono state rinvenute in simpatria e sulla base delle osservazioni effettuate da altri Autori sulla distribuzione delle specie in questione ed in particolare da Iraci Sareri (2006), che ha analizzato la distribuzione delle due specie lungo alcune spiagge della Sicilia, che ospitavano però generalmente solo una delle specie analizzate in questo studio (i rari casi di simpatria appaiono solo accidentali).

Le due specie appaiono quindi distribuite lungo tutta la sezione del profilo del sedimento presa in esame: quella che va dalla superficie a 30 cm di profondità;

l'abbondanza di entrambe tende ad aumentare passando dallo strato superficiale a quello profondo (0-15 / 15-30 cm), ma questo può essere dovuto anche al fatto che i primi 5-10 cm di sedimento sono probabilmente colonizzati da ofelie solo accidentalmente e il campione relativo allo strato superficiale da noi prescelto risulta in realtà di dimensioni minori a quello dello strato profondo.

Poiché non è stato possibile ottenere informazioni precise, anche se nel medesimo habitat è stata messa in evidenza la presenza di entrambe le specie caratterizzate da esigenze ecologiche simili, per approfondire il problema, sarebbe opportuno effettuare altre serie di campionamenti nei quali si tenga in considerazione quelli che comunque sono i risultati principali del presente studio, fra cui ad esempio la non validità della divisione in strati di 15 cm per separare le due specie su litorali sabbiosi con le caratteristiche del litorale pisano o di quello della Tenuta di San Rossore, l'assenza di significative variazioni spaziali (almeno alla scala presa in considerazione in questo lavoro) e stagionali nella loro rapporti numerici e nella distribuzione lungo il profilo del sedimento.

Si propone quindi di sviluppare il problema analizzando ad esempio una diversa stratificazione del campione o altri fattori che potrebbero differenziare l'habitat delle due specie (fauna interstiziale associata) in modo da poter avere informazioni più precise sui fattori che permettono in apparenza in simpatria la presenza di due specie molto affini come *Ophelia bicornis* e *Ophelia barquii*.

5. BIBLIOGRAFIA

Amoureux L. (1977) – *Ophelia bicornis* Savigny, 1818, *Ophelia radiata* (Delle Chiaie, 1828), two phenotypical forms of the same species. In: Essays on polychaetous annelids, in memory of Dr. Olga Hartman. Allan Hancock foundation: 267-278

Barnes R. D. (1972) – Zoologia: gli invertebrati. Ed. Piccin, Padova.

Bellan G. (1961) - Contribution a l' étude de l' Annélide Polychète *Ophelia Bicornis* Savigny 1820. Rapp. Extrait des rapport et procès-verbaux des réunions de la C. I. S. M. M., volume 16°, fasc. 2.

Bellan G. (1964) – Contribution a l' étude systématique, bionomique et écologique des Annélide Polichètes de la Méditerranée. Rec. Trav. St. Mar. Endoume, 33: 1-371.

Bellan G. (1977) – A discussion of the relationship between systematics and ecology in polychaetous annelids. In: Essays on polychaetous annelids, in memory of dr. Olga Hartman. Allan Hancock Foundation.

Britton-Davidian J. & Amoureux L. (1982) – Biochemical Systematics of two siblings species of Polychaete annelids: *Ophelia bicornis* and *Ophelia radiata* .- Biochem. Syst. Ecol., 10(4) : 351-354.

Cantone G. & Costa G. (1975) – Variabilità nel numero delle branchie, delle papille perianali e delle papille rettali in una popolazione di *Ophelia bicornis* Savigny delle coste orientali della Sicilia (Annelidae, Polychaeta). Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 39, suppl.: 22-36.

Cantone G. (1972) – Osservazioni sulla varietà intraspecifica di alcuni caratteri impiegati nella sistematica del genere *Ophelia* (Annelida Polychaeta). Boll. Acc. Gio. Sc. Nat. Ser. 4° 11° (3/4): 3-7.

Casu M., Maltagliati F., Castelli A. (2004) – Analisi della struttura genetica di *Ophelia bicornis Savigny*, 1818 (Annelida, Polychaeta) nel Mediterraneo occidentale. S.It.E.Atti, vol.27, pp.PI.3.

Cognetti G. & Sarà M. (1974) – Biologia marina. Ed. Calderoni, Bologna

Fauvel P. (1927) – Polychètes Sédentaires. Faune de France 16 : 1-494.

Fisher R. A. (1925) – Frequency Distribution of the Values of the correlation Coefficient in Samples an Infinitely large Population. (Biometrika).

Fisher R. A. (1925) – Application of Student's distribution.

Giordani- Soika A., 1955- Origine del popolamento intercotidale delle spiagge del Mediterraneo occidentale. Boll. Mus. Civ. Ven., 8: 138-151.

Giordani- Soika A. & Mandrini R., 1958 – Biogeografia, origine ed evoluzione delle popolazioni mediterranee di *Ophelia radiata* D. Ch. (Annelida Polychaete). Rapp. Et P.V. 14° C.I.E.S.M.M.: 461-484.

Gosset W. S. (1958) – Student's collected papers/edite by E.S. Pearson and J. Wishert with a forward by L. McMullen. Cambridge, Eng. Published for the Biometrika. Trustees at the University. Press.

Grube A.E. (1850) – Die Famiglie der Anneliden. *Arch. Naturg.*, 16: 249-364.

Hartmann-Schröder G. (1958) – Zur Morphologie der Opheliiden (Polychaeta Sedentaria). *Z. wiss. Zool.*, 161: 84-143.

Hartman- Schröder G. (1971) – Annelida, Borstenwurmer, Polychaeta. Die Tierwelt Deutschlands, Teil 58. Gustav Fischer Verlag.

Iraci Sareri D. (2005) – Ecologia, distribuzione ed aspetti sistematico-evolutivi di *Ophelia Bicornis* Savigny, 1822 ed *Ophelia Barquii* Fauvel, 1927 (Polychaeta, Ophelidae) nel Mediterraneo e nei mari italiani. Tesi di Dottorato di Ricerca in Biologia Evoluzionistica XVIII° Ciclo. Università degli studi di Catania.

Kruskal J. B. (1964b) – Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a non-metric hypothesis. *Psychometrika*, 29: 1-27.

Kruskal J. B. (1964b) – Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method. *Psychometrika*, 29: 115-129.

Kruskal J. B. & Wish M. (1978) – Multidimensional scaling. Sage Publication, Beverly Hills, California.

Maltagliati F., Casu M., Castelli C. (2004) – Evidenze morfologiche e genetiche a sostegno dell' esistenza di due specie di *Ophelia* (Annelida, Polychaeta) nel Mediterraneo occidentale. Un caso di speciazione ecologica?.S.It.E.Atti, vol 27,pp.

Maltagliati F., Casu M., Castelli A. (2004) – Morphological and genetic evidence supports the existence of two species in the genus *Ophelia* (Annelida,Polychaeta) from the Western Mediterranean. *Biological Journal of the Linnean Society*, vol.83, pp.101-113.XIII° Congresso Società Italiana di Ecologia,vol unico,pp.65-65,Como.

Pilato G., Belcastro G., & Cassibba R., (1978) – Il valore specifico di *Ophelia barquii* Fauvel, 1927 (Annelida, Polychaeta). *Animalia*, 5 (1/3): 395-403.

Rouse G.W. & Fauchald K., (1997) – Cladistics and polychaetes. *Zool. Scr.*, 26 (2):139-204.

Shepard R. N. (1962a) – The analysis of proximities: multidimensional scaling with an unknow distance function. II. *Psychometrika*, 27: 125-139.

Shepard R. N. (1962b) – The analysis of proximities: multidimensional scaling with an unknown distance function. II. *Psychometrika*, 27: 219-246.

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

Tebble N., (1952) – On three species of the genus *Ophelia* (Polychaeta) from British and adjacent waters. Ann. Mag. Nat. Hist., 12 85): 553-571.

Tebble N., (1953) – XXXIII. A review of the genus *Ophelia* (Polychaeta) with description of new species from Souyh Africa and California waters. Ann. Mag. Nat. Hist., 12 (6): 361-368.

Wilson D.P., (1948) – The relation of the substratum to the metamorphosis of *Ophelia* larvae. J. Mar. Ass. U.K., 27: 723-760.

Wilson D.P. (1952) – The influence of substratum on the metamorphosis of the larvae of marine animals. Especially the larvae of *Ophelia bicornis* Savigny. Ann. Inst. Ocean., 27 (2): 49-156.

Wilson D.P. (1953a) – The settlement of *Ophelia bicornis* Savigny larvae. The 1951 experiments. J. Mar. biol. Ass. U.K., 31: 413-438.

Wilson D.P. (1953b) – The settlement of *Ophelia bicornis* Savigny larvae. The 1952 experiments. J. Mar. biol. Ass. U.K., 32: 209-233.

Wilson D.P. (1954) – The attractive factor in the settlement of *Ophelia bicornis* Savigny. J. Mar. biol. Ass. U.K., 33: 361-380.

Wilson D.P. (1955) – The role of micro-organisms in the settlement of *Ophelia bicornis* Savigny. J. Mar. biol. Ass. U.K., 34: 531-543.

Wilson W.H., (1991) – Sexual reproductive modes in Polychaetes: classification and diversità. Bull. Mar. Sc., 48 (2): 500-5

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare in modo particolare il Prof. Alberto Castelli che mi ha seguito, aiutato e sostenuto durante tutte le fasi del seguente lavoro; dai campionamenti, alle analisi in laboratorio, alla stesura della tesi.

Inoltre ringrazio il Dott. Ferruccio Maltagliati per la disponibilità che mi ha dato per le analisi statistiche.

Per il sostegno avuto, vorrei inoltre ringraziare tutto il personale docente e non docente del Dipartimento di Biologia, Unità di Biologia Marina ed Ecologia.