



METODI DI ANALISI RICONOSCIMENTO DEI TUNNIDI ALLO STADIO
LARVALE



Stefania Russo
stefania.russo@ismed.cnr.it

Sommario

1. INTRODUZIONE.....	3
2. MATERIALI E METODI.....	5
2.1 SORTING INIZIALE	5
2.2 IDENTIFICAZIONE TASSONOMICA	5
2.2.1 <i>Tratti distintivi A. rochey</i>	7
2.2.2 <i>Tratti distintivi A. alalunga</i>	8
2.2.3 <i>Tratti distintivi T. thynnus</i>	9
3. CONCLUSIONI.....	10
RINGRAZIAMENTI	10
BIBLIOGRAFIA	11

1. Introduzione

Uno dei periodi di vita più sensibili per ciascuna specie sono le prime fasi della vita (larvale e giovanile). I tassi di sopravvivenza delle larve di pesci pelagici in queste fasi sono generalmente molto bassi e soggetti a fluttuazioni, con conseguenze sul reclutamento delle nuove generazioni.

Il tonno rosso dell'Atlantico (ABT) (*Thunnus thynnus*, Linnaeus, 1758) è una delle specie più costose al mondo. Alcuni studi hanno ipotizzato che le fluttuazioni del suo stock siano dettate da fattori ambientali, in particolare nelle prime fasi della vita.

Anche il Tonno alalunga (*Thunnus alalunga*, Bonnaterre, 1788) e il tombarello (*Auxis rochei*, Risso, 1810) svolgono un ruolo ecologico essenziale come grandi predatori, sono obiettivi di pesca a livello globale e hanno un'influenza fondamentale sulla struttura e sulla funzione delle comunità marine. Pertanto, la loro gestione sostenibile è essenziale e dipende da una migliore comprensione della loro storia di vita.

Dunque, appare necessario comprendere meglio la biologia e i processi di reclutamento di queste specie, studio che può essere condotto analizzando le sue fasi larvali.

I tunnidi posseggono una fase larvale che risulta molto difficile da riconoscere a livello tassonomico, spesso si arriva al riconoscimento a livello di tribù dei tunnidi, ma è molto più complesso arrivare al riconoscimento a livello di specie. Le loro strutture, pigmentazioni e forme, cambiano quasi giornalmente e a seconda dello stato nutrizionale in cui si trovano, appare dunque estremamente complesso il compito del tassonomo nel discriminare un tonno rosso da un tonno tombarello allo stadio larvale, anche se poi da adulti saranno completamente diversi.

L'errata identificazione delle larve può portare a incertezze sulla distribuzione spaziale di una specie, confusione sui tratti della storia della vita e sulla dinamica della popolazione e potenzialmente mascherare il collasso o il recupero di siti di riproduzione localizzati.

Una corretta identificazione degli stadi larvali può fornire informazioni vitali per la gestione della pesca, sulla struttura della popolazione, le stagioni e i luoghi della deposizione delle uova, nonché la biomassa riproduttiva o le tendenze di reclutamento, specialmente per specie bersaglio come i tonni.

Mentre una scorretta identificazione può portare a sopravvalutazione delle abbondanze, al riconoscimento di aree riproduttive che in realtà sono di altre specie e così via, portando con sé tutte le problematiche conseguenti, in caso di politiche di gestione della pesca se basate su tali dati.

Uno studio condotto da Puncher et al. (2015), ha dimostrato che, a un progetto di ricerca sul tonno rosso finanziato dall'ICCAT, questo è stato erroneamente identificato in più della metà delle larve presentate da tre istituzioni mediterranee partecipanti al progetto. Erano stati portati dunque dei dati relativi alla specie sbagliata. Infatti in un'altra sua pubblicazione sempre del 2015, elenca quali siano gli errori commessi, quali chiavi di identificazione sono risultate sbagliate e come evitare tali errori. Riportando anche una celebre frase di due dei più importanti tassonomi mondiali di tonno, ovvero che "gli stadi giovani dei pesci della famiglia degli Scombridi sono tra i più difficili da identificare a livello generico e in particolare a livello di specie" (Richards & Pothoff 1974).

Molte delle chiavi di identificazione sono antiche, le copie continue su cartaceo hanno alterato quelli che sono i disegni originali e le pigmentazioni e il passaggio di mano in mano hanno peggiorato tale situazione. Con l'era del digitale se si fa comunque riferimento a immagini scansionate da queste chiavi, la compromissione del disegno non avviene più, ma restano comunque le precedenti.

A seguito di chiavi con piccole differenze di morfologie tra un testo e l'altro, spesso chi deve riconoscere queste specie arriva a un vicolo cieco. Alcune chiavi riportano anche degli errori, che si ripercuotono sulle pubblicazioni che vi hanno fatto affidamento e sui lavori a seguire che le citano.

Con il seguente rapporto tecnico, si vuole esporre la propria esperienza maturata nel campo della tassonomia, basandosi sulla chiave di riconoscimento di Rodríguez et al. 2017 e sulle esperienze personali vissute a fianco di esperti nel riconoscimento di queste specie.

2. Materiali e metodi

Il seguente lavoro è stato svolto utilizzando le raccolte larvali storiche di sette indagini annuali svolte dal CNR nel Canale di Sicilia dal 2010 al 2016 durante la stagione riproduttiva delle 3 specie di tonno qui analizzate.

I campioni derivano da cale di reti Bongo 90 e Bongo 40 provenienti dalle campagne BANSIC e sono stati conservati in etanolo al 70%, in contenitori di plastica.

2.1 Sorting iniziale

La prima fase si è basata sulla divisione delle larve di ittioplancton dal restante zooplancton.

Ogni sito di campionamento aveva il suo codice identificativo riportato sulla bottiglia in cui è stato conservato il campione, sul tappo e su un foglio di carta acetata all'interno della bottiglia. All'apertura di ogni campione, si è proceduto a riportare tali dati su matrice per poter registrare ogni riconoscimento avvenuto.

I campioni vanno prelevati e setacciati nuovamente per concentrarli e togliere l'etanolo e poterli osservare al microscopio in una capsula Petri. Per fare ciò, i campioni vengono setacciati con delle maglie di dimensioni più piccole rispetto a quelle utilizzate per il campionamento in mare, lavati con acqua di mare e posti in vasetti sempre con acqua di mare. A questo punto possono essere stati posti sulle capsule Petri per essere osservati allo stereoscopico. L'ingrandimento variava al variare della grandezza degli organismi presenti nel campione, ma è stato aumentato all'occorrenza per poter osservare strutture e pigmentazioni utili per discriminare le specie.

Se il campione è risultato molto ricco in altro plancton o comunque presenta un numero elevato di larve e uova, è stato diluito per osservarlo a sub-campioni più facili da elaborare. È stata utilizzata anche una griglia millimetrata sotto la capsula Petri per poter isolare ulteriormente il campione della capsula in sotto aree da osservare singolarmente.

Durante la fase di osservazione, le larve e le uova che sono molto delicate, sono state spostate con puntali o pinzette a punta liscia, nel caso di isolamento in altra Petri di alcuni esemplari, è stata utilizzata una pipetta in vetro per prelevarli.

Per ogni campione corrispondente a un sito di campionamento, sono state prima isolate le larve ritenute tunnidi (anche quelle con maggiori dubbi sul riconoscimento così generico), posizionate in una provetta con nuovamente etanolo al 70%, per poterle osservare successivamente con maggiore perizia. Questo per ottenere una corretta identificazione e per evitare di lasciare il campione intero di zooplancton troppo tempo esposto all'aria e al di fuori del suo liquido di conservazione. Nella provetta sono anche in questo caso stati riportati tutti i dati relativi a sito, campionatore, specie e data.

2.2 Identificazione tassonomica

Per gli stadi larvali dei pesci, non esistono chiavi dicotomiche complete come per gli adulti, sono solo parziali e per alcune aree geografiche. Ciò è dovuto al fatto che le larve di pesce hanno una incredibile variazione dei caratteri, non solo a livello geografico e individuale, ma anche di giorno in giorno.

Identificarle è poi difficile a causa delle loro piccole dimensioni e anche per le difficoltà nel maneggiarle per poter apprezzare ogni struttura morfologica.

Il metodo dunque più utilizzato è quello del confronto diretto con immagini fotografiche o illustrazioni scientifiche. Le guide migliori in questo campo sono quelle che riportano schemi grafici dei vari stadi di sviluppo anche in relazione alle dimensioni delle larve, di modo che si possa comprendere non solo a quale specie appartiene l'individuo osservato, ma anche a che stadio si trova confrontando il morfotipo. Le chiavi che invece riportano una sola immagine di un solo stadio, potrebbero indurre a escludere che l'organismo sotto osservazione appartenga a quella specie e portare a un vicolo cieco.

Il riconoscimento degli organismi di questo studio è stato condotto fino al livello più basso possibile, alcune volte per difficoltà di riconoscimento o per danni nel campione, si può non arrivare al livello di specie.

Il metodo qui utilizzato è quello del "sosia", che consiste nel confrontare gli individui con le descrizioni fatte da altri autori procedendo per eliminazione, fino alla "assegnazione" di un individuo a una specie.

Tutti i dati vengono poi riportati su tabella, dove si annota, sito, data di campionamento, coordinate geografiche, strumento utilizzato, profondità di campionamento, specie riconosciuta e ogni altra informazione utile alla futura analisi dei dati.

In questo specifico caso, le larve sono state conservate in etanolo, ciò causa alterazioni nella forma che alcune volte possono rendere difficile il riconoscimento. Bisogna anche prendere in considerazione il fatto che alcune peculiari colorazioni che potrebbero aiutare con il riconoscimento, con la fissazione (di qualsivoglia tipo), spariscono. Ciò complica ulteriormente il lavoro dei tassonomi che tra l'individuo in vivo o appena pescato e l'individuo conservato, non possono apprezzare lo stesso tipo di colorazione o forma.

Il primo passo nella discriminazione di un gruppo rispetto ad un altro è la forma generale del corpo, è vero sì che le larve di pesce hanno per lo più una forma allungata, ma alcune sono serpentiformi, altre triangolari, altre tendono ad avere il rostro più grande, dunque in generale questo può essere il primo fattore discriminante di molti gruppi.

Nel caso specifico dei tonni. Il rostro è molto più pronunciato rispetto al corpo, hanno il tratto gastro intestinale molto compatto e corto, che termina a meno di metà del loro corpo e occhi molto grandi.

2.2.1 Tratti distintivi *A. rochei*

Il corpo è leggermente allungato e il tratto gastrointestinale è triangolare, le mascelle sono più corte rispetto alle altre specie qui riportate. Durante le prime fasi i melanofori sono decisivi per il riconoscimento, sono da uno a due nella seconda metà della parte dorsale. La posizione non è sempre identica tra un individuo e l'altro e in alcuni si apprezzano entrambi in altri solo uno. I melanofori della parte ventrale non sono disposti in modo ordinato e diminuiscono di numero con lo sviluppo. Le spine preopercolari sono ben sviluppate intorno ai 5 mm di lunghezza standard, lunghezza alla quale compaiono dei melanofori nella zona occipitale. La pinna dorsale non è pigmentata, neanche agli stadi più grandi.



Figura 1- esemplare di A. rochei derivante dai campionamenti in Mediterraneo centrale.

2.2.2 Tratti distintivi *A. alalunga*

A differenza delle altre due specie qui presentate, l'Alalunga si distingue principalmente per l'assenza dei melanofori, eccetto che nelle prime fasi sull'urostilo.

Possiede una bocca più prominente, anche in questo caso l'apparato gastrointestinale è triangolare. Il rostro è pigmentato e negli esemplari grandi si trova un melanoforo sulla punta della bocca.

La pinna dorsale non è pigmentata, neanche agli stadi più grandi.



Figura 2 - esemplare di T. alalunga derivante dai campionamenti in Mediterraneo centrale.

2.2.3 Tratti distintivi *T. thynnus*

Quello che più di tutti ad ogni stadio distingue questa specie dalle altre, è il melanoforo sul dorso, presente sin dalla schiusa, fino allo sviluppo completo della pinna dorsale. È posto approssimativamente in posizione centrale, con lo sviluppo pigmenta di nero la pinna dorsale. Questa è una caratteristica diagnostica che non è condivisa da nessun'altra specie di tonno che abita il Mar Mediterraneo. Testa e mascelle sono molto appuntite, il tratto gastrointestinale è triangolare. Possiede circa 4 melanofori ventrali.



Figura 3 - esemplare di T. thynnus derivante dai campionamenti in Mediterraneo centrale.

La pigmentazione ventrale (organi digestivi e cleitra) in *Auxis* e una pigmentazione nera molto più intensa della prima pinna dorsale nel tonno rosso, consentono la discriminazione delle due specie in stadi di sviluppo simili.

3. Conclusioni

Questo rapporto tecnico descrive in dettaglio quanto avvenuto durante le fasi di laboratorio e di riconoscimento di tre specie di tonno. Purtroppo in questo campo sono pochi i tassonomi e pochi sono quelli che si stanno formando o si formeranno per questo tipo di expertise. Ciò accade perché il lavoro di riconoscimento delle specie richiede molto tempo e perizia, fattori che poco vanno in accordo con le necessità frenetiche attuali della pubblicazione continua di aggiornamenti. La chiave dalla quale sono tratte le informazioni per il riconoscimento di queste tre specie di tonno, è la più aggiornata per le specie mediterranee, ma molto c'è ancora da fare e aggiornare anche in altre aree dove vengono tutt'ora utilizzate chiavi obsolete che possono indurre facilmente in errore.

Ringraziamenti

Questo rapporto tecnico è frutto degli studi che ho affrontato nella mia tesi di dottorato; ringrazio dunque Angela Cuttitta, la mia tutor di Dottorato che mi ha messo a disposizione i campioni e mi ha insegnato le tecniche di riconoscimenti ittioplanctonico e il prof. Gianluca Sarà professore e riferimento del mio Dottorato.

Per quanto riguarda la cattura degli esemplari che ho analizzato ringrazio il Dott. Bernardo Patti, la Dott.ssa Angela Cuttitta, Carlo Patti, Marco Torri e i colleghi che si sono imbarcati nelle BANSIC. Ringrazio l'equipaggio delle navi Oceanografiche. Ringrazio il gruppo dell'IEO delle Baleari Patricia Reglero Baron, Diego Alvarez Berastegui, Melissa Martin Quetglas, Francisco Alemany e i tecnici e tassonomi del gruppo per avermi permesso di perfezionare le tecniche di riconoscimento del tonno allo stadio larvale.

Bibliografia

- Alemany, F., Quintanilla, L., Velez-Belchí, P., García, A., Cortés, D., Rodríguez, J. M., et al. (2010). Characterization of the spawning habitat of Atlantic Bluefin tuna and related species in the Balearic Sea (western Mediterranean). *Prog. Oceanogr.* 86, 21–38. doi: 10.1016/j.pocean.2010.04.014.
- Armeri G. M., Cuttitta A., Bennici C. D., Biondo G., Torri M., Quinci E. M., Patti C., Patti B., De Luca B., Di Maria A., Falco F., Maneiro I., Masullo T., Musco T., Mazzola S. Rapporto tecnico sulla valutazione della biomassa ittioplanctonica mediante l'utilizzo del Multi Plankton Sampler (MPS).
- Patti, C., Cuttitta, A., Musco, M., Di Maria, A., De Luca, B., Galli, G., ... & Bernardo, P. (2013). Rapporto tecnico sulle attività di campagna oceanografica "BANSIC 2013".
- Puncher, G. N., Alemany, F., Arrizabalaga, H., Cariani, A., & Tinti, F. (2015). Misidentification of bluefin tuna larvae: a call for caution and taxonomic reform. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 25(3), 485-502.
- Puncher, G. N., Arrizabalaga, H., Alemany, F., Cariani, A., Oray, I. K., Karakulak, F. S., ... & Tinti, F. (2015). Molecular identification of Atlantic Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, Scombridae) larvae and development of a DNA character-based identification key for mediterranean scombrids. *Plos One*, 10(7), e0130407.
- Richards WJ, Pothoff T (1974) Analysis of the taxonomic characters of young scombrid fishes, genus *Thunnus*. In: Blaxter JHS (ed) *The early life history of fish*. Springer, Berlin, pp 623–648
- Rodriguez, J. M., Alemany, F., & Garcia, A. (2017). A guide to the eggs and larvae of 100 common Western Mediterranean Sea bony fish species.