

Proceedings e report

92

Comitati

Comitato Scientifico

Ettore Olmo, *Presidente UZI*

Ferdinando Boero

Gaetano Ciarcia

Elvira De Matthaeis

Fiorenza De Bernardi

Francesco Dessì Fulgheri

Angela Mauceri

Nicolò Parrinello

Tomaso Patarnello

Mario Pestarino

Felicita Scapini

Alberto Ugolini

Franco Verni

Comitato Organizzatore

Francesco Dessì Fulgheri, *Presidente*

Marco Zaccaroni, *Segretario*

Stefano Cannicci

Giovanni Delfino

Francesca Gherardi

Felicita Scapini

Alberto Ugolini

Alessandro Cianfanelli (*gestione informatica*)

73° CONGRESSO DELL'UNIONE ZOOLOGICA ITALIANA

Firenze 24 -27 Settembre 2012

RIASSUNTI DEI CONTRIBUTI

a cura di

E. Baistrocchi, M. Zaccaroni

Firenze University Press
2013

73° congresso dell'unione zoologica italiana : firenze 24
-27 settembre 2012 : riassunti dei contributi / a cura di
Elena Baistrocchi, Marco Zaccaroni . – Firenze : Firenze
University Press, 2013.
(Proceedings e report ; 92)

<http://digital.casalini.it/9788866553472>

ISBN 978-88-6655-347-2 (online)

Progetto grafico di Alberto Pizarro Fernández, Pagina Maestra snc
Immagine di copertina: © Inna Esina | Dreamstime.com

Certificazione scientifica delle Opere

Tutti i volumi pubblicati sono soggetti ad un processo di referaggio esterno di cui sono responsabili il Consiglio editoriale della FUP e i Consigli scientifici delle singole collane. Le opere pubblicate nel catalogo della FUP sono valutate e approvate dal Consiglio editoriale della casa editrice. Per una descrizione più analitica del processo di referaggio si rimanda ai documenti ufficiali pubblicati sul catalogo on-line della casa editrice (www.fupress.com).

Consiglio editoriale Firenze University Press

G. Nigro (Coordinatore), M.T. Bartoli, M. Boddi, R. Casalbuoni, C. Ciappei, R. Del Punta, A. Dolfi, V. Fargion, S. Ferrone, M. Garzaniti, P. Guarnieri, A. Mariani, M. Marini, A. Novelli, M. Verga, A. Zorzi.

© 2013 Firenze University Press
Università degli Studi di Firenze
Firenze University Press
Borgo Albizi, 28, 50122 Firenze, Italy
<http://www.fupress.com/>

Printed in Italy

Si ringrazia



Taylor & Francis
Taylor & Francis Group



HORMAN
ANIMAL ENDOCRINOLOGY

Sommario

Lettura Plenaria	1
Simposio I – Dalle strategie sessuali al comportamento sociale (in onore di Tullia Zetto)	3
Comunicazioni	5
Sessione poster	14
Simposio II – Uso dello spazio, orientamento e migrazioni (in onore di Guido Tosi)	19
Relazione su invito	21
Comunicazioni	22
Sessione poster	30
Simposio III – Distruttori endocrini	37
Relazione su invito	39
Comunicazioni	40
Sessione poster	47
Simposio IV – Specie alloctone	51
Relazione su invito	53
Comunicazioni	54
Sessione poster	61
Spazio informazione	73
Sessione libera – poster	75

Lettura plenaria

MATE CHOICE AND TINKERING WITH EVOLUTION

M. ZUK

Department of Ecology, Evolution and Behavior, University of Minnesota, USA

When observing animals, particularly with regard to sexual behavior, it is easy to conclude that they are sometimes making “mistakes” – they respond to non-conspecifics or members of the same sex, they choose mates of poor quality, or they mate at inappropriate times. But in fact, such mistakes may not be maladaptive, and animals can modify their behavior to suit the risk of false negative responses; a male with too-narrow an acceptance filter can fail to recognize suitable partners, for example. The classic case of a mating mistake is lack of species recognition, and historically, sexual selection and mate choice were viewed primarily as functioning to ensure that a partner is a conspecific. Yet this focus on species recognition meant that sexual selection was ignored in evolutionary biology for the first half-century after Darwin, an omission that has hindered the development of theory. Same-sex behavior in animals has always been viewed as an aberration or artifact of captivity, but many instances show that it can be an adaptive part of the behavioral repertoire. I will briefly review the occurrence of same-sex behavior in animals, and then concentrate on Laysan Albatross, a Pacific seabird species in which up to thirty percent of females form female-female pairs, with reasonably high reproductive success. Such same-sex pairs may constitute an alternative reproductive strategy. Finally, the existence of supposed mistakes in mate choice serves to remind us that “nature is a tinkerer, not an engineer.”

Simposio I

Dalle strategie sessuali al comportamento sociale (in onore di Tullia Zetto)

Coordinatori: F. De Bernardi, M. Rasotto

UN RICORDO DI TULLIA ZETTO

P. BRANDMAYR¹, E. FERRERO², R. PIZZOLOTTO¹, J. SERRANO³

¹*Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria;* ²*Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste;* ³*Departamento de Zoología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Apto 4021, 30071 Murcia (España)*

Tullia Zetto nasce a Trieste il 15 gennaio 1949 e si laurea in Scienze Naturali nel 1972. Come ricercatore a contratto e poi come ricercatore di ruolo è attiva presso l'Istituto di Zoologia dell'Università di Trieste sino al 1987. Qui approfondisce soprattutto la morfologia larvale e le tecniche di allevamento di Coleotteri Carabidi, dando un primo e fondamentale contributo alla conoscenza delle specie fitofaghe (spermofaghe), sino ad allora pressoché sconosciute alla maggioranza degli specialisti. Da professore associato si trasferisce all'Università della Calabria, dove per oltre un ventennio tiene il corso di Zoologia per SN, Corso di Laurea che presiede per circa 13 anni. Nel contempo avvia la SSIS e dà un contributo fondamentale all'insegnamento della "Formazione primaria". A partire dal 1992 si dedica con rinnovato interesse alla morfologia larvale, alle difese chimiche ed agli aspetti morfofunzionali dei Carabidi allo stato larvale, chiarendo non pochi aspetti della biologia di generi enigmatici, come il mirmecofago *Siagona* Latreille. Colpita da male incurabile nel 2002, prosegue con costanza nei suoi compiti istituzionali e accademici, sino quasi alla sua scomparsa (24 novembre 2010). A testimonianza di oltre 40 anni di grande impegno scientifico resta presso il Museo di Storia Naturale della Calabria la collezione di stadi preimaginali di Coleotteri paleartici, certamente la più importante di tutta l'area del Mediterraneo.

***POLISTES DOMINULUS* - *XENOS VESPARUM*: PARASSITA O PARASSITOIDE? QUANDO GLI EFFETTI DELLA MANIPOLAZIONE DIPENDONO DAL SESSO DELL'OSPITE E DEL PARASSITA**

F. CAPPA¹, R. DALLAI², M. GOTTARDO², L. BEANI¹

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze; ²Dipartimento di Biologia Evolutiva, Università di Siena

Il parassita *Xenos vesparum* influisce sia sul comportamento sia sui tratti fisici del suo ospite, la vespa sociale *Polistes dominulus*. Vespe femmine, se parassitate, non svolgono alcuna attività coloniale e abbandonano la colonia per aggregarsi in corrispondenza di specifici siti, dove avviene l'accoppiamento del parassita. Tra le modificazioni morfofisiologiche indotte dal parassita, il tratto più evidente è la castrazione degli ospiti di sesso femminile. Il parassita appartiene all'ordine degli Strepssitteri interamente costituito da parassiti castratori. A causa di tale peculiarità, tutti gli strepsitteri sono stati definiti come parassitoidi più che parassiti, vista la costante morte riproduttiva dei loro ospiti. In uno studio di 2 anni, condotto sia in campo che in laboratorio, abbiamo osservato la presenza di maschi di *P. dominulus* parassitati in arene nuziali in natura ed abbiamo testato il comportamento sessuale di tali maschi presumibilmente castrati attraverso prove sperimentali. Inoltre, abbiamo esaminato l'ultrastruttura degli apparati riproduttori di maschi parassitati e sani per verificare eventuali alterazioni strutturali legate alla presenza del parassita. I risultati ottenuti mostrano l'assenza di differenze significative sia nei livelli di attività sessuale sia nella struttura degli apparati riproduttori tra maschi parassitati e controlli sani. I nostri risultati ci portano a concludere che, mentre la definizione di *X. vesparum* quale parassitoide potrebbe risultare corretta riferendosi ad ospiti di sesso femminile, i quali sono sempre irrimediabilmente castrati, suddetta definizione non sembra altrettanto corretta nel caso di ospiti di sesso maschile. In questo caso la definizione di *X. vesparum* quale parassita appare più appropriata, data l'evidenza che maschi stilopizzati non perdono il loro comportamento sessuale, né il loro apparato riproduttore risulta compromesso dalla presenza del parassita.

FLEXIBLE ALLOCATION TO MALE AND FEMALE FUNCTIONS IN HERMAPHRODITES: A COMPARISON AMONG THREE POLYCHAETE WORM SPECIES

D. SCHLEICHEROVÁ¹, G. SELLA¹, R. SIMONINI², M.P.MARTINO², P. CERVELLA¹, M.C. LORENZI¹

¹*Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino;*

²*Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia*

Simultaneous hermaphrodites express both the male and the female function. They are expected to partition their reproductive resources opportunistically between their sex functions depending on environmental conditions, e.g., mating opportunities. When mating opportunities are rare, hermaphrodites are expected to allocate most of their resources to the female function and the remaining to the male function. As mating opportunities increase, hermaphrodites are expected to increase their allocation to the male function by subtracting resources from the female function. Experimental evidence for these predictions are contradictory and the question remains which factors promote or constrain the ability to adjust resources opportunistically between sex functions.

We compared the ability to adjust sex allocation to mating opportunities in three closely related species of simultaneous hermaphrodites. We found that, in the polychaete worms *Ophryotrocha diadema*, *O. adherens* and *O. gracilis*, adults plastically changed their sex allocation depending on mating opportunities. Generally, worms allocated large amounts of resources to their female function when mating opportunities were low. In contrast, when mating opportunities were high, worms allocated proportionally less resources to the female function, in favour of the male function. However, the degrees of plasticity differed between species and between sex function within species. The differences between species in sex allocation plasticity possibly depended on the relative costs of the male and female functions in each species and on ecological factors, such as habitat conditions and the prevailing population densities in the wild.

TRADE-OFF TRA CARATTERI SESSUALI MASCHILI E QUALITÀ DELLO SPERMA NEL GAMBERO DI FIUME ITALIANO *AUSTROPOTAMOBIVS ITALICUS*

P. GALEOTTI¹, G. BERNINI¹, L. LOCATELLO², R. SACCHI¹, D. RUBOLINI³, M. FASOLA¹

¹*Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia;* ²*Dipartimento di Biologia, Università di Padova;* ³*Dipartimento di Biologia, Università di Milano*

Nelle specie in cui le femmine si accoppiano promiscuamente, il successo riproduttivo del maschio dipende sia dalla sua capacità di acquisire compagne (selezione pre-copula) sia dalle capacità competitive del suo sperma nel fecondare le uova (selezione post-copula). La teoria della competizione spermatica predice la presenza di un “trade-off” tra l'investimento nei caratteri sessuali secondari maschili (CSS), utili per l'acquisizione di partner, e l'investimento spermatico, in funzione dell'intrinseco vantaggio nella produzione di sperma in condizioni di sperm competition. Al contrario, la “phenotype-linked fertility” ipotesi predice che l'espressione fenotipica dei CSS maschili rifletta affidabilmente l'efficienza sessuale del maschio (fertilità), consentendo alle femmine di ottenere benefici diretti mediante la scelta di partner dotati di armi/ornamenti più cospicui.

In questo studio, abbiamo investigato le relazioni tra CSS maschili nel gambero di fiume italiano *Austropotamobius italicus* e la qualità dello sperma allocato alle femmine in esperimenti di accoppiamento. I risultati mostrano che le dimensioni relative delle chele dei maschi sono correlate negativamente a quantità e vitalità dello sperma eiaculato. Inoltre, il grado di asimmetria delle chele covaria negativamente con la longevità degli spermatozoi. Ciò suggerisce un trade-off tra selezione pre-copulatoria per armi di grandi dimensioni, utilizzate nei combattimenti tra maschi, e la competizione spermatica e/o la scelta criptica femminile post-copulatoria per sperma efficiente. La forte competizione intrasessuale e la modalità coercitiva della copula in questa specie possono aver portato all'evoluzione di armi così esagerate da ridurre significativamente sia la manovrabilità che le capacità sessuali dei maschi, il che implica che le chele possono essere un segnale inaffidabile di qualità.

ARE PIPEFISHES AND SEAHORSES INSEMINATING SPECIES? IMPLICATION OF THE MALE REPRODUCTIVE APPARATUS MORPHOLOGY AND SPERMATOGENESIS MODE IN THE REPRODUCTIVE STRATEGY OF SYNGNATHIDS

M. CARCUPINO¹, F. BIAGI¹, F. PIRAS¹, P. FRANZOI²

¹*Department of Nature and Environmental Resources, University of Sassari;* ²*Department of Environmental Science, University of Venice*

The reproductive strategies in Syngnathidae appears to be extremely heterogeneous, varying from the typical oviparity to an atypical viviparity in which the males become “pregnant”. Studies on paternity, sperm structure and sperm number suggest that insemination is a crucial event in the reproductive strategy of this fish family. Syngnathid males with or without a brood pouch (referred as internal and external brooders respectively) gain exclusive paternity of their young, so no sperm competition seems to be present, even in those species which show a polygamous mating system. In syngnathids, fertilization has been generally hypothesized to be achieved by the direct release of sperm into the pouch. However, no unequivocal morphological demonstration on the localization of the sperm duct opening has been provided, and as of now, it is not clear how sperm, in both external and internal brooders species, reach the eggs to be fertilized. The male reproductive apparatus of *Nerophis ophidion* (without a pouch), *Syngnathus typhle*, *S. tenuirostris*, *S. acus*, *S. abaster* (with a semi-closed pouch) and *Hippocampus guttulatus* (with a marsupium) was analyzed using light, fluorescent and electron microscopic techniques. All species had: 1) testes atypically organized in a single germinal compartment; 2) sperm maturation occurring via the formation of polynucleate cells, which develop inside the testis lumen (atypical semi-cystic spermatogenesis); 3) sperm ducts fusing posteriorly to form a main sperm duct which open at the tip of a short urogenital papilla, some distance away by the brooding area and 4) both testes and sperm duct are characterised by the presence of abundant smooth muscle fibers. These data definitively reject the hypothesis that in syngnathids species sperm are released inside the pouch and also the hypothesis of a typical external insemination is unlikely as well. A reproductive strategy involving internal insemination followed by external fertilization, which occurs in a physiologically “internal” female environment (the jelly-like secretion, with which the eggs are laid), has been discussed.

SOCIOGENESI IN UNA MICROSOCIETÀ: LA NASCITA DI UN SUPERORGANISMO

D.A. GRASSO, C. CASTRACANI, A. MORI

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Parma, Viale delle Scienze 11/A, 43124 Parma

Le colonie delle formiche sono sistemi complessi che manifestano proprietà collettive confrontabili con quelle degli organismi pluricellulari. La colonia può essere considerata, quindi, un “organismo” diviso in più corpi le cui proprietà emergenti, per quanto sofisticate, derivano da meccanismi semplici che mediano le interazioni sociali tra questi corpi. Negli ultimi decenni, sono stati fatti notevoli progressi nella comprensione dei principi che governano le attività collettive delle formiche con particolare riguardo ai meccanismi di divisione del lavoro, di comunicazione, all’economia dello sfruttamento delle risorse. Tuttavia, questi aspetti sono stati studiati principalmente in colonie mature e si conosce poco riguardo alle prime fasi di sviluppo di una società. Nell’ontogenesi coloniale, la fase iniziale rappresenta, invece, un momento critico per il successo della colonia stessa le cui caratteristiche in questa fase sono ben diverse da quelle di una società matura. Nel presente lavoro abbiamo descritto e quantificato alcuni aspetti dell’organizzazione sociale in colonie incipienti di formiche mietitrici (*Messor wasmanni*). In particolare: a) sono state descritte le fasi iniziali della fondazione da parte delle regine; b) ogni operaia è stata seguita nella sua ontogenesi sociale; c) è stato descritto lo sviluppo delle varie attività coloniali collettive man mano che la società si ingrandiva. I risultati hanno evidenziato l’esistenza di un polietismo “condizionale” in cui il pattern di attività manifestate dalle varie operaie si sviluppa in modo differenziato in base a fattori contingenti. Tra questi, la demografia coloniale e la disponibilità di cibo sembrano giocare un ruolo chiave nell’influenzare la quantità e la sequenza delle attività svolte dai singoli individui. Tuttavia, l’allocazione della forza lavoro della colonia nel suo complesso avviene in modo da garantire una costante cura della prole e la gestione del cibo raccolto, attività cruciali per il successo della società. Le colonie incipienti, quindi, nonostante le ridotte dimensioni, manifestano una vita sociale ben strutturata e rappresentano un utile strumento per studiare i processi sociogenetici nelle formiche e i principi regolatori delle loro attività collettive.

ALTA FREQUENZA DI FUSIONE E IBRIDAZIONE TRA COLONIE DI *KALOTERMES FLAVICOLLIS* (ISOPTERA, KALOTERMITIDAE): “KIN SELECTION” E “ACCELERATED NEST INHERITANCE” A CONFRONTO

A. LUCHETTI, B. MANTOVANI

Dipartimento di Biologia evoluzionistica sperimentale, Università di Bologna

L'eusocialità si ritiene originata da uno stile di vita strettamente monogamo che avrebbe promosso un alto grado di relatedness genetica intra-familiare; tuttavia, poliginia, poliandria, fusione e ibridazione di colonie, riscontrati nei taxa più primitivi di molti insetti sociali, possono provocare un significativo abbassamento di r , suggerendo che altri fattori promuovano l'eusocialità. È stato iniziato lo studio del taxon eusociale primitivo *K. flavicollis* che produce piccole colonie all'interno di tronchi di legno utilizzati anche come risorsa alimentare e i cui operai sono individui totipotenti in grado di evolvere in riproduttori in opportune condizioni. I risultati dello studio di undici colonie toscane analizzate tramite marcatori mitocondriali e nucleari indicano: i) l'esistenza di una nuova linea genetica altamente divergente dal punto di vista mitocondriale simpatica con *K. flavicollis*, ii) eventi di ibridazione tra le due linee con produzione di colonie durature, iii) la condizione di “famiglia mista” per la maggior parte delle colonie, che presentano prole di più coppie riproduttrici (fino a 9 aplotipi mitocondriali in una singola colonia) ed in cui gli individui possono avere anche valori negativi di r . I valori di statistica F , comparati a quelli ottenuti da simulazioni al computer, suggeriscono che le colonie siano frutto di fusione tra colonie diverse, anche se non è possibile scartare del tutto l'ipotesi di pleometrosi e/o adozione di riproduttori sciamanti da altre colonie. I dati ottenuti, in linea con quanto osservato in altri taxa eusociali primitivi, indicano che fattori diversi possono aver contribuito allo stabilirsi dell'eusocialità: in particolare, la morte prematura dei riproduttori, a causa della fusione delle colonie, aumenta la probabilità per gli individui totipotenti di diventare a loro volta riproduttori ereditando il nido, e quindi la risorsa alimentare. In tale scenario, lo stile di vita coloniale sarebbe mantenuto non per il vantaggio legato ai benefit indiretti ricevuti, come predetto dalla Kin Selection, ma per i vantaggi legati alla possibilità di diventare riproduttori ed ereditare il nido senza i rischi connessi alla fondazione di una nuova colonia (teoria della Accelerated Nest Inheritance).

SELEZIONE SESSUALE DEL COMPORTAMENTO: LE DANZE NUZIALI DEL MANACHINO COLLODORATO

L. FUSANI¹, J. BARSKE^{1,2}, B. A. SCHLINGER²

¹*Dipartimento di Biologia e Evoluzione, Università di Ferrara;* ²*Departments of Integrative Biology and Physiology, Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Los Angeles, USA*

I manachini sono piccoli passeriformi neotropicali noti per le loro straordinarie esibizioni di corteggiamento. I maschi del manachino collodorato *Manacus vitellinus* formano aggregazioni temporanee dette 'leks' durante le stagioni riproduttive, dove ciascun individuo prepara e cura una piccola arena nuziale. La danza di corteggiamento consiste nell'esecuzione di salti orizzontali tra i polloni che delimitano l'arena, con la contemporanea presentazione delle penne dorate del collare erettile e la produzione di sonori schiocchi con la percussione delle ali sopra il dorso. Nel manachino il corteggiamento è l'unico segnale che la femmina ha a disposizione per la sua scelta, e da questo dipende interamente il successo riproduttivo di ogni maschio. Sebbene la colorazione del piumaggio e la pulizia dell'arena siano importanti fattori nella scelta femminile, i nostri studi recenti evidenziano un ruolo importantissimo delle capacità acrobatiche del maschio, che possiede delle specializzazioni neuromuscolari uniche per eseguire le sue straordinarie danze nuziali. Utilizzando dei sistemi di video registrazione ad alta velocità, abbiamo analizzato le danze nuziali dei maschi e misurato una serie di variabili che descrivono la rapidità e la precisione di esecuzione. Inoltre, abbiamo misurato alcuni indici del successo riproduttivo, come il numero di visite che ciascuna arena ha ricevuto da parte delle femmine, e il numero di accoppiamenti ottenuti da ciascun maschio. Abbiamo così scoperto che le femmine preferiscono accoppiarsi con i maschi che eseguono le loro esibizioni con le pause più brevi tra un salto e il successivo. Inoltre, l'applicazione di una trasmittente miniaturizzata che registrava la frequenza cardiaca durante il corteggiamento ha rivelato che durante le loro danze i manachini raggiungono picchi di 1200 battiti al minuto, attualmente la frequenza cardiaca più alta misurata in un vertebrato. In conclusione, i nostri studi evidenziano che le femmine scelgono i partner in base a caratteristiche delle danze nuziali che sono direttamente associate a capacità acrobatiche e condizioni cardiovascolari.

QUALITÀ DELLE UOVA E SCELTA SESSUALE NEGLI UCCELLI. UN'ANALISI COMPARATIVA

M. GRENNÀ, M. CUCCO, G. MALACARNE

Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Università del Piemonte Orientale

In esperimenti di campo e laboratorio si è dimostrato che le femmine di molte specie di uccelli variano la qualità delle uova in funzione delle caratteristiche del maschio scelto. È noto che la qualità delle uova, data dalle sostanze in esse allocate, influenza significativamente la probabilità di sopravvivenza del pulcino. Nel tuorlo hanno azione benefica i carotenoidi, gli antiossidanti e le immunoglobuline, nell'albume delle sostanze ad azione anti batterica quali lisozima e ovotransferrina. In questo lavoro abbiamo considerato, su base comparativa, i risultati presentati in 30 diversi articoli. Appare evidente che solo in circa la metà degli studi, le sostanze considerate aumentano significativamente mentre in un numero comparabile non si assiste ad alcun effetto. Questi risultati sono discussi alla luce della teoria dell'allocazione ottimale delle risorse riproduttive.

Poster n. 1

SEARCHING FOR SEX-RELATED cDNAs IN *OPHRYOTROCHA PUERILIS* (ANNELIDA, POLYCHAETA) BY cDNA-SRAP

E. CANNARSA, G. SELLA, P. CERVELLA

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino; Via Accademia Albertina 13, 10123, Torino, Italia

Sexual selection is considered a major cause of speciation, acting in synergy with ecological selection or selection for species recognition. Understanding the relative contributions of diverse forms of selection may help to explain how and when in the history of a lineage one trait might have originated. In this regard, the genus *Ophryotrocha* represents an excellent model. The almost 30 species described so far have very similar morphologies and ecological habits, although their reproductive patterns differ greatly, ranging from simultaneous and sequential hermaphroditism to gonochorism.

Until now, no molecular genetic support has been given to the several hypotheses suggested to explain the underlying evolutionary dynamics leading to the existing divergence. Here, we report a preliminary analysis of differentially expressed cDNAs in juvenile males and adult females of *O. puerilis*, a protandrous hermaphrodite, by cDNA-Sequence-Related Amplified Polymorphism (cDNA-SRAP), with the final goal to compare orthologous cDNAs from closely related species, e.g. the gonochoric *O. labronica* and the simultaneous hermaphrodite *O. diadema*.

cDNAs from pooled juvenile males or adult females were amplified with 10 distinct primer pairs. For each sex, approx. 1,000 transcript-derived segments (TDSs) ranging in size between 0.2 and 2 Kbp were obtained. About 300 sex-specific TDSs, as well as shared products, were eluted from the PAGE gels and cloned in plasmid vectors for sequencing. Sequences were identified by similarity search using the WU-BLASTX and the FASTX programs with various matrices against the UniProt database.

The majority of comparisons reported matches to predicted or unknown peptides. A substantial number of similarities were found to proteins with known function, although several were of bacterial origin. The vast majority of these belongs to the energy, metabolism and cell structure groups, while some were recognized as involved in sperm-egg interactions.

STUDIO SULLE SCELTE SESSUALI FEMMINILI IN *TESTUDO HERMANNI HERMANNI*: QUALI FATTORI INFLUENZANO IL SUCCESSO DI PATERNITÀ IN QUESTA SPECIE?

G. CUTULI, S. CANNICCI, M. VANNINI, S. FRATINI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Università degli Studi di Firenze

Le tartarughe del genere *Testudo* presentano una peculiare biologia riproduttiva: a un sistema di accoppiamento promiscuo, infatti, si unisce la capacità delle femmine di immagazzinare e mantenere vitale per anni lo sperma dei suoi partner. Questa caratteristica è ormai ben documentata e si riflette nella frequente presenza di paternità multiple all'interno delle covate. Ciò che non è ancora stato chiarito, invece, è quali fattori determinino il successo relativo dei vari maschi nella fecondazione delle uova. Con questo studio abbiamo testato alcune ipotesi attraverso osservazioni comportamentali, accoppiamenti controllati e analisi genetiche per le assegnazioni di paternità. In primo luogo abbiamo indagato l'effetto dell'ordine di accoppiamento sul successo riproduttivo dei maschi, tramite la programmazione di accoppiamenti sequenziali: i dati comportamentali, analizzati con una statistica multivariata, non evidenziano differenze nell'intensità di corteggiamento tra i primi e i secondi maschi ad essersi accoppiati con le femmine; coerentemente, i dati genetici escludono l'influenza dell'ordine di accoppiamento sulle paternità dei piccoli, ma evidenziano la massiccia presenza di paternità imputabili a partner di precedenti stagioni riproduttive. La seconda fase dello studio è stata invece mirata a studiare l'influenza dell'aggressività intrasessuale e dell'intensità di corteggiamento sul successo riproduttivo dei maschi. In ciascuno dei gruppi sperimentali, costituiti da 2 maschi e 3-4 femmine, abbiamo determinato una gerarchia tra i maschi coinvolti, designati come α e β . Le analisi statistiche hanno evidenziato che la gerarchia tra i maschi non dipende dalle loro dimensioni, mentre è emerso chiaramente che i maschi α ottengono un maggior numero di copule, esibiscono maggiore intensità nel corteggiamento, spendono più tempo nelle interazioni con le femmine. Tuttavia è risultato che il successo di paternità relativo non dipende né dalla gerarchia né dal tempo speso nelle copule e, quindi, ragionevolmente neanche dalla quantità di sperma immesso. È possibile, quindi, che l'intensità di corteggiamento e la motivazione del maschio vengano usati dalle femmine come segnali onesti di qualità genetica e salute del partner e una selezione post-copulatoria dello sperma immagazzinato potrebbe favorire la trasmissione di queste qualità alla propria prole.

Poster n. 3

MODELLI RIPRODUTTIVI E SEX RATIO NEGLI ISOPODI TERRESTRI (CRUSTACEA, ONISCIDEA) DI UN'AREA UMIDA COSTIERA SICILIANA

G. MESSINA, E. PEZZINO, G. MONTESANTO, D. CARUSO, B.M. LOMBARDO

Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, Università degli Studi di Catania

email: giuseppina.messina@unict.it

Il ciclo riproduttivo negli Isopodi Oniscidei è abbastanza noto nelle linee generali; tuttavia esistono differenze nei modelli riproduttivi e nella sex ratio delle diverse specie. Molto spesso il picco riproduttivo è risultato limitato a determinati periodi dell'anno, anche se sono state riscontrate differenze tra le diverse specie e talvolta tra popolazioni appartenenti alla stessa specie, probabilmente in relazione alle condizioni microclimatiche.

Obiettivo principale di questa ricerca è confrontare l'andamento temporale della sex ratio ed il modello riproduttivo in otto specie di Isopodi terrestri raccolti, con campionamenti mensili mediante pitfall traps, all'interno della Riserva Naturale Orientata "Saline di Trapani e Paceco" nel periodo 2008-2010. Per ogni specie è stata calcolata la frequenza di cattura di maschi, femmine e femmine ovigere ed è stata stimata la sex ratio (M:F), per ogni mese di raccolta.

Osservando l'andamento dell'attività superficiale di maschi e femmine si nota un modello comune alle diverse specie, sovrapponibile fra primo e secondo anno di campionamento. La maggior parte di esse mostra una diminuzione nel numero dei maschi durante i mesi estivi.

I valori di sex ratio variano da 0.61 (*Porcellio laevis*) a 1.53 (*Armadillidium decorum*). Un rapporto sessi 1:1 è stato osservato solo per *Armadillidium granulatum*; un rapporto a favore dei maschi è stato osservato in *Armadillo officinalis* (1.28) ed in *A. decorum*. Le rimanenti specie, *Halophiloscia couchii* (0.69), *Chaetophiloscia elongata* (0.78), *Leptotrichus panzerii* (0.73), *Armadillidium badium* (0.78), presentano una lieve spanandria.

Sulla base dei dati di frequenza di attività delle femmine ovigere è possibile considerare semelpare le popolazioni studiate di *C. elongata*, *L. panzerii*, *A. granulatum*, ed iteropare le popolazioni di *H. couchii*, *P. laevis*, *A. badium*, *A. decorum*, *A. officinalis*.

INTERAZIONI SOCIALI TRA SQUALI BIANCHI: SEGREGAZIONE SESSUALE O DIMENSIONALE?

E. SPERONE¹, P. MICARELLI², E. BRUNELLI¹, P. BRANDMAYR¹, S. TRIPEPI¹

¹*Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria;* ²*Aquarium Mondomarino, Associazione Posidonia, Massa Marittima (GR)*

Sebbene gli squali rappresentino un'antica linea evolutiva di predatori di vertice considerati cacciatori a vita solitaria, per molte specie è stata descritta la tendenza a formare gruppi o aggregazioni libere, oppure ad esibire interazioni sociali in condizioni particolari, come la competizione per una risorsa trofica. Finanche le specie più strettamente solitarie incontrano conspecifici durante i periodi riproduttivi o in territori di caccia particolarmente ricchi, sviluppando dei sistemi di segnali e comportamenti volti a minimizzare i conflitti e strutturare le interazioni. Nell'ambito di quattro spedizioni di studio condotte presso la Riserva Naturale di Dyer Island in Sudafrica negli anni 2009-2010-2011-2012, sono state studiate e descritte le interazioni sociali tra squali bianchi in presenza di un'esca alimentare. Le osservazioni, condotte sia da barca che da gabbia per immersione, hanno permesso l'identificazione di 173 eventi comportamentali esibiti da 135 differenti squali bianchi. Essi sono stati ascritti ad otto moduli: swim by (45,17%), follow give way (21,05%), follow (13,68%), parallel swimming (12,63%), give way (3,15%), splash fights (2,10%), piggybacking (2,10%), stand back (2,10%). Nessuna correlazione statisticamente significativa è stata osservata confrontando il sesso degli animali, la frequenza ed il tipo di interazione sociale. Significativa è, invece, la correlazione tra le dimensioni degli animali e la frequenza delle interazioni: nella maggior parte dei casi, infatti, le interazioni sociali sono state messe in atto da esemplari con dimensioni corporee simili (meno del 7,4% di differenza nella lunghezza totale tra individui). Nel caso in cui gli animali presentavano dimensioni corporee molto diverse, invece, solo raramente è stata osservata interazione sociale. In condizioni di elevata densità di individui, pertanto, è possibile ipotizzare che gli squali bianchi stabiliscano una priorità di accesso ad una risorsa sulla base delle dimensioni corporee: quando queste non sono più una discriminante, la gerarchia di accesso viene stabilita mediante delle interazioni rituali. Tali interazioni, tra l'altro, sono comuni anche ad altri predatori marini epipelagici, come i cetacei, ed anche in questo caso vengono adottate in situazioni in cui due o più individui si trovino a competere per la stessa risorsa.

Simposio II
Uso dello spazio, orientamento e migrazioni
(in onore di Guido Tosi)

Coordinatori: F. Verni, N.E. Baldaccini

Relazione su invito

ORIENTARSI IN UN DESERTO D'ACQUA: LA NAVIGAZIONE OCEANICA DEGLI ANIMALI MARINI

P. LUSCHI

Dipartimento di Biologia, Università di Pisa

Un gran numero di animali marini compie rilevanti spostamenti in mare aperto, spesso dirigendosi verso obiettivi determinati distanti anche centinaia o migliaia di km. Queste prestazioni, che comprendono le migrazioni oceaniche dei pesci, dei cetacei o delle tartarughe e i voli di foraggiamento degli uccelli marini, sono particolarmente interessanti per i sistemi di orientamento impiegati in queste condizioni estreme. Il mare aperto appare, almeno a noi umani, un ambiente estremamente monotono e privo di sostanziali punti di riferimento, e quindi simile a un deserto in cui le abilità di orientamento e navigazione sono messe a dura prova. Le conoscenze scientifiche su questi fenomeni sono molto scarse e derivano essenzialmente da esperimenti effettuati in condizioni controllate di laboratorio, che hanno fornito indicazioni sul ruolo di stimoli astronomici e geomagnetici.

Il nostro gruppo di ricerca sta studiando da vari anni il fenomeno della navigazione oceanica attraverso una serie di esperimenti condotti su animali liberi nel loro ambiente naturale, il cui comportamento viene monitorato tramite telemetria satellitare. La maggior parte degli studi è stata compiuta sulle tartarughe marine, anche se di recente sono stati effettuati esperimenti di dislocamento su berte maggiori (*Calonectris diomedea*) nidificanti alle isole Azzorre. Esperimenti compiuti su tartarughe verdi (*Chelonia mydas*) nidificanti in isole dell'Oceano Indiano hanno evidenziato un ruolo delle informazioni geomagnetiche nel comportamento di homing a seguito di dislocamento sperimentale. Tartarughe rilasciate in aperto oceano a 100-150 km dalle loro spiagge di nidificazione, hanno infatti esibito un significativo peggioramento delle loro prestazioni di navigazione se venivano esposte all'azione di potenti magneti che mascheravano gli stimoli derivanti dal campo magnetico terrestre. Il disturbo dei magneti non si manifesta nella parte iniziale del viaggio di homing, quando l'animale si trova ancora lontano dalla meta: in questa fase è presumibile che siano impiegati altri stimoli, la cui natura è ancora sconosciuta. Infine, nella fase finale di avvicinamento all'isola è stata rilevata l'importanza di stimoli orientanti portati dai venti, che rendono l'approccio all'isola più facile dall'area sottovento all'obiettivo rispetto a quella sopravvento.

OLFACTORY NAVIGATION IN ATLANTIC CORY'S SHEARWATERS (CALONECTRIS DIOMEDEA BOREALIS)

A. GAGLIARDO¹, J. BRIED², P. LAMBARDI², P. LUSCHI¹, M. WIKELSKI³, F. BONADONNA⁴

¹*Dipartimento Biologia, Università degli Studi di Pisa;* ²*Department of Oceanography and Fisheries, University of the Azores, Horta, Faial, Portugal,* ³*Max Planck Institute for Ornithology, Department of Migration and Immuno-ecology, Radolfzell, Germany;* ⁴*CNRS/SCEFE, Montpellier Cedex 5, France*

Pelagic birds, which wander in the open sea most of the year and often nest on small remote oceanic islands, are able to pinpoint their breeding colony even within an apparently featureless environment, such as the open ocean. The mechanisms underlying their amazing navigational performances are still unknown. In order to investigate the nature of the cues exploited for oceanic navigation, Cory's shearwaters (*Calonectris diomedea*) nesting in the Azores were displaced and released in open ocean at about 800 km from their colony, after having been subjected to either magnetic disturbance or olfactory deprivation. The birds were tracked with either GPSs or PTT satellite transmitters. While magnetically disturbed shearwaters showed unaltered navigational performances and behaved similarly to unmanipulated control birds, the shearwaters deprived of their sense of smell were dramatically impaired in orientation and homing. Our data show that seabirds do not only use olfactory cues to find their food, but also to navigate over vast distances in the ocean.

IL GRADIENTE DI INTENSITÀ LUMINOSA DEL CIELO, IL SOLE E LA LUNA NELL'ORIENTAMENTO DELL'ANFIPODE *TALITRUS SALTATOR* (MONTAGU)

G. GALANTI¹, L. MERCATELLI², A. UGOLINI¹

¹Dipartimento Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze; ²Istituto Nazionale di Ottica - CNR, Firenze

I litorali sabbiosi sono soggetti a forti variazioni periodiche e aperiodiche di fattori di stress di varia natura (biotici: predazione, risorse trofiche; abiotici: temperatura, umidità, salinità). Per questa ragione la maggior parte degli artropodi ripari che vivono in questi ambienti presentano particolari adattamenti atti a compensare l'elevato livello di stress che caratterizza gli ecotoni. Molte specie litorali, tra le quali l'anfipode *Talitrus saltator*, hanno messo a punto meccanismi di recupero zonale che consentono loro di fare ritorno alla zona di elezione della spiaggia, ogni volta che se ne allontanano. La capacità di recupero zonale si avvale della utilizzazione di molteplici fattori di orientamento quali, ad esempio, sole, luna, fattori celesti, visione del paesaggio, campo magnetico terrestre. Recentemente è stato dimostrato, che il gradiente di luminosità presente nel cielo tra emicalotta solare ed antisolare, rappresenta un ulteriore fattore orientante celeste utilizzato dai talitri nel recupero zonale.

Esperimenti effettuati utilizzando un apparato sperimentale costituito da una cupola di plexiglas opalescente che, con opportuna illuminazione artificiale, riproduce uno scenario con sole (luna) e cielo paragonabile a quello naturale, hanno messo in evidenza come il gradiente di luminosità del cielo (sia naturale che artificiale) contribuisca alla corretta identificazione del sole e della luna da parte dei talitri. Infatti, è noto che esemplari di *T. saltator* con ritmo nictiemerale invertito saggiati al sole (durante la loro notte soggettiva) e con la luna piena (durante il loro giorno soggettivo) mostrano un orientamento corretto in accordo con l'identificazione del sole e della luna. Individui sottoposti a condizioni artificiali di fotoperiodo, ma corrispondenti a quelle naturali, saggiati con luce artificiale durante la notte in assenza del gradiente di luminosità, mostrano di identificare la sorgente di illuminazione artificiale come luna anche con condizioni di illuminazione che consentono durante il giorno di riprodurre un orientamento basato sulla visione del sole. Tuttavia, se tramite l'aggiunta di appositi filtri grigi, veniva artificialmente creato il gradiente di luminosità, la fonte di luce veniva riconosciuta come sole anche di notte (nonostante la differenza di luminosità tra emicalotta solare ed antisolare sia più bassa in condizioni artificiali rispetto a quella presente in natura nel cielo). Pertanto il gradiente di luminosità del cielo sembra non solo rappresentare uno stimolo orientante celeste utilizzato da *T. saltator* durante il giorno, ma rappresenta anche un fattore che contribuisce alla identificazione di sole e luna da parte dei talitri.

MOVIMENTI MIGRATORI E USO DELLO SPAZIO IN *CARETTA CARETTA*, TARTARUGA MARINA: UNO STUDIO DI TELEMETRIA SATELLITARE SU FEMMINE NIDIFICANTI NELLA PIÙ IMPORTANTE AREA RIPRODUTTIVA ITALIANA (CALABRIA IONICA)

T. MINGOZZI¹, R. MENCACCI², S. URSO¹, G. PARISE¹, D. GIUNCHI², P. LUSCHI²

¹Dip. di Ecologia, Università della Calabria, Rende; ²Dip. di Biologia, Università di Pisa, Pisa

email: tmingoz@unical.it

Molte specie animali compiono movimenti migratori, spesso di notevole regolarità e grande ampiezza. La conservazione di queste specie implica una conoscenza approfondita dei luoghi/habitat stagionalmente frequentati, come anche delle rotte migratorie. I cheloni marini offrono alcuni degli esempi più spettacolari di migrazione su lunghe distanze. Un forte impulso alla conoscenza dei loro movimenti è derivata, negli ultimi anni, dallo sviluppo delle telemetria satellitare.

C. caretta è una delle specie di vertebrati più a rischio sul territorio nazionale, per il forte impatto che le attività antropiche determinano sulle sue popolazioni. Un progetto di ricerca, avviato nel 2000 lungo la costa ionica della Calabria, ha portato alla scoperta, nello Ionio reggino, della più importante area di nidificazione della specie in Italia. La mancanza d'informazioni sul comportamento migratorio di questa residua popolazione ha spinto ad avviare uno studio di telemetria satellitare sulle femmine nidificanti, primo tentativo di questo genere a livello nazionale.

Nelle stagioni 2009-2011, sei femmine sono state munite di trasmettitori satellitari (Argos) e seguite nei loro movimenti tra successive nidificazioni stagionali (*internesting*), negli spostamenti post-riproduttivi e, in due casi, per un intero ciclo biennale. I risultati del monitoraggio hanno evidenziato: a) rotte migratorie post-riproduttive molto simili tra individui differenti e nettamente direzionate verso la costa tunisina; b) aree residenziali di foraggiamento policentriche in habitat neritico; c) rotte pre-riproduttive più variabili e meno direttamente orientate verso i siti di nidificazione; d) movimenti molto ampi di *internesting* ("loop") nel basso Ionio, mai segnalati prima in Mediterraneo.

I pattern descritti rilevano le peculiarità delle strategie di questa popolazione, ed enfatizzano l'importanza di conoscenze "case-by-case" nella conservazione, tanto più per specie il cui ampio "*life history range*" incrementa le potenziali minacce e rende complessa l'applicazione di effettive misure di protezione.

L'ESPRESSIONE DEI CRIPTOCROMI DIPENDE DALLO STATUS MIGRATORIO NELLA CAPINERA (*SYLVIA ATRICAPILLA*)

C. BERTOLUCCI, L. FUSANI, E. FRIGATO, A. FOÀ

Dipartimento di Biologia ed Evoluzione, Università degli Studi di Ferrara

Recenti ricerche hanno dimostrato che fotopigmenti retinici che assorbono la luce nello spettro blu/verde sono coinvolti nel meccanismo di orientamento magnetico durante la migrazione notturna dei passeriformi. Le uniche molecole presenti nella retina dei vertebrati che abbiano le caratteristiche fisico-chimiche necessarie per la magnetorecezione mediata dalla luce sono i criptocromi (CRY). Precedenti studi sul beccafico *Sylvia borin*, specie migratrice, in confronto con il diamante mandarino *Taeniopygia guttata*, specie sedentaria, suggeriscono CRY1 come fotopigmento candidato per la percezione retinica del campo geomagnetico. Lo scopo della nostra ricerca è stato quello di confrontare l'espressione del CRY retinico in esemplari di capinera (*Sylvia atricapilla*) che manifestavano inquietudine migratoria (zugunruhe) con quella di esemplari della stessa popolazione in cui la zugunruhe veniva soppressa mediante un protocollo di simulazione di sosta migratoria. Abbiamo identificato nel trascrittoma della capinera i geni omologhi dei criptocromi cry1a, cry1b e cry2. Le sequenze aminoacidiche dedotte rivelano un'elevata omologia (>80%) con gli omologhi identificati nei vertebrati. Per verificare se l'espressione genica di cry1a e cry1b nella retina sia influenzata dalla condizione migratoria, abbiamo sottoposto esemplari di capinera (N=24) catturati all'inizio della stagione migratoria in Lettonia ad un digiuno di due giorni in condizioni controllate. Gli animali erano ospitati in gabbie equipaggiate con sensori di movimento ad infrarossi che registravano l'attività locomotoria. Gli animali sottoposti al digiuno hanno interrotto spontaneamente la zugunruhe nella notte successiva alla reintroduzione del cibo. L'analisi dell'espressione genica tramite qPCR ha messo in evidenza un aumento altamente significativo dei livelli di cry1a e cry1b a 3 ore dallo spegnimento della luce nella retina di capinere in migrazione rispetto ad esemplari non in migrazione o con migrazione interrotta. I risultati ottenuti confermano il ruolo dei criptocromi nell'orientamento mediante bussola magnetica nella migrazioni dei passeriformi.

MIGRAZIONI VERTICALI DI *CERITHIDEA DECOLLATA* (GASTROPODA) IN RELAZIONE ALL'ESCURSIONE DI MAREA. INFORMAZIONI INTERNE O SEGNALI SOTTILI DI ORIGINE AMBIENTALE?

S. FRATINI, M. VANNINI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze

Le migrazioni di *C. decollata* si svolgono regolarmente tra il tronco delle mangrovie su cui gli animali risiedono in alta marea ed il plateau fangoso ove pascolano durante la bassa marea. L'entità di tale migrazione è in relazione con l'escursione della marea dato che, in alta marea, *C. decollata* si tiene sempre 20-40 cm sopra il livello massimo dell'acqua. A sua volta il livello del mare può raggiungere (nel sito di studio) circa un metro (durante le alte maree di sizigia) come non arrivare nemmeno alla base degli alberi (per alcuni giorni attorno al periodo di quadratura). Va infine notato che tra la fase di sizigia e di quadratura l'andamento delle maree è tutt'altro che regolare a causa della forte disparità diurna di due onde di marea adiacenti.

La sincronizzazione del comportamento migratorio di *C. decollata* con un fenomeno fisico così complicato appare quindi tanto più straordinaria quanto più si consideri che gli animali non vengono mai in contatto con il mare.

Ammettendo che la sincronizzazione della migrazione in senso strettamente temporale sia comunque sotto il controllo di un sistema di orologi biologici, è indubbio però che la capacità di prevedere il livello della marea esige informazioni che non sembra possano derivare da segnali interni.

Grazie ad una sperimentazione mediante supporti di plastica abbiamo potuto dimostrare che gli spostamenti di *C. decollata* non sono legati a segnali chimici presenti sul supporto e non sono legati a riferimenti visivi diretti o indiretti dell'ambiente circostante. In seguito a traslocazioni in siti ad andamento tidale diverso, abbiamo anche dimostrato che non esiste trasferimento di informazioni tra i residenti e i traslocati e che l'intero processo di adattamento alla nuova situazione necessita di almeno otto maree. Un primo tentativo di individuare segnali sottili in grado di interagire col comportamento migratorio di *C. decollata* si è concentrato sulle possibili variazioni di campo elettrostatico e di deformazione del substrato eventualmente dovuti all'avvicinarsi dell'onda di marea alla costa.

NYCTHEMERAL MIGRATIONS OF GASTROPOD AND HERMIT CRAB SPECIES IN TWO *POSIDONIA OCEANICA* BEDS

D. PESSANI, F. BELCI, T. TIRELLI

Dipartimento di Scienze della vita e Biologia dei sistemi, Università degli Studi di Torino

A lot of gastropod species and hermit crabs specimens live associated to *Posidonia oceanica* leaves. Different studies were done on both the gastropods and the crabs using their shells but poor attention has been given to the nycthemeral trend of the two taxa.

Both the gastropod and the hermit crab species present in two *P. oceanica* beds by day and by night were compared from a quali-quantitative point of view. Sampling with hand-towed net semi-quantitative technique in the upper limit of two *P. oceanica* beds off the Enfola promontory (Elba Island, Mediterranean Sea), two samples and their replicate were collected by day and by night. The gastropods, the crabs, and the occupied shell were identified at species level; the crabs were also sexed.

Sixty-nine species of gastropods and 2 of hermit crabs (*Cestopagurus timitus* = *Ce. timidus* and *Calcinus tubularis* = *Ca. tubularis*) were identified; it is immediately evident the significant difference existing between quali-quantitative presence of gastropods and crabs found by day and by night. As regards gastropods, 63 % of the species are significantly more numerous or even present only by night.

Ce. timidus adult specimens show a ratio of 1:17 between day and night, while juveniles are 32 % of the crabs during the day and only 6 % by night. The *Ca. tubularis* specimens have a ratio day:night of 1:42; with regard to juveniles, they show the same trend like in *Ce. timidus* (8 % by day and 1.7 % by night).

Ce. timidus specimens turn out to use 54 species of gastropod shells, 40 of which are present only in the nocturnal samples. The case of *Ca. tubularis* is still more extraordinary, since of the 32 gastropod shells totally occupied, 27 are present only by night.

The obtained results show that both gastropods and crabs living on the *P. oceanica* foliar stratum are sensible to the nycthemeral cycle. In particular, the hermit crabs increase their presence by night, probably as an answer to a lower predatory pressure exerted e.g. by fishes by night. During the day the main part of gastropod species and the adult crabs stay hidden at rhizomes and /or deeper level in the posidonia bed, escaping from predators, to migrate by night at upper levels. It is interesting the opposite trend shown by juvenile crabs, which are more numerous by day: probably their small size does not make them a desirable prey, considering the energy anyhow required to crash their shell.

UTILIZZO DELLO SPAZIO SU SUBSTRATI VIVENTI: STRAORDINARIE COEVOLUZIONI IN AMBIENTE MARINO

M. BO¹, G. BAVESTRELLO¹, M. BOYER², F. SCOCCIA², E. GAINO²

¹*Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università degli Studi di Genova;* ²*Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, Università degli Studi di Perugia*

Gli organismi bentonici sono coinvolti in un ampio repertorio di storie coevolutive uniche, che comportano complesse relazioni simbiotiche, fulcro dell'elevata biodiversità riscontrabile in ambiente marino. L'utilizzo, anche esclusivo, di organismi bentonici eretti, quale substrato di crescita ha dato luogo ad una vasta casistica di adattamenti che potrebbero aver determinato un'intensa speciazione. Alcuni tra gli esempi più interessanti di utilizzo dei substrati secondari si possono trovare negli ambienti estremi, laddove i substrati duri primari sono scarsi, oppure negli ambienti altamente diversificati, caratterizzati da elevati livelli di competizione spaziale, come le barriere coralline.

Il presente contributo offre una visione d'insieme sulle strategie adattative degli organismi che utilizzano substrati viventi in ambiente marino. I coralli neri (Antozoi, Antipatari) rappresentano un modello di studio ottimale in questo ambito, grazie alle colonie tipicamente tridimensionali che offrono un substrato ideale per l'insediamento di un vasto numero di organismi (circa 230 associazioni differenti). Inoltre, in considerazione dell'ampia distribuzione batimetrica e geografica, i coralli neri permettono di valutare il fenomeno a diverse scale di osservazione.

Questi organismi costituiscono ricche comunità in acque poco profonde, dando vita, talvolta, a vere e proprie foreste sottomarine. La fitta ramificazione offre riparo a numerose specie di pesci, che intrattengono col proprio ospite una relazione più o meno specifica. Le colonie viventi rappresentano anche un habitat ideale per numerose specie di invertebrati epibionti (in particolare cnidari, policheti, molluschi crostacei ed echinodermi), che dipendono strettamente dal proprio ospite per la sopravvivenza, come nel caso di alcuni filtratori o commensali. Vi sono, inoltre, numerose specie parassite, le quali, soffocando le ramificazioni del corallo, permettono il successivo insediamento di organismi, perlopiù incrostanti, adattati a vivere solo sullo scheletro morto. Numerose componenti infine si sono specializzate a vivere all'interno della cavità gastrica e dei tessuti dei polipi per una parte o per l'intera durata del loro ciclo vitale.

È LA NICCHIA TERMICA A DETERMINARE IL COMPORTAMENTO SPAZIALE DEGLI ECTOTERMI INTERTIDALI?

S. CANNICCI¹, S. BABBINI¹, S. CILIO¹, F. GIOMI³, F. PORRI⁴, M. FUSI^{1,2}

¹Dipartimento Biologia Evolutiva, Università degli Studi di Firenze; ²DEFENS Università degli Studi di Milano, ³Department Integrative Ecophysiology, Alfred-Wegener-Institute for Polar and Marine Research, Bremerhaven, Germany, ⁴Coastal Research Group, Department of Zoology and Entomology, Rhodes University, Grahamstown, South Africa

La temperatura rappresenta la caratteristica ambientale più importante nel determinare la distribuzione degli organismi ectotermi in ambienti acquatici e di transizione, come la fascia intertidale. Mentre le specie sessili possono gestire i forti stress termici tipici di questi ambienti transizionali solo tramite i loro adattamenti fisiologici, gli animali mobili possono accoppiare a questi strategie comportamentali, quali la scelta di aree inondate e non e/o aree più o meno esposte al sole. In questo studio ci siamo chiesti come gli stress termici guidino l'uso dello spazio e del tempo di due specie simpatriche di ectotermi bimodali: i granchi intertidali *Uca urvillei* (Brachyura, Ocypodidae) e *Perisesarma guttatum* (Brachyura, Sesamidae), abbondanti nelle foreste a mangrovie dell'Africa orientale e meridionale. In particolare, abbiamo effettuato uno studio comparato del comportamento spaziale in natura e degli adattamenti fisiologici, in laboratorio, di popolazioni del Kenya e della Repubblica Sudafricana, sottoposte, queste ultime, climi più temperati e ad un regime stagionale. Durante i tre mesi più caldi, entrambe le aree di studio sono state mappate termicamente con l'impiego di logger che registravano in continua temperatura ed umidità. Abbiamo misurato la temperatura corporea di animali focali attivi in natura e osservato i loro pattern comportamentali, valutandone i ritmi di attività e l'uso del microhabitat in cui risiedono. Due strategie spazio-temporali diverse sono emerse sia fra le sue specie analizzate che fra le loro popolazioni in Kenya e Repubblica Sudafricana. L'attività di *U. urvillei* appare interamente guidata dal ciclo mareale e poco influenzata dalla temperatura. Viceversa *P. guttatum*, in Kenya modula l'uso dello spazio per minimizzare gli stress termici cui è sottoposta, occupando di fatto sempre zone in ombra e molto umide, mentre le popolazioni sudafricane non hanno evidenziato questo comportamento, probabilmente a causa di un regime termico più fresco. Anche la temperatura corporea rivela un diverso adattamento fra le due specie. Mentre *U. urvillei* non mostra alcun tipo di termoregolazione, in entrambe le aree di studio, in *P. guttatum* abbiamo osservato una netta differenza tra popolazioni. In Kenya questo granchio mette in atto strategie di termoregolazione in grado di abbassare la temperatura del corpo, in ambiente aereo, fino a 2°C rispetto a quella ambientale, mentre le popolazioni sudafricane sembrano non avere bisogno di questa strategia. Questo studio rivela che le due specie considerate, pur sfruttando gli stessi microhabitat intertidali di mangrovia, hanno raggiunto livelli di terrestrializzazione totalmente diversi che permettono a *U. urvillei* di svincolarsi dal problema degli stress termici in ambiente subaereo e di sfruttare a pieno la fascia intertidale in bassa marea, mentre obbligano *P. guttatum* a mettere in atto strategie comportamentali atte a mitigare gli stessi stress, costringendola ad un uso molto limitato delle aree emerse.

BEHAVIOURAL FEATURES OF TALITRUS SALTATOR (CRUSTACEA: AMPHIPODA) IN A REHABILITATED SANDY BEACH ON THE EASTERN ATLANTIC COAST (PORTUGAL)

F. BESSA^{1,2}, C. ROSSANO², D. NOURISSON², S. GAMBINERI², J. CARLOS MARQUES¹, F. SCAPINI²

¹*IMAR-CMA Marine and Environmental Research Centre, Department of Life Sciences, University of Coimbra, 3004- 517 Coimbra, Portugal;* ²*Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Università di Firenze*

Environmental and human controls are widely accepted as the main structuring forces of the macrofauna communities on sandy beaches. The talitrid amphipod *Talitrus saltator* was investigated in a population inhabiting an exposed sandy beach on the Atlantic coast of Portugal (Leirosa beach) to estimate orientation capabilities and endogenous rhythms with respect to erosion processes and recent changes in the landscape (artificial reconstruction of the foredune). We tested sun orientation of the population and recorded its locomotor activity rhythms under constant conditions in the laboratory. The orientation data were analysed with circular statistics and multiple regression models adapted to angular distributions, in order to highlight the main factors and variables influencing the variation of orientation. The results revealed a strong influence of the visual cues (landscape and sun visibility) and tidal regime (rising or ebbing tides) on orientation. A well defined free-running rhythm (circadian with in addition a bimodal rhythmicity, likely tidal) was highlighted in this population, showing a clear stable behaviour on a beach that has experienced a process of stabilization of the dune through nourishment processes over a decade. Monitoring the conditions of such dynamic environment and its resilience capacity is a main challenge for sandy beach ecologists.

INFLUENZA DELLE CONDIZIONI FISILOGICHE SULLA DURATA DELLO STOPOVER IN MIGRATORI A CORTO RAGGIO

S. LUPI, I. MAGGINI, L. FUSANI

Dipartimento di Biologia ed Evoluzione, Università di Ferrara

Durante la migrazione, numerose specie di uccelli fanno sosta in siti di stopover per riposarsi ed alimentarsi, recuperando così le energie perse nel superamento di imponenti barriere ecologiche quali mari e deserti. Tuttavia, il tempo speso a terra comporta costi elevati in termini di energia e tempo; è quindi nell'interesse dell'individuo minimizzare la durata dello stopover, la quale dipende da fattori ambientali, da un programma endogeno e dalle condizioni fisiologiche al momento di arrivo. Ricerche precedenti del nostro gruppo hanno dimostrato che nei migratori a lungo raggio individui in buone condizioni tendono a minimizzare il tempo dello stopover, mentre individui in condizioni peggiori prolungano la loro sosta. Mancano dati relativi a specie migratrici a corto raggio, per le quali i fattori limitanti potrebbero essere diversi.

A questo scopo abbiamo studiato tre specie di passeriformi migratori europei a corto raggio: codiroso spazzacamino (*Phoenicurus ochruros*), pettirosso (*Erithacus rubecula*) e saltimpalo (*Saxicola torquata*), catturati in fase di stopover sull'isola di Ponza, situata nel Mar Tirreno, nelle primavere del 2011 e 2012. Nei migratori notturni, il grado di disposizione migratoria è mostrato in cattività dall'intensità dell'inquietudine migratoria notturna o *zugunruhe*; abbiamo così valutato l'influenza delle condizioni fisiologiche sulla durata dello stopover mediante una stima della disposizione migratoria fornita dallo studio della *zugunruhe* mediante gabbie di registrazione; abbiamo ricavato per ciascun animale, inserito in gabbia nelle ore antimeridiane subito dopo la cattura e liberato all'alba del giorno seguente, i dati di attività locomotoria notturna e diurna. Inoltre, abbiamo estratto un indice integrato delle condizioni fisiologiche basato sulla quantità di grasso sottocutaneo, lo sviluppo dei muscoli pettorali e il peso corporeo.

I nostri risultati rivelano che le condizioni fisiologiche dell'animale all'arrivo nel sito di stopover permettono una previsione dell'intensità dell'inquietudine migratoria: gli animali in condizioni peggiori presentano livelli meno elevati di *zugunruhe*; dunque, in questi migratori a corto raggio le condizioni fisiologiche influenzano la durata dello stopover, pattern osservato in precedenza nei migratori a lungo raggio. I risultati mostrano inoltre che il comportamento diurno non è influenzato dalle condizioni fisiologiche, diversamente da quanto osservato nei migratori a lungo raggio.

GUARDANDO INDIETRO NEL TEMPO – FILOGEOGRAFIA DELLA SFINGE DELL'EUFORBIA (LEPIDOPTERA, SPHINGIDAE) IN ITALIA BASATA SULL'ANALISI DEL DNA-STORICO

M. B. MENDE^{1,2}, A. K. HUNDSDOERFER^{1,2}

¹Senckenberg Natural History Collections Dresden, Museum of Zoology, Koenigsbruecker Landstr. 159, D-01109 Dresden, Germany; ²Biodiversity and Climate Research Centre (BiK-F), Senckenberganlage 25, D-60325 Frankfurt am Main, Germany

Lo *Hyles euphorbiae*-complex (HEC) è un complesso di specie di sfingidi dalla spiccata plasticità morfologica che, nell'area mediterranea, comprende sei distinte linee mitocondriali individuate sulla base di un frammento concatenato dei geni mitocondriali COI/II lungo circa 2300 bp. Queste linee mostrano una struttura filogeografica che sembra riflettere l'esistenza di rifugi nel corso delle glaciazioni e le successive espansioni post-glaciali a partire da questi. Attualmente l'intera Italia meridionale e la Sicilia sono popolate da una linea quasi esclusivamente confinata a quest'area (nome provvisorio: “italica”). A nord-est dell'Appennino settentrionale la linea “italica” è sostituita da due linee tipiche dell'Europa continentale, *euphorbiae* ed “*enigmatica*”, con ogni probabilità originarie di rifugi glaciali localizzati in Europa orientale. Inaspettatamente, la popolazione maltese dell'HEC comprende tre linee: *euphorbiae*, “*melitensis*” (endemica dell'arcipelago), e *tithymali* (di origine nordafricana). Di contro nessun rappresentante della linea “italica” è stato rinvenuto nell'arcipelago maltese.

Abbiamo ipotizzato che la linea *euphorbiae* possa essere arrivata a Malta attraverso la penisola italiana scomparendo in seguito dall'Italia meridionale nel corso dell'ultimo secolo, possibilmente a causa del riscaldamento globale. La linea *euphorbiae* si sarebbe quindi estinta in Italia meridionale a causa della competizione con la “italica”, che sembra meglio adattata ai climi caldi e che tende ad avere più generazioni nel corso di ogni anno; al contrario la linea *euphorbiae* sarebbe sopravvissuta, sebbene soggetta ad isolamento e deriva genetica, nell'arcipelago maltese dove la linea “italica” non è presente.

È stato estratto il DNA da campioni di tessuto di oltre 200 falene catturate in Italia e Malta dal 1884 in poi e conservate in oltre 25 collezioni museali, per lo più italiane e tedesche. Abbiamo amplificato e sequenziato tre brevi frammenti di circa 260 bp per i geni COI/II, grazie ai quali i campioni possono essere attribuiti alle linee di appartenenza. È stata riscontrata una sostanziale variazione nella distribuzione e frequenza delle linee attraverso le decadi, dimostrando la presenza di *euphorbiae* e di “*enigmatica*” in Italia meridionale ed in Sicilia prima del 1970.

VARIAZIONI STAGIONALI NELL'ORIENTAMENTO SOLARE IN POPOLAZIONI DI TALITRUS SALTATOR (CRUSTACEA, AMPHIPODA) SU TRE SPIAGGE SOGGETTE A DIVERSE MORFODINAMICHE

D. H. NOURISSON, S. GAMBINERI, C. ROSSANO, F. SCAPINI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica "Leo Pardi", Università degli Studi di Firenze

Talitrus saltator (Crustacea, Amphipoda, Talitridae), ampiamente diffuso sulle spiagge sabbiose mediterranee ed atlantiche europee, presenta adattamenti fisiologici e comportamentali peculiari, che lo rendono uno degli artropodi più rappresentativi di questi ecotoni. In quest'analisi è stato considerato uno tra i principali tratti comportamentali di *T. saltator*, l'orientamento solare, grazie al quale questa specie semi-terrestre evita la disidratazione nelle ore diurne tornando a infossarsi nella sua zona di elezione, la fascia umida intertidale. L'obiettivo era di verificare il peso di variazioni ambientali stagionali e morfodinamica della spiaggia nel determinare la precisione dell'orientamento di ogni popolazione, tenendo conto che l'orientamento è adattativo in determinate condizioni climatiche. Per un anno, nelle stagioni di attività alle nostre latitudini, sono stati effettuati esperimenti di orientamento solare su tre popolazioni dalla spiaggia sabbiosa di Alberese (GR), nel Parco Regionale della Maremma, in tre siti soggetti a dinamiche sedimentarie diverse (erosione o accrescimento). Negli stessi siti sono state rilevate le principali variabili ambientali e climatiche. I dati dell'orientamento sono stati analizzati mediante statistica per distribuzioni circolari ed analisi di regressione multipla adattata a dati angolari (SPLM). L'andamento climatico stagionale è risultato influire allo stesso modo sull'orientamento di tutte e tre le popolazioni, inducendo l'espressione di maggiore o minore variabilità nel corso dell'anno; d'altra parte, anche le diverse dinamiche erosive hanno influenzato significativamente l'orientamento delle tre popolazioni, che differivano tra loro a seconda della stabilità della linea di riva locale. In generale, l'espressione di un'alta plasticità comportamentale è persa di natura chiaramente adattativa, contribuendo sostanzialmente a garantire a questa specie la sopravvivenza sulle spiagge sabbiose.

Keywords: *Talitrus saltator*, orientamento, spiagge sabbiose, stagionalità, dinamiche sedimentarie, plasticità comportamentale.

L'OLFATTO DELLE LIBELLULE: UN SENSO COINVOLTO NEL COMPORTAMENTO DI PREDAZIONE?

S. PIERSANTI¹, F. FRATI², M. REBORA¹, G. SALERNO², E. CONTI², E. GAINO¹

¹Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale dell'Università di Perugia, via Elce di Sotto 1, 06100 Perugia; ²Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia, Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia

Gli Odonati sono predatori generalisti che utilizzano la vista per localizzare e catturare la preda, principalmente costituita da piccoli insetti con prevalenza di Ditteri. Il ruolo di altri sensi nel comportamento di predazione delle libellule è ad oggi ampiamente trascurato. Indagini ultrastrutturali ed elettrofisiologiche hanno recentemente dimostrato che le libellule percepiscono gli odori, utilizzando dei sensilli coeloconici porosi localizzati sul flagello antennale.

La presente indagine è volta ad indagare, mediante biosaggi comportamentali in ambiente controllato, l'importanza degli stimoli olfattivi emessi da una preda modello (*Drosophila melanogaster* – Diptera, Drosophilidae) nel guidare l'orientamento e l'utilizzo dello spazio da parte di *Ischnura elegans* (Odonata, Coenagrionidae), specie utilizzata per la sua facilità di allevamento. Le risposte comportamentali di esemplari vergini di entrambi i sessi sono state osservate mediante biosaggi in tunnel a vento nei quali il test era costituito da circa 200 esemplari vivi di *D. melanogaster* racchiusi in un contenitore di cotone, mentre il controllo era costituito da un identico contenitore vuoto.

I risultati mostrano che gli adulti di *I. elegans* sono attratti della preda anche in assenza dello stimolo visivo. Il tempo di permanenza (%) nella zona di emissione dello stimolo, infatti, è significativamente maggiore nel test rispetto al controllo, mentre la latenza (sec.) della prima sosta nella stessa zona è significativamente minore nel test rispetto al controllo. Gli stessi parametri sono stati considerati in ulteriori biosaggi per discriminare il ruolo dell'olfatto quando associato alla presenza di stimoli visivi e sonori.

Il coinvolgimento dell'olfatto nella predazione, aspetto della biologia che interessa i due sessi in egual misura, è in accordo con i risultati di analisi in microscopia elettronica a scansione (SEM) condotti su *I. elegans*, che rivelano la presenza di un egual numero di sensilli coeloconici olfattivi sulle antenne dei maschi e delle femmine.

VARIABILITÀ SPAZIO-TEMPORALE NELLA PRESENZA E DISTRIBUZIONE DEI CETACEI NEL MAR TIRRENO MERIDIONALE E MAR IONIO OCCIDENTALE

R. SANTORO¹, E. SPERONE¹, A. ARCANGELI², G. PELLEGRINO², S. TRIPEPI¹, L. M. TRINGALI³

¹Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria; ²ISPRA, Roma; ³Associazione Scientifica KETOS, Catania

Tra il 2010 ed il 2011 sono state condotte spedizioni di ricerca settimanali a bordo di traghetti passeggeri lungo la linea Catania-Civitavecchia per investigare i pattern distributivi dei Cetacei nel Mar Mediterraneo sud-occidentale. Il progetto si inserisce in un network internazionale di ricerca coordinato dall'ISPRA. Nel 2010 sono state effettuate 26 traggiate, e nel 2011 ne sono state effettuate 22. Il transetto analizzato di 358.5 NM, è percorso in 19 ore. Le osservazioni sono state compiute in ore diurne ed in condizioni meteo favorevoli dalle alette laterali del ponte di comando, ispezionando un'area di 360° intorno alla nave. I dati sono stati raccolti attraverso Visual Census e analizzati con Encounter Rate (tasso di avvistamento per unità di tempo spesa in osservazione) e Frequenza Relativa (percentuale degli avvistamenti della specie rispetto al totale degli avvistamenti). Sono state censite 9 specie di Cetacei: *Balaenoptera physalus*, *Physeter macrocephalus*, *Stenella coeruleoalba*, *Delphinus delphis*, *Tursiops truncatus*, *Grampus griseus*, *Ziphius cavirostris* e *Steno bredanensis*. La specie più frequente e abbondante dell'area è la Stenella, gli avvistamenti confermano le abitudini pelagiche della specie. Per la Balenottera ed il Capodoglio è stato registrato un cospicuo calo nella frequenza e nell'abbondanza, dovuto ad una diminuzione della produzione primaria nel bacino del Mediterraneo. Il Delfino comune mostra un aumento nella frequenza di avvistamento, confermando la preferenze pelagiche della specie, mentre per il Grampo il trend è inverso. Per il Tursiope si osserva una costanza nel numero degli avvistamenti (4,1%) e ne sono confermate le abitudini costiere. Nel 2011 sono stati registrati due avvistamenti di particolare importanza: lo Zifio e lo Steno, quest'ultimo considerato accidentale in Mediterraneo. Nell'area dello Stretto di Messina, delle specie censite nel 2010 (Balenottera, Capodoglio, Tursiope, Grampo) soltanto il Tursiope è stato riscontrato nel 2011. Sono stati censiti gruppi misti di odontoceti: Stenella e Delfino comune, Stenella e Grampo e Stenella e Tursiope. L'associazione più frequente è quella tra Stenella e Delfino comune, dovuta alla condivisione dell'habitat delle due specie, o all'incapacità del Delfino comune a formare gruppi a se stanti. I risultati dimostrano la valenza del metodo Fixed Line Transect per la convenienza economica e per il monitoraggio di abbondanza e distribuzione dei Cetacei.

ECOLOGIA DELLO STOPOVER DI ALCUNE SPECIE DI LIMICOLI (AVES, CHARADRIIFORMES) IN UN'AREA UMIDA COSTIERA DELLA TOSCANA SETTENTRIONALE

L. VANNI¹, N.E. BALDACCINI¹, R. GAMBOGI², D. GIUNCHI¹

¹Università di Pisa - Dipartimento di Biologia, Via Luca Ghini 5, 56126, Pisa; ²Osservatorio Ornitologico "F. Caterini" - P.R.M.SR.M., Loc. Cascine Vecchie, 56122, Pisa
email: lorenzo.vanni@for.unipi.it

A differenza di quanto accade per latitudini più settentrionali, le conoscenze riguardanti gli aspetti dell'ecologia dello stopover dei limicoli (Aves, Charadriiformes) in ambito mediterraneo sono piuttosto scarse, seppur fondamentali per risolvere problemi di gestione e conservazione delle aree umide e delle comunità ornitiche ad esse strettamente legate.

In quest'ambito è stato condotto uno studio nell'area delle Lame di San Rossore (Parco Regionale di Migliarino-San Rossore-Massaciuccoli), utilizzando tre specie target: Piovanello (*Calidris ferruginea*), Piro-piro boschereccio (*Tringa glareola*) e Pettegola (*Tringa totanus*). Gli uccelli sono stati catturati per mezzo di mist-net ed in seguito rilasciati sul luogo di cattura dopo aver compiuto i rilievi biometrici previsti dalle metodologie dell'inanellamento standardizzato. Alcuni individui di tali specie sono stati equipaggiati con radio VHF allo scopo di valutare la distribuzione spaziale degli animali e il tempo di stopover minimo. Alcune ricatture hanno poi permesso una valutazione della variazione di peso degli animali durante la sosta migratoria.

L'analisi dei dati raccolti nella primavera 2012 ha dimostrato una correlazione tra le condizioni fisiche degli animali marcati e i tempi di stopover, che risultano tuttavia differenti tra le varie specie considerate, così come accade per le variazioni ponderali durante il periodo della sosta. Per mezzo di osservazioni standardizzate sono stati inoltre raccolti dati relativi alla scelta dell'habitat e ai tempi di foraggiamento insieme a parametri ambientali quali altezza dell'acqua ed estensione della copertura vegetale.

Nel complesso i dati raccolti consentono di fornire un quadro conoscitivo preliminare sulla migrazione di questo gruppo di uccelli lungo le aree umide costiere del Mediterraneo e della costa toscana in particolare.

Simposio III

Distruttori endocrini

Coordinatori: A. Mauceri, F. Farabollini

Relazione su invito

EFFECTS ON NEUROENDOCRINE DISRUPTION IN HIGHER VERTEBRATES: NEURAL CIRCUITS CONTROLLING REPRODUCTIVE AND FEEDING BEHAVIOR

G. C. PANZICA^{1,2}

¹*Dept. Neuroscience, University of Torino, Italy;* ²*Neuroscience Institute Cavalieri-Ottolenghi (NICO), Orbassano, Italy*

Several environmental substances are able to impact endocrine function (endocrine disrupting chemicals, EDCs) and, therefore, they may have long-term consequences, especially if exposure occurs during embryonic development. Most of EDCs are interfering with androgen or estrogen receptors, therefore they may dysregulate brain and behavioral sexual differentiation. In addition, a variety of EDCs affects adipogenesis and obesity. Given that several peptidergic hormone factors, such as NPY, are sensitive to modulation by nuclear receptors signalling pathways, estrogenic signalling intersects at several levels with hypothalamic appetite control.

Therefore, we have investigated effects of some EDCs on peptidergic circuits involved in the control of reproductive or feeding behavior. Our studies have been performed on two animal models: the mouse and the Japanese quail. In the quail, we investigated the effect of several EDCs (DES, genistein or DDE) administered in eggs on the differentiation of male sexual behavior and of the vasotocin system. In the mouse we investigated the effects of perinatal exposure to bisphenol A (BPA) or genistein on the sexual differentiation of NO producing system and of the kisspeptin system, as well as on sexual, social, and explorative behaviors. We have also tested the acute or chronic effects of TBT (a well-known obesogen molecule) administration over brain circuits of mice. Acute TBT has specific effects over the nucleus arcuatus (increase in the expression of c-fos), whereas chronic adult treatment affects leptin secretion, NPY and NPY-Y1 receptor expression. In conclusion, TBT as well as other environmental EDCs have some cerebral effects, particularly directed to alter the neuroendocrine relationships among circulating leptin levels and the hypothalamic circuits controlling food intake.

In conclusion our data demonstrate that exposure to EDCs through the entire life may have deleterious effects over a variety of neural circuits controlling important functions such as reproduction or energy balance. The timing of exposure to EDCs is a critical factor, such that the effects of a particular EDC will vary over the lifecycle of the animal as well as across species and phyla.

GLI ECHINODERMI COME MODELLI PER LO STUDIO DEI DISTRUTTORI ENDOCRINI: UN APPROCCIO INTEGRATO

M. SUGNI, A. BARBAGLIO, S. MERCURIO, C. DI BENEDETTO, P. TREMOLADA, F. BONASORO, M.D. CANDIA CARNEVALI

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Gli echinodermi rappresentano dei validi modelli sperimentali nell'ambito dell'ecotossicologia marina e offrono un ampio range di processi biologici utili per questo tipo di approccio. In questo lavoro sono presentati i risultati più significativi ottenuti nel nostro laboratorio utilizzando questi organismi come modelli per lo studio degli effetti di dell'esposizione a composti noti come i Distruttori Endocrini (ED). Sono stati prese in esame due diverse specie di echinodermi, il riccio di mare *Paracentrotus lividus* e il crinoide *Antedon mediterranea*, e due aspetti significativi della loro fisiologia: la biologia riproduttiva e lo sviluppo rigenerativo, rispettivamente. Esemplari adulti di entrambe le specie sono stati esposti a diversi composti ED, potenzialmente in grado di interferire con gli ormoni sessuali, utilizzando concentrazioni comparabili a quelle ambientali. La ricerca si è basata su un approccio multidisciplinare che ha previsto analisi istologiche, chimiche e biochimiche. I risultati ottenuti hanno evidenziato come l'esposizione a questi composti sia correlabile all'alterazione di diversi parametri quali crescita, istogenesi, differenziamento e gametogenesi (con particolare riferimento alle uova prodotte). Gli specifici meccanismi d'azione alla base di questi evidenti effetti sono ancora da chiarire. È rilevante come, nel caso di *P. lividus*, la somministrazione diretta di ormoni sessuali, quali l'estradiolo, non produca effetti significativi sulla biologia riproduttiva dell'animale. Nel complesso i risultati ottenuti sottolineano sia l'importanza di utilizzare modelli alternativi nei test ecotossicologici sia la necessità di approfondire maggiormente la fisiologia di base degli organismi modello.

ESPRESSIONE DELLA VITELLOGENINA IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

M. PRISCO, M. AGNESE, L. ROSATI, M. VERDERAME, E. DE MEO, F. CORAGGIO, E. LIMATOLA, P. ANDREUCCETTI

Dipartimento delle Scienze Biologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II

I distruttori o interferenti endocrini sono una larga categoria di sostanze chimiche che interagendo con il sistema endocrino determinano una serie di cambiamenti soprattutto a livello del sistema riproduttore. Tra i differenti effetti dei distruttori endocrini rientra la produzione nei maschi e nelle femmine immature della vitellogenina (VTG), una lipofosfoproteina naturalmente presente negli ovociti di animali ovipari e/o ovovivipari. Nei maschi e nelle femmine immature i geni per la VTG sono normalmente silenti, ma la loro espressione può essere indotta da estrogeni naturali e da sostanze ad azione estrogenica: la sintesi di VTG in questi esemplari rappresenta quindi la conseguenza di uno stress ambientale dovuto alla presenza dei distruttori endocrini. Indagini significative in tal senso sono state condotte in differenti specie di vertebrati (Del Giudice et al., 2012; Hoffmann et al., 2012; Chow et al., 2012) e più recentemente anche negli invertebrati, in particolare nei mitili. I mitili rappresentano un modello sperimentale particolarmente idoneo per il biomonitoraggio perchè sono organismi sessili e filtratori e hanno un elevato potenziale di bioaccumulazione e un basso potenziale di biotrasformazione (Ortiz et Al., 2006). Nei mitili però le indagini relative alla VTG sono ancora limitate e soprattutto non conclusive (Pipe, 1987; Osada et al., 2004; Matsumoto et al., 2008) e in taluni casi contraddittorie (Matozzo et al, 2008; Riffiser e Hock, 2002). Per questo motivo abbiamo ritenuto opportuno effettuare un'indagine per definire i siti di sintesi della VTG in *Mytilus galloprovincialis*, comunemente rappresentato in tutto il bacino del Mediterraneo, compreso il Golfo di Napoli, per chiarire se la VTG è un valido biomarker anche nei mitili, e se quindi *M. galloprovincialis* possa essere utilizzato come specie sentinella per determinare la presenza di uno stress ambientale da distruttori endocrini. Indagini di tipo citologico a livello strutturale e ultrastrutturale, ibridazione in situ, RT-PCR, immunoistochimica in differenti momenti del ciclo riproduttivo hanno dimostrato che la sintesi di VTG avviene solo nella gonade femminile e mai nella ghiandola digestiva; alla sintesi della VTG partecipano sia gli ovociti in accrescimento (autosintesi) sia le cellule follicolari e del connettivo (eterosintesi) che potrebbero trasferire la VTG all'ovocita o tramite endocitosi o tramite l'emolinfa, il che farebbe della VTG un valido biomarker anche nei mitili

ESPOSIZIONE AMBIENTALE AD INTERFERENTI ENDOCRINI: DAI BIONDICATORI TRADIZIONALI AI FET

M. MAISANO, A. NATALOTTO, A. GIANNETTO, A. D'AGATA, A. MAUCERI, S. FASULO

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina

L'ambiente marino è particolarmente esposto a contaminanti di tipo estrogenico provenienti dagli scarichi urbani ed industriali, dalle pratiche agricole e dell'uso di fertilizzanti che vengono rilasciati e che persistono per lunghi periodi e come conseguenza influenzano la normale attività endocrina e riproduttiva degli organismi animali. A livello internazionale è stata ormai da anni definita la necessità di identificare e caratterizzare l'attività endocrina dei molteplici contaminanti ambientali e quindi valutare l'impatto che possono avere sull'uomo, la cui esposizione si realizza principalmente attraverso la catena alimentare.

Negli ambienti acquatici, molluschi bivalvi e specie ittiche sono gli organismi utilizzati abitualmente come specie sentinella per il biomonitoraggio ambientale.

In questo studio si è valutata l'azione degli interferenti endocrini attraverso la presenza ed i livelli di espressione della vitellogenina, fosfolipoglicoproteina serica ad elevato peso molecolare, maggiore precursore delle proteine del sacco vitellino nei vertebrati ovipari.

In particolare sono stati utilizzati come bioindicatori *Mytilus galloprovincialis* e *Chelon labrosus*, campionati in aree interessate da differente impatto antropico ed industriale. Sono state effettuate le analisi della Vtg mediante il metodo ALP (alkali-labile phosphate), per una indagine quantitativa della presenza di fosfati liberi, ed una indagine immunoistochimica e di espressione genica della Vtg.

I risultati ottenuti hanno evidenziato una accentuata immunopositività ed espressione della vitellogenina negli individui di sesso maschile provenienti dai siti contaminati. Negli organismi di sesso femminile provenienti dalle stesse aree è stato inoltre riscontrato un incremento della vitellogenina che potrebbe suggerire uno spawning anticipato causato dall'esposizione ad agenti estrogenici che influenzano la regolazione ormonale dello sviluppo dei gameti.

Alle indagini convenzionali si possono affiancare nuove tecniche, innovative ed alternative, che prevedono l'impiego degli embrioni dei pesci per studi di tossicità (FET) utili per saggiare l'attività di noti e/o sospetti interferenti endocrini in condizioni controllate e riproducibili. Tali test, riconosciuti dall'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OECD), si sono rivelati migliori per aspetto etico, economico ed applicativo rispetto ai classici test di tossicità acuta.

BIOMONITORAGGIO PER LA PRESENZA DI DISTRUTTORI ENDOCRINI NEL FIUME CHIENZI: DUE METODOLOGIE A CONFRONTO

F. PALERMO¹, L. QUASSINTI², M. BRAMUCCI², G. MOSCONI¹

¹*Scuola di Bioscienze e Biotecnologie, Università degli Studi di Camerino*; ²*Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università degli Studi di Camerino*

Le acque superficiali ricevono un continuo apporto di sostanze inquinanti mediante gli scarichi urbani, industriali e le acque di dilavamento dei suoli agricoli. Molti di questi inquinanti possono funzionare da distruttori endocrini e, come ormai è ben noto, tali composti rappresentano una classe di contaminanti a diffusione ubiquitaria. Nel presente lavoro è stata valutata la presenza di distruttori endocrini ad azione estrogenica (xenoestrogeni) nel fiume Chienti (Macerata) utilizzando un approccio integrato basato sull'impiego di test in vivo ed in vitro. Sono stati analizzati tre differenti siti: uno prossimo alla sorgente, uno nel tratto intermedio ed uno prossimo alla foce. Per quanto riguarda gli studi in vivo è stata valutata la comparsa della vitellogenina in giovanili di *Carassius auratus* mantenuti, per un periodo di tre settimane, in acqua prelevata nei diversi siti monitorati. Per gli studi in vitro, invece, è stata utilizzata una coltura cellulare di carcinoma di mammella estrogeno-dipendente (MCF-7) trattata con la frazione organica (estratta mediante cromatografia con colonnine C-18) dei campioni di acqua prelevati nei tre siti.

I risultati ottenuti indicano chiaramente come tutti i campioni di acqua testati siano in grado di indurre la sintesi di VTG in *C. auratus* e stimolare la proliferazione nella linea cellulare MCF-7; si dimostra inoltre come la concentrazione degli xenoestrogeni aumenta passando dal tratto montano alla foce.

La presenza di xenoestrogeni nel tratto prossimo alla sorgente va valutata tenendo conto del fatto che una piccola parte del bacino idrografico del fiume Chienti si trova negli altopiani di Colfiorito (Perugia) nei quali sono presenti coltivazioni intensive.

Appare significativo il fatto che i due metodi di studio applicati mostrano un risultato comparabile; questo dato fornisce supporto all'utilizzo di sistemi in vitro come primo livello di indagine per il monitoraggio degli xenoestrogeni limitando il più possibile il sacrificio di animali.

Progetto finanziato dalla Provincia di Macerata con delibera n.277 del 04/06/2009 della Giunta Provinciale di Macerata.

ALTERAZIONI ENDOCRINE INDOTTE NELL'ANGUILLA EUROPEA (A. ANGUILLA) DA CONCENTRAZIONI AMBIENTALI DI COCAINA

A. CAPALDO, F. GAY, M. MADDALONI, S. VALIANTE, M. DE FALCO, V. LAFORGIA

Dipartimento delle Scienze Biologiche, Università di Napoli Federico II

La presenza di cocaina nelle acque superficiali (Pal et al. 2012) deve essere considerata una possibile fonte di rischio per organismi acquatici, come l'anguilla europea, una specie a rischio di estinzione che è in grado di bioaccumulare cocaina nei suoi tessuti, se esposta a concentrazioni ambientali di questa droga (Capaldo et al. 2012). Poiché l'anguilla nella fase continentale del suo ciclo vitale (anguilla gialla) trascorre nelle acque interne o lagunari dai 5 ai 10 anni, durante i quali può bioaccumulare cocaina, eventualmente presente in tali acque, è possibile ipotizzare che possa subire alterazioni del sistema endocrino tali da comprometterne sopravvivenza e/o migrazione e diminuirne la fitness riproduttiva, rendendo conto del progressivo impoverimento cui questa specie sta andando incontro. Lo scopo di questo studio è stato perciò quello di verificare se la cocaina potesse comportarsi da distruttore endocrino alterando l'asse ipofisi-tiroide/surrene, i livelli di dopamina cerebrale e quelli di catecolamine circolanti. Anguille adulte allo stadio silver sono state divise in quattro gruppi: 1) trattate (un mese con 20 ng/l di cocaina free-base sciolta in etanolo) 2) carrier (etanolo) 3) recupero (trattate per un mese e poi private di cocaina per 3 gg.) 4) controlli. Dopamina, noradrenalina e adrenalina sono state misurate mediante HPLC; cortisolo, corticosterone e aldosterone, T3 e T4 mediante RIA; TSH e ACTH mediante IRMA. I risultati dimostrano che la cocaina ambientale è in grado di indurre alterazioni significative del sistema endocrino: sia negli esemplari trattati che in quelli recupero si osservano diminuzioni del T3, aumenti del cortisolo, delle catecolamine circolanti (adrenalina e noradrenalina) e della dopamina cerebrale e plasmatica che aumentano fortemente nei trattati e mostrano un ulteriore significativo aumento negli esemplari recupero. Considerando il coinvolgimento dell'asse ipofisi-tiroide/surrene e delle catecolamine nella migrazione e nella riproduzione dell'anguilla, i risultati suggeriscono che la cocaina presente nelle acque superficiali 1) possa essere considerata un distruttore endocrino 2) possa aggravare lo stato di declino dell'anguilla europea, già seriamente minacciata dalla contaminazione ambientale.

EFFETTI DEL NONILFENOLO SULL'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-GHIANDOLA ADRENALE/TIROIDE DELLA LUCERTOLA *PODARCIS SICULA*

M. DE FALCO¹, A. SELLITTI¹, R. SCIARRILLO², A. CAPALDO¹, M. FORTE¹, S. VALIANTE¹, V. LAFORGIA¹

¹*Dipartimento delle Scienze Biologiche, Sezione di Biologia Evolutiva e Comparata, Università di Napoli Federico II;* ²*Dipartimento di Scienze Biologiche ed Ambientali, Università del Sannio, Benevento; Italia*
email: madefalco@unina.it

I distruttori endocrini (EDCs) interferiscono con il sistema endocrino di diversi organismi animali, uomo compreso. Essi possono agire come agonisti o antagonisti degli ormoni endogeni. Tra gli EDCs, il nonilfenolo (NP) è l'inquinante più abbondante e persistente nell'ambiente. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare gli effetti di NP sull'asse ipotalamo-ipofisi-ghiandola adrenale e tiroidea (HPA/T) della lucertola *Podarcis sicula* con tecniche biochimiche ed istochimiche. I rettili sono ottimi bioindicatori per la loro presenza e ampia distribuzione in una varietà di habitat, longevità e capacità di bioaccumulare. Abbiamo dimostrato che l'esposizione prolungata a NP induce una significativa stimolazione dell'asse HPA in modo dose- e tempo-dipendente con un forte aumento dei livelli plasmatici di CRF, ACTH e corticosterone. NP determina anche un forte incremento dei livelli plasmatici di adrenalina ed un contemporaneo decremento dei livelli di noradrenalina. In accordo con i risultati biochimici, abbiamo osservato un'intensa ipertrofia delle cellule steroidogeniche, un aumento delle cellule ad adrenalina, una degranulazione delle cellule cromaffini insieme ad un aumento della vascolarizzazione dell'intera ghiandola. Al contrario, abbiamo osservato un'inibizione dell'asse HPT, con una diminuzione del TSH e di entrambi gli ormoni tiroidei (T3 e T4) accompagnata però da un aumento del TRH. La morfologia ha evidenziato chiari segni di inibizione con una diminuzione dell'altezza dell'epitelio follicolare, tireociti con nuclei più piccoli ed allungati, una considerevole riduzione del citoplasma, ed infine una colloide ridotta e con pochi vacuoli di riassorbimento. Questo studio evidenzia che NP è in grado di influenzare fortemente l'asse HPA-T con effetti opposti che sono principalmente collegati dall'assenza di feedback negativo. I dati ottenuti indicano che NP altera il delicato equilibrio ormonale con effetti dannosi a livello sistemico.

ENVIRONMENTAL-LIKE EXPOSURE TO LOW LEVELS OF ETHYNYLESTRADIOL AFFECTS JUVENILE BEHAVIOR IN RATS.

F. FARABOLLINI¹, L. FUSANI², D. DELLA SETA¹, F. DESSI FULGHERI³

¹Dipartimento di Fisiologia, Università di Siena ;²Dipartimento di Biologia ed Evoluzione, Università di Ferrara; ³Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Università di Firenze

During development, estrogens act on the brain to regulate neural and behavioral sexual differentiation. Environmental estrogens or xenoestrogens can interfere with sexual differentiation and thus induce permanent physiological, behavioral and neural alterations. Few studies have addressed this problem from an ecological perspective using treatments that mimic environmental exposure and tests of social behavior. In particular, we do not know to which extent the effects observed in adult animals result from organizational effects of xenoestrogen during development or from altered circulating levels of hormones in adulthood. We studied the effects of an environmental-like exposure to the synthetic estrogen, ethynylestradiol (EE), on the differentiation of brain and behavior in rats. EE is found in surface waters for its widespread use in anticonceptual pills. Sprague-Dawley rats were treated from conception to puberty with either of two doses of EE: a lower dose simulating exposure to concentrations found in contaminated waters, and a higher dose equivalent to that of anticonceptual pills. The animals were treated first indirectly by giving the oil to the mothers from GD 5 to PND 21 via oral administration in peanut oil, and then directly from PND 22 to PND 30. Starting at 35 days of age, male and female juveniles underwent a series of behavioral tests, after which brains were collected to study the effects on sexually dimorphic brain regions.

We found significant effects of EE on behavior in both sexes. In males there was an increase in aggressive play, whereas in females we found a strong reduction in affiliative behavior and an increase in exploratory behavior. We found no effects of EE on aspects of brain sexual dimorphism such as the mean density of tyrosine hydroxylase-immunoreactive (TH-IR) neurons in the anteroventral periventricular nucleus (AVPV). However, there was a trend for an increase in the density of TH-IR neurons in males that received EE. Further analyses on the morphology of sexually dimorphic brain areas are currently in course.

SUBTLE EFFECTS OF CAULERPA RACEMOSA ON A MEDITERRANEAN FISH SPECIES

S. FELLINE¹, R. CARICATO¹, A. CUTIGNANO², S. GORBI³, M. G. LIONETTO¹, E. MOLLO², F. REGOLI³, A. TERLIZZI¹

¹*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università del Salento, CoNISMa, Lecce;* ²*Istituto di Chimica Biomolecolare, CNR, Pozzuoli, Naples;* ³*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Ancona*

The green alga *Caulerpa racemosa* has invaded Mediterranean seabed, modifying the structure of habitats and altering the distributional patterns of associated organisms. However, a still neglected aspect is the understanding of how secondary metabolites synthesized by the alien species can affect the marine biota at species and ecosystem level. This study was aimed at evaluating the effects of the *C. racemosa* spread on *Diplodus sargus* population. From late September to the end of October, 45 individuals of *D. sargus* were speared in three locations differing in terms of the alien seaweed abundance and regime protection. Stomach contents were sorted and identified to the lowest possible taxonomic level to characterize the *D. sargus* diet in terms of *C. racemosa* colonisation. Liver, spleen, gills and muscle were excised for carrying out chemical and biochemical analyses. Specifically, extraction and quantification of *C. racemosa* metabolites were carried out in fish tissues and a wide panel of molecular and cellular biomarkers was measured for evaluating the onset of toxic events due to intake of the algae. Results of stomach content analyses showed a high frequency of occurrence of *C. racemosa* in fish from invaded areas (72.7 and 85.7%), while the alga was not detected in fish from the non-invaded location. We also found that one of the secondary metabolites of *C. racemosa*, namely the alkaloid caulerpin, has the potential to enter in trophic chain by accumulating in fish tissues. The level of caulerpin in tissues was used here as an indicator of the trophic exposure to the invasive pest and related with observed cellular and physiological alterations. Such effects included activation of some enzymatic pathways (catalase, glutathione peroxidases, glutathione S-transferases, total glutathione and the total oxyradical scavenging capacity, 7-ethoxy resorufin O-deethylase), the inhibition of others (acetylcholinesterase and acylCoA oxidase), an increase of hepatosomatic index and decrease of gonadosomatic index. These alterations might lead to a detrimental health status and altered behaviours, potentially preventing the reproductive success of fish populations. Results of this study revealed that the entering of alien species in subtidal systems can alter trophic webs and can represent an important, indirect mechanism which might contribute to influence fluctuations of fish stocks and, also, the effectiveness of protection regimes.

EFFETTO DELL'OCTILFENOLO SULL'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-GHIANDOLA ADRENALE/TIROIDE DELLA LUCERTOLA *PODARCIS SICULA*

M. FORTE¹, M. DE FALCO¹, A. SELLITTI¹, R. SCIARRILLO², A. CAPALDO¹, S. VALIANTE¹, V. LAFORGIA¹

¹*Dipartimento delle Scienze Biologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II;* ²*Dipartimento di Scienze Biologiche ed Ambientali, Università del Sannio, Benevento*

L'Octilfenolo (OP) è il prodotto di degradazione dell'octilfenolo polietossilato, largamente utilizzato come tensioattivo non ionico in applicazioni industriali, agricole e domestiche e nella fabbricazione di plastiche. È un inquinante ubiquitario che si ritrova nei sedimenti, nelle acque superficiali e sotterranee e nell'acqua potabile. L'OP è un noto distruttore endocrino (EDC) e pertanto possiede l'abilità di mimare gli ormoni naturali alterando il sistema endocrino di un organismo. Considerati i rischi per la salute umana dovuti all'esposizione agli EDC, nel presente lavoro abbiamo somministrato iniezioni giornaliere intraperitoneali (12 e 22 iniezioni) di OP al fine di valutare il suo effetto sull'asse ipotalamo-ipofisi-ghiandola adrenale e tiroidea (HPA/T) della lucertola *Podarcis sicula*, mediante indagini biochimiche (analisi radioimmunologiche, HPLC) e analisi morfologiche (colorazioni istologiche). I risultati ottenuti mostrano che l'OP ha un effetto tempo-dipendente: stimola, infatti, l'asse HPA, aumentando i livelli plasmatici di CRF, ACTH, corticosterone e adrenalina e diminuendo quelli di noradrenalina; al contrario, ha un effetto inibitorio sull'asse HPT poiché determina un decremento dei livelli di TSH, T3 e T4; mentre stimola l'ipotalamo a secernere TRH. Le indagini istologiche confermano i dati biochimici: nella ghiandola adrenale degli esemplari trattati risulta evidente, infatti, l'ipertrofia dei cordoni steroidogenici e un aumento delle cellule ad adrenalina; tuttavia, nella ghiandola tiroidea, non si riscontrano particolari cambiamenti morfologici nei trattati rispetto ai controlli, nonostante l'inibizione riscontrata a livello ormonale. Questo lavoro mette in evidenza, dunque, come l'OP agisca sull'asse HPA/T con effetti opposti ma comunque alterandone la morfo-funzionalità che si ripercuote a livello sistemico. Inoltre, abbiamo evidenziato come la lucertola *Podarcis sicula* possa essere considerata un ottimo bioindicatore per studi di tossicità in vivo per valutare gli effetti degli EDC sulla salute umana.

Poster n. 14

FROM SKIN BIOPSY TO ENDOCRINE RISK ASSESSMENT: LINKING BIOMARKERS FOR TROUT, FROG AND LIZARD IMPACT LEVELS

S. TROCCHIA, F. LETIZIA

ECLab (certif. UNI EN ISO 9001:2008), Department of Biological Sciences, University of Naples Federico II, - 80134 Naples, Italy

The development of alternative assay in toxicology has taken particular interest over the last three decades. These assays aim to improve mechanistic knowledge and reduce animal experimentation in endocrine disruption hazard assessment. Since widespread chemical contaminants, such as industrial plasticizers and pesticides, are peroxisome proliferators, the regulation of genes involved in detoxifying the effects of these chemicals is of great interest. In order to understand the regulation of the pollution index Glutathione S-Transferase (GST), and the relationship with the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), we isolated, by skin biopsy, both genes in the trout *Oncorhynchus mykiss*, the frog *Pelophylax bergeri* and the lizard *Podarcis sicula*. Here is described the procedure used and report the initial characterization of the detection of PPAR gene expression in lizard of polluted and unpolluted areas collected by Associazione Amici del Sarno collaboration. Furthermore is shown the linking between the lipid metabolism control with mechanisms to detoxify peroxidised lipids biomarkers. This is a first attempt to evaluate the responses of these genes to endocrine disruptors as well as the endocrine risk assessment using a lowest amount of skin.

Simposio IV

Specie alloctone

Coordinatori: E.DeMatthaesis, F. Gherardi

Relazione su invito

SPECIE ALLOCTONE INVASIVE: IMPATTO SULLA BIODIVERSITA' E POLITICHE DI PREVENZIONE E MITIGAZIONE

P. GENOVESI

*ISPRA e Chair IUCN SSC Invasive Species Specialist Group
email: piero.genovesi@isprambiente.it*

Le invasioni biologiche rappresentano una minaccia crescente e pervasiva alla diversità biologica, contribuendo all'attuale drammatico tasso di perdita di biodiversità, con gravi conseguenze sui servizi ecosistemici dai quali dipende il benessere dell'uomo. L'ampiezza e gli andamenti di questo fenomeno evidenziano l'importanza di sviluppare più efficaci politiche di prevenzione delle introduzioni e di gestione delle specie invasive. I significativi avanzamenti della scienza delle invasioni hanno in parte chiarito i meccanismi alla base delle introduzioni di organismi alloctoni, e le principali correlate degli impatti causati dagli organismi invasivi alle specie autoctone ed agli ecosistemi. Queste informazioni devono guidare i decisori sia in ambito nazionale, che comunitario e mondiale, dando un concreto seguito ai molti impegni presi ai diversi livelli politici.

La portata del fenomeno impone in particolare di identificare le priorità di intervento, sia definendo i meccanismi e vettori di introduzione sui quali concentrare le misure di prevenzione, sia identificando le specie invasive sulle quali intervenire. Questi obiettivi generali sono state concordati sia dalla Convenzione per la Diversità Biologica, sia dalla Commissione Europea, ed il mondo scientifico è quindi chiamato a contribuire al loro raggiungimento. L'analisi dei database europei (DAISIE) e globali (Global Invasive Species Database) sulle specie invasive fornisce un esempio concreto su come è possibile tradurre le conoscenze nel campo delle invasioni biologiche in priorità di azione.

THE IMPACTS OF ALIEN INVASIVE SPECIES ON ECOSYSTEM SERVICES IN ITALY

E. TRICARICO¹, G. FERRETTI¹, B. FOGGI¹, C. GIULIANI¹, A. OCCHIPINTI-AMBROGI², A. MARCHINI², F. GHERARDI¹

¹*Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Università degli Studi di Firenze;*

²*Dipartimento di Scienze della Terra e dell’Ambiente”, Università degli Studi di Pavia*

Invasive alien species (IAS) are regarded today as the second cause of biodiversity loss and one of the main threats to human health and economy. According to the recent literature, in Italy there are more than 2,200 animal and plant aliens; 20% are considered invasive or potentially invasive. Here, we assess their impacts on ecosystem services, i.e. the benefits that people obtain from ecosystems. Following the terminology of the Millennium Ecosystem Assessment framework, ecosystem services are classified into four categories: “supporting” (i.e. major ecosystem resources and energy cycles), “provisioning” (i.e. production of goods), “regulating” (i.e. maintenance of ecosystem processes), and “cultural” (i.e. non-material benefits). A single invader was shown to affect several different ecosystem services. In Italy, the fraction of IAS is higher in freshwater ecosystems (65%) than in marine (47%) and terrestrial (14%) ecosystems. IAS affect all the ecosystem services, with plants having the wider impacts and freshwater habitats being the more affected. Supporting, regulating and cultural services are more impacted. Invasive plants, particularly terrestrial species, can alter more severely cultural services than animals, while regulating services are negatively changed by IAS more in freshwater ecosystems than in terrestrial and marine ecosystems. Among animals, the species with the highest number of impacts occupy freshwater ecosystems (the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*, the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, the common carp *Cyprinus carpio*, the coypu *Myocastor coypus*, and the muskrat *Ondatra zibethicus*), confirming that, also in Italy, these ecosystems are more imperiled by biological invasions than their terrestrial and marine counterparts.

This research was partly granted by the project QuiT “Inquinamento biologico e cambiamento climatico: scenari per la Toscana”, funded by Tuscan Region (POR-FSE 2007-2013). This is a contribution to the European Marie Curie IOF Project CHAOS "Climate change and species invasions in aquatic systems: a comparative perspective" and to the European project FP7-OCEAN 2010 VECTORS (Vectors of Change in Ocean and Sea Marine Life, Impact on Economic Sectors).

STATO DELL'ARTE SULLE SPECIE ALLOCTONE DI ANELLIDI POLICHETI IN MEDITERRANEO E SUI LORO POSSIBILI IMPATTI

A. GIANGRANDE¹, M.C. GAMBI²

¹DiSTeBA, Università del Salento Via Provinciale-LecceMonteroni, Lecce; ²Laboratorio di Ecologia Funzionale ed Evolutiva, Stazione Zoologica "Anton Dohrn" di Napoli

Gli anellidi policheti contano ad oggi circa 10.000 specie, di cui circa 300 stanno viaggiando intorno al mondo, grazie anche all'intervento dell'uomo, e sono approdate in aree diverse da quella di origine, a volte colonizzando in modo invasivo l'area, o diventando comunque parte integrante della fauna locale. Il 47% del totale delle specie aliene mondiali interessa l'area Mediterranea, con circa 134 specie ad oggi registrate come introdotte. L'area Mediterranea più intensamente colonizzata è quella del bacino orientale grazie alla presenza del canale di Suez che permette il passaggio di specie dal Mar Rosso (migrazioni lessepsiane). Le specie possono avere diverse modalità di introduzione oltre alla migrazione diretta, propaguli possono essere trasportati dalle ballast water, attaccati alle chiglie delle navi (fouling) o attraverso le attività di maricoltura. L'attenzione sulle specie aliene si è maggiormente concentrata su redigere liste locali, più o meno ragionate e critiche, che hanno fatto lievitare il numero di specie presenti in Mediterraneo. Sembra che il 45% delle forme aliene sia oramai rappresentato da specie stabilite, cioè che si riproducono normalmente nelle aree di introduzione, mentre il 18% risulta rappresentato da specie invasive. Raramente, tuttavia, sono disponibili studi ad hoc per capire l'effetto di queste introduzioni sulla fauna marina autoctona. Specie aliene possono infatti cambiare il carattere abiotico e biotico dell'area ricevente e creare anche grandi danni economici. Nel caso dei policheti, in particolare, molto scarse sono le conoscenze sul possibile effetto ecologico di specie aliene, ad esempio sembra che i due migranti lessepsiani *Pseudonereis anomala* ed *Eunice antennata*, ormai specie dominanti lungo le coste israeliane, abbiano soppiantato la specie autoctona *Perinereis cultrifera*; lungo le coste della Turchia alcuni Spionidae alloctoni sembrano aver sostituito altre specie autoctone (quali *Malacoceros fuliginosus* e *Capitella capitata*) in aree particolarmente inquinate. Alcune specie di serpulidi del genere *Hydroides* invasive di substrati artificiali portuali o di acque salmastre, causano danni economici all'aquacoltura, mentre altre come *Ficopomatus enigmanticus*, considerato un "ecosystem engineer" per la sua elevata densità in ambienti salmastri dove forma veri e propri reef, sembra invece avere un'azione positiva sul biota associato. Ancora molto aneddotiche sono invece le osservazioni sulle possibili interazioni negative tra alcuni Sabellidae autoctoni del genere *Branchioma* (*B. bombyx*, *B. lucullanum*) ed i co-generici alieni (*B. luctuosum*, *B. bairdi*). Nel presente lavoro viene riportata una sintesi sullo stato attuale delle specie aliene di policheti in Mediterraneo, e vengono individuate possibili specie bersaglio che dovrebbero essere studiate in dettaglio, soprattutto lungo le coste Italiane, per capire gli effetti della loro introduzione sulla componente autoctona. Questo tipo di studi acquistano maggiore rilevanza ed urgenza soprattutto oggi alla luce della recente Marine Strategy Europea.

PROCAMBARUS CLARKII DIFFUSION IN THE UPPER LAMBRO RIVER BASIN: IMPACT ON NATIVE CRAYFISHES AND AMPHIBIANS

F. DE BERNARDI¹, R. MANENTI¹, A. BINDA², M. DASSI¹, M. SIESA¹, G. F. FICETOLA^{1,3}

¹Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Via Celoria, 26, 20133 Milano. Email: fiorenza.debernardi@unimi.it; ²Associazione Le Contrade Onlus Inverigo (CO); ³Università degli studi Milano Bicocca, Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, piazza della Scienza 1 - I-20126 Milano
email: francesco.ficetola@unimib.it

Procambarus clarkii is an invasive crayfish which distribution is continuously spreading in Europe and in Italy, posing major threats to several freshwater communities. This species negatively affects freshwater habitats biodiversity. To evaluate the impact of *P. clarkii* we focused, from 2010 to 2012, in an area of recent colonization by the species, located in the upper Lambro river basin (NEW Italy). We analyzed the distribution of *P. clarkii* in relationship with the native crayfish *Austropotamobius italicus* and the amphibian breeding sites distribution. We recorded the population trending of two target species of amphibians such as *Rana latastei* and *R. dalmatina* and tadpoles survival also in the damp biotopes of the surrounding river basins. We found 31 sites of *A. italicus* occurrence located in the upper traits of streams with few (12%) in isolated lentic biotopes. Stream populations live in mostly (59%) in first class EBI score sites, while other face low (26% in second EBI score class) or higher level of pollution (15% in third EBI score class). Populations densities are generally not too low (average CPUE score 0,09) reaching at maximum 5 individuals/m² (CPUE score 3,6). Unfortunately sites areas are often limited and populations quite isolated with no or few connections and far from each other. Some sites are 5 km far from the nearest *A. italicus* population and less of 200 m from the first *P. clarkii* population. *Procambarus* occurs in 30 sites, mostly lentic. Densities vary from 0,02 individuals/m² in a stream to 4 individuals/m² in a little pond. All the streams inhabited have polluted waters and during our monitoring they were not much more invaded upstream. For *R. dalmatina* and *R. latastei* breeding site choice *P. clarkii* is not one of the predominant features, while physic and vegetation characteristics are. Also demographic trends of *R. dalmatina* and *R. latastei* are till now not significantly affected by *P. clarkii* occurrence, while we observed a deep impact on their tadpoles survival with larval abundance that is negatively associated with the alien crayfish. Our results suggest that survival of native crayfish in upper strength of catchment basins invaded by the aliens species is possible but affect the populations isolation and that long-term studies on amphibians demographic trends and breeding success are necessary.

IL CONTROLLO DELLA RIPRODUZIONE NEI CROSTACEI: CONTENIMENTO DELLA SPECIE INVASIVA *PROCAMBARUS CLARKII* (PROGETTO RARITY LIFE 10 NAT/IT/000239)

C. MANFRIN¹, F. PIAZZA¹, V. BERTUCCI¹, L. MARSON¹, M. GERDOL¹, L. AQUILONI², F. GHERARDI², A. PALLAVICINI¹, P. EDOMI¹, P.G. GIULIANINI¹

¹*Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste;* ²*Dipartimento di Biologia Evolutiva “Leo Pardi”, Università degli Studi di Firenze*

Nei Crostacei Decapodi lo sviluppo e la funzione delle gonadi sono sotto il controllo di assi neuroendocrini e di una complessa rete di interrelazioni tra tessuti bersaglio e sistema nervoso. Più di 65 anni fa Panouse identificò un fattore inibitore della vitellogenesi nei peduncoli oculari di *Palaemon serratus*. L'ablazione bilaterale dei peduncoli comportava un aumento della massa ovarica di circa 13 volte rispetto ai controlli. L'attuale scenario del controllo endocrino della riproduzione prevede come principale modulatore negativo il *gonad* (o *vitellogenesis*) *inhibiting hormone* (GIH o VIH) (per una rassegna vedi Giulianini e Edomi, 2006). Esso esplica l'inibizione sulla maturità gonadica anche a dosi molto basse (Soyez et al., 1987; Ohira et al., 2006) e risulta essere un buon candidato per una tecnica innovativa di somministrazione orale per modulare negativamente la fitness riproduttiva della specie invasiva aliena *Procambarus clarkii*. Una delle azioni del progetto LIFE RARITY si articola nelle seguenti fasi 1) il clonaggio del gene codificante il GIH, 2) la sintesi chimica dell'ormone con le corrette modificazioni post-traduzionali (amidazione al C-terminale e isomerizzazione del Trp in posizione 4 e 3) somministrazione orale con sistemi di protezione e microincapsulamento per valutarne la funzione gonado-inibitoria *in vivo*. L'RNA totale estratto dai peduncoli oculari di 4 femmine e 4 maschi è stato sequenziato con tecnologia Illumina su uno strumento HiSeq2000 (profondità 2x100bp) generando, dopo il trimming, 83.170.732 reads. Da un assemblaggio *de novo* (CLC Genomics Workbench) si sono ottenuti 64.651 contigs con una lunghezza media di 972 nt (N50: 1796 nt). È stata individuata una sequenza codificante per la regione C-terminale del GIH, che consentirà di ottenere il trascritto completo mediante la tecnica 5' RACE PCR. La sequenza completa così ottenuta permetterà di proseguire verso la sintesi chimica e verso i saggi in vivo per testare la funzionalità di questa promettente metodica.

VARROA DESTRUCTOR, AN ALIEN HONEYBEE MITE: BEHAVIOURAL AND CHEMICAL STUDIES SEARCHING STRATEGIES FOR MITE CONTROL

R.CERVO¹, C. BRUSCHINI^{1,2}, F. CAPPA¹, S. MECONCELLI¹, I. PROTTI¹, G. PIERACCINI², D. PRADELLA³, S. TURILLAZZI^{1,2}

¹Dipartimento Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze; ²CISM, Centro Interdipartimentale di Spettrometria di Massa, Università di Firenze; ³ARPAT Associazione Regionale Produttori Apistici Toscani

Honeybees (*Apis mellifera*) are among the most important insects in the ecosystems. Over the past few years, a continue worldwide loss of honey bee colonies has been reported worrying beekeeping industry and general opinion. The varroa mite, *Varroa destructor*, is currently considered the major factor for honey bee death in most parts of the world. In fact, it has been recently shown that the mite transmits important viruses to its host producing lethal consequences for colonies. This parasite was originally confined on the eastern honey bee, *Apis cerana*, but it shifted to *Apis mellifera* during the first half of the last century when the new host was introduced to the home range of *Apis cerana*. The lack of host defensive mechanisms for recent relationship with the new host is responsible for the dramatic impact that this mite has on *A. mellifera* hives worldwide. Given the importance of the honey bee both for bee products and for its crucial role in plant pollination, progresses in understanding *Varroa-Apis* relationships are needed. We studied the factors affecting the mite decision to leave the highly infested or close to collapse colonies to move towards new host hive by using laboratory behavioural assays and GC-MS analysis of honeybees cuticular hydrocarbons signature. Moreover, to investigate the bee defence capabilities at the hive entrance towards mite carrying bees, we analysed chemical signature of bees that have experienced mite parasitism compared to bees that have not and then performed lure presentation experiments on field colonies. Our study expanding knowledge on the mite transmission mode among hives could give indications to find suitable anti-Varroa spreading solutions.

This research was funded by the MIUR (to R.C. and S.T.)

UNEXPECTED PERSISTENCE OF NATIVE GENETIC VARIABILITY OF BROWN TROUT IN MEDITERRANEAN STREAMS SUBJECT TO INTENSIVE STOCKING: THE ROLE OF ENVIRONMENTAL FACTORS

A. SPLENDIANI, P. RUGGERI, M. GIOVANNOTTI, P. NISI CERIONI, V. CAPUTO

DiSVA, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy

In Europe, brown trout provides an exceptional opportunity to study the influence of stocking on native populations. Overharvest, habitat fragmentation and pollution have contributed to the decline of many wild populations. Since the mid 19th century stocking with domestic strains have added a further threat to their genetic integrity. The main findings of previous genetic studies were highly discordant: some works indicated the persistence of the original genetic diversity despite intense stocking, some other showed more severe outcomes reporting high level of introgression or total displacement of native genetic variability. However, the emerging use of a landscape genetic approach provide a valuable tool to better understand the mechanisms of biological invasions. The aim of this study was to evaluate the role of environmental factors in promoting or hindering invasion of alien genome. Three classes of molecular markers (*LDH-CI** locus, five microsatellites and mtDNA) were used to evaluate the level of introgression between native and domestic strains, whereas a multivariate method (Redundancy Analysis, RDA) was employed to find relationships between genetic diversity and 17 environmental variables calculated at stream level that describe lithology, geomorphology, fish community and human activities. The RDAs indicated a strong and significant link between the genetic status of a population (native or alien) and the hydrogeological setting of the stream. In detail, streams with more stable ecological conditions (flowing on permeable rocks) sustain almost pure native populations whereas streams characterized by unpredictable hydrological conditions (running on impermeable rocks) harbour populations with high levels of introgression or pure for foreign genotypes. These results strongly suggest that trout populations living in hydrologically unstable habitats were more susceptible to the effects of stocking and then to be invaded by alien genomes. In conclusion, this study revealed that indigenous trout are still present also in heavily stocked areas and that the knowledge of environmental features may help to predict the long term effect of stocking.

RISCHIO DI NATURALIZZAZIONE DELLE SPECIE DI TESTUGGINI PALUSTRI COMMERCIALE IN EUROPA

G. F. FICETOLA, S. MASIN, A. BONARDI, E. PADOA-SCHIOPPA, L. BOTTONI

Dip. Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università degli Studi di Milano Bicocca

Le testuggini palustri sono tra gli animali di affezione maggiormente commerciati a scala globale. Nei decenni passati, il commercio si concentrava su una sola sottospecie nordamericana (*Trachemys scripta elegans*). L'importazione in Europa di questa sottospecie è stata interrotta per l'elevato rischio di invasione. Il commercio di testuggini palustri si è quindi spostato su altre sottospecie di *T. scripta*, ma anche su un numero crescente di altre specie. Queste nuove specie sono vendute in quantità sempre maggiori e iniziano ad essere rilasciate negli ambienti naturali: se naturalizzassero, potrebbero avere un impatto sugli ecosistemi paragonabile a quello di *T. scripta*. Abbiamo identificato le specie di testuggini palustri (eccetto *T. scripta*) maggiormente commerciate. Successivamente, abbiamo utilizzato modelli di idoneità ambientale (Maxent e Boosted Regression Trees) per identificare le specie che potrebbero naturalizzare in Europa. Per ogni specie commerciata, sono stati raccolti dati sulla distribuzione nell'areale nativo. La distribuzione è stata quindi messa in relazione con sei variabili bio-climatiche: temperatura massima e minima, precipitazioni nella stagione più piovosa e nella stagione più arida, NDVI, intensità della radiazione solare. Nel complesso, abbiamo individuato 14 specie di testuggini palustri, provenienti da Nord America, Asia ed Africa, che sono commerciate in Europa in grosse quantità e a prezzi economici. I modelli suggeriscono che ampie aree europee hanno un clima idoneo per cinque di esse: *Apalone spinifera*, *Kinosternon bauri*, *Sthernoterus orodatus*, *Pelodiscus sinensis* e *Pelomedusa subrufa*. Il rischio di acclimatazione è particolarmente alto in diverse aree dell'Europa mediterranea (Italia peninsulare ed insulare, penisola iberica, aree costiere della penisola balcanica). I risultati di Boosted Regression Trees e Maxent sono estremamente simili, confermando la robustezza dei modelli. Le regolamentazioni sul commercio di specie esotiche dovrebbero considerare la possibilità che queste si acclimatino, vietando l'importazione delle specie maggiormente a rischio di naturalizzazione.

EFFETTI DELLA CAULERPINA SUL COMPORTAMENTO TROFICO DEL SARAGO MAGGIORE (*DIPLodus SARGUS*)

G. POLESE, R. ALAIA, A. CACACE, S. DE BONIS, C. PINELLI, B. D'ANIELLO

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli Federico II

L'alga verde *Caulerpa racemosa*, specie invasiva del Mediterraneo, porta con se metaboliti secondari (caulerpina, caulerpenyna e la miscela di caulerpicine) in grado di influenzare la biologia delle specie animali presenti che non hanno avuto il tempo necessario per evolvere meccanismi di tolleranza per tali sostanze.

Nelle zone dove prolifera, la *C. racemosa* è ritrovata abbondantemente tra i contenuti stomacali di *Diplodus sargus*, rappresentando l'alimento più abbondante seguito da molluschi, echinodermi, crostacei, bryozoi e tunicati (Felline et al. 2012). Altri studi hanno evidenziato l'accumulo dei metaboliti prodotti da *Caulerpa* nei vari tessuti del sarago, tra cui muscolo, fegato e cervello. In questo lavoro è stato valutato se ed in che modo la caulerpina, metabolita più abbondante della *C. racemosa*, influenzi il comportamento trofico di *D. sargus* con un approccio etologico.

Due vasche sono state allestite con 5 esemplari ciascuna, i due gruppi sperimentali sono stati alimentati con 1 grammo di cibo inerte al giorno. Il tempo dato a disposizione per l'alimentazione è stato di 20 minuti durante i quali è stata effettuata un videoripresa. Il cibo restante al termine dei 20 minuti è stato rimosso, disidratato e pesato per valutare l'effettivo consumo. Dopo i primi 30 gg il cibo somministrato per una delle due vasche è stato implementato con caulerpina (1,1 mg*g⁻¹). Per valutare il comportamento trofico sono state valutate le quantità di cibo consumato e gli attacchi al cibo di ogni singolo pesce nel primo minuto di alimentazione. Dall'analisi dei dati raccolti è risultato che i saraghi alimentati con cibo trattato con caulerpina mangiavano meno e con meno voracità rispetto ai controlli.

Da quanto riportato in letteratura e da quanto osservato durante i prelievi in campo sulle quantità di *C. racemosa* nei contenuti stomacali, ci si sarebbe aspettati un aumento della voracità nei pesci alimentati con l'aggiunta di caulerpina. I nostri risultati potrebbero in parte essere legati alla elevata concentrazione di caulerpina utilizzata per l'esperienza. Inoltre la struttura molecolare della caulerpina, per la sua somiglianza con la serotonina, potrebbe interagire con i suoi recettori imitandone l'effetto anoressigeno con una conseguente riduzione del food intake.

THE ONLINE AQUARIUM TRADE AS SOURCE OF ALIEN SPECIES IN ITALY

G. MAZZA, L. AQUILONI, F. GIOVANNELLI, A. F. INGHILESI, E. TRICARICO, F. GHERARDI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Università degli Studi di Firenze

Aquarium trade moves thousands of species around the globe. Unwanted organisms may be thus released into fresh and marine waters with adverse ecological and economic impacts.

Contrary to ballast waters, the commerce of ornamental pets and aquarium trade have only recently been recognized as a major pathway for fish, invertebrates and plant introductions. Despite this role, pet trade, in particular the online commerce, is a thriving industry.

Here, we report the results of the first study on online aquarium trade as a powerful invasion pathway in Italy. We examined 52 online aquarium shops and collected data about the animals and plants for sale, their price and whether the species is already invasive in Italy. For each species, information about its native range, reproduction and feeding habits were gathered with the aim of forecasting its possible establishment and invasiveness.

The shops are more widely distributed in Northern Italy; 36% of them only handle aquarium products such as decors, filters, etc. Freshwater fishes and aquatic plants are the most traded taxa. Even if the multilevel impact exerted by invasive species is already assessed in Italy and elsewhere, the medium price of invasive species is low, thus favoring their purchase, such as the water hyacinth *Eichornia crassipes* (3.97 €), the golden snail *Pomacea canaliculata* (3.5 €), the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (10.1 €), the African clawed frog *Xenopus laevis* (6.02 €), and the red-eared slider turtle *Trachemys scripta* (18.62 €).

With the hobby industry continuing to attract large numbers of aquarist, the probability for releases of species and subsequent invasions is high: both a greater attention to educational programs and new legislative actions may help reduce the importance of the online aquarium trade as a quick pathway of species invasions in Italy.

This research was partly granted by the project *LIFE10 NAT/IT/000239 – RARITY*.

PREDATION EXPERIMENTS OF ZEBRA MUSSELS (*DREISSENA POLYMORPHA*) BY CRAYFISH (*PROCAMBARUS CLARKII*)

V. GONÇALVES^{1,2}, R. REBELO², F. GHERARDI¹

¹Department of Evolutionary Biology “Leo Pardi”, University of Florence, Via Romana 17, 50125 Florence, Italy vera.goncalves@unifi.it; ²Department of Animal Biology and Centre for Environmental Biology, F.C.U.L. Campo Grande, C2, 1749-016 Lisbon, Portugal

The zebra mussel *Dreissena polymorpha*, a highly invasive alien species, colonized some Italian aquatic ecosystems, previously colonized by another highly invasive alien species – the North American crayfish *Procambarus clarkii*. This is the first time that these two species coexist. Predicting the future interactions between *P. clarkii* and *D. polymorpha* is crucial for the conservation of the highly threatened freshwater systems in southern Europe. The elucidation of the newly established relations is also an excellent opportunity for applied research in invasion ecology, as both species present strong ecological and economic impacts. So, to evaluate the relative importance of the different impacts that each species may have on the other, we studied predation by *P. clarkii* on *D. polymorpha*.

Previous laboratory and field studies have shown that some crayfish species (*Orconectes limosus*, *O. propinquus*, *O. rusticus*, and *O. virilis*) other than *P. clarkii* are effective predators of zebra mussels.

Here we report the results of preliminary laboratory studies into the predation of *P. clarkii* on *D. polymorpha*.

Laboratory experiments were designed in which predator and prey sizes were manipulated. Each crayfish of both sexes was allowed limited access each day to 50 zebra mussels, ranging in size from 5-15 mm shell length. Daily feeding rates were measured by counting the numbers of zebra mussels remaining every 24 hr. Consumed mussels were replaced daily by mussels of similar size. Experiments were run for 1 week, to see if either starvation or learning increased the amount of feeding over the time period.

Vera Gonçalves' participation to the PhD program at the University of Florence is funded by the “Fundação para a Ciência e a Tecnologia” (FCT - Portugal).

BIO- AND ALLODIVERSITY OF SCOLYTIDAE AND NON-TARGET ARTHROPODS IN NURSERIES

A.F. INGHILESI¹, M. ANSEMI¹, F. GHERARDI¹, G. MAZZA¹, F. PENNACCHIO², G. STASOLLA¹, R. CERVO¹

¹Dipartimento Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze; ²Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia, Firenze

Nurseries are highly specialized agricultural systems and have a role in the introduction of alien species, especially species of phytosanitary interest. The massive use of insecticides and fertilizers rebounds on the abundance and composition of the arthropods, particularly insects. Some taxa, such as Scolytidae, may be less exposed to chemical treatments due to their habits. Different taxa are expected to occur with different probability in nurseries if compared to rural agricultural systems.

During July-October 2010, 5 nurseries and 5 control areas in the Province of Pistoia were surveyed by using, in each site, a Multifunnel and a Theyson trap baited with generic lures (alcohol and turpentine essence), checked every two weeks. These traps are suited to catch bark beetles and other xylophages, but several non-target arthropods could be collected. Two analyses were conducted, on (1) species of Scolytidae and (2) families of Coleoptera and orders of other insects.

Four thousands and 335 specimens of Scolytidae, belonging to 20 species, were collected. *Ambrosiodmus rubricollis* (Hopkins, 19155) was recorded for the first time in Tuscany, in a nursery. Other three allochthonous species of Scolytidae, already recorded in Tuscany, were collected in control areas (*Xylosandrus germanus* and *X. crassiusculus*) and nurseries (*Dactylotrypes longicollis*). The results, as expected, clearly show seasonality of catches for both the analyses. Nurseries and control are significantly different. There is a significant variability among control areas, while nurseries are homogeneous. Scolytidae were equally caught between the two areas, but there are differences for species composition. Orders of insects and families of Coleoptera that are mainly phytophagous or live on the external surface of plants (e.g. Homoptera, Chrysomelidae, Coccinellidae) characterize the control areas, being on the contrary absent from nurseries.

The research was conducted within the project "ALT: Atlante delle Specie Alloctone della Toscana" (cofunded by Regione Toscana).

NATIVE AND ALIEN PERACARIDS IN ITALIAN HARBOURS (LA SPEZIA, OLBIA AND LAMPEDUSA) AND NEIGHBOURING MARINE PROTECTED AREAS (CINQUE TERRE, TAVOLARA PUNTA CODA CAVALLO AND LINOSA ISLAND)

A. LODOLA^{1,3}, T.R. NEVES DOS SANTOS², D. PAGANELLI^{1,3}, A. MARCHINI^{1,3}, D. SAVINI^{1,3}, A. OCCHIPINTI-AMBROGI^{1,3}

¹Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università degli Studi di Pavia (Italia);

²Universidade de Aveiro, Portugal; ³Associazione For-Mare

A systematic survey was carried out in summer 2010 and 2011 with the aim of studying alien species in commercial harbours and neighbouring Marine Protected Areas. Three study areas along the Italian coasts were chosen: the Ligurian Sea (La Spezia harbour, Cinque Terre MPA), the Western-central Tyrrhenian Sea (Olbia harbour, Tavolara Punta Coda Cavallo MPA) and the Sicily Channel (Lampedusa harbour, Linosa MPA). Harbours are known as hotspots of biotic invasions due to the presence of the most important vectors of alien species introduction (i.e. aquaculture and shipping). The biological sampling consisted in scraping the artificial hard substratum (the concrete dock walls) just under the low tide level, with a handheld rigid net using a semi-quantitative methodology, standardized for hard bottom macrobenthos collections. Here we report results on the crustacean peracarid community, giving particular emphasis to the presence of alien species. A total of 64 peracarid taxa belonging to 3 orders and 26 families were identified: 44 Amphipods, 18 Isopods and 2 Tanaids belonging to 18, 6 and 2 families, respectively. Among all the identified peracarid taxa, the best represented families were: Caprellidae (16%), Sphaeromatidae (17%) and Lysianassidae (6%). Noteworthy is the occurrence of 3 alien species: the amphipod *Caprella scaura* and the isopods *Paracerceis sculpta* and *Sphaeroma walkeri*. *C. scaura* was detected in the harbours of La Spezia and Olbia as well as in their neighbouring MPAs. These findings represent the first records of the species in the Ligurian and Western-central Tyrrhenian Sea, respectively. *P. sculpta* was found in the harbours of La Spezia, Olbia and Lampedusa, representing the first occurrence of the species in the Ligurian and Western-Central Tyrrhenian Sea and in the Sicily Channel. The finding of *S. walkeri* in La Spezia harbour represents the first record of this Sphaeromatidae along the Italian coasts. These alien species are well-represented within the fouling community of the three investigated harbours. Furthermore, this study provides an update of the distributional range of 23 Mediterranean peracarids: 8 species were reported for the first time in the Ligurian Sea, 4 species in the Western-central Tyrrhenian Sea and 14 species in the Sicily Channel. These new records of native and alien peracarids highlight the importance of studying the fouling community of Italian harbours and their role as source of alien species.

APPLICATION OF NOVEL MOLECULAR MARKERS FOR TRACKING AND CONTROL OF THE INVASIVE MOSQUITO VECTOR, *AEDES ALBOPICTUS*

M. MANNI¹, N. AKETARAWONG², L.M. GOMULSKI¹, F. SCOLARI¹, M. FALCHETTO¹, A. R. MALACRIDA¹, G. GASPERI¹

¹*Dept. of Biology and Biotechnology, University of Pavia;* ²*Dept. of Biotechnology, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

Aedes albopictus is among the hundred most dangerous global invasive species. The dramatic expansion of this aggressive daytime biting mosquito has increased public health concern for Arbovirus outbreaks. The control strategies need detailed knowledge of the population biology and dynamics to infer the origins of infestation/outbreaks, and to determine the adaptive processes this species underwent during the invasion process. We are currently completing a microsatellite-based analysis of the population genetics of *Ae. albopictus*. We produced four microsatellite enriched libraries from *Ae. albopictus*. Each library was enriched for a different microsatellite motif (CA, GA, AAC, ATG). To explore the genetic variation among wild populations, to infer the invasion routes at macro geographical levels and to assess the degree of ancestry between ancestral and invasive populations we genotyped 30 individuals from 8 wild populations worldwide using 17 highly informative SSR markers. Several samples were collected from wild *Ae. albopictus* populations from Reunion, Thailand, Albania, Greece, Japan, China and two regions of Italy. The analysis showed that China displays a high level of variability and presents private alleles at the highest frequency, suggesting that it has the genetic attributes of a putative ancestral population. The low level of genetic differentiation was observed among populations, probably representing a consequence of their recent colonization. The migration rate is unidirectional from Asian to the other populations so the overall genetic profile suggests a western orientated migration route from Far East and South-East Asia. To identify coding sequences that have been subject to population-specific selective pressures during the colonization process we also decided to develop SNPs markers, so RNAseq on antennal transcriptomes of male and female from representative ancestral and derive populations is in progress. Our study is based on an innovative approach as it combines the use of SNPs and SSRs in a population analysis. As such it provides a unique opportunity to correlate invasion with adaptive processes.

ALIENI IN TOSCANA: PRIMI DATI DI PRESENZA DELLO SCOIATTOLO GRIGIO (*SCIURUS CAROLINENSIS*) IN PROVINCIA DI AREZZO

E. MORI¹, M. MENCHETTI², M. DI FEBBRARO³

¹Università degli Studi di Siena, Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti" Via Mattioli, 4 - 53100 Siena; ²Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Biologia Evoluzionistica "Leo Pardi" Via Romana, 17 - 50125 Firenze; ³Università del Molise, Dipartimento di Bioscienze e Territorio C.da Fonte Lappone – 86090 Pesche (Isernia)

Lo scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*) è considerato, al di fuori dell'areale nativo, una delle cento specie maggiormente invasive e impattanti sulla biodiversità indigena. A partire dal 1948, la specie è stata introdotta in Italia Settentrionale, dove si contano almeno 23 nuclei distinti in Piemonte, Lombardia e nei dintorni di Genova Nervi. In tempi recenti (2005), una nuova popolazione è stata segnalata in Umbria. Considerando la copertura boschiva gli Appennini, l'espansione della specie in un prossimo futuro è molto probabile.

Il lavoro si è articolato in due fasi. In prima istanza abbiamo 1) analizzato la distribuzione potenziale dello scoiattolo grigio in Umbria con un modello *expert-based* individuando tre soglie di idoneità (alta, intermedia, bassa), e 2) valutato la connettività funzionale GIS attraverso un'analisi *cost-distance*, illustrando gli scenari di rischio di espansione verso le regioni adiacenti. La mappa risultante ha indicato che il 97% della regione è idoneo, e che il 34% è altamente idoneo. La provincia di Arezzo è risultata essere la più esposta ad una potenziale diffusione dello scoiattolo grigio da Perugia.

A questo punto, abbiamo disposto un transetto di 20 *hair-tubes* (diametro = 7,5 cm; esca: mais e crema di nocciole) in un'area della provincia di Arezzo in cui era stata scattata una foto ad uno scoiattolo di dubbia attribuzione specifica. I controlli sono stati effettuati a cadenza bisettimanale, i peli raccolti, puliti dal collante con etanolo e conservati in provette Eppendorf a -20°C. Successivamente sono stati fissati su vetrini, osservati al microscopio e confrontati tramite atlanti specifici.

Nei cinque controlli sinora effettuati, due *hair-tubes* sono risultati positivi, denunciando la presenza della specie *S. carolinensis* nei dintorni di Palazzo del Pero (Arezzo) e la sua coesistenza con la specie indigena (*Sciurus vulgaris*): questo risultato ha validato la veridicità del modello precedentemente effettuato.

I sopralluoghi condotti nell'area non hanno consentito sinora nessuna osservazione diretta della specie e questo lascia supporre un'attuale bassa densità. In ogni caso, alla luce dei risultati qui riportati, sarà predisposto un programma di *early-warning* anche in altre aree della provincia volto ad approfondire le conoscenze sulla distribuzione e ad arginare gli impatti della specie esotica. Intanto è stato istituito un indirizzo email (saveredsquirrel@gmail.com) per creare una banca dati nazionale centralizzata per raccogliere le segnalazioni delle specie di Sciuridi arborei autoctoni e alloctoni.

ACCRESIMENTO E BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DEL PESCE GATTO, *AMEIURUS MELAS* (RAFINESQUE, 1820) NEL LAGO TRASIMENO

L. POMPEI¹, A. CAROSI¹, E. FRANCHI¹, D. GIANNETTO¹, L. GHETTI², G. PEDICILLO¹, M. LORENZONI¹

¹Dipartimento Biologia Cellulare e Ambientale, Università degli Studi di Perugia; ²Sezione Tutela del Patrimonio Ittico e Pesca Sportiva, Regione Umbria

Originario del Nord America, il pesce gatto, *Ameiurus melas* (Rafinesque, 1820) è una delle specie alloctone più diffuse nelle acque interne d'Europa. Nel Lago Trasimeno a partire dagli anni '70 ha fatto registrare un rapido aumento delle catture, e nel 2004, rappresentava una delle specie esotiche più abbondanti nel pescato dei pescatori di professione. Nonostante l'ampia distribuzione, poche informazioni sono disponibili sull'ecologia del pesce gatto in Italia e sull'impatto che le popolazioni hanno sulla fauna autoctona: scopo del presente lavoro è quello di approfondire alcune caratteristiche biologiche della popolazione presente nel Lago Trasimeno. I campionamenti sono stati condotti da Maggio 2008 a Maggio 2009 con cadenza mensile. Sono stati catturati 875 esemplari su tutta la superficie del lago. Per ogni individuo sono stati misurati lunghezza standard (L_s in cm) e peso (P in g). L'età degli esemplari è stata determinata mediante analisi microscopica delle vertebre. Il sesso è stato individuato attraverso l'analisi macroscopica delle gonadi e per ogni femmina è stata stimata la fecondità (F) mediante il conteggio del numero di uova. L'accrescimento teorico in lunghezza è stato valutato con il modello di von Bertalanffy: $L_s(t) = L_\infty \{1 - \exp[-K(t-t_0)]\}$. Per stimare la condizione degli esemplari è stato utilizzato il peso relativo (W_r) = $100(P/W_s)$. La regressione L_s/P è risultata $\log_{10}P = -1.803 + 3.084 \log_{10}L_s$. L'analisi dell'Indice Gonado-Somatico indica che la riproduzione del pesce gatto nel Lago Trasimeno inizia ad Aprile e si protrae per tutta l'estate. La fecondità media (\pm ES) è pari a 3218 ± 2566 ; la relazione esistente tra la lunghezza delle femmine e la fecondità è risultata la seguente: $\log_{10}F = -0.317 + 3.011 \log_{10}L_s$. La fecondità relativa presenta un valore medio (\pm ES) di 24.80 ± 9.95 uova/g, il diametro medio delle uova (\pm ES) è pari a 0.16 ± 0.03 cm. I risultati ottenuti confermano l'elevata plasticità della specie, capace di modificare l'allocatione delle risorse energetiche per la crescita e per la riproduzione in modo differenziale in risposta ai diversi ambienti. L'approfondimento delle conoscenze riguardanti le interazioni interspecifiche permetteranno di valutare il potenziale invasivo del pesce gatto e costituiranno uno strumento per approntare misure volte alla conservazione della comunità ittica indigena del Lago Trasimeno.

PALAEOGENETICS AND MORPHOMETRY OF AN EARLY BRONZE AGE *FELIX* SPECIMEN OPEN THE DEBATE ON EARLY CAT TAMING IN SICILY

G. CATALANO¹, R. MICCICHÈ¹, A.D. MESSINA¹, M. COSENZA², S. REALE², F. VITALE², S TUSA³, D.W. MACDONALD⁴, N.YAMAGUCHI⁵, L. SINEO¹

¹*Dip. Biologia ambientale e Biodiversità – Università degli Studi di Palermo;* ²*Istituto Zooprofilattico della Sicilia “A. Mirri” Palermo;* ³*Soprintendenza del Mare – Palermo;* ⁴*Wildlife Conservation Research Unit. Dept. of Zoology, Oxford University UK;* ⁵*Department of Biological and Environmental Sciences, University of Qatar, Doha, Qatar*

The recovery of a cat skull from a large Early Bronze aged (BA1, 2500-2000 cal B.C) bell shaped vase at Stretto Partanna (Trapani, Western Sicily), fuelled a multidisciplinary research aimed by the intention to define the specific status of the animal and the ritual significance of its location. In actual fact, even if *F. sylvestris* is a well known Sicilian endemism, described and hunted since the Mesolithic age, there are not symptoms of a prehistoric distribution in the island of other taxa from Africa (*F.s. libica*) and from the Near East (*F. s. ornata*), subspecies that are considered at the base of the genesis of the domestic cat (*F. s. catus*). The first “domesticated” cat in the Mediterranean basin has been described in Pre-ceramic Neolithic horizons of Cyprus.

After an accurate restoration the specimens has been carefully measured according to current biometrics. A portion of the specimens was treated following the most stringent criteria for ancient DNA recovery and analysis. Two mitochondrial genes (*ND5* and *Cytochrome b*) have been specifically amplified and sequenced. Skull metrics has been comparatively analysed over a 218 items database.

PCA analysis after Q-mode standardisation indicated a vicinity of the specimens to *F. sylvestris*. The aDNA preliminary analysis assigned the specimens to a reference mtDNA clade and carried informative polymorphisms for wild cat and domestic cat admixture. These are very encouraging results that stimulate further investigation on times and modes of the cat taming in prehistoric Sicily and in Western Mediterranean Basin.

The authors are grateful to Marco Masseti for comments

PRIMO CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA XENODIVERSITA' DEI MARI CALABRESI

E. SPERONE¹, F. FORESTIERI², V. CIRCOSTA¹, S. GOLIA¹, G. PAOLILLO³, P. BRANDMAYR¹, S. TRIPEPI¹

¹Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria; ²Dipartimento Ambiente, Provincia di Reggio Calabria; ³WWF Calabria

L'introduzione e la diffusione di specie aliene rappresenta, a diversa scala, una delle principali minacce per la biodiversità di una regione, soprattutto, in ambiente marino, dove tali fenomeni sono difficili da controllare. Le liste di specie marine aliene pubblicate nella letteratura scientifica sono aumentate negli ultimi anni ed uno sforzo internazionale piuttosto considerevole viene profuso per raccogliere e confrontare la situazione attuale in diverse parti del globo. Anche le amministrazioni pubbliche sono interessate al problema, promuovendo progetti volti a valutare e definire l'impatto che specie non indigene possano avere sugli ecosistemi locali e sulle specie di interesse conservazionistico ed economico.

Dal 2011 è stato avviato un progetto di ricerca con l'intento di fornire le prime conoscenze sulla xenodiversità dei mari e delle acque di transizione (foci ed ambienti salmastri) calabresi, e contribuire al monitoraggio della diffusione di specie aliene nel Mediterraneo, vista la posizione centrale che la Calabria occupa all'interno di questo bacino.

La ricerca ha interessato l'intera costa calabrese e si è svolta sia mediante campionamenti diretti che indiretti (catture accidentali da parte di pescatori, esemplari rinvenuti in pescherie, analisi di fotografie subacquee realizzate da appassionati).

Il primo anno di monitoraggio ha verificato la presenza di 7 specie aliene nei mari e nelle acque salmastre calabresi: 1 mollusco (*Melibe fimbriata*), 3 crostacei (*Percnon gibbesi*, *Callinectes sapidus*, *Procambarus clarkii*) e 3 pesci ossei (*Fistularia commersonii*, *Sphoeroides pachygaster*, *Stephanolepis diaspros*). Di queste, *Procambarus clarkii*, *Callinectes sapidus* e *Sphoeroides pachygaster* sono stati rinvenuti solo lungo il versante ionico della regione, ricadente nel bacino orientale del Mediterraneo; gli altri sono stati segnalati anche lungo il versante tirrenico, e quindi occidentale. Solo *Melibe fimbriata* è stata segnalata limitatamente all'area dello Stretto di Messina. Le specie segnalate rappresentano il 10,3% di quelle note come aliene tra crostacei, molluschi e pesci alloctoni segnalati per l'Italia. La distribuzione e la frequenza dei ritrovamenti permette di considerare tre specie come invasive: *Procambarus clarkii*, *Percnon gibbesi* e *Fistularia commersonii*. Per le altre si tratta di popolazioni stabilizzate ma piuttosto localizzate. Solo per *Sphoeroides pachygaster* si può parlare di una naturale espansione di areale.

PIANO DI GESTIONE DEL MUFLONE (*OVIS ARIES*) NEL PARCO REGIONALE DELLE ALPI APUANE

P. FAZZI¹, M. LUCCHESI², I. DI VITTORIO³, F. VIVIANI⁴, G. SPERONI⁴, G.A. BERTOLA⁴, N. RAFFAELLI⁴

¹Biologo; ²Biologo Tecnico Faunistico, Consulente scientifico Parco Regionale delle Alpi Apuane; ³Biologo Tecnico Faunistico; ⁴Ente Parco Regionale delle Alpi Apuane – U.O.S. “Vigilanza e gestione della fauna”

Il muflone (*Ovis aries*) è presente nel Parco Regionale delle Alpi Apuane in seguito ad una introduzione operata negli anni '80. Partendo dai 16 esemplari iniziali, la sua presenza nell'area è oggi ampiamente affermata, con una popolazione che si può considerare naturalizzata. In seguito alle prime indagini scientifiche effettuate dal 2003 al 2005 è stata elaborata la proposta di un Piano d'azione per la specie nell'area, tale da poterne monitorare gli aspetti demografico-distributivi e proporre le azioni gestionali conseguenti. Nel 2011 – 2012 gli studi si sono conclusi con la predisposizione del Piano di Gestione della specie, documento che include indicazioni sui parametri distributivi, strutturali e demografici della popolazione del bovide e indica tempistiche e metodologie affinché tale presenza alloctona per l'ambiente apuano possa essere contenuta in modo da non incidere negativamente sulle altre componenti faunistiche locali e sulle specie floristiche endemiche che caratterizzano l'area protetta.

Vengono pertanto analizzate ed evidenziate le caratteristiche della popolazione di muflone presente sulle Alpi Apuane ed i provvedimenti da adottare da parte dell'Ente Parco e degli altri soggetti deputati alla gestione del territorio e della fauna in particolare. Viene inoltre presentato un approccio bioeconomico alla gestione di specie alloctone in ambienti di particolare pregio dal punto di vista della biodiversità.

THERIO.IT – UN NUOVO SITO PER LE SEGNALAZIONI DEI MAMMIFERI IN ITALIA

A. LOY¹, M. BRASILIANO¹, D. PREATONI², F. CAGNACCI³, R. OLIVETO¹

¹Dip. Bioscienze e Territorio, Univ. del Molise, Pesche (IS); ²Dip. Scienze Teoriche e Applicate, Univ. dell'Insubria Varese, ³Fondazione Edmund Mach – Ist. Agrario S. Michele all'Adige (TN)

email: a.loy@unimol.it

La crescente domanda di informazioni sullo stato di conservazione delle specie nel nostro pianeta ha portato negli ultimi anni alla nascita di diverse iniziative mirate alla archiviazione e fruizione di dati sulla distribuzione delle specie. Uno degli sforzi principali è rappresentato dal progetto GBIF – Global Biodiversity Information Facility, che raccoglie dati sulla biodiversità messi a disposizione da enti e istituzioni pubbliche, in particolare musei di storia naturale. A queste si affiancano iniziative mirate a raccogliere segnalazioni relative a taxa specifici e/o particolari aree geografiche. Tra queste ornitho.it, promossa e finanziata dalla LIPU, che ha ispirato la realizzazione di therio.it <http://www.distat.unimol.it/therio/> mirato a raccogliere le segnalazioni dei mammiferi in Italia sotto l'egida dell'Associazione Teriologica Italiana, che garantisce la correttezza e l'uso dei dati nel rispetto dei diritti di proprietà dei singoli contributori. A differenza di ornitho.it, therio.it ha adottato uno standard internazionale di archiviazione e a differenza di GBIF prevede la validazione delle segnalazioni prima dell'inserimento nell'archivio.

Therio.it è un'applicazione web-based che permette di inserire, ricercare e visionare i dati nell'archivio previa registrazione da qualsiasi tipo di dispositivo dotato di un browser web e javascript abilitato. La struttura dell'archivio si rifà allo standard Darwin core, che prevede un insieme di campi relativi all'inquadramento sistematico del taxon, alla localizzazione geografica e alla tipologia della segnalazione.

Il sistema prevede le seguenti figure: visitatore, utente registrato, amministratore. Il processo di validazione prevede il coinvolgimento di esperti dei diversi taxa. Dopo l'attuale fase di test e la definizione di un regolamento per l'uso e la proprietà dei dati, si prevede di estendere il sistema con la possibilità di inserire media (immagini, video, etc), elaborare grafici riassuntivi e modelli previsionali, estendere le possibilità di interazione con gli utenti (chat e forum), creare app ad hoc per iphone, ipad, dispositivi android.

Sessione libera - poster

IDENTIFICATION OF AQUAPORINS IN EGGS AND EARLY EMBRYOGENESIS OF PARACENTROTUS LIVIDUS

A. AMAROLI¹, S. FERRANDO¹, M. C. GAGLIANI², L. GALLUS¹, E. CANTAMESSA¹, M. A. MASINI¹

¹DISTAV - ²DIMES – Università degli Studi di Genova

In the sea urchin, efficient regulation of water homeostasis is essential for many biological processes such as cellular respiration, normal fertilisation and correct embryo growth. However, there is still little information about the mechanisms that permit high velocity water exchanges, which are necessary to these processes and not explicable by the model of simple diffusion across the envelopes and membrane of the egg.

Since the first description of the aquaporin (AQP) by Agre, much information on the physiological significance of these channel proteins in the transmembrane water transport has been amassed.

In order to clarify the mechanisms that permit the high velocity water fluxes which occur during the sea urchin developmental cycle, the present work reports the identification and function of AQP proteins in the eggs and early embryogenesis of the *Paracentrotus lividus*. In the immunoblot analysis the anti-AQP1 and AQP3 antibodies recognised in virgin and fertilised eggs an AQP related protein of about 39 and 34 kDa respectively. The AQP1 is constantly present from the virgin egg up to the 16-cells stage ($P > 0.05$) while the AQP3 increases its presence ($P < 0.05$), reaching a peak at the 16-cells stage ($P < 0.05$). In addition, in the immunoelectron microscopy and immunofluorescence analysis we find that both AQP1 and AQP3 are localised in the vitelline layer and in the fertilisation envelope but not in the plasma membrane. The exposition to inhibitors of AQPs such as copper (0.1 μM), mercury (0.1 μM) or nickel (0.5 μM and 0.1 μM) shown a drastic inhibition of fertilization ($P < 0.05$). In particular, the data on nickel exposure are very interesting as a consequence of the specific inhibition action of AQP3 and of its non-toxic effect on the exposed eggs and sperm.

In conclusion, our results show, for the first time, the presence of AQP-like proteins in the virgin and fertilised eggs of *P. lividus*. The presence of AQP1 and the increase of AQP3 in the first phase of the *P. lividus* developmental cycle, suggest their involvement in both the detaching of the vitelline layer during the slow block of polyspermy and the appropriate homeostasis-keeping for embryo development. Lastly, the identification of AQPs in a model organism such as *P. lividus* is an important contribution to the knowledge of the role of AQP during embryo development, as well as a new bioassay to use alongside *Xenopus laevis* oocytes in studies to characterize water channel function.

EFFETTO DI VARIABILI AMBIENTALI SULLA DENSITÀ DI ATTIVITÀ DI TASSOCENOSI EDAFICHE (ISOPODA ONISCIDEA, CHILOPODA, COLEOPTERA CARABIDAE) IN HABITAT FORESTALI DELL'ITALIA CENTRALE

F. BAINI¹, M.A. BOLOGNA², M. PITZALIS², S. TAITI³, A. VIGNA TAGLIANTI⁴, M. ZAPPAROLI¹

¹*Dipartimento per la Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Viterbo;* ²*Dipartimento di Biologia Ambientale, Università Roma Tre, Roma;* ³*Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, CNR, Sesto Fiorentino;* ⁴*Dipartimento Biologia e Biotecnologie "C. Darwin", Università Sapienza, Roma*

Si riportano i risultati di una ricerca condotta su Isopodi Oniscidei, Chilopodi e Coleotteri Carabidi in querceti naturali e artificiali, in un'area sottoposta a gestione lungo il versante tirrenico dell'Italia centrale (Castel di Guido, Roma, 10-80 m s.l.m). Campionamenti mensili sono stati condotti per 12 mesi (2009-2010) con pitfall-traps (NaCl e aceto) in habitat forestali (4 stazioni, 8 trappole ciascuna) differenti per grado di complessità strutturale. Scopo del lavoro è stato quello di testare tramite regressioni multiple la possibile relazione tra variabili strutturali dell'ambiente (copertura di canopy, di strato arbustivo, di strato erbaceo, copertura e profondità della lettiera, numero di rami a terra) e i valori di densità di attività annuali (Day) delle singole trappole nei tre gruppi campionati, utilizzando le sei variabili ambientali e la loro combinazione in due fattori principali estratti dalla PCA. I valori delle variabili sono stati calcolati ogni mese secondo la scala di Braun-Blanquet entro una circonferenza di raggio 2 m con centro la trappola. I due modelli di regressione adottati hanno dato risultati significativi e parzialmente analoghi solo per Chilopodi e Coleotteri Carabidi. La DAY dei Chilopodi è significativamente influenzata dalla copertura del canopy, dello strato arbustivo e della lettiera mentre quella dei Coleotteri Carabidi dal canopy e dallo strato arbustivo. È probabile che i fattori ambientali di tipo strutturale siano indirettamente importanti nella scelta dell'ambiente d'elezione da parte dei Chilopodi e dei Coleotteri Carabidi; infatti, la presenza di una complessa stratificazione in alcune delle stazioni esaminate e la diversificazione delle nicchie trofiche e spaziali potrebbero aver influenzato direttamente la presenza di molte specie di invertebrati fitofagi, potenziali prede per molte specie di Chilopodi e Coleotteri Carabidi.

IL COMPORTAMENTO DI RIPORTO DELL'UOVO NELLA POPOLAZIONE DI OCCHIONE DELLA PENISOLA DI MAGNISI (SR).

M. T. SPENA¹, N. E. BALDACCINI², R. GRASSO¹

¹*Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, Università di Catania;*

²*Dipartimento di Biologia, Università di Pisa*

Per le specie di uccelli che nidificano a terra, il comportamento di *egg-retrieval* ha un ovvio valore adattativo, permettendo di recuperare uova che altrimenti andrebbero perdute, migliorando così il rapporto uova deposte/schiusure. Tale comportamento fa parte del bagaglio di innatività ed è portato a termine mediante coordinazioni motorie ereditarie che variamente si intrecciano con movimenti tassici di carattere opportunistico, in risposta alle contingenti difficoltà di riconduzione dell'uovo al nido (pendenza, asperità del substrato), così come evidenziato da Lorenz e Tinbergen (1938), che per primi lo descrissero nell'Oca selvatica.

Nell'Occhione (*Burhinus oedicnemus*) le capacità di *retrieval* sono state descritte recentemente dal nostro gruppo di ricerca (Spena et al. 2009), che ha continuato le osservazioni su 15 nidi nella penisola di Magnisi (SR), tra il 2008 ed il 2011. Dopo aver provocato l'involto del soggetto in cova, un uovo veniva spostato a distanza di 30-50 cm dalla coppetta nido, monitorando con una telecamera mimetizzata, posta a 1,80 m dal nido, il comportamento dell'individuo involato. Il ritorno al nido avveniva in media dopo 20 min 23 sec dall'allontanamento dello sperimentatore e era eseguito senza emettere alcuna vocalizzazione. Il comportamento di recupero era messo in atto con una latenza alta se comparata con quella di altre specie (media 5 min 25 sec dopo il ritorno sul nido), a cui seguiva il riassetarsi sulle uova (media 10 min 13 sec dall'inizio del riporto). In due occasioni il comportamento non ha invece avuto luogo.

L'*egg-retrieval* è evidente conseguenza di un atteggiamento di natura parentale verso l'uovo/embrione, da inserire nell'etogramma specifico tra le coordinazioni tipiche della cura della prole. La consistente distanza internido esistente nella popolazione in studio, non permette che esso divenga un mezzo di adozione fortuita tra coppie vicine, come può accadere in altre specie sia di uccelli che di mammiferi.

SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS IN PHAGOCYTES OF THE COMPOUND ASCIDIAN *BOTRYLLUS SCHLOSSERI* WITH PARTICULAR REFERENCE TO MAPKS

N. FRANCHI, F. SCHIAVON, L. BALLARIN

Dipartimento di Biologia, Università di Padova

Phagocytosis, i.e. the engulfment and digestion of foreign particles or cells by professional phagocytes, is a fundamental effector mechanism of metazoan immunity which prevents pathogenic or parasite micro-organisms from entering the animal body thus contributing to the survival of the individual. Its importance is still higher in invertebrates, which rely only on innate immunity, as it represents the most important cell-mediated immune response.

Tunicates are chordate invertebrates, closely related to vertebrates, which represent valuable organisms for the study of a variety of biological processes from an evolutionary point of view.

The compound ascidian *Botryllus schlosseri* is a good model organism for the study of innate immune responses. In this species, phagocytes represent 30-50% of the total circulating haemocytes and include spreading phagocytes that can actively ingest foreign cells or particles and round phagocytes deriving from amoebocytes which, upon the ingestion of non-self material, withdraw their cytoplasmic protrusions and acquire a spheroidal shape.

In the present work, we used the same model organism for a preliminary investigation of the signalling pathways involved in yeast phagocytosis, with particular reference to MAPK activation. Results demonstrate that the recognition of foreign cells triggers a phosphorylation cascade leading to the activation of Ras-like small GTPases and different MAPKs.

GLI STADI LARVALI DI *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAMARCK, 1819 COME PRINCIPALE RISORSA TROFICA PER GLI CNIDARI BENTONICI DEL NORD ADRIATICO

C.G. DI CAMILLO¹, F. BETTI¹, M. BO², C. CERRANO¹, A. FIORETTI¹, M. MORI¹, P. PARONCINI¹, G. BAVESTRELLO²

¹DiSVA, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy; ²DiSTAV, Università degli Studi di Genova, Genova, Italy

Il mitilo *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 presenta 4 stadi larvali planctonici: D-larva, umbonale 1, umbonale 2 e pediveliger. Le larve differiscono per forma, dimensioni e tipologia di movimento: mentre lo stadio di D-larva (50-150 μm) è in grado solo di nuotare, i pediveliger (250-450 μm) possono anche strisciare ed insediarsi sul substrato.

M. galloprovincialis è una delle specie bentoniche più comuni della Riviera del Conero (AN) dove forma imponenti facies sui substrati rocciosi da 0 a 6 metri di profondità. Recenti studi hanno messo in evidenza che diverse specie di cnidari come gli idrozoi appartenenti ai generi *Eudendrium*, *Obelia*, e *Clava*, gli antozoi *Cornularia cornucopiae* ed *Epizoanthus arenaceus* e gli scifopolipi del genere *Aurelia*, si cibano dei pediveliger. In particolare, è stato osservato che durante l'estate, oltre il 60% delle prede dell'idroide *Eudendrium racemosum* è composto da pediveliger di mitili con un tasso di predazione stimato di circa 3800 larve $\text{m}^{-2} \text{g}^{-1}$ (18.3 $\text{mg C m}^{-2} \text{g}^{-1}$).

Il presente studio illustra le variazioni temporali di abbondanza degli stadi larvali di mitilo nello zooplankton della Riviera del Conero da ottobre 2010 a novembre 2011.

Le larve sono presenti durante tutto l'anno nelle acque dell'area considerata; la massima concentrazione si osserva nel mese di agosto (oltre 23000 larve m^{-3} ; $T = 25.97^\circ\text{C}$) ed un altro picco, meno intenso, è stato riscontrato nel mese di ottobre 2010 (circa 2300 larve m^{-3}). I valori di agosto sono di oltre 10 volte superiori rispetto alla media annuale. La presenza di D-larve è massima in autunno e primavera, suggerendo che il rilascio dei gameti avvenga soprattutto in queste stagioni, mentre i pediveliger sono particolarmente abbondanti in estate. I pediveliger di mitilo che si avvicinano alla costa per potersi insediare sui substrati duri, possono accidentalmente urtare i tenacoli degli cnidari bentonici e divenire loro prede. Da questi dati emerge che le larve di mitilo rappresentano un'importante fonte di cibo per gli cnidari bentonici, soprattutto durante il periodo estivo, quando raggiungono la massima abbondanza.

ENDOSULFAN EFFECTS ON RANA DALMATINA TADPOLES: QUANTITATIVE DEVELOPMENTAL AND BEHAVIOURAL ANALYSIS

M. LAVORATO^{1,2}, I. BERNABÒ¹, M. DENOËL², S. TRIPEPI¹, A. CRESCENTE¹, E. BRUNELLI¹

¹Dept of Ecology, University of Calabria, Via P. Bucci, 87036 Rende (CS), Italy; ²Dept of Biology, Ecology and Evolution, University of Liège, 22 Quai van Beneden, 4020 Liège, Belgium

The intensive use of agrichemicals represents one of the most important pressures on aquatic biota. Amphibians are highly sensitive to the action of these compounds and have been successfully used as bioindicators to study their impact on aquatic ecosystems. Endosulfan is an organochlorine pesticide used throughout the world despite it is a Persistent Organic Pollutant. We evaluated the acute toxicity (LC50) and the effects of a chronic exposure to ecologically relevant concentrations of endosulfan (0.005, 0.01, 0.05 mg/L) on *R. dalmatina* developmental traits; moreover, we applied video-tracking techniques to evaluate the quantitative effect of endosulfan on behavioural patterns. In *R. dalmatina* the 96-h LC50 value was 0.074 mg endosulfan/L, which is comparable to data reported in literature. Tadpoles exposed to 0.01 and 0.05 mg/L underwent high mortality rate, reduced larval growth, delayed development, increased incidence of malformations, and did not reach metamorphosis. Moreover, tadpoles exposed to these concentrations exhibited several abnormalities in swimming patterns (shorter distance moved, slower speed, swirling, resting and unusual space use). These impairments have been also reported in amphibians after exposure to endosulfan and other pesticides, and often concurred with the presence of deformities. On the contrary, the exposure to 0.005 mg/L did not cause any significant effects on behavior, larval growth and development, but we observed a significant reduced survival and time to metamorphosis. In natural environments, such kind of alterations may negatively affect future fitness. In conclusion we assessed the effects of endosulfan on development in order to identify whether and which traits were affected and we have shown that developmental abnormalities are dose-dependent. We also underlined the importance to perform an analysis at multiple levels since the effects could be different depending on the concentration and the species tested. We demonstrated that behavioural analysis, along with the use of new analytical methods, is a useful tool in amphibian ecotoxicology.

L'APPROCCIO DI DNA BARCODING NELLO STUDIO DEI TARDIGRADI

R. BERTOLANI, L. REBECCHI, R. GUIDETTI, T. ALTIERO, I. GIOVANNINI, L. MORI, M. CESARI

Dipartimento Biologia e Dipartimento di Educazione e Scienze Umane, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Il DNA barcoding è stato proposto da Hebert e coll. nel 2003 con lo scopo di discriminare entità biologiche attraverso l'analisi di un singolo locus genico. Oggi il suo utilizzo appare in rapida ascesa (più di 450 lavori pubblicati riguardanti organismi anche molto differenti). Ciononostante, esistono ancora molte controversie sull'utilizzo di questo approccio in tassonomia. È importante sottolineare che solitamente il DNA barcoding non dovrebbe essere impiegato per la filogenesi, anche se a volte ciò è accaduto, ma piuttosto focalizzarsi sulla costruzione di una chiave di identificazione molecolare universale, basata però su consistenti informazioni tassonomiche che devono essere incluse nella barcode reference library.

Nel Phylum Tardigrada, il DNA barcoding rappresenta un approccio recente per l'identificazione delle specie e per la risoluzione di problemi tassonomici, anche alla luce delle ridotte dimensioni degli animali e della limitatezza dei caratteri morfologici disponibili. Da queste premesse è stato sviluppato il progetto MoDNA (Morfologia e DNA), combinando lo studio di un frammento del gene mitocondriale citocromo c ossidasi I (*cox1*) con dati morfologici anche a livello fine, allo scopo di sviluppare e validare l'integrative taxonomy sul modello tardigradi. L'indagine è stata condotta su gruppi di specie affini e criptiche in più famiglie di Eutardigrada.

La costruzione di un database di sequenze di riferimento è di importanza capitale per una corretta applicazione di questa metodica. Tuttavia, non è meno importante che queste sequenze siano strettamente correlate a specifici voucher specimens validati da esperti tassonomi. In mancanza di questo, il database di riferimento non può essere del tutto affidabile.

Per raggiungere questo importante obiettivo sono stati sviluppati metodi e protocolli per ottenere risultati standardizzati ed una stretta corrispondenza tra sequenza di DNA e morfologia, possibilmente con documentazione sia al microscopio ottico che elettronico a scansione. Un valore aggiunto è rappresentato dalla possibilità di utilizzo di materiale proveniente dal *locus typicus* di una specie già descritta e ancor più dall'utilizzo del DNA barcoding nella descrizione di nuove specie.

P53 INDUCTION IN SEA BREAM (*SPARUS AURATA*) LIVER FOLLOWING EXPOSURE TO BENZO[A]PYRENE

P. LO CASCIO¹, C. BERTUCCIO², D. PALOMBIERI¹, E.R. LAURIANO¹, S. PERGOLIZZI¹, C. CALABRÒ³, M. CALÒ⁴

¹Dept. Food and Environmental Science "G. Stagno d'Alcontres" of Science FF.MM.NN. Faculty; ²Dept. of Life Science Malpighi; ³Dept. of Animal Biology and Marine Ecology; ⁴Dept. of Veterinary Public Health, of Veterinary Medicine Faculty, University of Messina, Italy

High levels of polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) carcinogens commonly occur in aquatic systems where neoplasms arise in fish and other animals. Enzymes that transform PAHs can act in initiating these diseases and can indicate the contamination of fish by carcinogens and other pollutants. During the metabolic process benzo[a]pyrene (B[a]P) produces reactive oxygen species (ROS) via cytochrome P-4501A1 (CYP1A1). These ROS and metabolites can cause oxidative DNA damage and form adducts with DNA, starting the mutagenic chain of events responsible for tumor initiation. The p53 tumor suppressor is a mutational target of environmental carcinogen anti-PAH. The aim of the present research was to study the p53 that plays an important role in regulation of cellular responses to B[a]P. A total of 40 juvenile sea breams (*Sparus aurata*) were exposed to B[a]P delivered in dimethylsulfoxide (DMSO) at the final concentration of 0.005% at environmental levels (1mg/L and 2mg/L) for 12, 24 and 72 hours. Morphological alterations of the liver tissues of B[a]P-treated fish were observed: a number of cellular alterations including disruption of hepatic cell cords and apoptotic changes such as chromatin condensation and pyknosis. These data confirmed that the morphological changes observed were due to apoptosis. p53-immunopositive of cells in the liver tissues, but not in control, showed in the hepatocyte a marked immunoreactivity at 24 and 72 hrs, instead a slight immunoreactivity at 12 h was observed. These results on p53 have significant implications for monitoring studies of aquatic ecosystems contaminated by PAH.

POTENZIALE CONSORZIO TRA *AGLAOPHENIA OCTODONTA* (CNIDARIA, HYDROZOA), *VIBRIO* SP. AO1, E MICROALGHE

L. STABILI¹⁻², F. BOERO¹, P. ALIFANO¹, A. GABALLO¹, M. TREDICI¹, M. LEZZI¹, G. PIZZOLANTE¹, C. GRAVILI¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.), Università del Salento, Lecce; ²Istituto per l'Ambiente Marino Costiero – U.O.S. di Taranto – CNR, 70400 Taranto

Un gran numero di microrganismi si fissa in modo permanente o temporaneo sulle colonie di idroidi con scheletro esterno chitinoso. Lo studio delle comunità epibiotiche di alcuni idroidi coloniali del Mediterraneo riporta la distribuzione spaziale e temporale di diatomee e batteri in generale. Alcune specie di idroidi coloniali presentano microalghe endosimbionti e recentemente è stata studiata l'associazione tra l'idroide *Aglaophenia octodonta* e il batterio luminoso *Vibrio* sp. AO1. Questa associazione viene ulteriormente studiata nel presente lavoro, estendendo l'analisi anche alle microalghe e al grado di dipendenza reciproca tra batteri luminosi e microalghe associati all'idroide. Mediante esperimenti in microcosmi è stata esaminata la sensibilità all'ampicillina (un antibiotico che agisce contro i batteri, ma non sulle microalghe) di *Vibrio* sp. AO1 in associazione con il suo ospite. Le colonie di *A. octodonta* sono state sottoposte a diverse concentrazioni di ampicillina. Al microscopio ad epifluorescenza si è osservato che la luminescenza dei batteri si riduceva e, con essa, anche quella delle microalghe. Quando ai microcosmi oltre all'ampicillina veniva addizionata acqua ossigenata (0,003%) che stimolava il metabolismo batterico, la luminescenza dei batteri e con essa anche quella delle microalghe si riduceva in minor misura. Si può quindi dedurre che vi è un'interdipendenza tra sopravvivenza del batterio luminoso *Vibrio* sp. AO1 e microalghe in *A. octodonta* e che i tre componenti esaminati costituiscono così un "consorzio" con mutui effetti benefici. Si ipotizza che le microalghe, produttrici di ossigeno, forniscano ai batteri questo elemento indispensabile per il loro metabolismo e l'emissione della luce. L'ipotesi verrà valutata in futuri studi ecologici e molecolari per chiarire ulteriormente il significato dell'associazione idroide-batteri luminosi -microalghe e il ruolo di ciascun componente.

SEX DEVELOPMENT GENES IN *LATIMERIA*

M. FORCONI¹, A. CANAPA¹, M. BARUCCA¹, M.A. BISCOTTI¹, F. BUONOCORE², A.M. FAUSTO², D.M. MAKAPEDUA³, A. PALLAVICINI⁴, M. GERDOL⁴, G. DE MORO⁴, G. SCAPIGLIATI², E. OLMO¹, M. SCHARTL⁵

¹Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy; ²Dipartimento per l'Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Viterbo, Italy; ³Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Sam Ratulangi, Manado, Indonesia; ⁴Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste, Trieste, Italy; ⁵Physiological Chemistry, Biocenter, University of Wuerzburg, Wuerzburg, Germany

In vertebrates many genes affecting sex development have been described so far. Sex development consists of two main processes: sex determination (committed by environmental or genetic factors) and sex differentiation. A complex network of molecular interactions implements these phenomena. During evolution this scenario has been influenced by changes in gene sequence, type and number.

Thirty-three genes involved in sex determination and differentiation, twenty-five male-specific and eight female-specific, were identified and characterized from *Latimeria chalumnae* genome and *Latimeria menadoensis* transcriptome. Since the close evolutionary relationships between the two coelacanths, the integration of the two datasets permitted to obtain a better definition of both gene and transcript structures.

Phylogenetic analyses were performed on genes that, according to literature, play a crucial role in this pathway: *Sox9* (Sry-related box 9) that activates the pathway for the production of the Müllerian Inhibiting substance (AMH) during male sex differentiation; *GSDF* (Gonadal soma derived factor) that is a recently described gene appearing to be critically involved in teleost male development missing in tetrapods so far; *FGF9* (Fibroblast Growth Factor 9), a gene involved in tetrapods male sex development missing in teleost species.

The syntenic conservation previously described in other vertebrates for *DMRT1* (Doublesex and Mab 3-Related Transcription factor 1), a key gene in male sex determination and in testis differentiation, and for *FGF9/16/20* (Fibroblast Growth Factor 9, 16, and 20) was analyzed in *Latimeria*.

Finally the expression values of all the investigated genes were assessed in liver and testis transcriptomes of the adult male specimen of *L. menadoensis*.

In conclusion the findings provide some first insights about components of the sex determination cascade and testis differentiation genes in the coelacanths, living fossils, representatives of basal sarcopterygians.

SEX CHROMOSOMES DIFFERENTIATION AT LOW TEMPERATURE: MICRODISSECTION AND MICROCLONING OF *CHIONODRACO HAMATUS* (TELEOSTEI, NOTOTHENIOIDEI, CHANNICHTHYIDAE) Y CHROMOSOME

T. CAPRIGLIONE¹, E.COCCA², V.CAPUTO³, M.A.MORESCALCHI, E.OLMO¹

¹Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale Università di Napoli "Federico II", 80126 Napoli; ²Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR-Napoli; ³Dipartimento di Biochimica, Biologia e Genetica, 60131 Ancona

The heteromorphic W and Y sex chromosomes of birds and mammals are well characterized gene assemblages carrying genes involved in sex-determination. In contrast, in lower vertebrates sex chromosomes do not seem to be essential to establish sex-determining mechanisms. Actually, fish emerge as excellent models because they exhibit a wide variety of sex determining strategies, with male or female heterogamety and even polyfactorial systems in the same lineage.

Here we studied by microdissection, DOP-PCR amplification and cloning the large Y chromosome of the male of *Chionodraco hamatus*, an Antarctic ice fish, belonging to Notothenioidei, the dominant endemic component of the Southern Ocean fauna.

This specie has evolved a multiple sex chromosome system, with digametic males showing a X1YX2 formula and females a X1X1X2X2 formula.

Using our Y chromosome paint for fluorescent in situ hybridization, we identified the female acrocentric chromosome pair (perhaps X2X2) at the basis of the fusion event that generated the Y.

A number of the clones, recovered by Y chromosome minilibrary, contained microsatellites and transposable elements, some of which mapped in the putative fusion region of the Yq arm. Moreover, one of the clone analyzed provided preliminary information on the presence on the Y of the CHD1 homologue gene, sex-linked in birds but no in other vertebrates. The present data highlight that sex chromosomes of *C.hamatus* are still in an early stage of differentiation, but interspersed repetitive sequences seem to have played a pivotal role in promoting first step chromosome rearrangements and Y chromosome appearance. It is still premature, instead, to assign the presence of DH1 gene, sex chromosome related only in avian, to the SDR of the Y. This identification might be only taken into account as an example of convergent evolution among distant taxa.

DICTYOSTELIUM DISCOIDEUM: UN POSSIBILE MODELLO BIOETICO PER LO STUDIO DEL RUOLO DELLE PROTEINE ACQUAPORINE NEI PROCESSI DI MIGRAZIONE DELLE CELLULE TUMORALI?

A. AMAROLI, L. GALLUS, M. ROSSI, S. FERRANDO, M. G. CHESSA

Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università degli Studi di Genova

Le acquaporine (AQPs) sono una famiglia di proteine canale di membrana presenti nei cinque regni dei viventi.

Dalla prima descrizione delle AQPs, le conoscenze sul significato fisiologico di tali proteine canale nel trasporto transmembrana dell'acqua, sono notevolmente accresciute.

Tra queste, è stato proposto un ruolo importante delle AQPs anche nei processi di crescita e di migrazione cellulare.

Studi recenti hanno evidenziato come diversi tipi di cellule tumorali siano in grado di esprimere le AQPs, ed è stata osservata una correlazione positiva tra il loro livello di espressione e lo stadio istologico del tumore. Inoltre, è stato osservato come l'AQP1 sia espressa a livello della membrana delle cellule endoteliali e come la sua soppressione riduca la crescita tumorale e la migrazione cellulare nella formazione di metastasi. Ad oggi, il meccanismo molecolare responsabile della polarizzazione mediata dall'AQP1 nelle cellule migranti non è noto.

Partendo da tali premesse in questo lavoro abbiamo ricercato la presenza di AQP1 nel protozoo *Dictyostelium discoideum*.

I protozoi sono considerati un test importante per le indagini di laboratorio sia per la loro caratteristica di cellula/organismo che unisce l'affidabilità dei risultati *in vivo* con la praticità di quelli *in vitro*, sia per essere modelli conformi con le strategie 3Rs di bioetica. In particolare, l'ameba *D. discoideum* è un modello da tempo utilizzato per gli studi sui meccanismi funzionali di base delle cellule eucariote quali ad esempio l'osmoregolazione e la migrazione cellulare ed è incluso tra gli 8 saggi biologici alternativi ai modelli di vertebrati, per lo studio delle malattie umane dall'*US National Institute of Health*.

In questo lavoro, l'analisi di immunoblot ha rivelato la presenza di una proteina, di massa molecolare intorno ai 30 kDa, con epitopi riconosciuti dall'anticorpo anti-AQP1 di topo, lo stesso in grado di riconoscere l'AQP1 espressa nelle cellule tumorali.

Inoltre, l'analisi mediante microscopia confocale ha evidenziato la presenza di siti immunoreattivi con l'anticorpo anti-AQP1 di topo, localizzati lungo la membrana cellulare delle amebe.

Ulteriori indagini saranno condotte, tuttavia i nostri risultati e l'affidabilità del modello utilizzato, pongono *D. discoideum* come un possibile saggio biologico per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche contro l'accrescimento e la migrazione delle cellule tumorali durante la formazione di metastasi.

TRIIODO-L-THYRONINE AFFECTS LIPID SECRETION OF RAT HARDERIAN GLAND BY MODULATING THYROID HORMONE RECEPTOR GENE EXPRESSION

A. SANTILLO, L. BURRONE, S. FALVO, G. CHIEFFI BACCARI

Dipartimento di Scienze della Vita, Seconda Università degli Studi di Napoli, Caserta

The Harderian gland (HG) is an orbital gland present in most groups of terrestrial vertebrates. In the rat, this tubule-alveolar gland is well developed and synthesizes lipids and porphyrins. Its activity is influenced by both exogenous (such as light and temperature) and endogenous factors (such as hormones). Although androgens are known to affect HG secretory activity, less is known about the influence of thyroid hormones (TH), in particular triiodothyronine (T3). The growth of the rat HG is ontogenetically correlated to an increase in T4 secretion. The presence of 5'-deiodinase activity, the enzyme that produces T3 via deiodination of T4, in rat HG further suggests that this gland is a target for TH. In this study, we investigate the involvement of T3 in modulating HG secretory activity via thyroid hormone receptors (*trα* and *trβ*). To induce hypothyroidism, rats were injected i.p. with 6-n-propyl-2-thiuracil and iopanoic acid. Furthermore, a group of hypothyroid rats received i.p. injections of T3. Control rats received saline injections. We then investigated: a) *trα* and *trβ* gene expressions by qRT-PCR; b) HG secretory activity by means of histochemical and ultrastructural analyses. We found in euthyroid rat HG a significantly higher *trα* expression than *trβ*. Decrease of both *trα* and *trβ* transcripts was observed in the HG of hypothyroid rats as compared to euthyroid rats. Although a significant increase of both receptors was observed in T3-treated hypothyroid rats, *trβ* showed more strong autoinduction by T3. The most notable histological effects elicited by hypothyroidism were the decrease in cytoplasmic lipoproteic vacuoles and the increase in mucosubstance secretion. Electron microscopy revealed the presence of autophagic vacuoles and lipofuscins in the HG cells of hypothyroid rats. T3 treatment induced hypertrophy of glandular epithelium mainly due to an increase in the size of lipid and mitochondria compartments. In conclusion, these findings indicate that, in rat HG, T3 could regulate lipid secretion by modulating thyroid hormone receptor gene expression.

ANALISI MORFOLOGICA ED ULTRASTRUTTURALE DELLE UOVA IN UNA POPOLAZIONE NAMIBIANA DI *ARIADNA* (ARANEAE: SEGESTRIIDAE)

E. CONTI, G. COSTA, A. MARLETTA, D. VITALE, R. VISCUSO

Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, Sezione di Biologia animale, Università degli Studi di Catania

In differenti pianure ghiaiose del Namib Desert sono state individuate da alcuni di noi, a partire dal 1991 numerose popolazioni di ragni Segestriidi ascrivibili al genere *Ariadna*. Questi animali costruiscono un anello di pietroline attorno all'imboccatura della loro tana individuale. Tutti gli esemplari adulti raccolti nelle tane sono risultati di sesso femminile e ciò ha reso finora difficile delineare lo status tassonomico delle popolazioni rinvenute. Dal 25 al 27 marzo 2012 sono state campionate 30 tane in una pianura ghiaiosa della Namibia nord-occidentale. I ragni prelevati sono stati inseriti in provette cilindriche contenente sabbia prelevata dal luogo di origine. A distanza di 15 giorni è apparso visibile, al fondo di due di queste, un piccolo gruppo di uova, mai ritrovate finora in nessuna delle popolazioni namibiane. Data la carenza di notizie sulla biologia riproduttiva di questi animali si è ritenuto opportuno effettuare un'analisi morfologica ed ultrastrutturale di tali uova.

Le uova appena deposte appaiono di colore chiaro, traslucido e tenute assieme da abbondante materiale biancastro che si riduce via via sin quasi a scomparire del tutto. Ciascun uovo ha forma sferoidale, o leggermente oblunga, con un diametro di circa 1,5 mm. La superficie allo stereomicroscopio non presenta sculture evidenti e, nelle uova deposte da più tempo, in corrispondenza delle zone di adesione tra uova contigue, si riscontra un materiale adesivo ricco in fibre di seta. Le osservazioni condotte al SEM hanno, invece, evidenziato sulla superficie del corion la presenza di numerosissime granulazioni sferoidali lisce, grossolanamente di eguali dimensioni, che ricoprono interamente la superficie coriale e poggiano su di una sottile lamina; quest'ultima sormonta un strato continuo la cui superficie esterna presenta numerosi incavi probabilmente corrispondenti alle impronte dei granuli.

I risultati ottenuti, confrontati con quelli, seppure limitati, relativi alla organizzazione strutturale del corion delle specie di *Ariadna*, consentono di ipotizzare che le caratteristiche prese in considerazione potrebbero dare un contributo significativo inerente la problematica della identificazione delle specie namibiane del genere di cui a tutt'oggi non si ha alcuna certezza.

EFFETTI A BREVE TERMINE DEL FUOCO SULLE COMUNITÀ DI FARFALLE (*LEPIDOPTERA*, *RHOPALOCERA*) NELLA MACCHIA MEDITERRANEA

B. D'ANIELLO, L. MAGLIOZZI, A. SCANDURRA

Dipartimento Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Il fuoco può avere un impatto molto negativo sulle comunità animali, anche se molte specie sono ben adattate a minimizzare i suoi effetti. Le farfalle (*Lepidoptera*, *Rhopalocera*) stanno subendo un rapido declino, pertanto in questo lavoro sono presentati i dati relativi alle risposte al fuoco a breve termine di una comunità di farfalle. Lo studio è stato effettuato nel SIC "Monti di Lauro" (IT8040013) in un ambiente a macchia mediterranea, confrontando i dati ottenuti durante le stagioni di volo 2008 e 2009, dopo un incendio che ha colpito l'area alla fine di Ottobre del 2008. Il metodo di campionamento utilizzato è stato il transetto per una lunghezza di 1Km, effettuato con frequenza settimanale da Marzo ad Ottobre. Gli indicatori utilizzati sono stati: richness, abundance, evenness, dominance e gli indici di Shannon-Wiener e Simpson. I valori medi mensili e annuali di questi indici sono stati confrontati nei due anni mediante il test di Mann-Whitney con il software past. Nei 2 anni di studio sono state catalogate 43 specie e 1824 individui prima dell'incendio e 49 specie con 3479 individui dopo. Sei specie presenti nel 2008 non sono state più rilevate nel 2009, ma nel 2009 sono state rilevate 12 specie non osservate nel 2008. I valori medi annuali tra gli indici di biodiversità non hanno mostrato differenze significative, pertanto si riportano di seguito solo i dati relativi alle medie mensili. La richness è stata maggiore nel 2009 nei mesi di Aprile ($p=0.028$), Agosto ($p=0,042$) e Settembre ($p=0.027$), così come l'abundance (Aprile e Agosto $p=0.030$; Settembre $0,029$). L'evenness è risultata minore nel 2009 nei mesi di Aprile ($p=0,030$), Luglio ($p=0,030$) e Settembre ($p=0,030$). La dominance è stata minore nel 2008 nel mese di Luglio ($p=0,031$). Gli indici di Shannon-Wiener's e di Simpson sono stati maggiori nel 2008 nel mese di Luglio ($p= 0.028$; $p=0,030$). La comunità di farfalle del SIC Monti di Lauro è risultata ricca e diversificata. L'incremento significativo della ricchezza di specie dopo il l'incendio, non depone a favore di un miglioramento ambientale, considerato la diminuzione degli indici di biodiversità e della evenness e l'incremento della dominance. L'incendio non ha alterato il delicato equilibrio biologico di questo habitat in maniera sostanziale, pur determinando un cambiamento nella struttura della comunità di farfalle, ma si notifica la scomparsa di un elemento di pregio: *Melanargia arge*, specie elencata in Allegato II della direttiva 92/43/CEE.

ANURAN POISON GLANDS: PATTERN FORMATION DURING POST-GOLGIAN MATURATION OF SECRETORY GRANULES WITH REPEATING SUBSTRUCTURE

G. DELFINO¹, D. NOSI², F. QUERCIOLI³, F. VANZI¹

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica; ²Dipartimento di Anatomia, Istologia, Medicina Legale, Università degli Studi di Firenze; ³Istituto Nazionale di Ottica, Consiglio Nazionale delle Ricerche

Several anuran species, pertaining to various, even not closely related families, possess serous (poison) cutaneous glands that produce granules provided with a peculiar recurrent substructure. Recurring subunits are either spheroidal or short tubular in shape with a consistent diameter of 40-50 nm, and acquire a gradually thicker arrangement within the syncytial secretory unit, along a periphery-centre gradient. According to the species, this pattern derives from converging post-Golgian (maturational) processes affecting the secretory products: aggregation of minute particles (with size comparable to the subunit diameter), condensation of the structureless content of transparent granules, re-organization of the dense matrix of large, opaque granules. In order to detect early traits of the repeating substructure, we complemented Transmission Electron Microscope (TEM) observations with Fast Fourier Transform (FFT) analysis. Through FFT, we obtained linear, planar and spatial plots that provided a sharp representation of both size and frequency spectra of the recurring granule subunits. FFT results fitted TEM findings and disclosed the recurrent patterning before it could be noticed morphologically. These results, besides extending the use of FFT algorithms to the comparative morphology, provide further data on the flexible, adaptive value of the repeating substructure of poison granules, which decreed their widespread occurrence among anurans. Single subunits are released by exocytosis when the active secretory molecules act in small amount as regulatory signals in the cutaneous microenvironment. Conversely, whole granules are expelled through bulk (holocrine) discharge when these molecules act massively in chemical skin defence.

BEHAVIORAL EFFECTS OF CLINICAL DOSES OF THE GENERAL ANESTHETIC ISOFLURANE ON *OCTOPUS VULGARIS*

G. POLESE, F. P. ULLOA SEVERINO, W. WINLOW, A. DI COSMO

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli Federico II

Anesthesia of cephalopods is more in discussion than ever before due to the work in progress for their welfare legislation. Different approaches to anesthesia in cephalopods have been tried by a number of scientists, but in most cases the animals were not truly anesthetized. For example, several workers have simply used muscle relaxants or simple hypothermia under the name “anesthesia”. This approach will not be adequate in the future. Inhalational anesthetics such as isoflurane (CF₂HOCClHCF₃) reduce L-type calcium currents and potassium currents in a dose-dependent manner in the pulmonate mollusk *Lymnaea stagnalis* and there is evidence from cell culture that such anesthetics also block excitatory chemical synapses, more effectively than inhibitory synapses. Here we report, for the first time, on the effects of clinical doses of the inhalational anesthetic isoflurane on the behavioral responses of *Octopus vulgaris*.

The volatile anesthetic isoflurane (0.5-2.5% v/v) was equilibrated into seawater (1600 ml) via an air stone to adult *Octopus vulgaris* (n=8) of about 400 g. Using a web camera we recorded the animals response to a touch stimuli eliciting withdrawal responses of the arms and siphon and observed changes in the respiratory rate and the chromatophore pattern over time during the anesthetic application. We found that different animals of the same size respond showing with similar behavioral changes as the isoflurane concentration was gradually increased. Sudden application of the highest concentration of isoflurane can be lethal to the animal (n=1). After application of 2.5% isoflurane (for a maximum of 5 minutes), when all the responses indicated deep anesthesia, the animals recovered rapidly (within 10-15 minutes) in fresh aerated sea water.

Gray (1970) proposed that the vertical lobe of *Octopus vulgaris* has integrative functions and receives two input fibers one of which comes from lower subvertical centers and is thought to mediate “pain”. The suggestion that the subvertical lobe is involved in pain is supported by our finding of the expression of estradiol receptors in the subvertical lobe allied to recent studies that demonstrate that estradiol can modulate the anesthetic actions.

STATO DELLE CONOSCENZE DELLA CHIROTTEROFAUNA IN TOSCANA E CARATTERIZZAZIONE AMBIENTALE DEI RIFUGI DIURNI DI *RHINOLOPHUS HIPPOSIDEROS*

L. DUCCI¹, P. AGNELLI², C. GUAITA², G. MALTAGLIATI¹, G. SANTINI¹

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze; ²MSN, Museo di Storia Naturale, Sezione di Zoologia "La Specola", Università degli Studi di Firenze

L'obiettivo dello studio è stato quello di raccogliere e standardizzare tutti i dati di presenza di Chirotteri in Toscana dal 1980 (criterio Re.Na.To.) al 2011 e selezionare quelli relativi a una specie campione e metterli in relazione con le tipologie ambientali presenti.

Le fonti di raccolta dei dati sono state molteplici: bibliografiche; museali; dati inediti da lavori sul campo realizzati dal Museo e commissionati da alcune Province, dalla Regione Toscana (progetto Re.Na.To), da Parchi e Aree Protette, o derivanti da indagini faunistiche per la realizzazione di impianti eolici. In questo modo sono state sinora raccolte 1694 segnalazioni relative a 24 specie di chirotteri. Interessante evidenziare come i dati più numerosi provengano da lavori sul campo a loro specificatamente dedicati, principalmente svolti nelle provincie di Arezzo, Firenze, Pisa e Prato.

Tutti i dati raccolti sono stati georeferenziati e organizzati in un database in cui oltre a specie, data, località e origine del dato (museale, lavoro sul campo, bibliografico), sono stati inseriti quota, numero di esemplari e tipo di segnalazione (osservazione diretta, rilievo bioacustico) ed eventuale tipologia di rifugio. L'ulteriore incremento del database, attualmente in corso, permetterà di realizzare un Atlante toscano di distribuzione dei chirotteri per una loro miglior caratterizzazione ecologica e gestione del territorio a fini conservazionistici.

In base al congruo numero di segnalazioni disponibili e alla bassa vagilità della specie, è stato individuato il Ferro di cavallo minore (*Rhinolophus hipposideros*) come specie-studio per un'analisi delle preferenze ambientali tramite l'esame dell'uso del suolo attorno ai suoi rifugi diurni. Sono così stati selezionati 103 record relativi alla presenza della specie in rifugi non di svernamento e senza considerare eventuali ripetizioni temporali. L'area buffer attorno ai rifugi è stata scelta con un raggio di 1 km, considerando la distanza tra rifugio e area di foraggiamento percorsa ogni notte dagli individui di questa specie, secondo quanto indicato in letteratura.

Utilizzando un programma di elaborazione GIS (Arcview 3.2), sono state esaminate le tipologie ambientali (uso del suolo Corine 2006) presenti all'interno delle aree buffer selezionate, al fine di caratterizzare la composizione dell'uso del suolo preferita dalla specie.

ENVIRONMENTAL STRESS AND ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) EARLY DEVELOPMENT: MOLECULAR RESPONSE AT TRANSCRIPTIONAL LEVEL

M.G. ESPOSITO, F. TRINCHELLA, M. LANCIERI, R. SCUDIERO

Dipartimento delle Scienze Biologiche, Università degli Studi Federico II

Aquatic organisms such as fish are often exposed to a great numbers of stressors that are either natural or anthropogenically introduced into the environment. In the present study, temperature, a potent physical stressor, and cadmium, a highly toxic chemical stressor, were used to determine their effects on the early development of zebrafish (*Danio rerio*). The early life-stage test using zebrafish embryos is currently one of the most widely used tools in environmental science research, especially for investigating the toxicity and teratogenicity of chemicals that could significantly affect environmental health. Furthermore, these ecotoxicological tests are also important for developmental biology investigations: since gene programming and development in the early life stages of all vertebrates are highly conserved, studies with these “simple” model species could be representative for “higher” and more-complex animals.

Experimentally, zebrafish embryos were collected after eggs deposition at around 2–4 hours post-fertilization (hpf, blastula stage) and for each control pool a stressed one was exposed to a sublethal 100 μM CdCl_2 solution or to a non-physiological temperature of 10°C. After 4h treatment, embryos at 8 hpf (gastrula stage) were analyzed at morphological and molecular levels. No macroscopic alterations were observed between control and stressed embryos concerning cadmium exposure, while the drop in temperature caused a reversible developmental arrest which was rescued when the embryos came back at 28°C. Transcriptional response of early zebrafish embryos exposed to chemical and physical stress was achieved by a high-throughput screening of differentially expressed genes between the two samples populations (control/stressed) with *Differential Display* analysis of embryonic RNAs. This analysis led to the identification of several up-regulated transcripts in cadmium stress condition and down regulated ones at low temperature: the former code for cellular functions mainly implied in fatty acid metabolism and cellular proliferation; the latter especially concern cellular interactions and energetic metabolism. Thus this study shows that the teratogenic effects of cadmium and cold temperature influence zebrafish early development mainly at molecular level, modulating the expression of genes which can act directly (regulatory genes) or indirectly (triggering signal transduction systems) affecting this finely regulated process.

NMDA RECEPTOR GENE EXPRESSION IN RAT TESTIS AND ITS INDUCTION BY D-ASPARTATE

L. BURRONE, A. SANTILLO, S. FALVO, G. CHIEFFI BACCARI, M. M. DI FIORE

Dipartimento di Scienze della Vita, Seconda Università degli Studi di Napoli, Caserta

NMDA Receptors (NMDARs) are membrane-bound ionotropic glutamate receptors that function as ligand-gated, non-selective cation channels. NMDARs are assembled as heterologous tetramers, composed of the obligatory NR1 subunit and modulatory NR2 subunits (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D), each encoded by a separate gene. Numerous reports indicate that NMDAR have an affinity for L-Glutamate as well as D-Aspartate. D-Aspartate is an amino acid endogenously present in the rat testis where it is involved in the synthesis and/or release of testosterone. In this study, we firstly investigated the expression of NMDAR subunits in rat testis by qRT-PCR. Then, we studied the effects of D-Asp administration to adult rat on NMDAR gene expression. Further, since NMDAR activation induces phosphorylation of Extracellular signal-Regulated Kinase (ERK), we investigated whether D-Asp could affect activity ERK. ERK belongs to the MAP kinases comprising a family of serine/threonine kinases that occupy a focal point in signal transduction, mainly by activating gene transcription via translocation into the nucleus.

We found that rat testis expressed NR1, NR2A, NR2B, NR2D with higher mRNA levels of NR2A and NR2D; NR2B transcripts were proxime to 0 and NR2C subunit was undetectable. Following D-Aspartate administration NR1 and NR2A gene expressions increased about 2-folds whereas NR2B and NR2D didn't show any variation. The immunohistochemical analysis showed that NR1 was prevalently localized in the spermatogonia. Finally, D-Asp treatment induced the activation of ERK pathway.

In conclusion, these findings indicate that D-Aspartate could activate the spermatogenesis in the rat through NMDAR-mediated ERK pathway.

ULTRASTRUCTURE OF THE SALIVARY GLANDS OF NON-INFECTED AND INFECTED GLANDS IN *GLOSSINA PALLIDIPES* BY THE SALIVARY GLANDS HYPERTROPHY VIRUS

L. GUERRA¹, J.G. STOFFOLANO JR², G. GAMBELLINI¹, V.LAGHEZZA MASI¹, M.C. BELARDINELLI¹, A.M. FAUSTO¹

¹*Dipartimento per le Innovazioni dei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Largo dell'Università, 01100 Viterbo, Italy;* ²*Department of Plant, Soil and Insect Sciences, Division of Entomology, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA*

Tsetse flies (Diptera: Glossinidae) are important disease vectors transmitting pathogenic trypanosome parasites. Many species of these insects are infected with a virus that causes salivary gland hypertrophy (SGH). This study described the overall structure of both non-infected and infected salivary glands in *Glossina pallidipes*, their morphological and ultrastructural differences, to highlight potential viral effects on the glands' physiology, in order to shed light on the mode of action of SGH virus. The aim of this research was to better understand how to best manage this virus, to explore alternative ways to eliminate it from the colonies being maintained for sterile insect control using massive release programs.

For our observations we received pupae of *G.pallidipes* from a laboratory colony maintained in the Insect Pest Control Laboratory of the International Atomic Energy Agency (IAEA) and the adults were dissected taking samples of infected and uninfected salivary glands. These samples were processed for light, scanning electron, and transmission electron microscopy analyses.

Three distinct regions, each with a characteristic composition and organization of tissues and cells, were identified in the normal uninfected salivary glands of *G. pallidipes*: secretory, reabsorptive and proximal. When infected with the salivary gland hypertrophy (SGH) virus, the whole glands showed a severe hypertrophy, accompanied by profound changes in their morphology and ultrastructure. In addition, the muscular fibers surrounding the secretory region of the glands were disrupted.

Based on the results obtained in this study, we hypothesized that the morphological and the ultrastructural alterations of the whole salivary glands, which are viral-induced could be related to an overall alteration of gland function. In addition, the SGH virus could affect the normal ability of viral infected tsetse flies to transmit trypanosomes.

This study was financed by the research project contract with the International Atomic Energy Agency (IAEA).

Poster n. 47

IMMUNOREATTIVITÀ G-ALFA-I SIMILE NEI BOTTONI GUSTATIVI DELL'OLOCEFALO *CHIMAERA MONSTROSA*

S. FERRANDO, L. GALLUS, C. GAMBARDELLA, A. AMAROLI, F. BIGGI, E. CANTAMESSA, M.A. MASINI

DISTAV – Università di Genova, Viale Benedetto XV, 5 -16132 Genova
email: sara131274@gmail.com

Lo studio dell'olfatto nella classe dei condroitti ha recentemente rivelato interessanti particolarità rispetto a tutti gli altri vertebrati e sollevato molte domande. Il gusto invece è stato poco studiato e relativamente poche informazioni sono presenti per la sola sottoclasse degli elasmobranchi dove talvolta sono stati descritti bottoni gustativi mentre in alcune specie questi sembrano pressoché assenti. Nessuna informazione è disponibile per la sottoclasse degli olocefali. Scopo di questo lavoro è stato indagare l'istologia della lingua dell'olocefalo *Chimaera monstrosa*, per verificare la presenza di eventuali bottoni gustativi in questa specie. Oltre al riconoscimento dei bottoni gustativi su base morfologica, è stata considerata l'immunoreattività per la proteina G-alfa-i. Tale marcatore è stato scelto sia perché la sua presenza nei bottoni gustativi sembra essere diffusa in diverse classi di vertebrati (e.g. pesci ossei e mammiferi), sia perché la sequenza della proteina stessa è particolarmente conservata nelle diverse specie. Per aumentare il grado di confidenza nel funzionamento dell'anticorpo commerciale anti G-alfa-i di ratto in un olocefalo, un'indagine in silico è stata condotta sull'unico genoma di olocefalo sequenziato ad oggi, quello di *Callorhinchus milii*. Bottoni gustativi sono stati osservati nell'epitelio di rivestimento della lingua di *C. monstrosa*, con immunoreattività per G-alfa-i nelle cellule allungate. La ricerca nel genoma di *C. milii* ha mostrato la presenza di tre ipotetiche proteine della famiglia G-alfa-i e la conservazione della loro sequenza nella zona riconosciuta dall'anticorpo. I bottoni gustativi sono quindi presenti in *C. monstrosa* e la G-alfa-i può essere considerata un loro marcatore anche in questa specie. Da letteratura, nel genoma dell'olocefalo *C. milii*, sono stati identificati alcuni geni di una sola delle due famiglie di GPCR per il gusto, la T1R. Possiamo quindi ritenere che, anche negli olocefali, questi recettori siano accoppiati con proteine G di tipo inibitorio come osservato nei mammiferi.

THE PRESENCE OF HEMOCYANIN IN PLECOPTERA: RECOMPOSING A PUZZLE

R. FOCHETTI, V. AMORE, B. GAETANI

Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Viterbo

The recent discovery of hemocyanin in many insect orders raises doubts about the common assumption that the tracheal system is sufficient for insects respiration, and thus respiratory proteins are not necessary. Based on a first report of hemocyanin in the perlid stonefly *Perla marginata* (Hagner-Holler et al. 2004), our research has been aimed at better understanding the presence, functional significance, and role of this protein in the Plecoptera (Fochetti et al. 2006; Amore et al. 2009; Amore and Fochetti 2009; Amore et al., 2010; 2011). So far we have investigated 33 species belonging to the seven European families, to Oriental Perlidae and Peltoperlidae, to African Notonemouridae. We analyzed nymphs and adults of the target species, from various river typologies (perennial temperate, Mediterranean temporary, tropical, high elevation). Our data clearly show that mRNA hemocyanin sequences are not present in all Plecoptera and hemocyanin does not seem to be uniformly distributed within the order. All species possess hexamerins (hx), multifunction proteins that probably originated from hemocyanin. We hypothesized that the presence of hemocyanin could depend on the length of the life cycle (hence on the body size), the trophic role or environmental induction. None of these hypotheses proved to be fully convincing and the specific role of hemocyanin in Plecoptera is still not completely understood. However, using liquid chromatography tandem mass spectrometry we proved that, regardless of its putative function (respiratory, immune defense, storage protein), hemocyanin is actually expressed in species in which its mRNA is present.

The hemocyanin expression pattern we have so far obtained for the entire Plecoptera order could also be explained by other functions besides respiration. The phylogenetic pattern obtained using hemocyanin sequences matches the accepted scheme of traditional phylogeny based on morphology, anatomy and biology: it seems that the hemocyanin conserved region acts like a phylogenetic molecular marker within Plecoptera.

COLLEZIONI MUSEALI E BIOGEOGRAFIA MOLECOLARE DEL FRANCOLINO NERO (*FRANCOLINUS FRANCOLINUS*, PHASIANIDAE)

G. FORCINA, M. GUERRINI, F. BARBANERA

Dipartimento di Biologia, Unità di Protistologia - Zoologia, Via A. Volta 4, I-56126 Pisa

Sebbene si tratti di un taxon di indubbio interesse evolucionistico e conservazionistico, il francolino nero (*Francolinus francolinus*) è una specie ancora assai scarsamente studiata. La notevole estensione sia longitudinale che latitudinale dell'areale della specie, che include per lo più regioni remote e socio-politicamente instabili (Cipro, Medio Oriente, Mar Caspio, Asia centrale ed orientale fino al Golfo del Bengala), complica notevolmente l'investigazione della specie nell'intero *range* di distribuzione. Per ovviare a queste difficoltà, numerosi reperti di francolino nero (*toe pads*) sono stati prelevati da esemplari in collezioni ornitologiche museali (1860 - 1920) in Europa e Stati Uniti d'America. Tali campioni sono stati adoperati unitamente a numerosi altri di tipo moderno (penne raccolte tra il 2007 e il 2010) nello svolgimento di indagini genetiche mirate a delineare il *pattern* biogeografico della specie, rivisitando tramite un approccio bio-molecolare una tassonomia intra-specifica stabilita esclusivamente su base morfologica. Per l'intero set di campioni (n = 220) è stato amplificato e sequenziato un frammento della Regione di Controllo del DNA mitocondriale (150 pb). L'estrazione del DNA dai campioni museali e le successive analisi sono state condotte in un laboratorio per DNA antico recentemente allestito a Pisa. I risultati dello studio hanno evidenziato una marcata struttura genetica intra-specifica, largamente ma non interamente concordante con la tradizionale classificazione morfologica delle sottospecie. Sono stati inoltre determinati sia l'origine geografica (sub-continente indiano) che la direzione (da oriente ad occidente) della radiazione adattativa della specie. Questo lavoro rappresenta un importante contributo alla conoscenza della biogeografia del francolino nero e conferma l'inestimabile valore delle collezioni museali quale fonte di materiale biologico per lo studio dell'evoluzione di taxa difficilmente campionabili.

ESPOSIZIONE DI ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) A DOSI SUBLETALI DI UREA ED ANALISI ISTOPATOLOGICA DEGLI EFFETTI A LIVELLO DELL'EPITELIO OLFATTIVO

S. BETTINI¹, S. FERRANDO², M. LAZZARI¹, V. FRANCESCHINI¹

¹*Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università degli studi di Bologna;*

²*Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università degli studi di Genova*

È stato ormai dimostrato che pazienti affetti da gravi disfunzioni renali manifestano una ridotta percezione olfattiva, di cui l'uremia potrebbe essere la causa. Tuttavia, pur ipotizzando che l'accumulo di tossine uremiche possa promuovere una lesione del sistema olfattivo, non sono stati finora effettuati studi mirati per determinare i meccanismi di questa iposmia indotta. In questo studio, pertanto, abbiamo voluto valutare la potenziale citotossicità dell'urea dopo esposizione diretta dell'epitelio olfattivo. Il modello animale prescelto è lo zebrafish, sovente impiegato in studi di tossicità e di cui sono note le caratteristiche dell'organo olfattivo. Abbiamo trattato i pesci con dosi subletali di urea di poco inferiori a valori di LC50 noti: 7, 13,5 e 20 g/L per 48 e 96 ore. Abbiamo poi prelevato i tessuti di interesse e li abbiamo processati per gli esami istologico ed immunoistochimico. La colorazione con Ematossilina ed Eosina ha permesso una valutazione morfologica generale della rosetta olfattiva. Successivamente è stata effettuata una marcatura con anti-PCNA, per quantificare il tasso di proliferazione basale, e con opportuni anticorpi diretti contro marcatori specifici per le tre diverse popolazioni di neuroni olfattivi: G_α Olf, localizzato prevalentemente sui bottoni apicali dei dendriti delle cellule cigliate; calretinina, Ca²⁺ binding protein tipica dei neuroni microvillari; S100, in grado di evidenziare le cellule a cripta. Con il software ImageJ sono state effettuate misure morfometriche, conteggi di cellule e calcoli di densità ottica. Lo spessore medio delle lamelle rimane statisticamente costante in tutti i campioni, così come la densità delle cellule in divisione nello strato germinativo, sia nella porzione sensoriale sia in quella non sensoriale. L'analisi densitometrica non ha evidenziato differenze significative tra controlli e trattati per nessuno dei 3 markers impiegati. Possiamo concludere che l'urea, nel breve periodo, non sembra alterare l'istologia dell'epitelio olfattivo di zebrafish adulti, anche a concentrazioni prossime a valori letali.

ACQUAPORINE NELLA CIPRIS DI *BALANUS AMPHITRITE* (*AMPHIBALANUS AMPHITRITE*) (CIRRIPEDIA, CRUSTACEA): LOCALIZZAZIONE IMMUNOISTOCHEMICA

L. GALLUS¹, S. FERRANDO¹, C. GAMBARDELLA¹, A. AMAROLI¹, M. FAIMALI², V. PIAZZA², M.A. MASINI¹

¹DiSTAV University of Genoa, Corso Europa 26, I-16132, Genova, Italy. ²ISMAR, CNR, Via De Marini 6, I-16149 Genova, Italy

Il *Balanus amphitrite* è un crostaceo marino sessile da adulto, uno dei maggiori componenti del biofouling. Il suo stadio larvale finale, la cipris, è specializzato per l'insediamento su superfici sommerse, naturali o artificiali. I danni correlati alla presenza dei balani su strutture artificiali quali carene di navi o condotte di raffreddamento determinano ingenti perdite economiche, giustificando le estese ricerche sulla loro biologia volte al miglioramento delle tecnologie antifouling. In questo lavoro si è studiata immunoistochimicamente la distribuzione di alcune acquaporine e acquagliceroporine (AQP) in cipris di *B. amphitrite*. Sezioni istologiche di cipris (da colture di laboratorio secondo il metodo di Rittschof), sono state trattate immunoistochimicamente con anticorpi (Abs) I anti acquaporine AQP1, AQP2, AQP4 (in rabbit, Sigma, USA) e anti acquagliceroporine AQP3 (in rabbit, Sigma, USA) e AQP9 (in mouse, Santa Cruz Biotechnology, USA) (tutti diluiti 1:400) (eseguendo i relativi controlli), con Abs II fluorescenti, contrastate con DAPI e osservate in epifluorescenza. Alcune sezioni sono state contrastate con Ematossilina ed Eosina. Positività per AQP3 è risultata chiaramente osservabile nell'interfaccia fra cellule epiteliali e cuticola a livello della rima del carapace bivalente, prevalentemente nella porzione anteriore e posteriore, e a livello dei primi due segmenti distali delle antennule.

Positività per AQP3 è stata inoltre individuata nella ghiandola del cemento, a livello delle cellule del dotto collettore mediano della ghiandola stessa. Debole positività è apparsa anche in alcune cellule nella mucosa intestinale di alcuni individui. Tutte le restanti AQPs non hanno dato segnali positivi. Immunopositività per AQP3 sui bordi della cuticola indica una possibile attività di scambio di acqua/glicerolo tra mantello ed esterno. Molecole AQP simili, nella ghiandola del cemento, potrebbero essere implicate nell'idratazione/disidratazione del cemento stesso. Le cellule positive nella mucosa intestinale sarebbero correlabili a funzioni di assorbimento proprie dell'apparato.

CARABUS LEFEBVRE DEJEAN, 1826 (COLEOPTERA, CARABIDAE) COME INDICATORE DI CONTAMINAZIONE DA METALLI PESANTI

A. GIGLIO¹, P. BRANDMAYR¹, P.G. GIULIANINI², F. IETTO³, E. PERROTTA¹, A. SCHIAFONE¹, A. TAGARELLI⁴, F.F. TALARICO¹

¹Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria; ²Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste; ³Dipartimento di Scienze della Terra, Università della Calabria; ⁴Dipartimento di Chimica, Università della Calabria

L'uso dei carabidi come biondicatori nella valutazione della contaminazione da metalli in un ecosistema richiede un'attenta valutazione dei meccanismi specifici di detossificazione e del grado di esposizione dei diversi stadi di sviluppo per valutare la valenza ecologica della specie modello. In questo studio, per valutare l'accumulo di metalli pesanti, su macroinvertebrati del suolo in un ecosistema forestale, abbiamo scelto come modello *C. lefebvrei*. Questo carabo brachittero è un predatore di chioccioline, che ricerca nella lettiera o su tronchi e ceppi marcescenti, quindi è esposto a contaminanti sia mediante l'alimentazione che attraverso il contatto diretto con il suolo. Per valutare se sia un buon indicatore del grado di contaminazione ambientale da metalli pesanti, abbiamo: 1) misurato, mediante analisi ICP/MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry) previa mineralizzazione mediata da microonde, il grado di bioaccumulo in individui adulti provenienti da una foresta a valle di una discarica il cui suolo, dopo analisi, risulta contaminato da As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, St; 2) condotto allevamenti in condizioni controllate, su suolo contaminato e suolo di controllo, per valutare gli effetti sulla mortalità e sulla durata del ciclo biologico; 3) analizzato, mediante microscopia elettronica a trasmissione, il grado di immobilizzazione ed eliminazione dei metalli attraverso l'analisi ultrastrutturale dei tubuli malpighiani di esemplari adulti.

Dai risultati si evince che: 1) c'è un accumulo di As, B, Hg e Mo; 2) la contaminazione da metalli del suolo non influenza in modo significativo la percentuale di sopravvivenza ai diversi stadi e la durata dello sviluppo; 3) gli organismi adulti attuano la rimozione ed eliminazione di metalli mediante l'azione escrettrice dei tubuli malpighiani.

In conclusione, *C. lefebvrei* è un buon candidato come indicatore per il suo ruolo di predatore specializzato, per la facile reperibilità e la semplicità di allevamento in laboratorio. Inoltre, è resistente all'esposizione ad alte concentrazioni di inquinanti nelle diverse fasi dello sviluppo poiché attua meccanismi di rimozione mediante escrezione negli adulti e, come documentato in letteratura, accumulando i metalli nella cuticola larvale prima della muta. Infine, la dieta elicofaga determina un effetto di biomagnificazione dei metalli durante il trasferimento lungo la catena alimentare che permette di rilevare anche tracce di contaminanti.

CHARACTERISATION OF SEX CHROMOSOMES IN *ANOLIS SAGREI* AND THEIR RELATIONSHIPS WITH THE *ANOLIS CAROLINENSIS* GENOME AS REVEALED BY CROSS-SPECIES CHROMOSOME PAINTING (REPTILIA, IGUANIDAE)

M. GIOVANNOTTI¹, V. A. TRIFONOV², P. C.M. O'BRIEN³, P. NISI CERIONI¹, A. SPLENDIANI¹, E. OLMO¹, M. A. FERGUSON-SMITH³, W. RENS³, V. CAPUTO¹

¹*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy;* ²*Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia;* ³*Cambridge Resource Centre for Comparative Genomics, Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom*

In Iguania, both temperature-dependant sex determination and genetic sex determination (GSD), with an XY system, have been reported (Organ & Janes, 2008. *Integr. Comp. Biol.*, 48:212-519), and species with XY sex chromosome systems, including multiple X and Y chromosomes, are present among anoles [Gorman, 1973. In *Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution*, Ch. 12: 349–424 (Academic Press)]. *Anolis carolinensis* is known to be a GSD species, and the occurrence of an XY system in this species has recently been hypothesized (Alföldi et al., 2011. *Nature* 477:587–591). For *A. sagrei* sex chromosomes, contradictory data are reported in the literature. Gorman (1973) reported a diploid number of 28 with no obvious heteromorphism for this species, while De Smet (1981. *Acta Zool. Pathol. Ant.*, 76: 35 – 72) indicated $2n = 29$ in males, with an X1X2Y system. The aim of the present work was to determine if a sex chromosome system occurs in this species and compare the diploid complement of *A. sagrei* (ASA) with that of *A. carolinensis* (ACA) using cross-species chromosome painting. Fibroblast cultures from both ASA and ACA were established. The karyotype analysis of ASA males and females revealed a heteromorphism in ASA7 in males but not in females, and $2n = 28$ in both sexes, suggesting the presence of a previously unrecognised XY system in ASA. ACA chromosomes were flow sorted and the resulting painting probes were hybridised onto ASA metaphases. FISH results showed that ASA XX/XY evolved from an autosomal pair corresponding to an ACA9/ACA12-13 translocation, with a subsequent significant heterochromatization of ASAY. In conclusion, the results demonstrate that the proposed ASA XY system is different from ACA, but the sex determining gene has yet to be determined in both species.

MISSING SPECIES AMONG MEDITERRANEAN HYDROZOANS

C. GRAVILI¹, C.G. DI CAMILLO², S. PIRAINO¹, F. BOERO^{1,3}

¹*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.), Università del Salento, Lecce;* ²*Dipartimento di Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche, Ancona;* ³*CNR-ISMAR, Genova*

The Hydrozoa of the Mediterranean Sea (with special reference to the Central and Western basins) are particularly well known due to the intense research that led to the compilation of a recent monograph (Boero et al., 2004) followed by a world assessment of hydrozoan diversity (Bouillon et al., 2006). The number of species is continuously updated and the Mediterranean Hydrozoan fauna is surely one of the best known in the world, comprising 398 species (taxon Siphonophora excluded) that are continuously increasing. Many new records are labelled as NIS (Non Indigenous Species), i.e. species that were previously described elsewhere and that are reaching the basin either with own means expanding their natural range, or whose arrival was caused by human activities (shipping, aquaculture, and other ways). However, many species reported in the past are not recorded in recent times. A reliable evaluation of species pools can be accomplished by adding new species as soon as they are recorded from the considered area, and by subtracting species that were in the pool and that have not been recorded from the same area since a “reasonable” time (e.g. several decades). This is possible by analyzing the records of each species, reconstructing the history of its findings: the longer a species is unrecorded, the higher the probability that a case of putative extinction can be raised. The records of 398 species of Mediterranean non-siphonophoran hydrozoans reported in the taxonomic literature show that 65 species are not recorded since 41 years, 13 are unrecorded since 40-31 years, 79 since 30-21 years, 85 since 20-11 years, and only 156 (i.e., about 39% of the known Mediterranean species) have been recorded in the last 10 years. Therefore, fluctuations in species composition into a certain area cause heavy variability in the expression of both structural and functional biodiversity. As a consequence, the biodiversity of any region should be analyzed through its temporal evolution, to point out the changes and their probable causes.

LA FAUNA A DIPTOMIDI DI ISRAELE

F. MARRONE, M. ARCULEO, S. LO BRUTTO

Dipartimento Biologia ambientale e Biodiversità, Università degli Studi di Palermo

La fauna a copepodi delle acque interne dei paesi del Mediterraneo orientale è ad oggi poco conosciuta e i resoconti faunistici oggi disponibili sono basati su lavori non organici e talvolta sprovvisti di un adeguato supporto iconografico. La scarsità di dati affidabili costituisce un ostacolo significativo alla interpretazione dei pattern di distribuzione e della storia biogeografica di numerosi taxa di crostacei delle acque interne del Palearctico occidentale.

Le conoscenze attualmente disponibili sui diaptomidi di Israele, uno dei gruppi di entomotracci di maggiore interesse dal punto di vista biogeografico, elencano per il paese tre entità di rango specifico più alcune "forme" e sottospecie dal dubbio significato sistematico.

Lo studio di 21 campioni di copepodi raccolti in Israele negli anni compresi tra 2003 e 2011 ha portato al rinvenimento di quattro specie appartenenti alle sottofamiglie Diaptominae e Paradiaptominae, una delle quali nuova per Israele e per l'intera area circum-Mediterranea. Lo studio morfologico e molecolare dei campioni rinvenuti ha consentito di aggiornare la checklist regionale e di analizzare criticamente il valore sistematico di alcuni taxa di rango sottospecifico proposti in passato per *Hemidiaptomus gurneyi* ed *Arctodiaptomus similis*.

In particolare, la presunta sottospecie *H. gurneyi canaanita*, pur essendo morfologicamente identica alla popolazione topotipica di *H. gurneyi* s.s., si differenzia da questa e dalle altre popolazioni del Mediterraneo centrale sulla base del suo profilo mitocondriale.

Le popolazioni di *Arctodiaptomus similis* delle alture del Golan, già indicate come una forma o una sottospecie differente da quella nominale da parte di Kiefer (1974, 1978) e di Dimentman & Por (1985), si mostrano ben caratterizzate rispetto a quelle della Giudea e della Samaria da un punto di vista morfologico, sia per quanto riguarda la chetotassi antennulare che per quanto riguarda la morfologia e lo sviluppo delle apofisi della antennula genicolata del maschio.

Uno studio molecolare che includa sia il DNA mitocondriale che quello nucleare è attualmente in corso per verificare l'accordo tra la differenziazione molecolare e quella morfologica nelle popolazioni di questo interessante diaptomide.

I TYLOS DI SICILIA, ISOLE CIRCUMSICILIANE E ARCIPELAGO MALTESE: DISTRIBUZIONE, PREFERENZE DI HABITAT E DIFFERENZIAMENTO (CRUSTACEA, ISOPODA, ONISCIDEA)

G. MONTESANTO¹, A. DEIDUN², A. COSTA¹, B. M. LOMBARDO¹

¹Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, Università degli Studi di Catania, ²IOI-MOC, University of Malta
email: g.montesanto@unict.it,

Il genere *Tylos* Audouin, 1826 è presente lungo le coste sabbiose del Mediterraneo con due specie: *T. ponticus* Grebnicki, 1874 e *T. europaeus* Arcangeli, 1938. Non è possibile definire per quest'area la loro esatta localizzazione, poiché in passato entrambe sono state spesso segnalate come sottospecie di *T. latreillei* o, in altri casi, come *T. latreillei sensu latu*.

Gli obiettivi di questa ricerca sono: chiarire la distribuzione delle due specie sulle coste della Sicilia, delle isole circumsiciliane e dell'arcipelago maltese; verificare se le due specie mostrano preferenze di habitat, rispetto alla dimensione media dei granuli di sabbia; identificare i livelli di differenziamento intraspecifico ed interspecifico, attraverso indagini morfologiche (appendici del pereon e del pleon) e molecolari (gene mitocondriale *cox1*).

Il materiale utilizzato per le analisi è stato ottenuto da campionamenti a vista e con trappole a crociera (*pitfall traps constellation*) e da esemplari conservati in collezione 'Caruso'.

I risultati ottenuti consentono di fornire la distribuzione dei due *taxa* sui territori presi in esame e di affermare che in generale le popolazioni di *T. europaeus* mostrano preferenze per le spiagge a sabbia fine, mentre quelle di *T. ponticus* riescono a tollerare un *range* più ampio di granulometria. Le due specie sembrano avere nicchie solo parzialmente differenziate, almeno per quanto riguarda la preferenza delle dimensioni dei granuli di sabbia.

Per quanto riguarda l'analisi dei livelli di differenziamento intra ed interspecifico è stata messa a confronto la morfologia del 1° paio di pereopodi, degli apici dei filacomeri, dei margini dei tergiti del 1° pereonite e gli apici degli endopoditi del 1° paio di pleopodi di diverse popolazioni delle due specie; sono stati inoltre ottenuti dati preliminari sulle sequenze del gene per la *cox1*, in previsione della costruzione di *library* per il DNA *Barcoding*.

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR ANALYSIS OF LARVAE OF *CIONA INTESTINALIS* BELONGING TO TYPE A AND B

R. PENNATI¹, C. GISSI¹, F. CAICCI², J. BISHOP³, A. SATO⁴, F. DE BERNARDI¹, F. GRIGGIO¹, L. MANNI²

¹*Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano;* ²*Dipartimento di Biologia, Università di Padova;* ³*Marine Biological Association of the UK Plymouth (UK);* ⁴*Department of Zoology, University of Oxford (UK)*

Ciona intestinalis (Tunicata, Ascidiacea) is a widely distributed species used as model organism by developmental biologists and also an important invasive species. Although many papers have been published dealing with many aspects of the biology of this species, one question remains open: are there two different cryptic species of *Ciona intestinalis*? The question arose some years ago when the analysis of two geographically distant populations evidenced a high degree of genetic divergence in the nuclear genome, consistent with an ancient episode of speciation or subspeciation. Thus, two genetically homogeneous “types” were identified: “type A”, with a Mediterranean-Pacific distribution, and “type B”, present in the North Atlantic. Furthermore, comparative analyses of the mitochondrial genome revealed significant differences between the two types in four genomic characters (gene order, size and number of noncoding regions, compositional features and sequence divergence of protein-coding genes), all these differences being incompatible with intra-species variability (Iannelli et al 2007). From the morphological point of view, Caputi et al (2007) reported the lack of significant differences in the adult morphology between *C. intestinalis* type A and type B, thus the absence of diagnostic and taxonomic characters. However, recently Sato et al (2012) have described three morphological characters useful for distinguishing type A and type B adults in field (i.e., body colour, siphon pigmentation and presence/absence of tubercles on siphons). Here, we describe the morphology of the larvae of type A and type B individuals, sampled from Plymouth (UK), from Roscoff (FR) and Venice (I), at different developmental stages. Remarkably, larvae of type A are morphologically distinct from those of type B in several morphometric and histological characters: type A larvae are characterized by a shorter trunk and a smaller anterior blood lacuna compared to type B. Using the same specimens, we have also performed molecular tests based on three mitochondrial and two nuclear markers. This molecular screening has clearly associated molecular to morphological characters and confirmed the existence of strong genetic differences between type A and type B. Our data represent a further step toward the identification of two cryptic species in *C. intestinalis*.

**L'ELEMENTO RETROTRASPONIBILE NON-LTR R2 IN
POPOLAZIONI GONOCORICHE E PARTENOGENETICHE DELLA
SPECIE *BACILLUS ROSSIUS* (INSECTA, PHASMIDA)**

L. BONANDIN, M. VALLI, A. LUCHETTI, B. MANTOVANI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università degli Studi di Bologna

Il retrotrasposone non-LTR R2 – diffuso nella maggior parte dei metazoi – si inserisce in maniera specifica nei geni ribosomali 28S. Le relazioni tra l'attività di questo elemento e i meccanismi di turnover genomico propri del DNA ribosomale in contesti riproduttivi diversi sono stati studiati nel taxon a partenogenesi facoltativa *Bacillus rossi* attraverso l'analisi dei pattern di troncamento. Infatti, molti elementi non-LTR, tra cui R2, sono caratterizzati dalla sintesi di copie con estremità 5' troncate a varie lunghezze per la degradazione dell'RNA template e/o l'incapacità della trascrittasi inversa di completare la sintesi del filamento. Attraverso l'analisi di tali troncamenti è pertanto possibile studiare l'attività dell'elemento trasponibile: la comparsa di una variante troncata indica un nuovo evento d'inserzione e quindi che l'elemento è attivo; al contrario la scomparsa di una variante troncata evidenzia un evento di delezione attribuibile ai meccanismi di turnover genomico (quali il crossing-over ineguale e la conversione genica) legati all'evoluzione concertata dell'rDNA.

L'analisi è stata condotta su 7 femmine di tre popolazioni partenogenetiche e 70 femmine della loro progenie. Per confronto sono stati anche analizzati i parentali e i maschi (60) delle discendenze di 3 incroci che coinvolgevano femmine partenogenetiche e gonocoriche. Per ogni individuo, i pattern di inserzione sono stati determinati tramite amplificazione in PCR e Southern blot.

Dai risultati ottenuti emerge un numero significativamente più alto di varianti, tra cui un nuovo evento di inserzione, nella discendenza di popolazioni gonocoriche; l'elemento appare moderatamente attivo anche nelle popolazioni partenogenetiche di Massa S. Nicola e Castanea delle Furie, ma non in quella di Curcuraci, come dimostrato dall'assenza di nuove inserzioni sia nelle discendenze partenogenetiche che in quelle anfigoniche. Per la prevalenza degli eventi di delezione, il turn-over genomico delle unità ribosomali appare particolarmente efficiente, oltre che nei genomi gonocorici come atteso, anche in quelli partenogenetici: questi appaiono pertanto in grado di gestire la proliferazione almeno di elementi quali R2, in contrasto con le ipotesi sui vantaggi della riproduzione gonocorica quali Muller's ratchet o Red Queen.

EFFETTI DELLA DOMESTICAZIONE SULLA MUCOSA OLFATTIVA DI *SUS SCROFA*

N. FORTE, G. POLESE, R. VICIDOMINI, V. MASELLI, D. FULGIONE

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli Federico II

Sus scrofa ha seguito la storia umana fino ai giorni nostri mutando e adattandosi alla pressione selettiva imposta dall'uomo stesso. Gli effetti della domesticazione sull'olfatto di questa specie non sono noti ma è realistico pensare ad un abbassamento delle capacità percettive. Attraverso lo studio della mucosa olfattiva del cinghiale, del suino sardo brado e del suino domestico, questa ricerca si pone lo scopo di comprendere se e in che misura l'olfatto in questa specie, durante il processo di domesticazione, abbia subito dei cambiamenti morfologici e funzionali. Oltre a ricercare le eventuali differenze strutturali delle MO, mediante tecniche, immunoistochimiche e di PCR, abbiamo messo in evidenza la localizzazione e i livelli di espressione dell'olfactory marker protein (OMP), dell'antigene nucleare delle cellule in proliferazione (PCNA) e dell'neuropeptide Y (NPY). Dal punto di vista morfologico l'epitelio olfattivo del cinghiale mostra un numero di neuroni sensoriali olfattivi (NSO) molto più elevato rispetto al suino domestico, il maiale domestico sardo sembra invece presentare un numero intermedio di NSO. Questo potrebbe aver portato con sé una probabile diminuzione delle capacità olfattive. I livelli di OMP come di NPY sono decisamente più elevati nel cinghiale rispetto al maiale domestico e domestico sardo. L'OMP può essere utilizzata come marker specifico dei NSO e la sua presenza può essere direttamente relazionata alle capacità olfattive considerando che topi KO per OMP mostrano una riduzione delle capacità olfattive dal 20% al 40%. L'NPY, invece, è stato descritto come molecola che funge da ponte tra capacità olfattive e stato metabolico dell'animale, animali esprimenti più NPY nella MO sembrano essere più recettivi agli odori relativi al cibo. I livelli di PCNA, marker della proliferazione cellulare, sono molto elevati nel maiale domestico. L'elevata presenza di PCNA in questo, potrebbe mettersi in relazione con l'accelerazione della crescita iperplastica a cui sono sottoposti gli individui allevati. I dati da noi collezionati convergono nel imputare al processo di domesticazione una graduale perdita delle capacità olfattive, fenomeno che sembrerebbe però almeno in parte essere reversibile in poche generazioni considerando quanto è avvenuto in individui che sono ritornati allo stato selvatico (o semiselvatico), come nel caso del suino sardo, il cui allevamento è stimabile intorno ai 1800-238 a.C. durante il periodo nuragico.

BIOACCUMULO DI CADMIO E PIOMBO, MT E HSP70 IN TRE SPECIE DI ISOPODI TERRESTRI (CRUSTACEA)

V. MAZZEI¹, A. MAUCERI², M. MAISANO², S. FASULO², G. LONGO¹

¹Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Catania;

²Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina

Gli Isopodi terrestri sono efficaci bioaccumulatori di metalli pesanti e tale loro caratteristica è certamente associata ad efficienti meccanismi di detossificazione basati sull'inattivazione dei metalli mediante legame a metallotioneine o a proteine metallotioneine-simili.

Obiettivo della ricerca è stato quello di valutare, attraverso un'indagine sperimentale, alcune risposte cellulari alla contaminazione da cadmio e piombo in tre specie di Isopodi terrestri: *Armadillidium granulatum*, *Armadillidium vulgare*, *Porcellio laevis*. Gli animali sono stati alimentati per 21 giorni con foglie di castagno contaminate con 3 diverse concentrazioni di CdCl₂ e PbCl₂. Al termine del trattamento alcuni individui sono stati utilizzati per valutare il contenuto in metalli mediante ICP-MS, altri sono stati sacrificati per il prelievo dell'epatopancreas, principale organo di accumulo dei metalli. Mediante tecniche immunoistochimiche è stata messa in evidenza la presenza di MT in relazione con la concentrazione del metallo somministrata. La localizzazione delle MT dopo contaminazione da Cd è stata riscontrata principalmente nelle cellule S, notoriamente coinvolte nell'accumulo dei metalli, sotto forma di numerose granulazioni presenti nel citoplasma. Diversa è stata, invece, per localizzazione, l'immunopositività all'anticorpo anti-MT dopo contaminazione con le diverse concentrazioni di Pb; essa si è, infatti, manifestata quasi sempre in corrispondenza della superficie apicale sia delle cellule B sia delle cellule S, sotto forma di sottili granulazioni e, solo occasionalmente, nel citoplasma di parte delle cellule S, dove sono stati osservati addensamenti di strutture granulari simili a quelle riscontrate negli individui esposti al Cd. Le reazioni basate sull'impiego dell'anticorpo anti-Hsp70 hanno dimostrato che il bioaccumulo dei metalli determina un notevole incremento dell'immunopositività che risulta essere differenziato in relazione al metallo saggiato, alla concentrazione utilizzata ed alla specie indagata. L'immunopositività di Hsp70 è apparsa particolarmente marcata in corrispondenza della superficie cellulare, localizzazione comune nell'espressione della proteina in risposta a vari tipi di stress (Poltronieri et al. 2008).

In conclusione, mentre le MT possono rappresentare un eccellente biomarker di esposizione alla contaminazione da metalli pesanti, utilizzabile nei programmi di biomonitoraggio basati sull'impiego degli Isopodi terrestri, la presenza di Hsp70 sembra indicare soltanto una generica risposta all'aumento delle condizioni di stress cellulare.

α - E β -CHERATINE NELLE TARTARUGHE *APALONE SPINIFERA* E *PSEUDEMYS NELSONII*

F. MICHIELI¹, F. BENATO¹, L. DALLA VALLE¹, L. ALIBARDI²

Dipartimenti di Biologia, Università degli Studi di ¹Padova e ²Bologna

L'epidermide delle tartarughe presenta due tipi di differenziazione dei cheratinociti: morbida nelle zampe, collo e coda e dura nel guscio. La tartaruga *P. nelsonii* è dotata di un guscio rigido che possiede 1-2 strati epidermici sormontati da strati di corneociti contenenti aggregati densi di β -cheratina e che formano uno spesso strato corneo. *A. spinifera* è invece caratterizzata da un guscio molle e flessibile la cui epidermide è stratificata e contiene uno strato corneo poco spesso formato da corneociti flessibili dove sono assenti gli aggregati di β -cheratina. Il derma, formato da strati intrecciati di fasci collagene, contribuisce alla resistenza meccanica del guscio. La presenza di β -cheratine, ritenute assenti nelle tartarughe a guscio molle, è stata da noi rilevata mediante tecniche diverse. La corneificazione nelle due specie di tartaruga è stata studiata mediante real-time PCR su sequenze di α - e β -cheratine isolate da campioni di pelle. Nella specie a guscio molle le α -cheratine identificate, tutte contenenti scarsa cisteina, sembrano essere maggiormente espresse nel carapace rispetto a coda, collo e zampe. Le β -cheratine si trovano uniformemente distribuite nell'epidermide, il cui strato corneo non si ispessisce ma sembra presentare un elevato processo di desquamazione superficiale. Diversamente, in *P. nelsonii* le β -cheratine sono presenti nel carapace ma a livelli di espressione inferiori a quelli di *A. spinifera*, mentre l'analisi delle stesse α -cheratine identificate nella tartaruga a guscio molle, mostra che tali proteine sono espresse a bassissimi livelli nel carapace. Si ipotizza che in *P. nelsonii*, oltre all'ispessimento dello strato corneo e al conseguente accumulo di β -cheratina, siano presenti α -cheratine ricche in cisteina nelle regioni N- e C-terminali in grado di formare legami crociati disolfuro determinando la formazione di uno strato corneo rigido. Invece in *A. spinifera*, nonostante la sintesi di β -cheratine sia elevata, la mancanza di accumulo di corneociti a formare uno strato corneo spesso e la presenza di α -cheratine quasi prive di cisteine non permette la formazione di legami crociati necessari a originare uno strato corneo duro.

STRATEGIA RIPRODUTTIVA DI *NASSARIUS MUTABILIS* (GASTROPODA, PROSOBRANCHIA): ULTERIORI APPROFONDIMENTI

D. MINELLI¹, R. GATTELLI², S. GIANNATTASIO³, G.M. BALDUCCI³, B. SABELLI¹

¹Dip. BES, Università di Bologna; ²Associazione Aquae Mundi, Russi (Ravenna); ³Progetto Blu Soc. Coop., Laboratorio di Biologia Marina e Pesca, Dip. BES, Università di Bologna, sede di Fano (PU)

La pesca del gasteropode *Nassarius mutabilis*, è da anni diffusa in Alto Adriatico lungo tutta la fascia costiera; questa pesca è regolamentata in modo da consentire la cattura solo di esemplari con lunghezza della conchiglia non inferiore ai 20 mm. Dall'analisi morfologica sulla presenza/assenza del pene, avevamo osservato che gli esemplari di sesso maschile non superavano i 17 mm, e dunque non raggiungevano la taglia minima commerciale, mentre le femmine si aggiravano su dimensioni di 20-24 mm di lunghezza della conchiglia. Mentre tutti i maschi risultano quindi di piccola taglia, non è stata rilevata la presenza di femmine al di sotto dei 17 mm. Per escludere fenomeni di imposex abbiamo condotto l'esame istologico della gonade di individui di differenti taglie e questa ha confermato i dati macroscopici. Abbiamo quindi ipotizzato una condizione sessuale ermafrodita proterandrica per la specie *Nassarius mutabilis*. Sono stati poi isolati individui di taglia medio piccola al fine di osservare l'andamento dello sviluppo della gonade a partire dagli individui di minori dimensioni. Individui maschili già a partire dalla taglia di 9 mm hanno mostrato gonadi mature con molti spermatozoi anche nella vescicola seminale e nella prostata. Si è osservato che alcuni maschi, che presentavano un pene più piccolo della norma, all'esame istologico mostravano la gonade parassitata da larve di Trematodi, il che ci ha indotto a ipotizzare una castrazione parassitaria con parziale regressione dell'organo copulatore. I risultati ottenuti hanno grande rilevanza dal punto di vista gestionale sulla risorsa *Nassarius mutabilis*, in quanto la taglia commerciale di 20 mm interesserebbe esclusivamente individui di sesso femminile e quindi l'attività di pesca andrebbe a sottrarre dalla popolazione specificamente i riproduttori di un solo sesso. Appare quindi di grande importanza approfondire gli aspetti legati alla riproduzione e dell'accrescimento della specie.

EFFETTI CITOTOSSICI DEL CADMIO SULLO SVILUPPO EMBRIONALE E SULL' ESPRESSIONE DELLA GFAP IN *DANIO RERIO*

I. FERRANDINO , A. MONACO, M.C.GRIMALDI

Dipartimento delle Scienze Biologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II

Il cadmio è un metallo pesante tossico, sempre più presente nell'ambiente. I pesci assorbono i metalli attraverso branchie ed intestino bioaccumulandolo anche a livello encefalico (*Favorito et al., Chem. Ecol., 2011*). Nel presente lavoro si è analizzata l'azione del cadmio sullo sviluppo embrionale di *Danio rerio* (zebrafish) e sull'espressione della proteina gliofibrillare acida (GFAP), marker d'elezione delle cellule gliali. Embrioni di zebrafish a 6 ore di sviluppo sono stati esposti a concentrazioni di 5, 10, 50, 100, 500 e 1000 μM di CdCl_2 . A 24 e 48 ore di sviluppo si è proceduto all'analisi fenotipica e della mortalità rilevando dopo 24 ore una mortalità di oltre il 75% a 500 μM e totale a 1000 μM ; a 5 e 10 μM non si sono osservati particolari fenomeni di mortalità, mentre a 50 μM si è avuto incremento della mortalità (32%) e riscontro, su una parte degli embrioni vivi, di evidenti alterazioni fenotipiche come: ipopigmentazione, alterazione del sacco vitellino, curvatura dell'asse corporeo, edema e ipoplasia della testa. A 100 μM la mortalità è stata pari al 54%. Alla luce di tali risultati, abbiamo quindi analizzato i possibili effetti citotossici del cadmio sull'ontogenesi della neuroglia solo sugli embrioni esposti a 5, 10, 50 e 100 μM di CdCl_2 determinando il livello di espressione della GFAP mediante immunofluorescenza indiretta in whole mount e l'impiego dell'anticorpo policlonale anti-GFAP alla diluizione di 1/300. Negli embrioni esposti a 50 e 100 μM di CdCl_2 si è riscontrato un significativo decremento già dopo 24h, nell'area del *tectum* e del romboencefalo, della immunoreattività alla GFAP rispetto all'immunoreattività rilevata negli embrioni di controllo. Tali risultati evidenziano l'azione tossica del cadmio sul normale sviluppo delle cellule gliali così come già da noi riportato negli adulti di zebrafish (*Favorito et. al., Eur J Histochem vol55/sup.1, 2011*).

HEARING CAPABILITIES IN TARGET GURNARD SPECIES (TELEOSTEI, SCORPAENIFORMES): ONTOGENETIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS ON THE VARIABILITY OF THE SULCUS ACUSTICUS IN THE SAGITTAL OTOLITH

S. MONTANINI^{1,2}, M. STAGIONI^{1,2}, M.R. RANDI¹, G. VALDRÈ¹, S. TOMMASINI¹, M. VALLISNERI¹

¹Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, University of Bologna;

²Laboratory of Marine Biology and Fisheries, University of Bologna

Eco-morphological studies can help us to understand the interactions between organisms and their environment and to determine the adaptive character of morphological structures. The variability in the shape of the sagittal otolith, especially in the sulcus acusticus area, could be a morpho-functional characteristic which interacts with the processes of detection and transduction of sound and with different communication strategies. The aim of the work is to study the morphogenesis of the sulcus acusticus (divided into two sections, the anterior *ostium* and the posterior *cauda*) of the sagittae of two target species of trawl survey, *Aspitrigla cuculus* and *Eutrigla gurnardus*, belonging to the family Triglidae (Scorpaeniformes) and particularly known for their wide repertoire of vocalizations. A total of 152 otoliths were taken from samples collected between 2007-2010 from several scientific surveys in the Adriatic Sea at depths ranging from 37 to 238 m. To detect the ontogenetic changes in otolith morphology, morphometric measurements were compared between fish size class. To detect inter-specific comparisons, total length (TL) and allometry effects were avoided by normalizing all measurements to a standard TL. Nine morphological features were selected on the sulcus acusticus: area (mm²), perimeter (mm), length (mm), height (mm), vertical height of the collum (mm), ostial area (mm²), caudal area (mm²), ostial length (mm), caudal length (mm). External crystalline structures of the sulcus acusticus were investigated by SEM. Significant differences were observed in the sulcus acusticus both at inter- and intra-specific level among juveniles and adults, very prominent near the "critical size" that coincides with the beginning of sexual maturity, migration into deeper water, colonization of different trophic niches. Particularly discriminating between juveniles and adults were the differences in the allometric growth of the sulcus morphometry and growing organization of the crystalline arrangement with ultrastructural faces and edges always better defined.

PRELIMINARY MOLECULAR INVESTIGATION AND CHARACTERIZATION OF SUBSPECIES IN THE STONE CURLEW *BURHINUS OEDICNEMUS* L.

A. MORI^{1,2}, N.E. BALDACCINI², M. BARATTI¹, C. CACCAMO², F. DESSÌ FULGHERI³, R. GRASSO⁴, S. NOUIRA⁵, R. OUNI⁵, E. POLLONARA², F. RODRIGUEZ⁶, M.T SPENA⁴, D. GIUNCHI²

¹Institute for the Study of Ecosystems, CNR, Via Madonna del Piano 10, Sesto Fiorentino, Florence 50019-I; ²Department of Biology, Università di Pisa, Via A. Volta 6, Pisa 56126-I; ³Department of Evolutionary Biology “Leo Pardi”, University of Florence, Via Romana 17, Florence 50125-I; ⁴Department of Biology, University of Catania, Via Androne 81, Catania 95124-I; ⁵Higher Institute of Applied Biological Sciences, Tunis el Manar University; ⁶Biodiversity Service, Gobierno de Canarias, Edf. Servicios Múltiples II, 4ª planta, 35071 Las Palmas, Spain

The stone curlew *Burhinus oedichnemus* (Linnaeus 1758) is a species of conservation concern in Europe, with an overall declining trend throughout most of its native distribution in this continent. Actually, Europe hosts between a quarter and a half of the global breeding population, which is mainly distributed in Iberia, France, Russia, Turkey and Italy. According to morphological studies, the species is polytypic, with six subspecies. The Mediterranean populations are considered belonging to two forms, namely the nominate subspecies (western populations: Spain, France, continental Italy) and *saharae* (North Africa, Cyprus, Turkey, Greece and smaller Mediterranean islands), although no clear-cut boundary between *saharae* and *oedichnemus* can be identified. In addition populations belonging to Canary Islands are divided in two subspecies *distinctus* and *insularum*. Even though genetics may offer important information for conservation and management plans, up to now no molecular studies have been carried out about the stone curlew. With the aim to investigate the genetic structure of the species and to clarify if the present-day subspecies designations are supported by genetic data, we investigated the levels of molecular differentiation using two gene mtDNA fragments, Cytochrome b and NADH dehydrogenase 2 and five polymorphic microsatellites. The mtDNA data did not support current boundary limits neither between the two Mediterranean subspecies, nor between the two Canary Islands ones, but Canarian populations resulted belonging to a single haplotype, different respect to all the other populations. Conversely, microsatellites data underlined not only a genetic characterization of the Canarian samples, but also a differentiation between Tunisian samples and the Italian ones. Even if preliminary, our data suggest the need of going deep to the genetic investigation of the species in order to shed light on its complex taxonomy and phylogeographic structure.

PRIMA NIDIFICAZIONE DEL GIPETO *GYPAETUS BARBATUS* (LINNAEUS, 1758) NEL PARCO NAZIONALE GRAN PARADISO DOPO 99 ANNI DALL'ULTIMO ABBATTIMENTO

M. NICOLINO¹, S. BORNEY¹, C. CHIOSO², A. VON HARDENBERG³

¹*Servizio Sorveglianza, Parco Nazionale Gran Paradiso;* ²*Ufficio Fauna, Regione Autonoma Valle d'Aosta* ³*Centro Studi Fauna Alpina, Parco Nazionale Gran Paradiso*

Su tutto l'arco alpino, il gipeto *Gypaetus barbatus* (Linnaeus, 1758), è stato a lungo perseguitato da parte dell'uomo fino alla sua completa estinzione nel secolo scorso. Nella riserva reale di caccia del Gran Paradiso, l'amministrazione dei re Umberto I e Vittorio Emanuele III offriva addirittura un premio di 50 lire, somma considerevole per quei tempi, a ogni guardacaccia per l'uccisione un Gipeto. L'ultimo abbattimento di gipeto nelle Valli del Gran Paradiso è stato effettuato il 29 ottobre 1913 sul versante sinistro orografico della Valle di Rhêmes da un cacciatore di Aosta. Prima dell'istituzione del Parco Nazionale Gran Paradiso (PNGP), avvenuta nel 1922, ci sono testimonianze storiche della nidificazione del Gipeto in Valsavarenche, dove il guardacaccia reale Francesco Blanc aveva trovato un nido nella località Roletta. Dopo l'inizio del programma internazionale di reintroduzione sulle Alpi, iniziato nel 1986, le osservazioni di gipeto nel PNGP sono aumentate in maniera esponenziale, facendo diventare il PNGP una delle aree più frequentate dai gipeti reintrodotti sulle Alpi negli ultimi 25 anni. Nonostante questo, è solo negli ultimi 4 anni che si sono formate coppie stabili con attività di nidificazione nelle valli del parco. Dopo alcuni tentativi di nidificazione falliti prima del 2012, per la prima volta, dopo 99 anni dall'ultimo abbattimento e dopo 90 anni dall'istituzione del PNGP, nella primavera-estate del 2012 il servizio di sorveglianza del Parco Nazionale Gran Paradiso in collaborazione con il Corpo Forestale Valdostano, ha potuto documentare il successo riproduttivo in due nidi. 1) Uno tenuto da una coppia formata da una femmina adulta e da un maschio adulto imperfetto (Michegabri, nato in cattività e rilasciato nelle Alpi Marittime nel 2006 all'età di pochi mesi di età), in Valsavarenche (cova accertata dal 9 febbraio, presenza del pullus nel nido accertata dal 6 aprile); 2) uno da un nido nel quale ha svolto attività parentali un trio formato da due femmine adulte e da un maschio adulto nella Valle di Rhêmes a ridosso dei confini del Parco (cova accertata dal 6 febbraio, presenza del pullus nel nido accertata dal 6 aprile).

I LEPIDOTTERI DI INTERESSE COMUNITARIO NEI SITI NATURA 2000 DELL'UMBRIA

M. PALLOTTINI¹, I. PIVOTTI¹, V. D'ALLESTRO¹, A. FABRIZI¹, A. DI VEROLI¹, M. LUNA², E. GORETTI¹, E. GAINO¹

¹Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, Università degli Studi di Perugia; ²Via Goffredo Mameli, Foligno (PG)

email¹: benthos@unipg.it; email²: lunamario@libero.it

La Rete Natura 2000 (Direttiva Habitat), la più grande rete ecologica del mondo, istituita per la salvaguardia della biodiversità e degli habitat, comprende in Umbria 105 Siti (15% del territorio regionale). Il presente studio intende aggiornare la distribuzione nei Siti Umbri dei lepidotteri di interesse comunitario, importanti bioindicatori per delineare adeguate strategie gestionali.

L'indagine è stata condotta dal 2006 al 2011 mediante "butterfly watching" e solo per un limitato numero di esemplari si è proceduto alla cattura/rilascio. Lo studio si è avvalso anche dei dati inediti della Collezione Entomologica "Mario Luna".

Le specie interessanti 43 Siti Natura 2000 dell'Umbria (per la denominazione cfr. D.H. 92/43/CEE) sono:

- *Euplagia quadripunctaria* (8 siti), localizzata con popolazioni poco numerose che riguardano tutto il territorio regionale, lungo vallate boschive con corsi d'acqua perenni;
- *Euphydryas aurinia* (19 siti, sottospecie appenninica *E. a. provincialis*), comune ma abbastanza localizzata, con popolazioni numerose. Frequenta le zone pedemontane e montane della regione, colonizzando anche interi versanti nella zona centrale ed orientale;
- *Maculinea arion* (18 siti), le segnalazioni riguardano quasi sempre esemplari isolati nel settore centro-orientale della regione, in habitat strettamente legati alla pianta nutrice e alla specie di formica ospite;
- *Melanargia arge* (13 siti), poco comune e a volte localizzata, si rinviene nella parte centro-occidentale della regione, al di sotto dei 900 m. Si tratta di una specie in espansione verso nord, probabilmente per il "global warming" che ha interessato l'ultimo decennio;
- *Parnassius apollo* (2 siti), popolazioni molto localizzate sopra i 1500 m del complesso dei Monti Sibillini, porzione più orientale della regione;
- *Parnassius mnemosyne* (10 siti), poco comune, legata alle quote medio-alte, sopra i 1000 m dell'intero versante orientale della regione;
- *Zerynthia polyxena* (5 siti), molto rara e localizzata con popolazioni poco numerose in tutta la regione, fino ai 1300 m, strettamente legata alla pianta nutrice.

A STUDY OF THE EXPRESSION OF CYP1A IN *SPARUS AURATA* GILLS AND LIVER FOLLOWING EXPOSURE TO BENZO[A]PYRENE

P. LO CASCIO¹, D. PALOMBIERI¹, R.ZENA², A. ALESCI¹, S.PERGOLIZZI¹, E.R.LAURIANO¹, M.CALÒ³, C.CALABRÒ⁴

¹Dept. Food and Environmental Science of Science FF.MM.NN. Faculty; ²Dept. Pharmacobiological of Pharmacy Faculty; ³Dept. Experimental Sciences and Applied Biotech.-Veterinary Medicine Faculty; ⁴Dept. of Animal Biology and Marine Ecology, Univ. of Messina, Italy

Cytochrome P4501A monooxygenase (CYP1A) has an important function in the biotransformation of many xenobiotics, including polynuclear aromatic hydrocarbons and planar organochlorine compounds. The metabolism can cause to detoxification or activation to reactive intermediates. Exposure of fish leads to a receptor-mediated induction of CYP1A expression. In this study the effects of CYP1A induction, following exposure to benzo[a]pyrene (B[a]P), were studied in *Sparus aurata* gills and liver, the major organs of CYP1A activity in fish. CYP1A involved in the conversion of B[a]P to its electrophilic metabolites. Fish were exposed to waterborne B[a]P in DMSO 0.005% at concentrations of 2mg/L for 12, 24 and 72 hours; these data were compared with controls exposed only to the vehicle (DMSO 0.005%). The histological results revealed changes in gills and liver that were detected microscopically and evaluated with immunohistochemistry. In the gill filaments, cell proliferation, lamellar cell hyperplasia, lamellar fusion, lifting of the respiratory epithelium were observed. In the liver, there was vacuolization of the hepatocytes, sinusoidal congestion, necrosis of the parenchyma tissue, nuclear pyknosis, eosinophilic hepatocellular degeneration, pigment accumulation, an increase in the number and size of melanomacrophage centers. Immunohistochemistry evaluations revealed a marked immunoreactivity for CYP1A both in the liver and gills of fish, specially 72 hours after exposure to B[a]P. Strong CYP1A immunoreactivity was found in most cells in the secondary lamellae, whereas the primary lamellae were almost devoid of immunoreactivity. In conclusion, the present study points towards B[a]P is one of the most potent liver and gills CYP1A inducers, and considered as the most genotoxic compound. The biochemical responses of *Sparus aurata* gills and liver to exposure to B[a]P provide an interesting correlation with detoxification enzymes in agreement with B[a]P metabolites' pivotal role.

Poster n. 69- Premio UZI 2012

HORN ALLOMETRY AND SHAPE PATTERN OF THE TUSCAN STENOENDEMIC DOR BEETLE *CERATOPHYUS ROSSII* (COLEOPTERA; GEOTRUPIDAE)

A. PIZZO, F. MAZZONE, C. PALESTRINI

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi. Università degli Studi di Torino

Several thousand species of beetles develop horns or horn-like structures; their sizes is often disproportionate to the size of the beetles bearing them, and the diversity of their forms surprising. Horns appear to have arisen repeatedly within the scarab beetles, but the family most predominated by species with exaggerated horns is that of Scarabaeidae (dung beetle); within Geotrupidae (dor beetle), horned species, even though represented, are less frequent. If the horns of Scarabaeidae are largely studied and the species of the genus *Onthophagus* used as model systems for evo-devo studies, researchers didn't pay special attention for geotrupids' horns, whose allometric and shape pattern is largely unknown. *Ceratophyus rossii* Jekell, is a geotrupid beetle species stenoendemic to the Tuscany, considered at risk of extinction (and for this reason protected by regional laws) for its extremely reduced and fragmented distribution area, and for the progressive suitable habitat lost. It is a rare member of the winter beetle fauna from the protected Mediterranean maquis of San Rossore and the Oasis of Burano. The *Cerathophyus* horns occur at the same body regions as the horns of more "typical" horned scarabs: the anterior surface of the pronotum, which is a body region that was already universally enlarged in scarabs and thought to be an adaptation to a burrowing lifestyle, and the dorsal surface of the head. We characterised for the first time the cephalic and pronotal male and female horn allometries of this geotrupid, we defined horns shape variation along these allometries and we looked for resource allocation and developmental trade-off between the two simultaneous horns. We finally compared this pattern with that of other better studied horned beetles.

UNFINISHED SPECIATION, HYBRIDISATION OR INTRASPECIFIC POLYMORPHISM? THE DEBATED CASE OF THE *ONTHOPHAGUS FRACTICORNIS-SIMILIS-OPACICOLLIS* SPECIES COMPLEX

A. PIZZO, D. ZAGARIA, C. PALESTRINI

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi. Università degli Studi di Torino

Species complexes, composed by closely related species of difficult identification for their morphological similarity, provide unique opportunity to study the early phases of morphological and genetic differentiation and the microevolutionary dynamics promoting speciation.

Within the genus *Onthophagus* the presence of many species complexes and sibling species testify to a recent impressive adaptive radiation. We focused on the debated species-complex *Onthophagus (Palaeonthophagus) 'fracticornis-similis-opacicollis'* as a model to study the evolution of morphology, the role of male polyphenism and the microevolutionary dynamics promoting speciation. Even if at present there is a general consensus that *O. fracticornis* is a good species, greater discrepancies arise on the taxonomic status of *O. similis* and *O. opacicollis*: according to some authors these are sibling species with a wide range of sympatry whilst others maintain they are morphotypes of a single, polymorphic species. To investigate the relationships within the complex and to study the evolution of morphology and the dynamics of their differentiation, we studied together allopatric and sympatric populations integrating multiple approaches: the geometric morphometric analysis of the shapes of genital and non-genital morphological structures, the comparison of horn static allometries and the biomolecular analysis of a mitochondrial gene. The results provided a complex and often incongruent pattern of morphological and genetic evolution, consistent with a hypothesis of a still unfinished speciation process in sympatric areas and a fully realised speciation by means of ecological segregation in allopatry.

TOPOLOGY, MORPHOLOGY AND FUNCTION OF OLFACTORY ORGAN IN *OCTOPUS VULGARIS*

G. POLESE, F.P. ULLOA SEVERINO, L. TRONCONE, C. BERTAPELLE, A. DI COSMO

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli Federico II

The cephalopod olfactory organ was described for the first time in 1844 by Kollinker who was attracted from the pair of pits, one on each side of the head, in both octopuses and squids. In 1974 Woodhams and Messenger wrote “A note on the ultrastructure of the *Octopus* olfactory organ” in which they used the electron microscopy techniques to describe the structure of the Olfactory Epithelium (OE). More information about the OE has been gained in *Octopus joubini* in which Emery (1976) characterized six types of Olfactory Receptor Neurons (ORNs), but to date not much is known about its functions. Recently, in squid two pathways of signal transduction have been found mediate the odor responsiveness. Just like *O. joubini* the *O. vulgaris* olfactory organ is localized on each side of the head anteriorly to the dorsal junction of the mantle with the body, it appear to be a tiny white hole hard to be recognized. At light microscope the OE result to be organized in bagged bulge whose surface layer is made of ORNs and sustentacular cells, underneath a group of ring shape cells give turgor to the entire structure. The Olfactory Marker Protein (OMP) is an abundant, phylogenetically conserved, cytoplasmic protein of unknown function expressed in vertebrate mature olfactory sensory neurons, we found a strong OMP immunoreactivity in almost all the octopus ORNs. Neuropeptide Y (NPY) is widely distributed in vertebrate brains, where it appears to be involved in the control of appetite and feeding behavior, its presence in the olfactory system has been linked to a modulatory activity of the olfactory perception and to a proliferative capability of olfactory epithelia, we observed scattered NPY immunoreactive ORNs within the octopus OE. Moreover, by means Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) immunohistochemistry, we observed a diffuse proliferative activity within the superficial layers of ORNs with a slightly more intense immunoreactivity along the marginal side of the bag. Overall our data suggest that these peptides have a conserved role also in cephalopods.

DEMOGRAPHY OF DEEP-DWELLING RED CORAL POPULATIONS. AGE AND REPRODUCTIVE STRUCTURE ASSESSMENT

C. PRIORI¹, V. MASTASCUSA², F. ERRA¹, M. ANGIOLILLO³, S. CANESE³, G. SANTANGELO¹

¹Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Pisa; ²Dipartimento di Scienze Applicate, Università di Napoli Parthenope; ³ISPRA, Ministero dell'Ambiente

Mediterranean red coral *Corallium rubrum* (Octocorallia Gorgonacea) has been harvested for more than 2 thousand years. Although our knowledge on the demographic features of red coral populations living between 10 and 50 meter depth has increased considerably in recent years, the main life-history traits of deeper populations (the main target of harvesting nowadays), are still largely unknown. To increase the demographic knowledge on the latter populations an ad hoc cruise was carried out during early Summer 2010 in the North-Western Mediterranean (Tyrrhenian Sea- Italy), between 62 and 120 m depth. In this paper we present the first findings aimed at quantifying some of the main demographic descriptors of this coral population in terms of size/age and sexual structure. Colony age was assessed by counting annual growth rings on thin sections of 40 colonies. On the basis of a 2-way ANOVA, no significant difference was found between the age estimated by three independent observers. The average annual colony growth rate (basal diameter), showing some decrease with colony age increase, was 0.26 mm/yr. The relationship between age and basal diameter fitted on a subsample of colonies was then applied to assess the age of a larger sample of the population. Thirty-eight % of the sampled colonies reached the commercial size (7 mm of basal diameter), corresponding to about 29 years in this population. The majority of colonies (97.7%) fell in the 6 – 55 years range; about half of them (51.1 %) were in the 21-25 and 26-30 age classes. Only two colonies have an estimated age of 93 and 69 years. The analysis of the sexual features, revealed a balanced sex ratio, a colony fertility of 89.9% and an average fecundity of 0.82 oocytes or planulae per polyp. Subsequently, we studied the phenomenon of predation on red coral (*Corallium rubrum*) by the gastropod *Pseudosimnia carnea* from a quantitative point of view. We compared two groups of colonies, all coming from the Elba Isle, collected during the above cited cruise. These two groups were composed the first of 26 infested colonies and the other of 49 healthy colonies, i.e. with no signs of grazing or with less than 5% of their surface covered with eggs or mucus belonging to the predator. Initially, we found that female colonies are preyed more frequently respect to the males (of a 3:1 rate). Then, we compared four morphometric and reproductive parameters: medium number of polyps, medium fecundity of polyps, the rate between medium fecundity of colonies and weight, and the rate between medium number of polyps and weight. We found, for all the parameters, a significative difference between infested and healthy colonies. So, we could assess that the predation has an effect on red coral that could negatively influence its reproduction and the availability, on a large time scale, of specimens suitable for a sustainable harvesting.

ANIDROBIOSI DI *PANAGROLAIMUS RIGIDUS* (NEMATODA): MORFOLOGIA E SOPRAVVIVENZA

C. RICCI, G. CORNELLI, G. MELONE

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

L'anidrobiosi è una forma particolare di dormienza di alcuni organismi vegetali e animali, capaci di perdere tutta l'acqua chimicamente non legata, sospendere ogni attività metabolica, e riattivarsi quando l'acqua ritorna disponibile. Tra gli animali, nematodi, rotiferi bdelloidei e tardigradi si preparano all'anidrobiosi modificando sia la struttura interna (tessuti e cellule) sia la morfologia esterna: rotiferi e tardigradi si contraggono e i nematodi si avvolgono a spirale (coiling). Questi cambiamenti di struttura e di forma sono essenziali per la sopravvivenza all'anidrobiosi, ma dipendono dalla natura e permeabilità del substrato su cui l'animale si trova. Per verificare che il corretto coiling sia un indice affidabile della vitalità del nematode, la specie *Panagrolaimus rigidus* è stata disidratata in condizioni controllate su filtri con stessa porosità, ma diversa composizione: a) cellulosa, b) nitrocellulosa e c) copolimeri acrilici. Sono state allestite 8 repliche per ogni substrato: dopo una settimana di dormienza 7 sono state reidratate per registrare la sopravvivenza e una preparata e osservata al SEM per documentare la morfologia. La sopravvivenza più elevata (>98%) si registra nei campioni a) e b), cioè i nematodi disidratati su filtri di cellulosa, mentre il campione c) riporta la più bassa sopravvivenza (~ 20%). Su tutti i filtri, i nematodi depongono le uova e si avvolgono a spirale, ma la percentuale di nematodi in coiling differisce tra i diversi filtri: <70% in a) contro >90% in b) e c). Pertanto, non necessariamente il coiling indica che il nematode si riprenderà dalla dormienza. L'osservazione al SEM evidenzia una ulteriore variabile, il turgore del corpo dei nematodi in anidrobiosi. Il maggiore turgore, e quindi la migliore conservazione della morfologia del nematode si osserva nel campione c), ovvero quello che ha prodotto la minore sopravvivenza. Nei rimanenti campioni, il corpo dei nematodi appare come svuotato, con un eccesso di epidermide che tende ad aderire al substrato. Sembra quindi che su filtri di copolimeri acrilici (c), *P. rigidus* trattiene l'acqua interna, che invece viene persa nel corso della preparazione all'anidrobiosi sugli altri substrati. I risultati sembrano suggerire che il coiling non sia essenziale per garantire la ripresa dopo l'anidrobiosi, ma la corretta perdita di acqua interna potrebbe essere il fattore determinante, che tuttavia richiede ulteriori indagini.

ELEMENTI TRASPONIBILI NEL GENOMA DI SPECIE DEL GENERE *BACILLUS* (INSECTA, PHASMIDA)

M. RICCI, A. LUCHETTI, B. MANTOVANI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna

Il genere *Bacillus* rappresenta uno dei più noti casi di evoluzione reticolata; comprende le specie *B. grandii* (gonocorico), *B. rossius* (partenogenetico facoltativo), *B. atticus* (p. obbligato), i taxa ibridi *B. whitei* e *B. lynceorum* (rispettivamente diploide e triploide, entrambi p. obbligati) e l'ibridogenetico *B. rossius-grandii*. Alle strategie riproduttive elencate si aggiungono eventi di androgenesi dimostrati in *B. whitei* e *B. rossius-grandii*. È stato avviato lo studio di elementi trasponibili, noti quali motori dell'evoluzione del genoma, in individui di popolazioni siciliane delle specie parentali (*B. rossius*, popolazione gonocorica di Patti; *B. grandii*, Ponte Manghisi; *B. atticus*, Scoglitti) con la produzione di tre librerie genomiche, di cui sono state sequenziate 200 kbp per specie. Le sequenze ottenute sono state analizzate tramite confronto con la banca dati RepBase (www.girinst.org). Nelle tre librerie sono stati complessivamente riconosciuti elementi di classe II (a DNA) appartenenti a 11 superfamiglie (Academ, Chapaev, Harbinger, HAT, Helitron, Kolobok, Mariner, P, piggyBac, Polinton e Sola), mentre, per la classe I (a RNA), gli elementi di tipo LTR appartengono a 2 superfamiglie (Bel e Gypsy) e i non-LTR a 6 (Jokey, L2B, Nimb, Outcast, Penelope e RTE). Alcune superfamiglie sono condivise tra le tre specie (Gypsy, Hat, Helitron, Mariner e Polinton), mentre Bel e Sola caratterizzano rispettivamente *B. rossius-B.grandii* e *B. grandii-B. atticus*. Sulla base dei dati disponibili, i restanti elementi appaiono specie-specifici.

La mancanza di retroelementi non autonomi (SINE) nelle librerie genomiche appare di particolare rilievo, considerato che sono stati individuati nel genoma di molti insetti (ortotteri, isotteri, emitteri, coleotteri, lepidotteri e ditteri). Tuttavia, poichè il campionamento svolto rappresenta meno dello 0,01% del genoma completo, tale assenza dovrà essere confermata da ulteriori indagini.

Di notevole interesse inoltre è la ricchezza in elementi mobili del genoma del taxon partenogenetico obbligato *B. atticus*, la cui dinamica dovrà essere specificamente analizzata tramite in particolare la caratterizzazione della sequenza completa degli elementi appartenenti alle superfamiglie condivise.

ARTIFICIALITA' DEI CORSI D'ACQUA E PRESENZA DELLA LONTRA: UN RAPPORTO NON SEMPRE CONFLITTUALE

A. RIZZO¹, P.P.C. AUCELLI¹, V. SCORPIO², A. LOY²

¹Dip. Scienze per l'Ambiente, Università degli Studi di Napoli "Parthenope";²Dip. Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise
email: angelarizzo86@libero.it

La lontra euroasiatica *Lutra lutra* è un predatore notturno legato agli ambienti d'acqua dolce che si nutre di prede acquatiche e di giorno riposa in tane ricavate nella vegetazione ripariale o negli anfratti rocciosi. In Italia sopravvive solo con due nuclei isolati nel centro sud della penisola. Nonostante esistano molti dati sulla sua ecologia, poco ancora si conosce su come le caratteristiche geomorfologiche dei corsi d'acqua possano influire sull'habitat della specie. Qui abbiamo analizzato la relazione esistente tra la presenza della lontra e le caratteristiche fisiche di due sistemi fluviali in cui la lontra è presente localmente, Biferno e alto e medio Volturno.

L'analisi geomorfologica è stata effettuata in 17 tratti non confinati attraverso la metodologia IDRAM proposta dall'ISPRA. Il censimento della lontra ha permesso di verificare la sua presenza in 13 tratti su 17.

I risultati indicano che il fiume Volturno presenta alternanze di tratti con Indice di Qualità Morfologia (IQM) da sufficiente a buono, mentre nel Biferno il valore passa da 0.78 (buono) nei tratti a monte della grande diga fino a 0.25 (pessimo) immediatamente a valle dell'opera. Per entrambi i corsi d'acqua l'IQM è dipendente soprattutto dal grado di artificialità e dalle variazioni plano-altimetriche degli ultimi 50 anni. Solo l'indice di Artificialità ($F=6,66$, $P=0,013$) ha evidenziato una differenza significativa tra tratti positivi e negativi per la presenza della lontra.

La relazione con i 12 indicatori di cui si compone questo indice hanno rivelato un effetto negativo delle opere di alterazione della continuità laterale come le difese di sponda (A6), la presenza di dighe a monte (A2) e gli interventi di manutenzione e prelievo (A12), mentre la presenza delle specie è favorita da opere di alterazione della continuità longitudinale del tratto (A3 e A4). Nonostante il numero di tratti analizzati sia ancora statisticamente insufficiente, questi risultati preliminari suggeriscono che diverse tipologie di interventi antropici nei corsi d'acqua possono avere effetti molto diversi sulla qualità dell'habitat della lontra, diminuendo la disponibilità di rifugi o favorendo l'aumento della disponibilità e capacità di cattura delle prede.

THE WINTER ROOSTING ECOLOGY OF THE BLACK GROUSE *TETRAO TETRIX* IN NORTH-WESTERN ITALIAN ALPS

M. BOCCA¹, E. CAPRIO², A. ROLANDO²

¹*Parco Naturale del Mont Avic, località Fabbrica 164, 11020 Champdepraz (Aosta), Italy;*

²*Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, via Accademia Albertina 13, 10123 Torino, Italy*

The winter ecology of the Black Grouse in the Alps is still poorly known. This study was undertaken to reveal ecological factors controlling the location of winter roosts in an alpine protected area characterised by a remarkable vegetation and geographical heterogeneity. Landscape scale GIS-assisted analyses showed that the ground curvature heterogeneity and the area covered by the Mountain pine *Pinus montana uncinata* forest were positively correlated with the presence of roosts. In contrast to our expectations, grids oriented towards East and South showed an higher probability to host roosting birds. Habitat scale analyses pointed out that birds did not choose sites with significant vegetation hindrance below the roost, and chose sites with relevant underbrush cover. The winter diet of the Black Grouse was mostly made of mountain pine needles, which were positively selected by birds. We suggest that environmental variables (both at the landscape and habitat level) controlling for roost location may depend, on their turn, upon the need of feeding and protecting from predators.

As for roosting types, we showed that the probability to find an igloo was higher with larger snow depth and lower with snow crust. Igloos were rather rare in our study area (only 31%). An insufficient depth of snow due to local climatic characteristics can be identified as the main cause of their rarity. In a global warming framework, igloos may be no more of capital importance for energy saving. However, open-air roosting might increase predation risk and stress and the effect, in the long run, might be deleterious for species conservation.

Our results suggest the presence of Mountain pine and that of an underbrush layer are essential to the Black Grouse in the study area. In the alpine districts that may be potentially colonized from the Mountain pine, forest management could therefore plan interventions that secure the presence of this coniferous and possibly its expansion, while taking care that both tree and bush forms grow.

DAL FUNGO TRICHODERMA CITRINOVIRIDE, SOSTANZE CON ATTIVITA' FAGODETTERRENTE PER LA LOTTA CONTRO GLI AFIDI

S. GANASSI¹, A. EVIDENTE², A. ANDOLFI², C. ALTOMARE³, M.A. SABATINI¹

¹Dipartimento Biologia, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia; ²Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta dell'Ambiente e delle Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II; ³Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari – CNR, Bari

Una delle novità più interessanti degli ultimi anni nel campo della lotta agli insetti dannosi è l'impiego di sostanze naturali con attività fagodeterrente che interferiscono con il processo di scelta della pianta ospite. Saggi comportamentali ed elettrofisiologici condotti nell'ambito di studi precedenti hanno evidenziato che colture del fungo terricolo *Trichoderma citrinoviride* isolato ITEM 4484 avevano una significativa attività fagodeterrente nei riguardi di diverse specie di afidi, tra cui *Schizaphis graminum* (Rondani) e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Dalle colture dell'isolato ITEM 4484 su substrato solido sono stati isolati e caratterizzati diversi metaboliti fagodeterrenti tutti liposolubili e a basso peso molecolare, che sono stati identificati mediante l'uso di tecniche spettroscopiche (essenzialmente NMR), ES MS e di metodi chimici e sono risultati appartenere a differenti famiglie chimiche. Particolarmente interessanti sono risultati alcuni alcoli a lunga catena saturi e insaturi, che in saggi comportamentali hanno mostrato una significativa attività fagodeterrente dosaggio-dipendente nei confronti dell'afide *Rhopalosiphum padi*, una specie parassita di cereali molto diffusa. Le prove comportamentali sono state effettuate sia sulle forme alate che sulle attere: le forme alate sono risultate sensibili anche a concentrazioni più basse rispetto alle attere. In uno studio successivo l'attività fagodeterrente nei confronti di *R. padi* è stata evidenziata anche per altri alcoli a lunga catena chimicamente correlati a quelli isolati dal fungo: per tutti è stata depositata una domanda di brevetto nazionale, con successiva estensione a livello internazionale. I risultati ottenuti consentono di ampliare lo spettro di specie di afidi suscettibili all'azione fagodeterrente di metaboliti di *T. citrinoviride* e hanno incoraggiato ulteriori studi volti al loro impiego nella pratica agricola.

Brevetto Italiano MI2011A000831 (depositato)

Brevetto Internazionale PTC IB2012/052383 (depositato)

THE ANTIOXIDANT ENZYMES OF *TETRAHYMENA THERMOPHILA*

D. FERRO, F. BOLDRIN, F. CATTALINI, E. PICCINNI, G. SANTOVITO

Department of Biology, University of Padova, Padova, Italy

The “free radical theory” correlates reactive oxygen species (ROS) production with oxidative stress and cell damaging. The antioxidative potential of organisms is probably affected by stress conditions, but this is an open question due to the multiplicity of ROS scavengers and their overlapping functions. With the aim to study this problem we projected some experiments using the ciliated protozoan *T. thermophila*, as model organism. The first step of the research was to characterize the genes codifying for some antioxidant enzymes: copper-zinc superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD), manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) and catalase (CAT). Total RNA has been purified from *T. thermophila* cells (SB210 strain) cultured in PPYG medium and the cells were harvested after three days during exponential growth. cDNA sequences were obtained by RT-PCR, 3'- and 5'-RACE techniques. The primers for the amplification of Cu,Zn-SOD, Mn-SOD and catalase cDNAs were designed after cross analyses between NCBI and *T. thermophila* genome databases. The obtained data demonstrated that two Cu,Zn-SODs, one Mn-SOD, and one CAT are constitutively expressed. Our results highlighted that a third Cu,Zn-SOD gene, annotated in the *Tetrahymena* genome database, seems not be transcribed. The nucleotide sequences of all genes have been compared with orthologous of other organisms and used for phylogenetic analyses. Experiments on the *in vivo* quantification of ROS production, performed with specific fluorescent probes, are now in progress to study the physiological responses during the different phases of *T. thermophila* life cycle under various oxidative stress conditions (exposure to UV, peroxides and metals). The results will be correlated to the gene expression analyzed by RT-qPCR, using the same primers employed for cloning and sequencing. Other genes of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidases will be characterized. (Supported by M.I.U.R. grant)

I CANI DA SALVATAGGIO NAUTICO: UNA PARTICOLARE PROPENSIONE VERSO GLI ESTRANEI

A. SCANDURRA¹, P. VALSECCHI², E. PRATO-PREVIDE³, B. D'ANIELLO¹

¹Dipartimento Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli "Federico II"; ²Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma, ³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche, Sezione di Psicologia, Università degli Studi di Milano

La relazione uomo-cane è influenzata dal tipo di percorso formativo seguito. I cani per il salvataggio nautico formano un forte legame con il proprio conduttore e sono molto catalizzati verso persone estranee, che mostrano di essere in evidente difficoltà. Gli effetti di questa tipologia addestrativa sulle modalità relazionali dei cani sono stati valutati utilizzando la "Strange Situation", una procedura sperimentale che consiste di 7 episodi di 3 minuti in un ambiente non familiare, testando 8 cani brevettati (Trained) e 8 senza alcun addestramento (Naïve). Ogni sessione sperimentale è stata video-registrata ed i comportamenti sono stati rilevati con un metodo di campionamento a 5 secondi, per un totale di 252 points sample. L'etogramma comprendeva 13 comportamenti mutualmente esclusivi, più 2 comportamenti non esclusivi (vocalizzazioni e pallina in bocca). Il test di Mann Whitney è stato utilizzato nel confronto tra i gruppi (Trained vs. Naïve), il test di Wilcoxon nella comparazione intragruppo. L'analisi intergruppo ha evidenziato che i cani Trained erano generalmente più passivi ($U=5.5$, $p=0.005$) mentre i Naïve erano più esplorativi ($U=7.5$, $p=0.01$) e si muovevano di più ($U=9$, $p=0.016$). Non sono emerse altre differenze a parte il fatto che i Trained compivano vari comportamenti trattenendo una pallina in bocca per più tempo rispetto ai Naïve ($U=13$, $p=0.046$). L'analisi intragruppo ha mostrato che nei comportamenti di ricerca di contatto (comparando gli episodi 3+6, in cui era presente solo l'estraneo, e quelli 4+7 con solo il conduttore) entrambi i gruppi di cani mostravano una maggiore propensione verso il proprietario nel gioco sociale (Trained, $T=1$, $p=0.017$; Naïve, $T=1$, $p=0.028$), nel greeting (Trained, $T=0$, $p=0.043$; Naïve, $T=0$, $p=0.043$) e nel tentativo di riguadagnare il contatto con il proprietario, orientandosi verso la porta dalla quale era uscito (Trained, $T=0$, $p=0.018$; Naïve, $T=0$, $p=0.043$). Tuttavia, i Trained mostravano una ricerca di prossimità verso l'estraneo maggiore rispetto ai Naïve ($T=0$, $p=0.012$). I risultati indicano che i cani brevettati per il salvataggio nautico hanno una forte propensione ad interagire con una persona sconosciuta, significativamente maggiore di quella ad interagire col proprio conduttore, e che mediano la loro interazione con persone e ambiente maggiormente attraverso il gioco, proponendosi con una pallina in bocca.

USO DI “GEMINATE SPECIES” PER LA CALIBRAZIONE DELL’OROLOGIO MOLECOLARE IN PLATELMINTI MARINI

F. SCARPA, P. COSSU, T. LAI, D. SANNA, G.L. DEDOLA, M. CURINI-GALLETTI, M. CASU

Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Università degli Studi di Sassari, via F. Muroli, 25 - 07100 Sassari

La calibrazione dell’orologio molecolare è un argomento estremamente delicato e controverso. Tra gli organismi marini le cosiddette “geminata species” costituiscono uno strumento utile per stimare il tasso di mutazione tra due individui in relazione al tempo, e possono essere utilizzate a loro volta per estrapolare il tempo di divergenza tra specie correlate. Con il termine geminata species si indicano coppie di specie reciprocamente monofiletiche, simili su base morfologica, presenti in entrambi i lati di una barriera geografica. I taxa maggiormente utilizzati in questo tipo di analisi sono quelli che vivono nell’Istmo di Panama. L’obiettivo del nostro lavoro è quello di individuare coppie di geminata species al fine di ottenere la prima stima del tasso di mutazione per milioni di anni all’interno dell’ordine dei Proseriata (Platyhelminthes) per i geni ribosomiali 18S e 28S. Grazie alla collaborazione con lo Smithsonian Institution (U.S.A.) è stato possibile raccogliere sedimenti da entrambi i lati dell’istmo. Tra le diverse specie campionate sono stati rinvenuti individui morfologicamente indistinguibili, ascrivibili alla specie *Minona gemella* Ax & Sopott-Ehlers, 1985 (località tipo: Bermuda). In seguito ad analisi filogenetiche Bayesiane, è stato possibile accertare che le popolazioni atlantiche e pacifiche sono ben distinte e reciprocamente monofiletiche, quindi possono essere definite geminata species. Pertanto è stato possibile utilizzarle per stimare i tassi di mutazione per milioni di anni all’interno dell’ordine. I tassi ottenuti sono stati successivamente verificati elaborando la stima del tempo di divergenza tra altre due sister species appartenenti al genere *Parotoplana* provenienti dalle Isole Galapagos (Santa Cruz) e dalla costa pacifica di Panama. Tale stima ha fornito tempi di divergenza tra le due specie congruenti con i tempi di emergenza dell’Isola di Santa Cruz. Sono in corso analisi su un più ampio campionamento di geminata species che possano dare ulteriore solidità ai tassi finora stimati.

Poster n. 81

THE LATERAL LINE THE PLACODES AND PLACODE-LIKE STRUCTURES AND THE ORIGIN OF BONES

A.M. SIMONETTA¹, E. INSOM², R. BERTI¹, A. PUCCI¹

¹*Dipartimento Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi” (Università di Firenze), via Romana, 17, I-50125 Firenze (FI);* ²*Scuola di Scienze Ambientali (Università di Camerino), via Gentile III da Varano, I-62032 Camerino (MC)*

A significant problem for the assessment of the origin of the Vertebrata and of their relationship to the other Chordata is that of the origin of the skeletal tissues as both the cartilages and the bone are unique to the Vertebrata.

The combined evidence provided by some Cambrian fossils and by living rare fishes appears to nicely add to the evidence accumulated since over a century to show that the ectodermal placodes may have had a key role in the early evolution of the skeletal structures and that cells of placodal origin may have been the first to develop into osteoblasts.

CELL VOLUME REGULATION IN HEPATOPANCREAS OF *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* EXPOSED TO SUBLEATAL CONCENTRATIONS OF CdCl₂

A. TORRE, C. FAGGIO, F. TRISCHITTA

Department of Life Sciences "M. Malpighi", Faculty of Science- University of Messina, Italy

Our previous studies showed that the digestive cells of the *Mytilus galloprovincialis* hepatopancreas are able to exhibit a regulatory volume decrease (RVD) after the swelling produced by hypotonic stress. Preincubation of the isolated cells with CdCl₂ (1 and 10 µM) inhibited this homeostatic response.

In the present work the RVD response was studied in the digestive cells of *Mytilus galloprovincialis* exposed to Cd²⁺ (40 µg l⁻¹) for 21 days and was compared with that of control animals held in the same laboratory conditions but in the absence of the metal. During the exposition time no animal mortality was registered.

However the isolated digestive cells of the treated animals, unlike those of the control ones, were not able to perform RVD. In the attempt to guess the possible mechanisms affected by Cd²⁺ and responsible of the impaired homeostatic response, we tested the involvement of two well known targets of the metal in the RVD response such as the cytoskeleton and the Na⁺-K⁺-ATPase. The observation that the cells of the control animals do not exhibit RVD when preincubated in the presence of 10⁻⁵ M cytochalasin D, known inhibitor of actin polymerization, and of 10⁻³ M ouabain, known inhibitor of the pump, suggests that: 1) the integrity of cytoskeleton is essential for the RVD response; 2) the ionic transport mechanisms responsible of the recovery of cell volume during the hypotonic stress are dependent on the operation of the Na⁺-K⁺-ATPase. These results led us to hypothesize that the inhibitory effect of RVD produced by Cd²⁺ could be due to its effect on the cytoskeleton and/or the pump. However a toxic effect on calcium homeostasis cannot be excluded since we showed the strong dependence of RVD by Ca²⁺.

Other studies, by employing different techniques, will be necessary to shed light on the biochemical and molecular target of the heavy metal.

EVOLUTION OF MATING SYSTEMS IN EUPLOTES

A. VALLESI¹, C. ALIMENTI¹, F. RICCI¹, A. CANDELORI¹, G. DI GIUSEPPE², F. DINI², P. LUPORINI¹

¹Dipartimento di Scienze Ambientali e Naturali, University of Camerino; ²Dipartimento di Biologia, University of Pisa

Ciliates control their sexual phenomenon of conjugation (or mating) through a genetic mechanism of mating types, which may either be only two within a species (recalling the duality of sexes in animals), or multiple (recalling self/non-self compatibility systems in plants and fungi). The nearly one hundred species of the most ubiquitously distributed ciliate, *Euplotes*, all evolved multiple mating types. Based on analyses of Mendelian genetics, these mating types have for long been assumed to be determined by multi-allelic series of genes inherited at a single genetic locus (i.e., the *mating-type* or *mat* locus) and responsible for the synthesis of mating type-specific signaling proteins. The chemical characterization of these signaling proteins (known as pheromones) from an array of *Euplotes* species has now permitted us to evolve in the study of *Euplotes* mating types from an approach of Mendelian genetics to an approach of molecular genetics. In this new experimental context, we have cloned and characterized structurally the pheromone (mating-type) gene families of *Euplotes* species that take different positions in the phylogenetic tree of the genus *Euplotes*. It appeared that, in accord with the prediction of the Mendelian genetics, early branching species (e.g., *E. polaris*, *E. raikovi* and *E. nobilii*) inherit their mating types at a single multi-allelic locus. However, in disagreement with the prediction of the Mendelian genetics, late branching species (e.g., *E. crassus* and *E. focardii*) inherit their mating types at two distinct loci that are likely the result of an event of gene duplication in the germinal (micronuclear) genome. One locus appears to be structurally and functionally homologous with the multi-allelic locus of the early branching species, while the second locus appears to be structurally homologous but functionally divergent.

INDAGINI MORFOLOGICHE ED ULTRASTRUTTURALI DELLE VIE GENITALI FEMMINILI DI UN CALAPHIDINAE (HEMIPTERA: APHIDOIDEA)

D. VITALE, M.V. BRUNDO, R. VISCUSO

Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Sezione di Biologia Animale "Marcello La Greca", Università degli Studi di Catania

Gli Aphidoidea meritano attenzione nell'ambito degli Hemiptera per la peculiare modalità riproduttiva, caratterizzata da un'alternanza di partenogenesi e anfigonia in relazione alle condizioni ambientali e della loro pianta ospite (Barbagallo *et al.*, 1996). Poiché recenti indagini ultrastrutturali sulle vie genitali maschili di alcune specie di Aphidoidea (Wieczorek and Swiatek, 2008, 2009; Vitale *et al.*, 2009, 2011) hanno apportato informazioni utili inerenti la loro biologia riproduttiva, ci è sembrato interessante estendere indagini in tal senso alle vie genitali femminili, di cui nulla è noto in letteratura, prendendo come modello di riferimento il Calaphidinae *Euceraphis betulae* (Koch). Dal punto di vista morfologico, l'apparato è formato da due ovari, ognuno costituito da 3 ovaroli di tipo meroistico telotrofico che si aprono in un breve ovidutto laterale. I due ovidutti laterali confluiscono in un corto ovidutto comune, nella cui porzione dorso-mediana si apre un ricettacolo seminale di forma globosa; lateralmente a quest'ultimo si trovano due ghiandole accessorie di aspetto sacciforme. A livello ultrastrutturale una evidente attività secretoria è presente in tutti i tratti delle vie genitali, testimoniata dall'estensione degli organuli coinvolti in tale processo, con peculiari caratteristiche nelle cellule epiteliali della parete delle ghiandole accessorie dove sono presenti voluminosi mitocondri, frammisti ad un ampio reticolo endoplasmatico liscio, ed un nucleo eucromatico con evidente nucleolo. Tali caratteristiche lascerebbero ipotizzare un coinvolgimento di tali ghiandole nella sintesi di sostanze presumibilmente prodotte dal metabolismo di molecole quali lipidi, acidi grassi, terpeni, etc..., similmente a quanto riscontrato in differenti tipologie cellulari di altre specie di Insetti anche afferenti al medesimo ordine (Hepburn *et al.*, 1991; Foldi, 2005). A livello della parete del ricettacolo seminale sono presenti caratteristiche differenti in relazione ai tratti esaminati: il peduncolo di connessione mostra un lume ristretto, delimitato da un epitelio cilindrico, circondato una tonaca muscolo-connettivale robusta; la sacca possiede una tonaca muscolo-connettivale sottile che circonda un epitelio piatto che delimita un lume ampio e ricolmo di un secreto denso in cui sono immersi numerosi spermatozoi isolati e residui cellulari. I risultati ottenuti, sebbene ancora preliminari, rappresentano una valida premessa per ulteriori studi da estendere anche ad altre specie di Aphidoidea, considerata l'importanza di questo gruppo di Insetti, dannosi in ambito agronomico.

LA PRESENZA DEL LUPO (*CANIS LUPUS L.*) NEL PARCO REGIONALE DELLE ALPI APUANE

M. LUCCHESI¹, I. DI VITTORIO², P. FAZZI³, F. VIVIANI⁴, G. SPERONI⁴, G.A. BERTOLA⁴, N. RAFFAELLI⁴

¹*Biologo Tecnico Faunistico, Consulente scientifico Parco Regionale delle Alpi Apuane;*
²*Biologo Tecnico Faunistico;* ³*Biologo;* ⁴*Ente Parco Regionale delle Alpi Apuane – U.O.S. “Vigilanza e gestione della fauna”*

La presenza del lupo (*Canis Lupus L.*) sulle Alpi Apuane è stata documentata nell'anno 2008 tramite l'analisi genetica di campioni fecali, dopo circa un secolo dall'estinzione locale della specie. Negli anni successivi il ritrovamento saltuario di altri campioni fecali lasciava supporre una frequentazione ricorrente del lupo sul territorio, confermata, nel corso del 2011 e nei primi mesi del 2012, con reperti oggettivi (foto e riprese video) ritraenti un numero minimo accertato di due esemplari, rilevati in due zone distinte del Parco Regionale delle Alpi Apuane. Tali reperti sono stati ottenuti mediante fototrappolaggio. La presenza del lupo nel Parco va contestualizzata all'interno del trend di ricolonizzazione mostrato dalla specie, in Italia, a partire dagli anni '90 del secolo scorso; con i risultati conseguiti non è possibile far ancora emergere ipotesi circa gli aspetti quantitativi del fenomeno di supposta ricolonizzazione delle Alpi Apuane da parte del lupo, ma si ottengono comunque importanti elementi esclusivi e nuovi, che contribuiscono a consolidare l'idea, già emersa dai dati genetici, che il territorio del Parco possa rappresentare un altro ambito nel quale la specie stia andando a recuperare porzioni del suo originario areale peninsulare. Nello specifico dei dati mostrati, si può ipotizzare che gli individui rilevati (tramite 20 “eventi” di fototrappolaggio, che mostrano gruppi di 1 o 2 esemplari, in un arco temporale di 7 mesi nella zona delle Alpi Apuane centrali) appartengano a due nuclei differenti, e che si tratti quindi di animali diversi. Alla luce di ciò, indagini scientifiche successive ed intensive si rendono necessarie per verificare l'esistenza o meno di nuclei stabili e riproduttivi. Questi risultati preliminari sembrano indicare una crescente complessità e sviluppo delle reti ecologiche nel Parco Regionale delle Alpi Apuane, con un elevato grado di biodiversità da salvaguardare e gestire in maniera sostenibile nel miglior modo possibile.

LEVELS OF BENZO[A]PYRENE FOLLOWING SUBCHRONIC EXPOSURE IN MEDITERRANEAN MUSSELS (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) AND SEA BREAMS (*SPARUS AURATA*)

P. LO CASCIO¹, R. ZENA², D. PALOMBIERI¹, A. ALESCI¹, C. DE STEFANO³, A. SAIJA², D. TROMBETTA²

¹Dept. Food and Environmental Science "G. Stagno d'Alcontres" of Science FF.MM.NN. Faculty, ²Dept. Pharmaco-biological of Pharmacy Faculty, ³Dept. of Veterinary Public Health, of Veterinary Medicine Faculty, University of Messina, Italy

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous organic compounds, whose occurrence in food may be due to environmental contamination, processing or domestic cooking methods. PAHs are of health concern due to the carcinogenicity shown by many of them, and in particular by benzopy[a]rene, B[a]P, the most studied compound, generally used as a marker of PAH class. B[a]P is formed during incomplete combustion of organic matter and is a prevalent environmental pollutant. B[a]P has been detected in food ranging from <0.1 to 7.2 mg/kg (ATSDR, 1995). The aim of this study was to measure the content of B[a]P in a species of aquatic invertebrates (Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*) and vertebrates (sea bream, *Sparus aurata*) after subchronic exposure (12, 24, or 72 h) to different B[a]P doses (0.5, 1 and 2mg/L B[a]P in DMSO 0.005%), being controls exposed only to the vehicle (DMSO 0.005%). The results were discussed taking into consideration the European limits for food. Quality and quantitative analysis of B[a]P was performed by means of a high-performance liquid chromatograph (Varian, Australia) equipped with a Supelco Sil LC-PAH column and a fluorimetric detector (Hewlett Packard 1046A). The results revealed higher B[a]P concentrations in mussels than in sea breams, confirming their role as bio-indicators and filtering organisms, since not provided with a physiological or biochemical mechanisms able to regulate the tissue concentrations of contaminants. In fact the mussels have accumulated B[a]P in their tissues proportionally to the amount of the pollutant and with high values (expressed as mean±SD) already at a concentration of 0.5mg/L (1,659±0,217, 4,553±0,274, 6,180±0,411 µg/g f.w., respectively). In sea breams, however, there is no bioaccumulation of B[a]P independently on the dose used (1,876±0,20, 1,658±0,50, 0,809±0,23 µg/g f.w., respectively). Therefore, mussels can perform an important ecological service by keeping our streams and rivers clean.

EFFETTO ANTIGENOTOSSICO DI α -TOCOFEROLO E ANTOCIANINA SU CELLULE EMBRIONALI DI SPIGOLA

V. STINGO, I.V. VALENTINO, L. SAPUTO, L. ROCCO

Dipartimento di Scienze della Vita, Via Vivaldi, 43, Caserta

Numerosi dati in letteratura forniscono prove convincenti che le specie reattive dell'ossigeno svolgono un ruolo nel processo di carcinogenesi in vivo e in vitro. Agenti che sono intermedi catalitici, scavenger di ossidoriduzioni, e che vengono utilizzati come antiossidanti, hanno mostrato di inibire diversi passaggi nella trasformazione neoplastica e di difendere le cellule in un modo che può variare tra specie e tessuti. Al fine di valutare l'eventuale effetto antigenotossico di alcune sostanze, i nostri studi si sono focalizzati su due antiossidanti, α -tocoferolo (Vitamina E) e Antocianina. Il primo, presente negli alimenti di origine vegetale, è il più importante antiossidante lipofilo coinvolto in numerose funzioni biologiche e fisiologiche. Il secondo, presente in *Aronia melanocarpa* e noto come potente antiossidante e antinfiammatorio, appartiene alla famiglia dei flavonoidi, che in virtù delle sue proprietà intrinseche, è in grado di compromettere la produzione dei ROS, modulare l'attività dell'acido arachidonico e di inibire la produzione di ossido nitrico. È stato valutato l'effetto protettivo di tali sostanze sulla genotossicità indotta dal Musk Xylene mediante studi di danno cellulare in vitro utilizzando la linea cellulare embrionale DLEC (*Dicentrarchus labrax embryonic cells*) mediante tre differenti metodi: Test Comet, Diffusion assay e RAPD-PCR. La co-somministrazione dei due antiossidanti insieme allo xylene, testati alla concentrazione di un 1 mg/L rispettivamente, ha determinato una diminuzione della percentuale di danno riscontrata mediante Test Comet e Diffusion assay rispetto al gruppo trattato solo con lo xylene; mediante RAPD-PCR è stata evidenziata la loro capacità anti-genotossica anche a livello molecolare. Dai risultati ottenuti si evince che sia la vitamina E che l'antocianina svolgono un'azione antigenotossica, stabilizzando probabilmente i radicali liberi, attraverso i quali si pensa espliciti la sua funzione genotossica il muschio xylene, e che l'Antocianina espleta, in vitro, un'attività antiossidante e antigenotossica più elevata rispetto alla Vitamina E. Tale azione permetterebbe ai sistemi naturali di difesa della cellula di attivarsi, riducendo in questo modo il danno al DNA.

VALUTAZIONE DELLA GENOTOSSICITÀ DI NANOPARTICELLE DI TiO₂ IN SPECIE ACQUATICHE IN PRESENZA DI METALLI

I. V. VALENTINO, L. ROCCO, E. CUSANO, V. STINGO

Dipartimento di Scienze della Vita, Via Vivaldi, 43, Caserta

Il rilascio di nanoparticelle (NP), da rifiuti industriali o dallo smaltimento di quelli di origine commerciale e di uso domestico risulta elevato, visto l'aumento della produzione su scala mondiale. Le NP di biossido di titanio (n-TiO₂) sono fra quelle più utilizzate con ben due milioni di tonnellate all'anno. Il presente lavoro si propone di indagare il potenziale genotossico delle n-TiO₂ singole ed in combinazione con un metallo, il Cadmio, in due specie marine quali il mitilo Mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*) e la spigola (*Dicentrarchus labrax*) e nel modello sperimentale *Danio rerio*, mediante esperimenti *in vivo* ed *in vitro*, studiando i seguenti bersagli biologici: genotossicità in termini di rotture al DNA, apoptosi e mutazioni puntiformi. Il Cd è stato scelto sia sulla base delle evidenti capacità di trasporto delle n-TiO₂ in specie ittiche, sia perché risulta una sostanza a grande rilevanza ecotossicologica. È stato selezionato, inoltre, al fine di elucidare il potenziale ruolo di co-vettore del TiO₂. Le indagini si sono concentrate su organi e tipi cellulari particolarmente rilevanti per la loro funzione di interfaccia con l'ambiente acquatico (come le branchie), particolarmente attivi nel metabolismo di contaminanti ambientali (come l'epatopancreas ed il fegato) o rappresentativi di una diffusione sistemica degli effetti potenzialmente indotti dall'esposizione alle sostanze e miscele oggetto dell'indagine (come eritrociti e muscolo). Per valutare il possibile effetto genotossico del biossido di titanio sono stati utilizzati in sinergia il Comet Test, il Diffusion Assay e la RAPD-PCR, dei quali si fa uso di routine per evidenziare la relazione tra agenti genotossici e danno al materiale genetico indotto negli animali dell'ecosistema acquatico. Le colture trattate con nanoparticelle di TiO₂ (1-10 µg/ml), dosate singolarmente o in combinazione con Cd (0.1 mg/L) e l'esposizione di mitili, branzini e zebrafish (*in vivo*) alle stesse sostanze e dosi utilizzate per le prove *in vitro* hanno mostrato, in linea generale, elevati effetti genotossici della nanoparticella in esame, dose e tempo dipendenti. Sono in atto ulteriori esperimenti ed approfondite analisi dei dati ottenuti fin ora, anche mediante tecniche di tossicologia computazionale.

A PHYLOGEOGRAPHICAL APPROACH TO THE TAXONOMY OF THE *STENOSIS BRENTHOIDES* GROUP (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)

C. BAVIERA¹, S. STROSCIO¹, G. LO PARO¹, P. LEO²

¹Department of Biological and Environmental Science – Messina University Viale Ferdinando Stagno d'Alcontres, 31 – 98166; ²Via Tola, 21 90128 Cagliari
email:cbaviera@unime.it

The deep misunderstanding in taxonomical identification and the subsequent distribution patterns of species traditionally attributed to the *Stenosis brenthoides* group, led us to develop a research project that combined morphological and molecular studies. *Stenosis brenthoides* (Rossi, 1790), for long time was confused with *Stenosis sardoa* (Küster, 1848); following the catalogue of Löbl & Smetana (2008), *S. sardoa* includes three subspecies: *S. sardoa sardoa*, described from Sardinia and with a wide Thyrrenic distribution, *S. sardoa ardoini* Canzoneri, 1970, described from Rome and *S. sardoa laeviventris* Desbrochers des Loges, 1881, a subspecies, of doubtful attribution, that isn't present in Italy. *S. sardoa duchoni* Antoine, 1948, described from Messina, is actually a synonymous of the typical form. This latter form was been separated from the typical form mainly by aedeagic characters while *S. s. ardoini* for external characters. Were reported Sicilian specimens showing intermediate characteristics. The *brenthoides* group is furthermore composed by *S. intermedia* (Solier, 1838), and *S. melitana* Reitter, 1894. Topo-typical specimens were obtained from Sardinia, Lazio and Messina, in addition to several Sicilian and Calabrian sites. For each sample we carried out a morphological and a molecular study. We used mitochondrial markers (COII and 16S) that we found highly resolute in previous studies on Tenebrionidae. The phylogeographic history of this species was reconstructed applying phylogenetic methods. More than 1500 specimens from more than 200 sites were morphologically studied and the DNA of over 70 samples from more than 40 sites was analyzed. We found congruence between molecular and morphological data. In fact, it wasn't possible to distinguish with certainty *S. s. ardoini* and *S. s. duchoni* from *S. s. sardoa* nor by external neither by aedeagic characters. Even the molecular analysis didn't support the separation between this subspecies. Specimens from Trapani showed a great molecular similarity with the Sardinian specimens, with which they share the same sequences of COII and 16S. It was also observed that *S. brenthoides* is strictly related, as evidenced by molecular markers, to *S. intermedia*.

Indice degli autori

Agnelli P.	94	Bishop J.	108
Agnese M.	41	Bo M.	28, 81
Aketarawong N.	66	Bocca M.	127
Alaia R.	61	Boero F.	85, 105
Alesci A.	119, 137	Bologna M.A.	78
Alibardi L.	112	Boldrin F.	129
Alifano P.	85	Bonadonna F.	22
Alimenti C.	134	Bonandin L.	109
Altiero T.	83	Bonardi A.	60
Altomare C.	128	Bonasoro F.	40
Amaroli A.	77, 88, 98, 102	Borney S.	117
Amore V.	99	Bottoni L.	60
Andolfi A.	128	Boyer M.	28
Andreuccetti P.	41	Brandmayr P.	5,17, 70, 103
Angiolillo M.	123	Bramucci M.	43
Anselmi M.	64	Brasiliano M.	73
Aquiloni L.	57,62	Bried J.	22
Arcangeli A.	35	Brundo M.V.	135
Arculeo M.	106	Brunelli E.	17, 82
Aucelli P.P.C.	126	Buonocore F.	86
Babbini S.	29	Burrone L.	89, 96
Baini F.	78	Cacace A.	61
Baldaccini N. E.	36, 79, 116	Cagnacci F.	73
Balducci G.M.	113	Caicci F.	108
Ballarin L.	80	Calabrò C.	84, 119
Baratti M.	116	Calò M.	84, 119
Barbaglio A.	40	Canapa A.	86
Barbanera F.	100	Candelori A.	134
Barske J.	12	Candia Carnevali M.D.	40
Barucca M.	86	Canese S.	123
Baviera C.	140	Cannarsa E.	14
Bavestrello G.	28, 81	Cannicci S.	15, 29
Beani L.	6	Cantamessa E.	77, 98
Belardinelli M.C.	97	Capaldo A.	44, 45, 48
Belci F.	27	Cappa F.	6, 58
Benato F.	112	Capriglione T.	87
Bernabò I.	82	Caprio E.	127
Bernini G.	8	Caputo V.	59, 87, 104
Bertapelle C.	122	Carcupino M.	9
Berti R.	132	Caricato R.	47
Bertola G.A.	71, 136	Carosi A.	68
Bertolani R.	83	Caruso D.	16
Bertolucci C.	25	Castracani C.	10
Bertucci V.	57	Casu M.	131
Bertuccio C.	84	Catalano G.	69
Betti F.	81	Cattalini F.	129
Bettini S.	101	Cerrano C.	81
Bessa F.	30	Cervella P.	7, 14
Biagi F.	9	Cervo R.	58, 64
Biggi F.	98	Cesari M.	83
Binda A.	56	Chessa M.	88
Biscotti M.A.	86	Chieffi Baccari G.	89, 96

Chioso C.	107	Fasulo S.	42, 111
Cilio S.	29	Fausto A.M.	86, 97
Circosta V.	70	Fazzi P.	71, 136
Cocca E.	87	Felline S.	47
Conti E.	34, 90	Ferguson-Smith M.A. ...	104
Coraggio F.	41	Ferrandino I.	114
Cornelli G.	124	Ferrando S.	77, 88, 98, 101, 102
Cosenza M.	69	Ferretti G.	54
Costa A.	107	Ferrero E.	5
Costa G.	90	Ferro D.	129
Cossu P.	131	Ficetola F.	56, 60
Crescente A.	82	Fioretti A.	81
Cucco M.	13	Foà A.	25
Curini-Galletti M.	131	Fochetti R.	99
Cusano E.	139	Foggi B.	54
Cutignano A.	47	Forcina G.	100
Cutuli G.	15	Forconi M.	86
D'Agata A.	42	Forestieri F.	70
D'Allestro V.	118	Forte M.	45, 48
D'Aniello B.	61, 91, 130	Forte N.	110
Dalla Valle L.	112	Franceschini V.	101
Dallai R.	6	Franchi E.	68
Dassi M.	56	Franchi N.	80
Dedola G.L.	131	Franzoi P.	9
De Bernardi F.	56, 108	Frati F.	34
De Bonis S.	61	Fratini S.	15, 26
De Falco M.	44, 45, 48	Frigato E.	25
De Stefano C.	137	Fulgione D.	110
Deidun A.	107	Fusani L.	12, 25, 31, 46
De Meo E.	41	Fusi M.	29
De Moro G.	86	Gaballo A.	85
Delfino G.	92	Gaetani B.	99
Della Seta D.	46	Gagliani M.C.	77
Denoël M.	82	Gagliardo A.	22
Dessi Fulgheri F.	46, 116	Gaino E.	28, 34, 118
Di Benedetto P.	40	Galanti G.	23
Di Camillo C.G.	81, 105	Galeotti P.	8
Di Cosmo A.	93, 122	Gallus L.	77, 88, 98, 102
Di Febraro M.	67	Gambardella C.	98, 102
Di Fiore M.M.	96	Gambellini G.	97
Di Giuseppe G.	134	Gambi M.C.	55
Di Vittorio I.	71, 136	Gambineri S.	30, 33
Di Veroli A.	118	Gambogi R.	36
Dini F.	134	Ganassi S.	128
Ducci L.	94	Gasperi G.	66
Edomi P.	57	Gattelli R.	113
Erra F.	123	Gay F.	44
Esposito M.G.	95	Genovesi P.	53
Evidente A.	128	Gerdol M.	57, 86
Faimali M.	102	Gherardi F.	54, 57, 62, 63, 64
Fabrizi A.	118	Ghetti L.	68
Faggio C.	133	Giangrande A.	55
Falchetto M.	66	Giannattasio S.	113
Farabollini F.	46	Giannetto A.	42
Falvo S.	89, 96	Giannetto D.	68
Fasola M.	8	Giglio A.	103

Giomi F.....	29	MacDonald D.W.....	69
Giovannelli F.....	62	Maddaloni M.....	44
Giovannini I.....	83	Maggini I.....	31
Giovannotti M.....	59, 104	Magliozzi L.....	91
Gissi C.....	108	Maisano M.....	42, 111
Giuliani C.....	54	Makapedua D.M.....	86
Giulianini P.....	57, 103	Malacarne G.....	13
Giunchi D.....	24, 36, 116	Malacrida A.R.....	66
Golia S.....	70	Maltagliati G.....	94
Gomulski L.M.....	66	Manenti R.....	56
Goncalves V.....	63	Manfrin C.....	57
Gorbi S.....	47	Manni M.....	66
Goretti E.....	118	Manni L.....	108
Gottardo M.....	6	Mantovani B.....	11, 109, 125
Grasso D.A.....	10	Marchini A.....	54, 65
Grasso R.....	79, 116	Marletta A.....	90
Gravili C.....	85, 105	Marques J.C.....	30
Grenna M.....	13	Marrone F.....	106
Griggio F.....	108	Martino M.P.....	7
Grimaldi M.C.....	114	Marson L.....	57
Guaita C.....	94	Maselli V.....	110
Guerra L.....	97	Masin S.....	60
Guerrini M.....	100	Masini M.A.....	77, 98, 102
Guidetti R.....	83	Mastacusa V.....	123
Letto F.....	103	Mauceri A.....	42, 111
Inghilesi A.F.....	62, 64	Mazza G.....	62, 64
Insom E.....	132	Mazzei V.....	111
Laforgia V.....	44, 45, 48	Mazzone F.....	120
Laghezza Masci V.....	97	Meconcelli S.....	58
Lai T.....	131	Melone G.....	124
Lambardi P.....	22	Mencacci R.....	24
Lancieri M.....	95	Menchetti M.....	67
Lauriano E.R.....	84, 119	Mende M.....	32
Lavorato M.....	82	Mercatelli L.....	23
Lazzari M.....	101	Mercurio C.....	40
Leo P.....	140	Messina A.D.....	69
Letizia F.....	49	Messina G.....	16
Lezzi M.....	85	Micarelli P.....	17
Limatola E.....	41	Miccichè R.....	69
Lionetto M.G.....	47	Michieli F.....	112
Lo Brutto S.....	106	Minelli D.....	113
Lo Cascio P.....	84, 119, 137	Mingozzi T.....	24
Locatello L.....	8	Mollo E.....	47
Lodola A.....	65	Monaco A.....	114
Lombardo B.M.....	16, 107	Montanini S.....	115
Longo G.....	111	Montesanto G.....	16, 107
Lorenzi M.C.....	7	Morescalchi M.A.....	87
Lorenzoni M.....	68	Mori A.....	10, 116
Lo Paro G.....	140	Mori E.....	67
Loy A.....	73, 126	Mori L.....	83
Lucchesi M.....	71, 136	Mori M.....	81
Luchetti A.....	11, 109, 125	Mosconi G.....	43
Luna M.....	118	Natalotto A.....	42
Lupi S.....	31	Neves Dos Santos T.R.....	65
Luporini P.....	134	Nicolino M.....	117
Luschi P.....	22, 24	Nisi Cerioni P.....	59, 104

Nosi D.....	92	Rebelo R.....	63
Nouira S.....	116	Rebora M.....	34
Nourisson D.....	30, 33	Regoli F.....	47
O'Brien P.C.M.....	104	Rens W.....	104
Occhipinti-Ambrogi A.....	54, 65	Ricci C.....	124
Oliveto R.....	73	Ricci F.....	134
Olmo E.....	86, 87, 104	Ricci M.....	125
Padoa-Schioppa E.....	60	Rizzo A.....	126
Paganelli D.....	65	Rocco L.....	138, 139
Palermo F.....	43	Rodriguez F.....	116
Palestrini C.....	120, 121	Rolando A.....	127
Pallavicini A.....	57, 86	Rosati L.....	41
Pallottini M.....	118	Rossano C.....	30, 33
Palombieri D.....	84, 119, 137	Rossi M.....	88
Panzica G.C.....	39	Rubolini D.....	8
Paolillo G.....	70	Ruggeri P.....	59
Parise G.....	24	Sabatini M.....	128
Paroncini P.....	81	Sabelli B.....	113
Pedicillo G.....	68	Sacchi R.....	8
Pellegrino G.....	35	Saija A.....	137
Pennacchio F.....	64	Salerno G.....	34
Pennati R.....	108	Sanna D.....	131
Pergolizzi S.....	84, 119	Santangelo G.....	123
Perrotta E.....	103	Santillo A.....	89, 96
Pessani D.....	27	Santini G.....	94
Pezzino E.....	16	Santoro R.....	35
Piazza F.....	57	Santovito G.....	129
Piazza V.....	102	Saputo V.....	138
Piccinni E.....	129	Sato A.....	108
Pieraccini G.....	58	Savini D.....	65
Piersanti S.....	34	Scandurra A.....	91, 130
Pinelli C.....	61	Scapigliati G.....	86
Piraino S.....	105	Scapini F.....	30, 33
Piras F.....	9	Scarpa F.....	131
Pitzalis M.....	78	Scharti M.....	86
Pivotti I.....	118	Schiafone A.....	103
Pizzo A.....	120, 121	Schiavon F.....	80
Pizzolante G.....	85	Schleicherová D.....	7
Pizzolotto R.....	5	Schlinger B.A.....	12
Polese G.....	61, 93, 110, 122	Sciarrillo R.....	45, 48
Pollonara E.....	116	Scoccia F.....	28
Pompei L.....	68	Scolari F.....	66
Porri F.....	29	Scorpio V.....	126
Pradella D.....	58	Scudiero R.....	95
Prato-Previde E.....	130	Sella G.....	7, 14
Preatoni D.....	73	Sellitti A.....	45, 48
Priori C.....	123	Serrano J.....	5
Prisco M.....	41	Siesa M.....	56
Protti I.....	58	Simonetta A.....	132
Pucci A.....	132	Simonini R.....	7
Quassinti L.....	43	Sineo L.....	69
Quercioli F.....	92	Spena M.T.....	79, 116
Raffaelli N.....	71, 136	Sperone E.....	17, 35, 70
Randi M.R.....	115	Speroni G.....	71, 136
Reale S.....	69	Splendiani A.....	59, 104
Rebecchi L.....	83	Stabili L.....	85

Stagioni M.....	115	Urso S.....	24
Stasolla G.	64	Valdrè G.....	115
Stingo V.	138, 139	Valentino V.....	138, 139
Stoffolano J.C.Jr.	97	Valiante S.....	44, 45, 48
Stroscio S.	140	Vallesi A.	134
Sugni M.....	40	Valli M.	109
Tagarelli A.	103	Vallisneri M.	115
Taiti S.....	78	Valsecchi P.....	130
Talarico F.F.....	103	Vanni L.	36
Terlizzi A.	47	Vannini M.	15, 26
Tirelli T.	27	Vanzi F.....	92
Tommasini S.	115	Verderame M.	41
Torre A.....	133	Vicidomini R.....	110
Tredici M.	85	Vigna Taglianti A.	78
Tremolada F.	40	Viscuso R.	90, 135
Tricarico E.	54, 62	Vitale D.	90, 135
Trifonov V.A.	104	Vitale F.....	69
Trinchella F.....	95	Viviani F.	71, 136
Tringali L.M.....	35	von Hardenberg A.....	117
Tripepi S.	17, 35, 70, 82	Yamaguchi N.	69
Trischitta F.....	133	Zagaria D.	121
Trocchia S.	49	Zapparoli M.	78
Trombetta D.....	137	Wikelski M.....	22
Troncone L.....	122	Winlow W.....	93
Turillazzi S.....	58	Zena R.	119, 137
Tusa S.	69	Zuk M.....	1
Ugolini A.	23		
Ulloa Severino F.P.	93, 122		