

**ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITA' DI BOLOGNA  
SCUOLA DI SCIENZE  
Corso di laurea magistrale in Biologia Marina**

**Tasso di crescita di *Pinna nobilis* (Mollusca: Bivalvia) in due popolazioni, a Calpe e nell'Isola di Tabarca (Alicante, Mediterraneo Occidentale)**

Tesi di laurea in Alterazione e conservazione degli habitat marini

**Presentata da**

Sophie Valeria Piacentini

**Relatore**

Prof. Marco Abbiati

**Correlatore**

Dott. Josè Rafael Garcia March

I sessione

Anno Accademico 2016/2017

<b>1. Introduzione.....</b>	<b>3</b>
<b>2. <i>Pinna nobilis</i>.....</b>	<b>6</b>
2.1. Anatomia.....	8
2.2. Microstruttura della conchiglia.....	10
2.3. Biologia ed ecologia.....	14
2.3.1. Crescita.....	16
2.3.2. Rigenerazione della conchiglia.....	19
2.4. Distribuzione geografica.....	21
2.4.1. Mar Mediterraneo.....	21
2.4.2. Mar Mediterraneo Iberico.....	23
2.5. Minacce.....	24
<b>3. Materiali e Metodi.....</b>	<b>27</b>
3.1. Area di studio e raccolta campioni.....	27
3.2. Trattamento campioni in laboratorio.....	29
3.3. Analisi dei campioni e calcolo dei modelli di crescita.....	36
3.4. Analisi statistica.....	38
<b>4. Risultati.....</b>	<b>41</b>
4.1. Regressione tra lunghezza totale (Htr) e lunghezza del muscolo adduttore posteriore (MAPa).....	43
4.2. Stima dei registri interni di crescita persi a causa del fenomeno di erosione .....	47
4.2.1. Popolazione di Calpe.....	47
4.2.2. Popolazione dell'Isola di Tabarca.....	51
4.3. Stima dei parametri di crescita: modello di Von Bertalanffy.....	58
4.3.1. Popolazione di Calpe.....	58
4.3.2. Popolazione dell'Isola di Tabarca.....	61
4.3.3. Confronto fra le popolazioni di Calpe e dell'Isola di Tabarca.....	62
<b>5. Discussione.....</b>	<b>64</b>
<b>6. Conclusioni.....</b>	<b>71</b>
<b>7. Bibliografia.....</b>	<b>74</b>

## 1. Introduzione

La determinazione del tasso di crescita di una specie richiede lo studio della relazione tra una dimensione misurabile dell'individuo e la sua età. La conoscenza della variabilità temporale di tale relazione permette l'elaborazione delle curve di crescita (García-March e Márquez-Aliaga, 2007). Il passaggio più delicato consiste proprio nell'identificazione di una misura, che sia correlata con l'età dell'individuo (Margaleff, 1998). Monitorare la crescita di individui in condizioni controllate è il metodo più efficace, per tassi di crescita misurabili, ma risulta essere un processo dispendioso, oltre che molto lento. Un altro metodo è quello che si basa sullo studio della sclerocronologia, disciplina scientifica che si pone come finalità la ricostruzione del passato degli organismi viventi. È una tecnica molto utile per valutare l'età di individui e i tassi di crescita di una popolazione (Francillon-Vieillot *et al.* 1990). La sclerocronologia (dal greco σκληρός - sklēròs -, duro, χρόνος - chronos -, tempo, e λογία -loghía -, studio) misura infatti la crescita degli individui attraverso lo studio di strutture calcificate, come gusci, conchiglie, ossa e denti, al fine di ricostruire le fasi di sviluppo di un organismo, per poterne determinarne l'età. Negli invertebrati le strutture calcificate, seppure con intensità differente, hanno la potenzialità di avere un accrescimento continuo durante la vita dell'individuo, agendo dunque come "registratori". Nel caso dei molluschi bivalvi, quando l'individuo cresce, la conchiglia si sviluppa di pari passo. Lo studio dei suoi anelli di crescita può fornire informazioni, oltre che sull'età dell'individuo, anche sull'ambiente (parametri come temperatura, pH, disponibilità di nutrienti) e sulle condizioni climatiche nel quale l'organismo si è sviluppato. Tuttavia, l'accrescimento delle valve non è un processo costante e continuo. Quando gli individui sono esposti a condizioni non ottimali, ad esempio cambiamenti drastici di temperatura o scarsa disponibilità di cibo, il loro tasso di crescita viene rallentato; quando invece le condizioni migliorano, la crescita riprende normalmente. Molti autori hanno proposto metodi per stimare l'età e i parametri di crescita studiando le valve vuote di molluschi bivalvi morti. Una delle specie utilizzate, date l'elevate dimensioni delle valve, è *Pinna nobilis* (Linneaus, 1758), il più grande mollusco bivalve endemico del Mar Mediterraneo. Studiare il tasso di crescita di una popolazione e l'età di individui di *P. nobilis* è fondamentale per valutare lo stock, la resilienza di tale specie e per prendere decisioni riguardanti la sua protezione (Richardson *et al.*, 2004). Un altro aspetto interessante da analizzare è lo studio della distribuzione spaziale e di come questa possa influenzare la dinamica di popolazione e le modalità di accrescimento. Pochi sono i lavori riguardanti tale aspetto, tutti realizzati su ampie scale spaziali. Attualmente si può affermare che tale specie si distribuisce formando "meta-popolazioni", sotto-popolazioni isolate con livelli di connettività variabile (Butler *et al.*, 1993). Senza dubbio, il modello di distribuzione al quale si approssima una specie varia consideratamente a seconda dell'ampiezza della scala considerata (Garcia-March,

2005). Le meta-popolazioni di questa specie seguono la distribuzione di unità biotiche più grandi, come le praterie di *Posidonia oceanica*. In generale, la maggior parte degli esemplari si trova all'interno di praterie di fanerogame marine, o in prossimità di queste, mentre rari individui si localizzano al di fuori. Le metodologie utilizzate per lo studio della distribuzione di *P. nobilis* dipendono dalla scala dell'indagine. Lo studio del modello di distribuzione spaziale spesso viene effettuato utilizzando la distribuzione di Poisson come modello matematico (Elliott, 1983). La distribuzione poissoniana, detta anche legge degli eventi rari, è una distribuzione di probabilità discreta che viene utilizzata per rappresentare situazioni di conteggio del numero di occorrenze di eventi in un intervallo continuo (di tempo, di superficie, di lunghezza...). Tali eventi capitano in modo aleatorio, cioè casuale, nello spazio e nel tempo. Vari fattori possono influenzare la distribuzione spaziale di questa specie. Oltre alla presenza di praterie di *P. oceanica*, fonte di materia organica e riparo dalle forze idrodinamiche e dalla predazione, anche la composizione del substrato e la direzione delle correnti influiscono sulla distribuzione. Il regime idrodinamico è un altro elemento fondamentale che condiziona la struttura di popolazione, così come la presenza o meno di impatti antropici. In uno studio condotto su *Pinna rudis* (Nebot-Colomer *et al.*, 2016) è stata valutata la distribuzione spaziale, la densità di individui e la struttura di taglia di una popolazione all'interno di un'Area Marina Protetta (Arcipelago del Parco Nazionale di Cabrera, Mallorca, Isole Baleari, Spagna). È stata stimata anche l'età e i parametri di crescita della popolazione. Tale studio ha dimostrato che la distribuzione della specie è determinata dal tipo di habitat. La densità di individui varia enormemente nei differenti tipi di habitat presi in considerazione. Senza dubbio, nelle praterie di *P. oceanica* è stata riscontrata un'alta densità di individui. Nei fondali rocciosi e in quelli sabbiosi la densità risulta essere minore. Molti individui sono stati trovati all'interno di grotte; questo studio ha infatti dimostrato che *P. rudis* ha una preferenza per i fondali detritici delle grotte. Questi potrebbero fornire maggiore stabilità e supporto all'insediamento e alla crescita rispetto agli habitat più esposti e meno profondi. La più elevata densità di individui è stata riscontrata all'interno di un sifone, una grotta tubulare a forma di imbuto, con un fondale detritico a circa 30m di profondità. La pressione della pesca è un altro fattore che incide gravemente sulla densità e sulla struttura di taglia dei Pinnidae (Vafidis *et al.*, 2014). Nel Mar Egeo la pesca di questa specie risale alla metà del IX secolo a.c. (Zachariou-Mamaliga, 1986). Ad oggi, non esistono dati ufficiali sulla pesca di *P. nobilis*, a causa delle restrizioni dettate dalle Normative Europee, ma secondo la "Sponge-Fishermen Association" di Kalymnos (Dodecaneso, Grecia) è stimato un prelievo annuo di 1.5 t (peso umido senza conchiglia) (Katsanevakis *et al.*, 2011). Inoltre, preferenze nella raccolta di esemplari più grandi alterano la struttura di taglia e il potenziale riproduttivo delle popolazioni. La distribuzione di taglia all'interno di una popolazione,

così come la distribuzione spaziale e l'orientamento della conchiglia, sono tutti fattori legati, direttamente o indirettamente, all'idrodinamismo, elemento determinante nell'ecologia di questa specie. Esso influenza i parametri di popolazione, andando ad agire sulla disponibilità di cibo e riducendo la sopravvivenza di individui a causa dell'azione delle onde. Zavodnik (1967), Vicente *et al.* (1980) e García-March *et al.* (2007), hanno dimostrato che in *P. nobilis* la distribuzione di taglia all'interno di una popolazione è correlata con la profondità. Gli individui più piccoli sono più abbondanti in aree superficiali, mentre quelli più grandi sono predominanti in siti più profondi. Effetti simili si verificano anche in popolazioni di *P. rudis* (Nebot-Colomer *et al.*, 2016). Lo stress idrodinamico derivante dall'energia delle onde e l'eccessiva sospensione di sedimenti causata dal moto ondoso nelle acque meno profonde, sembrano siano le cause che producono tale discrepanza dimensionale (Garcia-March *et al.*, 2007b). Le correnti lente di fondo, ricche di particelle alimentari, possono influenzare invece l'orientamento della conchiglia (Combelles *et al.*, 1986). Lo studio, condotto nel Parco Nazionale di Port-Cros, in Francia, ha dimostrato che l'80% degli individui che si trovava ad una profondità compresa tra i 20 e i 26 m, mostrava un orientamento comune della conchiglia in direzione della scarpata, causata probabilmente dalla disponibilità di cibo. Solitamente, l'orientamento coerente degli individui si osserva nelle popolazioni più superficiali. È una strategia adottata dagli esemplari di *P. nobilis* per poter avere una minore superficie esposta al moto ondoso, il che garantisce una migliore resistenza alle forze idrodinamiche.

L'**obiettivo** di questa tesi è quello di fornire un contributo alle conoscenze sulla struttura di popolazione e sul tasso di crescita di *P. nobilis*. Si possono individuare due scopi principali:

1. individuare i modelli di crescita ed effettuare una stima d'età delle popolazioni di *P. nobilis*, in due località del Mediterraneo Occidentale: Calpe e Isola di Tabarca (Alicante, Spagna);
2. determinare lo stato di conservazione delle due popolazioni definendo quale delle due ha un maggior valore ecologico e in quale si riscontra uno stato critico di conservazione.

## 2. *Pinna nobilis*

*Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758), comunemente conosciuta come nacchera di mare, è il più grande mollusco bivalve endemico del Mediterraneo. Le sue grandi valve possono superare i 100cm di lunghezza, con esemplari che raggiungono i 27 anni di età (Garcia-March *et al.*, 2011). È un mollusco bivalve pteriomorfo, presente in Mar Mediterraneo a partire dalla fine del Miocene (Gomez-Alba, 1988). La densità media degli individui rilevata ad oggi è di circa 1-10 individui/100m<sup>2</sup> (Vicente 1990; Zavodnik 1991; Garcia-March 2006). Censire individui di *P. nobilis* è relativamente semplice, la principale difficoltà consiste nel localizzare gli individui, in particolare quelli di piccola taglia, tra le fitte foglie delle praterie di *Posidonia oceanica*, suo habitat naturale. Una strategia per migliorare la velocità di ricerca è quella di effettuare i campionamenti in autunno, dopo che le fanerogame hanno incominciato a cambiare le foglie senescenti, oppure eseguirli in seguito ad una mareggiata, che avrà rimosso parte delle foglie vecchie (Fig.1 e Fig.2).



Figura 1. Prateria di *Posidonia oceanica*. Tipica copertura di foglie durante i mesi estivi



Figura 2. Localizzazione di esemplari di *Pinna nobilis* all'interno della prateria di *Posidonia oceanica*

Le grandi dimensioni di *P. nobilis*, comuni a tutti i bivalvi della famiglia Pinnidae, sono dovute principalmente allo sviluppo del mantello lontano dai muscoli adduttori posteriori (Yonge, 1953). Le valve hanno forma triangolare, con una superficie più ampia nella parte posteriore e più stretta nella parte anteriore. È un organismo sessile e tale morfologia permette all'animale di vivere con l'apice anteriore infossato nel sedimento per circa un terzo della lunghezza della valva (Zavodnik *et al.*, 1991; Richardson *et al.*, 1999; Templado, 2004). L'ancoraggio al sedimento, come succede per molti altri Pteriomorpha, avviene grazie ai numerosi filamenti del bisso che permettono l'adesione a strutture solide presenti nel substrato, quali sabbia, bio-detriti, radici e rizomi di *P. oceanica*

(García-March, 2005). Nonostante ciò, la parte non infossata dell'animale, che costituisce la parte maggiore della sua lunghezza totale, risulta sostanzialmente non protetta. Gli individui giovani sono vulnerabili ai predatori (Vicente, 1990; Vicente e Moreteau, 1991; Fiorito e Gherardi, 1999) mentre gli esemplari più grandi sono minacciati dalla forza del moto ondoso e delle correnti (Foulquie e Dupuy, 2003; García-March, 2003). La tipica forma triangolare delle valve e la riduzione del muscolo adduttore anteriore, rispetto al muscolo adduttore posteriore, sono da considerarsi una conseguenza dell'adattamento all'adesione al substrato tramite i filamenti del bisso (Fig.3 e Fig.4).



Figura 3. Valva sinistra di un esemplare di *Pinna nobilis*, faccia esterna ed interna



Figura 4. Dettaglio impronte muscolo adduttore posteriore e muscolo adduttore anteriore

*P. nobilis* è considerata una specie minacciata (IUCN, *International Union for Conservation of Nature*) a causa della drastica riduzione delle sue popolazioni osservata a partire dalla metà del secolo scorso, causata principalmente dal deterioramento del suo habitat naturale, le praterie di *P. oceanica*, a causa di un aumento della pressione antropica nel Mar Mediterraneo (Vicente, 1990;

Ramos, 1998; García-March, 2003; Richardson *et al.*, 2004). Per questo motivo è stata inclusa nella lista delle specie di interesse per protezione “Les Espèces Marines à protéger en Méditerranée” (Zavodnik *et al.*, 1991; Vicente e Moreteau, 1991). Successivamente, la Commissione Europea l’ha inclusa nel catalogo delle specie di interesse comunitario per le quali è necessaria una protezione maggiore (lista di specie in pericolo o minacciate), Allegato II del protocollo relativo alle Aree Specialmente Protette e la Biodiversità in Mediterraneo (Protocollo ASP) adottato nella Convenzione di Barcellona (1995) e di Montecarlo (1996). È presente anche nell’Allegato IV della Direttiva Habitat 92/43/CEE, nel quale si stabiliscono le misure da adottare per proteggere la biodiversità nel Mediterraneo. Sulla base di tali atti ufficiali, è proibita la raccolta, la detenzione, il consumo, la commercializzazione e l’esposizione ai fini commerciali della specie, in quanto tali attività costituiscono un reato ambientale.

Nonostante l’interesse e la necessità di conservare questa specie, le conoscenze sulla sua biologia ed ecologia sono ancora scarse. È necessario sviluppare nuovi studi per comprendere meglio l’ecologia della specie e quindi valutare la velocità e il grado di deterioramento delle popolazioni (Vicente, 1990; Ramos, 1998; García-March 2003). Questo richiede una conoscenza dettagliata delle risorse necessarie per il suo sviluppo, dei fattori che ne limitano la distribuzione e delle relazioni biotiche con le altre specie bentoniche (competizione inter e intra-specifica, predazione, ecc.) e con l’ambiente. L’analisi della struttura e della dinamica di popolazione serve a determinare se la popolazione è in aumento o in diminuzione, e studi protratti nel tempo ci permettono di valutare le fluttuazioni naturali nella densità degli individui. Anche la conoscenza della distribuzione spaziale è un aspetto ecologico fondamentale per determinare il livello di aggregazione degli individui come risultato delle interazioni biotiche e abiotiche. L’aggiunta di nuovi dati di dinamica di popolazione, di densità di individui e di distribuzione spaziale permette di ridurre il “knowledge-gap” esistente, che limita lo sviluppo di strategie efficaci di conservazione.

## 2.1 Anatomia

Caratteristica distintiva del bivalve *Pinna nobilis* è senza dubbio il fatto che vive parzialmente infossata, per circa un terzo della sua lunghezza totale, nel sedimento (Fig.5).





Figura 5. Esemplare *Pinna nobilis* in natura

L'ancoraggio avviene tramite i filamenti del bisso, i quali si legano a strutture differenti presenti nel sedimento, quali sassi, sabbia, bio-detriti, radici e rizomi di fanerogame marine.

Il sistema del bisso di *P. nobilis* è dunque una struttura complessa specializzata nell'adesione dell'organismo al substrato. Il bisso completamente sviluppato di un adulto può essere formato da circa 20,000-30,000 filamenti, prevalentemente di natura proteica, che protrudono dall'animale da una fessura stretta presente nella parte anteriore della conchiglia. La forza e l'elasticità di questi filamenti è ancora ad oggi sconosciuta. Come in altri molluschi bivalvi, l'adesione al substrato è permessa dalla presenza di placche di adesione, anche se i lunghi filamenti, legandosi tra di loro, sono in grado di formare associazioni con radici e rizomi di *Posidonia oceanica*. Questa duplice modalità di adesione migliora l'ancoraggio al substrato (Garcia-March, 2006). Il sistema del bisso di *P. nobilis* è di scarsa utilità per lo spostamento, di fatti è alquanto improbabile che un esemplare possa disperdere i propri filamenti volontariamente per spostarsi di qualche metro, a discapito della propria vulnerabilità verso i predatori e verso le forze idrodinamiche (Garcia-March, 2005). La conchiglia è la parte più appariscente e la sua funzione è quella di sostegno e protezione dell'animale contenuto tra le due valve. Le due valve sono collegate dorsalmente da un legamento elastico, la cui funzione è quella di mantenerle unite. Questa condizione è probabilmente un adattamento al habitat semi-infaunale di questa specie, in modo da ridurre l'incorporazione di sedimento all'interno della cavità palleale (Garcia-March *et al.*, 2008). Il legamento di *P. nobilis* è una struttura submarginale allungata, abbastanza complessa, che si estende lungo tutta la parte dorsale delle valve. Il corpo del mollusco è costituito esternamente da una tunica muscolare, a contatto con le valve, definita mantello, che racchiude tutte le strutture e gli organi nella sua cavità.

Il mantello è molto importante, poiché contiene le cellule ghiandolari responsabili della formazione della conchiglia, attraverso la produzione di conchiolina ed il rilascio di carbonato di calcio; inoltre il bordo mantellare ha funzione sensoriale e regola il flusso d'acqua all'interno delle valve. Strutture presenti nella cavità del mantello sono il piede, una struttura muscolare che aiuta a scavare nel substrato per favorire l'infossamento iniziale di *P. nobilis*, il muscolo adduttore posteriore, responsabile dell'attività di apertura e chiusura delle valve, definita "gaping activity", le branchie, impegnate in due funzioni fondamentali: nutrizione e respirazione, il cuore, la ghiandola del bisso e gli organi sessuali, posizionati nei pressi del bordo del mantello per facilitare l'espulsione dei gameti. Trattandosi di una specie minacciata e oggetto di protezione pochi studi sono stati condotti sugli organi riproduttivi di *P. nobilis*. La struttura di spermatogoni, spermatociti, spermatidi e spermatozoi, così come il processo generale di oogenesi, sono simili a quelli descritti per altri bivalvi della sottoclasse Pteriomorpha (De Gaulejac *et al.*, 1995a, b; Fang e Qi, 1988; Albertini, 1985; Pipe, 1987).

## 2.2 Microstruttura della conchiglia

Il mollusco bivalve *Pinna nobilis* presenta valve di grandi dimensioni, carattere distintivo e caratteristico di tale specie. Da un punto di vista microstrutturale, la conchiglia è formata da tre strati sovrapposti.

Il periostraco è lo strato proteico più esterno della conchiglia dei molluschi bivalvi ed è di natura organica. È costituito da conchiolina, una proteina corneificata, e può essere spesso o sottile; talvolta manca del tutto. In *P. nobilis* è uno strato molto sottile, che viene eroso velocemente dopo la deposizione (Yonge, 1953).

I due strati sottostanti, di natura inorganica, costituiscono l'ostraco: lo strato prismatico, formato da prismi regolari di calcite e lo strato madreperlaceo, formato da lamelle impilate di madreperla (Fig.6).

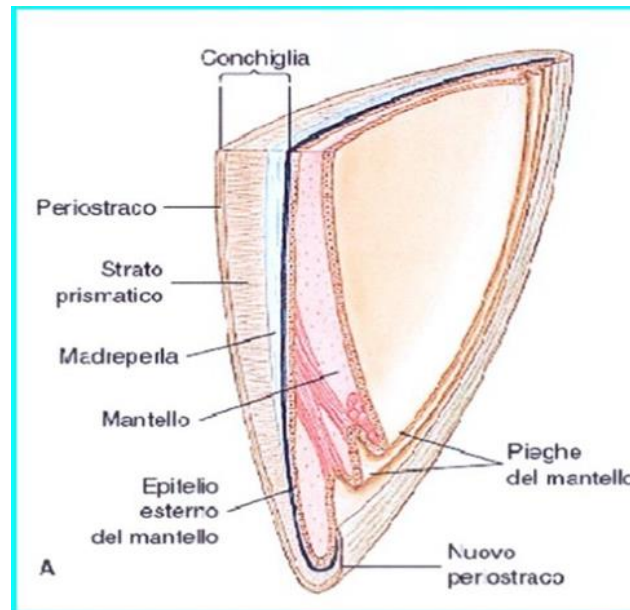


Figura 6. Strati costituenti la conchiglia dei molluschi bivalvi

Lo strato di calcite è costituito da prismi poliedrici di calcite, per questo viene definito anche strato prismatico regolare (Fig. 7). Questi prismi regolari possono raggiungere il diametro di 1mm. Nonostante la loro semplicità cristallografica, ogni prisma si comporta come un cristallo semplice, anche se i prismi di tale specie sono formati da strutture complesse che si sovrappongono a scale differenti. Sorprendentemente, tutte queste unità presentano esattamente la stessa ottica di orientamento dei loro tre assi, il che spiega l'effetto "monocristallo" di ogni singolo prisma (Marin *et al.*, 2011). Lo strato di calcite si estende per tutta la conchiglia. La quantità di conchiolina, sostanza organica di cui è composto il periostraco, che viene assorbita nello strato di calcite è molto alta, conferendo una grande flessibilità alla parte posteriore della conchiglia (Basso *et al.*, 2015). Anche la microstruttura dello strato madreperlaceo di *P. nobilis* è peculiare poiché mostra una disposizione ordinata di fogli di madreperla impilati in modo sfalsato, a creare uno spesso strato (Marin *et al.*, 2011) (Fig.8). Per questo motivo lo strato di madreperla viene definito come "fila impilata di fogli" ("row-stack nacre") (Carter e Clark, 1985; Marin *et al.*, 2011; Wise, 1970). Un'osservazione più accurata di questi strati mostra che la madreperla si deposita in almeno due fasi. Inizialmente, un primo strato di madreperla si deposita coprendo lo strato sottostante di calcite; successivamente un secondo strato, con le medesime caratteristiche, viene depositato. Questo copre e nasconde i dati precedentemente osservabili nella parte interna della conchiglia. In *P. nobilis*, a differenza di altri Pinnidae che depositano madreperla su singolo strato, lo spessore dello strato madreperlaceo aumenta fino a misurare vari millimetri. Tale strato è presente solamente nella parte anteriore della conchiglia, a partire dal punto di inserzione del muscolo adduttore

posteriore, crescendo in direzione posteriore con l'ontogenesi (Garcia-March and Marquez-Aliaga, 2007; Garcia-March *et al.*, 2011).



Figura 7. Prismi di calcite della conchiglia di *Pinna nobilis*

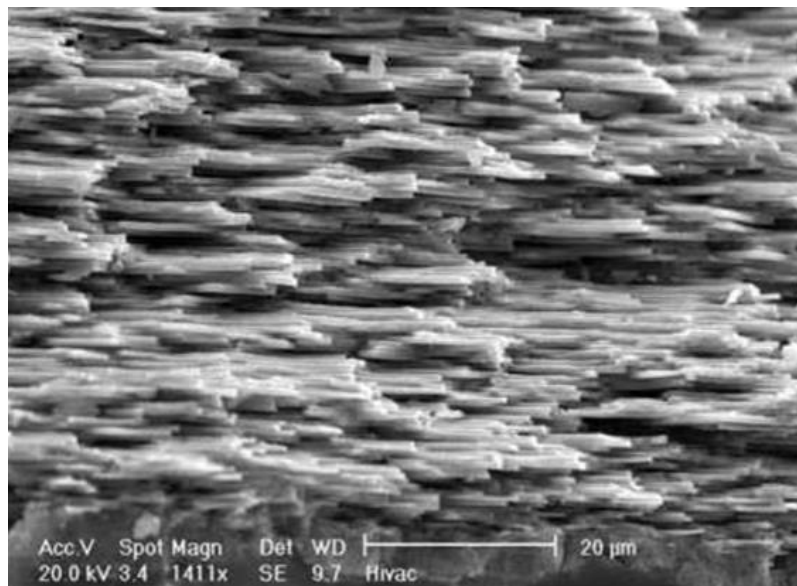


Figura 8. Fogli di madreperla della conchiglia di *Pinna nobilis*. Si nota lo strato di miostraco nella parte inferiore.

Differenze nello strato madreperlaceo si notano nei tre generi: in *Streptopinna* la madreperla è fortemente ridotta; in *Pinna* è presente un solco di calcite, cioè un cuneo di calcite che separa la madreperla in un lobo dorsale e ventrale; in *Atrina*, il genere più primitivo, lo strato interno di

madreperla è continuo, cioè non è presente alcun solco, ed è più sviluppato rispetto a quello di *Pinna* (Taylor *et al.*, 1969) (Fig.9).

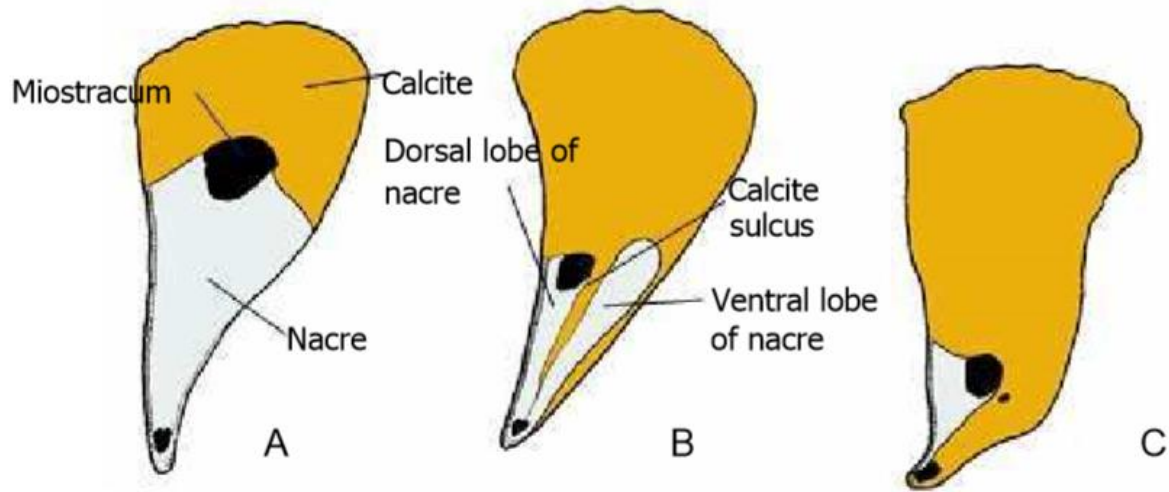
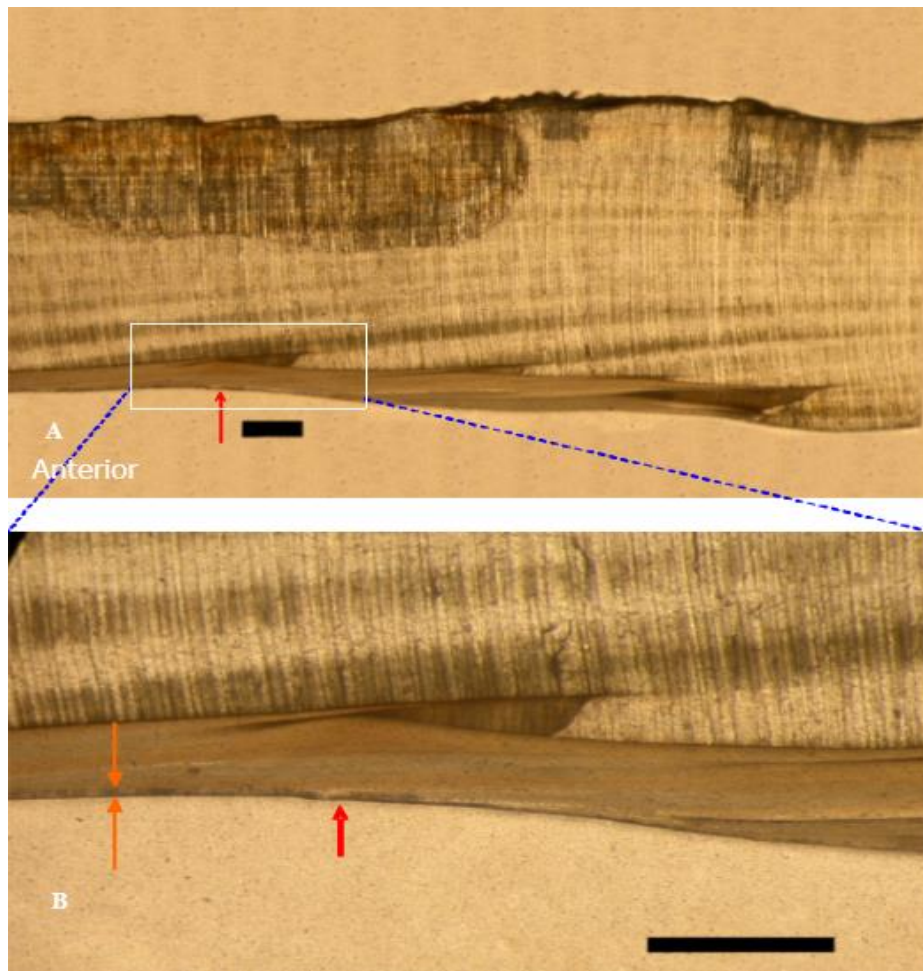


Figura 9. Estensione strati di calcite e madreperla nella conchiglia di differenti Pinnidae. A, *Atrina*. B, *Pinna*. C, *Streptopinna*.

Studi su *P. nobilis* hanno dimostrato che il cuneo di calcite, così come la madreperla impilata in fogli, sono coinvolti nel processo di apertura e chiusura delle valve, in quanto permettono una maggiore flessibilità dorso-ventrale del complesso delle valve (Garcia-March, 2005; Garcia-March *et al.*, 2008). Altri studi dimostrano che la combinazione di madreperla e calcite diminuisce gli eventi di rottura della conchiglia derivanti da un impatto. Secondo Carter (1980) questo vantaggio meccanico deriva dalla discontinuità microstrutturale e dalle differenze nelle proprietà meccaniche tra strati adiacenti di calcite e aragonite. Gli studi di Carter hanno inoltre dimostrato che anche lo spessore dello strato madreperlaceo in *P. nobilis* permette una grande resistenza alla rottura da impatti. La transizione tra lo strato di calcite e quello di madreperla è improvvisa ed è segnata dalla presenza di uno strato intermedio organico chitino-proteico (Cuif *et al.*, 1985; Marin *et al.*, 2011). Le lingue di madreperla, registri interni di crescita, sono inspessimenti a forma di cuneo dello strato madreperlaceo. La loro forma varia con l'ontogenesi ed è correlata con il tasso di crescita della conchiglia (Fig.10).

Il terzo strato costituente la conchiglia è il miostraco, costituito da prismi irregolari di aragonite. È uno strato minerale sottile e continuo che copre la madreperla, presente al di sotto dei muscoli adduttori (Taylor *et al.*, 1969). Questo strato si osserva solamente in individui adulti. Esso costituisce anche una parte del legamento, le creste legamentose. La prima cresta legamentosa non

solo è strutturalmente identica al miostraco, ma anche in continuo con esso (Garcia-March *et al.*, 2008).



**Figura 10.** A: Sezione trasversale del muscolo adduttore posteriore. Si nota lo strato di calcite (più spesso), lo strato di madreperla, le lingue madreperlacee e il sottile strato di miostraco. B: Dettaglio lingua di madreperla e miostraco. Le frecce arancioni indicano lo spessore dello strato di miostraco; la freccia rossa indica la parte più distale dello stesso.

### 2.3 Biologia ed ecologia

*Pinna nobilis* ha un ruolo ecologico molto importante, poiché filtra e trattiene grandi quantità di materia organica particolata, contribuendo al mantenimento della limpidezza dell'acqua.

Nonostante sia un organismo filtratore, studi sulla sua alimentazione dimostrano che preferisce ingerire detriti (95% del materiale ingerito), ma anche fitoplancton, micro- e meso-zooplancton e granuli di polline (Davenport *et al.*, 2011). Il regime di alimentazione potrebbe dipendere dalla specifica zona in cui si trovano gli esemplari. Nel loro studio, Alomar *et al.* (2015) affermano che la dieta di *P. nobilis* è legata principalmente all'ambiente pelagico, in cui il fitoplancton è la principale fonte di alimentazione, piuttosto che al comparto bentonico. Recentemente, analisi di acidi grassi

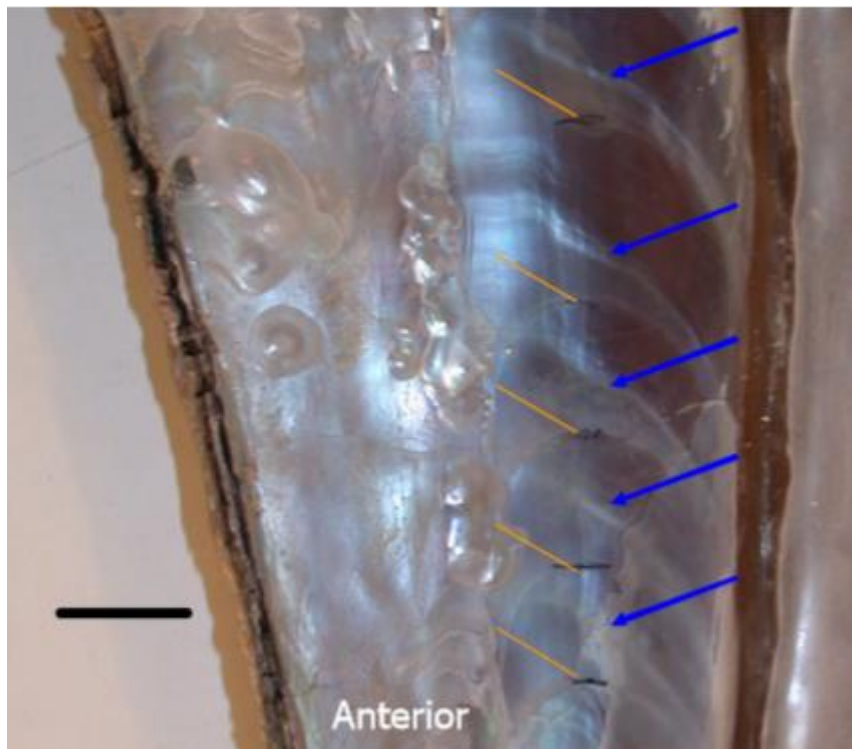
eseguite sulla ghiandola digestiva e sui tessuti del muscolo adduttore hanno dimostrato che esemplari più piccoli di *P. nobilis* sono prevalentemente associati ad una catena alimentare detritica, caratterizzata da acidi grassi saturi, mentre la dieta di esemplari con dimensioni maggiori conteneva una maggiore proporzione di acidi grassi polinsaturi (Najdek *et al.*, 2013). Ciò dimostra che gli individui più piccoli si alimentano all'interno dello strato bentonico, caratterizzato da un'elevata concentrazione di detriti. È interessante notare che *P. nobilis* trattiene un'alta quantità di materia organica derivante dall'ingestione di detriti e questa potrebbe rappresentare la fonte principale di materia organica per la specie (Trigos *et al.*, 2014a). Inoltre, le elevate concentrazioni di materiale organico in sospensione, all'interno di praterie di *Posidonia oceanica*, aumentano la disponibilità di cibo per tale specie, ciò potrebbe fornire una spiegazione alla loro stretta associazione di habitat con le praterie di fanerogame marine (Duarte *et al.*, 1999). Tale capacità facilita anche il reclutamento larvale. Le praterie di *P. oceanica* agiscono anche sull'idrodinamismo, andando ad influenzare, indirettamente, la crescita e la sopravvivenza degli individui di *P. nobilis* che vivono al loro interno. Gli esemplari, date l'elevate dimensioni delle valve, sono molto vulnerabili alle forze idrodinamiche; *P. oceanica*, dissipando l'energia delle onde e attenuandone il flusso, è in grado di ridurre tali forze (Hendriks *et al.*, 2011). Le fanerogame forniscono, infine, rifugio dai predatori, dato che gli esemplari, in particolar modo i giovanili, considerati più vulnerabili, riescono ad assumere un aspetto criptico all'interno delle dense praterie di *P. oceanica* (Hendriks *et al.*, 2007). Gli individui di *P. nobilis* rappresentano inoltre un substrato duro in un fondo marino molle, fornendo una superficie che può essere colonizzata da diverse specie della flora e della fauna bentoniche (Addis *et al.*, 2009).

Per quanto riguarda la sua biologia, la specie è ermafrodita sequenziale, cioè produce ed emette gameti femminili e maschili in periodi successivi. L'espulsione dei gameti avviene direttamente nell'acqua, solitamente nelle stagioni calde, mentre la fecondazione tra le cellule germinali di diversi individui dipende strettamente dall'azione delle correnti (Cabanellas-Reboredo *et al.*, 2009a). Dalla schiusa dell'uovo si origina una larva veliger che, per un periodo di tempo limitato di circa 10 giorni, è parte integrante dello zooplancton (Butler *et al.*, 1993). Successivamente, quando la conchiglia raggiunge una lunghezza di circa un millimetro, si deposita sul fondale dove comincerà la sua vita bentonica. Da quel momento in poi, tutta la vita di *P. nobilis* sarà limitata spazialmente al punto in cui si è fissata la conchiglia, essendo un organismo sessile. La maturità sessuale viene raggiunta tra il primo ed il secondo anno d'età (Richardson *et al.*, 1999).

### 2.3.1 Crescita

Lo studio della crescita di *Pinna nobilis in situ* è stato affrontato in diversi lavori pubblicati ma, a causa della lenta crescita degli individui adulti e della bassa densità di popolazione, giungere a risultati è stato difficoltoso, soprattutto per i tempi lunghi necessari a condurre tali analisi.

Un monitoraggio della crescita a lungo termine è stato condotto su due popolazioni localizzate ad Alicante, in Spagna (Garcia-March *et al.*, 2007a), in cui misurazioni ripetute sono state effettuate per oltre cinque anni. Nel tentativo di aggirare il tempo e lo sforzo necessario per monitorare la crescita di *P. nobilis in situ*, è stato sviluppato un altro approccio che sfrutta la sclerocronologia, andando ad analizzare le valve vuote. I registri di crescita si trovano nel lato interno della valva nel lobo dorsale di madreperla, in corrispondenza del muscolo adduttore posteriore. Esternamente formano le cosiddette PAMS, mentre internamente costituiscono le lingue di madreperla. Le impronte del muscolo adduttore posteriore (PAMS) vengono utilizzate per una stima primaria dell'età dell'individuo. Ogni PAMS è una marca curva a forma di semicerchio che si forma attorno al muscolo adduttore posteriore (Fig.11).



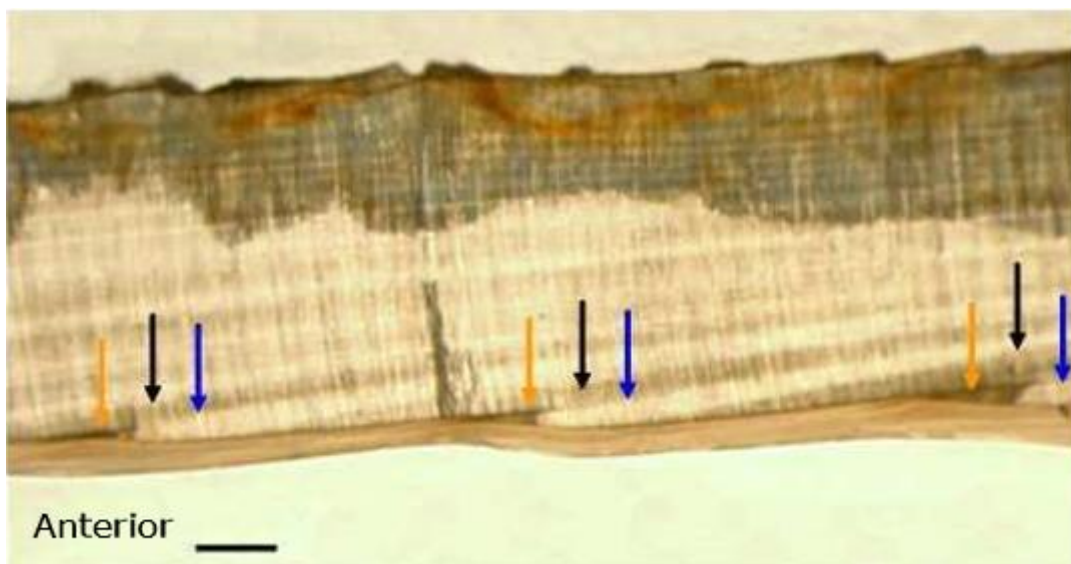
**Figura 11.** Posizione degli anelli (frecce arancioni) e delle linee (frecce blu) che stanno ad indicare l'impronta del muscolo adduttore posteriore, nel lobo dorsale di madreperla di *Pinna nobilis*. La parte dorsale della conchiglia è a sinistra, dove è presente il legamento.

Studi hanno confermato un alto grado di correlazione tra la lunghezza totale (Htr) e la distanza dei PAMS dalla parte più anteriore della conchiglia (Moreteau e Vicente, 1980), ed hanno individuato



una regressione lineare tra queste due misure. Successivamente Richardson *et al.*, (1999) hanno correlato le variazioni stagionali di temperatura del Mediterraneo Occidentale con il rapporto tra gli isotopi stabili dell'ossigeno registrati nello strato di calcite delle valve di *P. nobilis*, ed hanno osservato che le minori temperature osservate coincidono con i PAMS. Gli autori hanno così concluso che i PAMS si formano annualmente, e che una, massimo due impronte potevano essere perse in seguito alla seconda deposizione dello strato madreperlaceo. Riuscendo ad impostare una relazione tra PAMS e dimensione totale della valva, oppure tra PAMS e età dell'individuo, sono state calcolate le curve di crescita, usando il rapporto lunghezza-età (Richardson *et al.*, 1999, 2004; Kennedy *et al.*, 2001). Tuttavia, tali metodi non sono accurati poiché alcuni anelli di crescita possono essere oscurati, o meglio coperti, dalla madreperla depositata su di essi durante l'ontogenesi (Garcia-March *et al.*, 2007a). Per questo motivo l'utilizzo dei PAMS non è da considerare pienamente affidabile per determinare l'età di un individuo.

Andando ad osservare la conchiglia da un punto di vista microstrutturale, si osservano le lingue di madreperla che si introducono nella frangia di calcite, in direzione posteriore. Ogni lingua di madreperla è accompagnata da due strisce di calcite, dirette sempre in direzione posteriore. Queste strisce di calcite sono distinguibili a causa della loro colorazione differente (una chiara, l'altra opaca) (Fig.12).



**Figura 12.** Registro interno di crescita di *Pinna nobilis*. Le frecce arancioni indicano le lingue di madreperla; le frecce nere e blu indicano le strisce di calcite.

Negli esemplari adulti, è possibile osservare un'intrusione di miostraco, che si deposita al principio della lingua di madreperla, segnalando in questo modo la posizione del registro di crescita (Fig.13).

Inoltre, ogni registro di crescita si evidenzia per un ingrossamento dello strato di madreperla, precedente alla lingua di madreperla stessa, in direzione anteriore (Garcia-March et al., 2011).

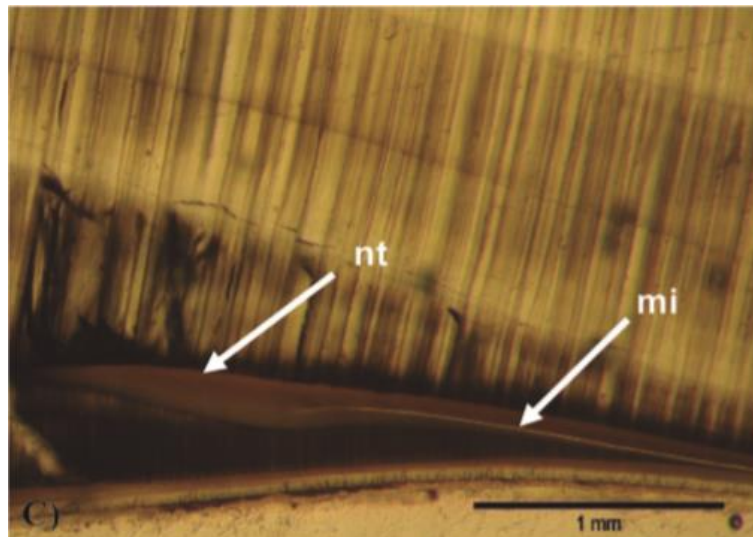


Figura 13. Intrusione di miostraco in prossimità della lingua di madreperla. nt, lingua madreperlacea; mi, miostraco

Una lingua madreperlacea completamente formata è il risultato di due cicli di deposizione che si verificano ogni sei mesi. Il primo ciclo di deposizione avviene tra fine dell'estate e all'inizio dell'inverno, cioè in autunno, il secondo avviene in primavera, in seguito alla pausa invernale. Questo riprende la parte anteriore del precedente deposito di madreperla, completando in questo modo la formazione della lingua madreperlacea e aumentando così il suo spessore. La nuova madreperla continua a crescere in direzione posteriore fino a dicembre, formando un nuovo cuneo di madreperla con un'intrusione di miostraco, indice della fine di un ciclo di crescita annuale, nonostante le due deposizioni corrispondano a due anni solari consecutivi (Garcia-March *et al.*, 2011; Carter *et al.*, 2012). Gli individui giovani fanno eccezione perché non mostrano queste pause di crescita invernali (Katsanevakis, 2007b; Richardson *et al.*, 1999) e non formano le lingue di madreperla. Il vero incremento annuale corrisponde ad un periodo di crescita ininterrotto della madreperla, che comprende il materiale depositato alla base del cuneo della precedente lingua di madreperla, fino al cuneo della nuova lingua madreperlacea (Garcia-March *et al.*, 2011). Questi dati microstrutturali hanno dimostrato che i registri interni si formano annualmente, e che non esiste una correlazione tra questi e i PAMS. Si può dunque affermare che i PAMS, in realtà, non si depositano annualmente, mentre le lingue madreperlacee sì (Garcia-March *et al.*, 2006). Quindi, per poter studiare l'età di individui utilizzando le valve raccolte sul fondo, i registri interni sono l'unica misura che deve essere analizzata accuratamente, nonostante questo metodo richieda una metodologia abbastanza complessa.

### 2.3.1 Rigenerazione della conchiglia

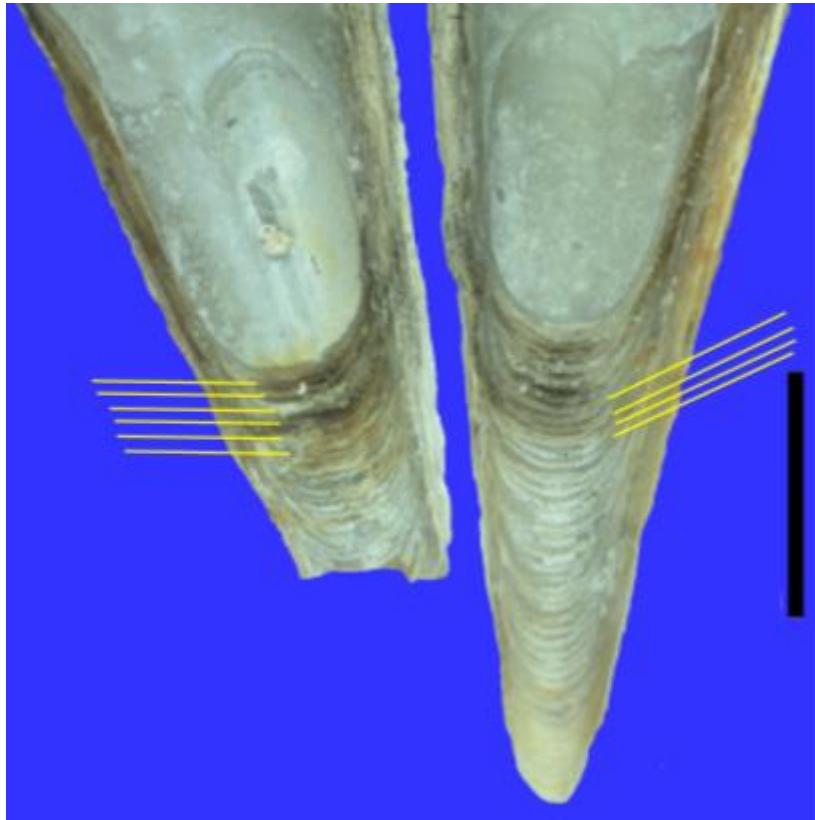
A differenza di altri bivalvi, la possibilità di retrarre i lobi del mantello dei Pinnidae permette che tutta l'estensione posteriore della conchiglia possa essere ricostruita in seguito ad un danneggiamento. Il deterioramento della conchiglia è molto comune nella parte posteriore, maggiormente esposta al moto ondoso, alle correnti e agli impatti antropici, per questo motivo diversi esemplari di *Pinna nobilis*, soprattutto quelli di dimensioni maggiori, hanno conchiglie che mostrano segni di riparazione (Yonge, 1953). La velocità di ricostruzione della conchiglia è inferiore rispetto alla velocità di crescita, anche se continua ad essere elevata (De Gaulejac, 1990). Concluso il processo di ricostruzione delle regioni rotte, la conchiglia è completa, anche se la linea di frattura risulta essere persistente in forma di un bordo irregolare sulla superficie di ogni valva (Yonge, 1953). (Fig.14).



Figura 14. Valva sinistra di *Pinna nobilis* ricostruita nella parte posteriore. Si nota la linea di frattura.

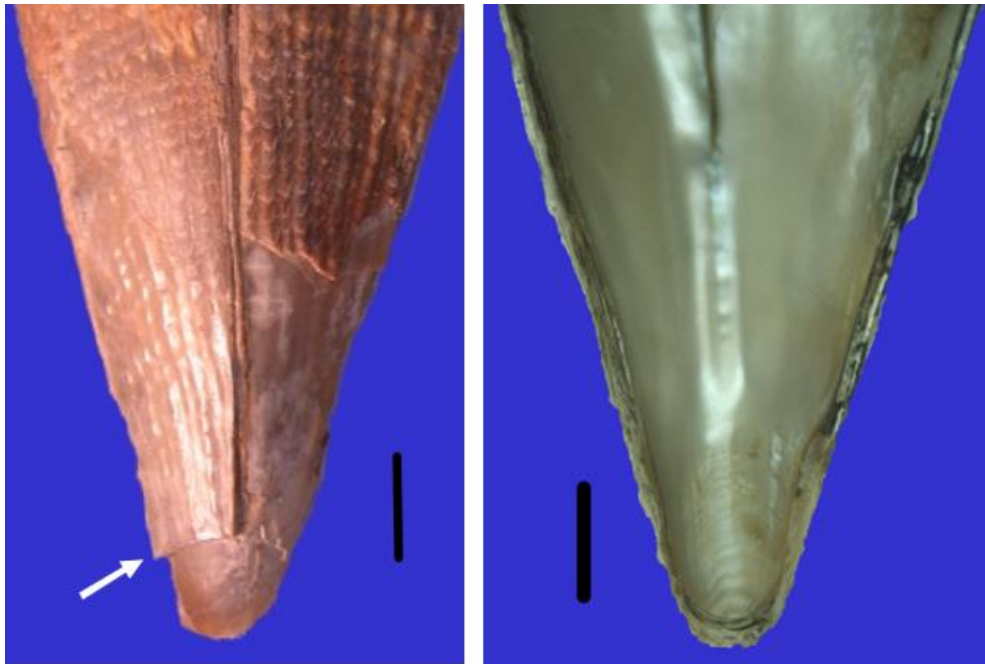
Anche la parte anteriore dell'animale può essere danneggiata a causa di una rottura o di un danno. Come conseguenza, l'animale si sposta gradualmente nella conchiglia in direzione posteriore. In tutti gli esemplari, le estremità anteriori delle valve vengono erose a causa della frizione con il substrato, prodotta quando l'animale si interra nel sedimento. Il mantello produce una serie di strati, nell'apice anteriore della conchiglia, per proteggere il muscolo adduttore anteriore in ogni stadio di crescita (Garcia-March, 2005). Come conseguenza, l'estremità anteriore mostra una serie di *loculi*

formati da questi strati temporali, che servono a proteggere l'animale dagli effetti derivanti dell'erosione della conchiglia (Fig. 15).



**Figura 15.** Esempio di *loculi* osservati nella parte anteriore della conchiglia, in prossimità dell'impronta del muscolo adduttore anteriore. Le frecce gialle indicano una sequenza di *loculi* ravvicinati.

Questi nuovi strati, che si generano durante la migrazione dei tessuti molli in direzione posteriore, garantiscono il mantenimento della forma a punta dell'apice della conchiglia. Con il tempo l'erosione eliminerà completamente le prove di tale danneggiamento, però la dimensione totale dell'individuo non rappresenterà fedelmente la sua età. Le valve così ricostruite assumono una forma più triangolare, che ricorda quella di un individuo giovanile. Unicamente attraverso uno studio dettagliato del suo apice si può comprendere che questo è stato ricostruito e che le parti vecchie della porzione danneggiata si sono perse a causa dell'erosione (Fig.16). Quando l'ancoraggio al substrato viene mantenuta e le valve possono aprirsi posteriormente, gli individui sono in grado di sopportare danni nella zona anteriore (Garcia-March, 2005). La ricostruzione della conchiglia in seguito ad un'aggressione, sia nella parte anteriore così come in quella posteriore, porta dunque a conseguenze nella morfologia finale delle valve.



**Figura 16.** Vista esterna ed interna dell'apice anteriore di una conchiglia ricostruita. La freccia bianca indica una parte del vecchio strato di madreperla che non è stato eroso. Nella figura a destra si nota che l'asse interno non si continua fino alla parte finale dell'apice, il che dimostra che si tratta di una conchiglia ricostruita.

## 2.4 Distribuzione geografica

Anche se esistono poche informazioni dettagliate riguardanti la distribuzione geografica di *Pinna nobilis*, a causa dello scarso numero di studi ecologici realizzati su questa specie, è ampiamente accettato e avvalorato da numerose osservazioni che tale specie abbia una distribuzione diffusa in tutto il Mar Mediterraneo, dai fondali con substrato molle in acque superficiali, fino ai 60m di profondità (Vicente, 1990; Templado *et al.*, 2004) (Fig.17).

### 2.4.1 Mar Mediterraneo

Nel bacino occidentale del Mar Mediterraneo, *Pinna nobilis* si localizza principalmente all'interno di praterie di *Posidonia oceanica*, anche se è facile incontrarla all'interno di praterie di altre fanerogame marine. Un esempio è *Cymodocea nodosa*, principalmente in lagune costiere, come la laguna del Mar Menor (Murcia, Spagna), oppure *Zostera marina*, nella laguna costiera del Mar Chica (Nador, Marocco) (Murillo, 1995). La sua presenza è stata segnalata anche in fondali costieri detritici e fondali fangosi con copertura di *Caulerpa prolifera* (Garcia-March, 2003).

Anche nel bacino orientale del Mar Mediterraneo, *P. nobilis* si localizza principalmente all'interno di praterie di fanerogame marine. Lungo le coste croate del Mar Adriatico, all'interno di lagune generate dalle numerose isole, è comune nelle praterie di *P. oceanica* e *C. nodosa*, dove si possono localizzare popolazioni con un elevato numero di individui (Siletic e Peharda, 2003). Nel bacino

levantino, sulle coste libanesi, generalmente si localizza tra le foglie di *Z. marina*; in questa zona Camille (1996) ha notato che gli esemplari raggiungevano dimensioni ridotte, probabilmente a causa di una scarsità di risorse trofiche. Esemplari sono stati localizzati anche nel Mar di Marmara (Turchia) e nelle coste tunisine, soprattutto nelle lagune costiere in prossimità di praterie di *P. oceanica* (Demir, 2003; Zaouali, 2003). Nel Mar Egeo sono presenti dense popolazioni che in alcuni casi raggiungono densità di 5 individui/m<sup>2</sup>, in macchie di *P. oceanica* situati in zone riparate, ad esempio nel Golfo di Geras e nel Golfo di Kaloni (Isola di Lesbo, Grecia) (Catsiki e Catsilieri, 1992; Catsiki *et al.*, 1994).

Nel Mar Tirreno mostrano un'occupazione di habitat simile a quella presente nel bacino occidentale. Studi hanno descritto la presenza di una densa popolazione di *P. nobilis* all'interno di una patch di matte morta di *P. oceanica* e *C. prolifera* (Porcheddu *et al.*, 1998).

Tale specie era diffusa, anticamente, anche lungo le coste del Marocco e del Portogallo.

Nella maggior parte dei casi è stata osservata una cospicua diminuzione della densità di individui e una regressione di numerose popolazioni in tutto il Bacino Mediterraneo.

Senza dubbio, soprattutto in golfi, baie riparate e lagune, è comune che sia presente un più alto numero di individui, con popolazioni che raggiungono grandi densità e che riuniscono numerose generazioni al loro interno (De Gaulejac e Vicente, 1990; Vicente, 1990; Catsiki e Katsilieri, 1992; Catsiki *et al.*, 1994; Siletic e Peharda, 2003). Questo accade perché tali popolazioni si trovano in zone con basso idrodinamismo e un elevato apporto di materia organica, di origine naturale e antropica.

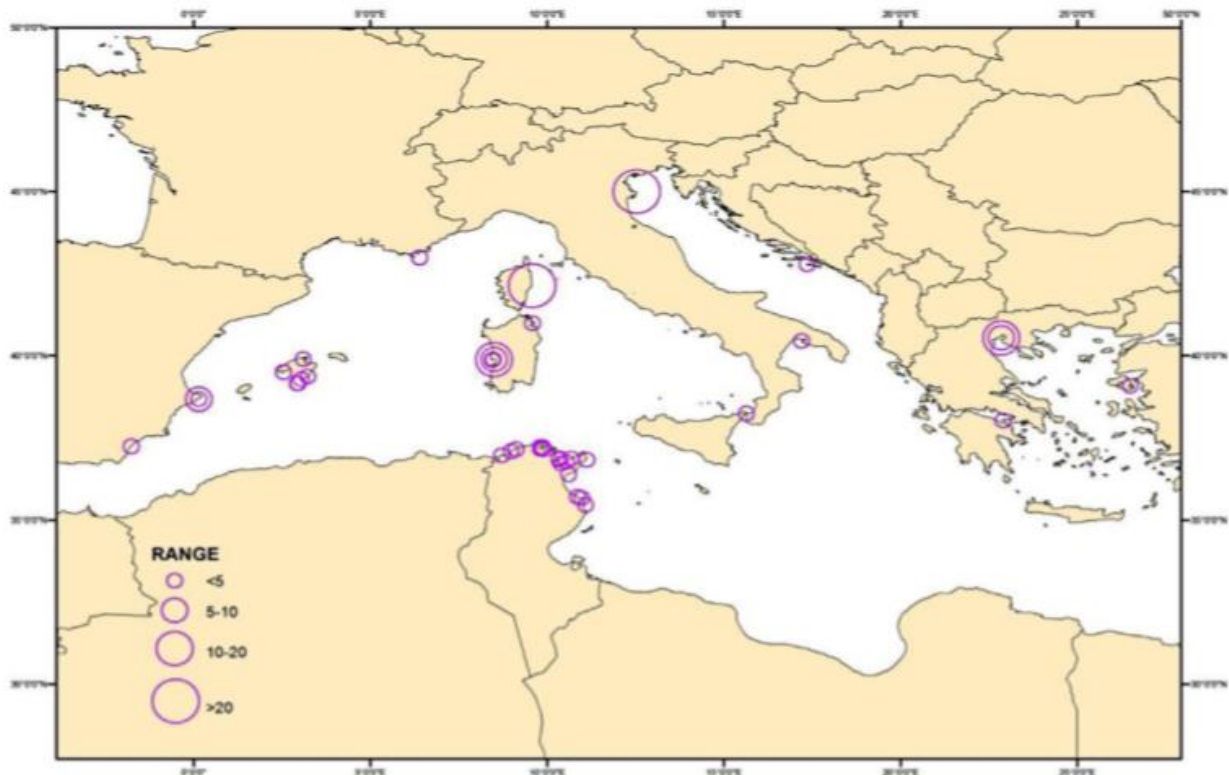


Figura 17. Distribuzione spaziale *Pinna nobilis* nel Bacino Mediterraneo. È indicata la densità di individui (individui per 100m<sup>2</sup>).

#### 2.4.2 Mar Mediterraneo Iberico

Una descrizione dettagliata della distribuzione di popolazioni di *P. nobilis* nel Bacino Iberico è stata effettuata da Garcia-March (2003). Tale specie, come già specificato, si localizza principalmente all'interno di praterie di *Posidonia oceanica*, anche se popolazioni sono presenti in fondali detritici costieri con letti di maërl, come nelle Isole Columbretes (Valencia) o a Formentera (Isole Baleari). Nel Golfo di Valencia si possono individuare, sporadicamente, esemplari di elevate dimensioni, in fondi fangosi con copertura di *C. prolifera*, oppure tra alghe sciafile, che hanno sostituito le praterie di *C. nodosa* e *P. oceanica*, un tempo presenti nella zona. Nelle praterie di posidonia situate nelle Isole Baleari, esistono dense popolazioni di *P. nobilis* che possono raggiungere densità di 15individui/100m<sup>2</sup>. Tali popolazioni sono però soggette a varie forme di impatto antropico, tipico delle zone altamente popolate soprattutto durante il periodo estivo. Il risultato è una diminuzione della densità degli individui. Questa situazione si verifica anche in prossimità di piccoli centri urbani lungo la costa della regione di Valencia, quali Denia, Javea, Calpe, Villa Joiosa, fino ad Alicante. Nella playa del Tango, a Javea, e nella Sierra Helada, a Benidorm, si possono osservare gli effetti negativi dei condotti sottomarini sia sulle praterie di *P. oceanica*, sia sulle popolazioni di *P. nobilis*. Spostandosi un poco più a sud, la diminuzione della pressione antropica garantisce una maggiore densità di fanerogame marine e un migliore stato di conservazione della grande specie di

mollusco bivalve. In prossimità di Murcia, nel Mar Menor, è presente un'elevata densità di individui di grandi dimensioni (Calvín-Calvo, 1999; 2001). Tra la baia di Almeria e il capo di Gibilterra, la specie si fa sempre meno comune, di fatti è più probabile incontrare individui di *P. rudis* (Templado, 2001). A nord del Golfo di Valencia, ad eccezione delle Isole Columbretes, dove esistono popolazioni in buono stato di conservazione, la specie si trova sporadicamente, mentre nelle Isole Medas, in Catalogna, tornano a localizzarsi dense popolazioni (Ros *et al.*, 1984).

## 2.5 Minacce

L'attività antropica rappresenta la causa principale del deterioramento e della diminuzione di popolazioni di *Pinna nobilis* in tutto il Mar Mediterraneo.

È appurato che l'inquinamento possa influenzare negativamente lo sviluppo larvale, non solo di questa particolare specie ma di molti altri invertebrati (Vincente e Moreteau, 1991) e che lo sviluppo di sistemi insediativi e di infrastrutture artificiali lungo la fascia costiera siano da ritenere responsabili di un "habitat-shift", portando alla distruzione di vaste estensioni di praterie di *Posidonia oceanica*, habitat naturale di *P. nobilis*. Il reclutamento larvale, così come la protezione dei giovanili dalle forze idrodinamiche (Hendriks *et al.*, 2011) sono state influenzate negativamente dalla frammentazione e dalla degradazione, tutt'oggi in corso, delle praterie di fanerogame. Marba *et al.* (2014) hanno stimato che sono andate perdute tra il 13% e il 50% delle aree occupate da *P. oceanica* nel Bacino Mediterraneo, e che le praterie rimanenti potrebbero avere diminuito la loro densità di circa il 50%. Una conseguenza della perdita di habitat è il declino di popolazioni di *P. nobilis*. a causa di una diminuzione nel reclutamento larvale, dell'aumento della mortalità dei giovanili, più esposti ai predatori, e della minor sopravvivenza di esemplari adulti, più esposti alle forze idrodinamiche. Il danneggiamento provocato dalle ancore delle imbarcazioni è un'altra causa importante della distruzione delle praterie di *P. oceanica* (Montefalcone *et al.*, 2008), oltre che un impatto meccanico diretto su esemplari di *P. nobilis*, altamente vulnerabili a causa delle grandi dimensioni delle valve. Le ancore provocano la rottura dell'estensione posteriore della conchiglia, aumentando in questo modo il tasso di mortalità, oppure dando luogo a gravi malformazioni strutturali, nonostante i Pinnidae mostrino un'elevata capacità di rigenerazione della conchiglia. La raccolta di individui da parte di subacquei amatoriali è stata un'altra causa del declino di tale specie, inoltre valve vuote vengono commercializzate tutt'oggi nei negozi di souvenir come oggetti di decorazione. Anche la pesca, volontaria o involontaria di tale specie, è stata una delle maggiori cause del declino delle popolazioni. Un'altra minaccia è rappresentata dalla presenza di contaminanti nell'ambiente. Gli organismi sessili come *P. nobilis* non possono sfuggire agli input di



contaminanti di origine terrestre o marina, tuttavia pochi studi hanno affrontato questo problema fino ad oggi. Uno di questi ha analizzato il bioaccumulo di IPA (idrocarburi policiclici aromatici) nei tessuti branchiali dopo 1 mese e 6 mesi di esposizione. I risultati hanno mostrato un aumento degli enzimi antiossidanti dopo solo un anno dall'incidente che ha causato la fuoriuscita di petrolio (Sureda *et al.*, 2013a). Inoltre, gli inquinanti ambientali potrebbero esercitare effetti immuno-tossici su esemplari di *P. nobilis*. Questo aumento nell'attività degli enzimi antiossidanti è stata analizzata solamente in siti impattati, mentre non sono state osservate differenze significative nei marcatori di danno ossidativo in individui di acque incontaminate ed inquinate (Sureda *et al.*, 2013b).

Diverse prove mostrano gli effetti negativi dell'attività umana su popolamenti di *P. nobilis* ma, purtroppo, pochi esperimenti sono stati condotti per valutare quantitativamente tali effetti. Questo è dovuto principalmente alle difficoltà tecniche e teoriche di questo tipo di studi, ma anche al fatto che, fino a poco tempo fa, la ricerca su questa specie era molto trascurata. È difficile prevedere il verificarsi di un impatto su una popolazione, e solo attraverso la conoscenza accurata dell'ecologia della specie sarà possibile approssimare il grado di deterioramento. Di conseguenza, il modo migliore per studiare l'impatto umano sulle popolazioni di *P. nobilis* è il miglioramento della conoscenza delle popolazioni non disturbate in ambienti diversi, monitorando costantemente i tassi di crescita, l'età e la struttura di popolazione.

Le minacce non sono solamente di natura antropica ma anche di origine naturale. Il Mar Mediterraneo è una regione in cui l'aumento delle temperature si verifica rapidamente, circa il doppio rispetto al tasso di riscaldamento globale degli oceani, a causa delle ridotte dimensioni del bacino (Giorgi, 2006). Vi è la preoccupazione dunque che il cambiamento climatico possa avere impatti maggiori sugli organismi marini che vivono nel Mediterraneo (Coll *et al.*, 2010; Coma *et al.*, 2009). Infatti, molte specie "habitat-forming", come alcuni coralli molli (Kuffner *et al.*, 2014) e *P. oceanica* (Jordà *et al.*, 2012) sono vulnerabili al riscaldamento globale, come è già evidenziato dal loro sostanziale declino in seguito a riscaldamento anomalo delle acque. Il sinergismo tra un rapido aumento delle temperature e altri tipi di stress potrebbe facilmente distruggere la connettività tra la specie, alterando le normali dinamiche. Esperimenti condotti in laboratorio hanno dimostrato che un aumento delle temperature induce una diminuzione del tasso di sopravvivenza dei giovanili (Basso *et al.*, 2015a). Tuttavia, vi è ancora una comprensione limitata della nicchia termica di *P. nobilis*, così come della sua dipendenza dalla temperatura in termini di processi chiave, quali crescita, metabolismo e sopravvivenza. Non è ancora possibile formulare previsioni sugli effetti diretti del riscaldamento globale sugli esemplari, anche se evidenze sperimentali suggeriscono impatti severi. Un altro effetto diretto del *climate change* è la diminuzione del pH oceanico. Stime

hanno previsto che la concentrazione di diossido di carbonio in atmosfera ( $p\text{CO}_2$ ) aumenterà fino alle 900ppm entro la fine del secolo; l'effetto diretto sugli oceani è l'acidificazione delle acque. In questo scenario mutevole, la performance fisiologica di bivalvi marini, come i processi del metabolismo e della calcificazione, potrebbe essere influenzata negativamente. *P. nobilis* risulta essere particolarmente vulnerabile al processo di acidificazione degli oceani, in quanto supporta la crescita della conchiglia più rapida conosciuta in tutti i bivalvi (Richardson *et al.*, 2004). Tuttavia, esperimenti sui possibili impatti dell'acidificazione degli oceani sui giovanili di questa specie non hanno mostrato un effetto negativo (Basso *et al.*, 2015c). La robustezza di tale specie al processo di acidificazione non è poi così sorprendente poiché la crescita dei giovanili avviene quando questi si trovano parzialmente infossati all'interno del sedimento, dove gli alti tassi di respirazione portano ad alti livelli di  $\text{CO}_2$ . Ciò suggerisce che questi potrebbero essere in grado di sviluppare meccanismi per fronteggiare il basso pH (Hendriks *et al.*, 2014). Da segnalare però è il fatto che gli esperimenti di acidificazione sono stati condotti con organismi isolati dall'ecosistema, il che potrebbe non rappresentare adeguatamente gli ambienti e le condizioni in cui gli organismi costieri si troveranno nel futuro. Una conseguenza indiretta del *global change* sugli oceani è l'insediamento di specie invasive. Nuove macroalghe invasive rappresentano una minaccia alla biodiversità, oltre che un impatto meccanico sulle specie sessili. Comprendere le interazioni tra le specie native e quelle invasive è un elemento cruciale per analizzare l'equilibrio di un habitat. Un esempio è la macroalga invasiva *Lophocladia lallemandii*, la quale altera le potenziali fonti di cibo del bivalve *P. nobilis* e la fauna ad essa associata (Cabanellas-Reboredo *et al.*, 2010). I cambiamenti esercitati dalla specie invasiva *L. lallemandii* potrebbero essere correlati agli effetti fisiologici derivanti dalla produzione di alcaloidi bioattivi. Inoltre, si sono osservate risposte antiossidanti in individui colonizzati da *L. lallemandii* (Box *et al.*, 2009). Gli enzimi che indicano la risposta antiossidante (SOD, CAT, GPX, GST) e marcatori di danno ossidativo (TR, MDA) sono stati trovati sia su branchie che nella ghiandola digestiva, indicando che la specie invasiva induce uno stress biologico sugli esemplari di *P. nobilis*. Nel Parco Nazionale dell'Arcipelago di Cabrera, un'area marina protetta nell'Isole Baleari, *L. lallemandii* ricopre il 49.37% delle conchiglie degli individui di *P. nobilis* all'interno della popolazione, mentre *Caulerpa racemosa*, un'altra alga invasiva, solamente l'1.38%, con un aumento della percentuale con la profondità (Vázquez-Luis *et al.*, 2014). Ovviamente, la presenza di tali alghe invasive ha ridotto l'indice di diversità di specie native all'interno della comunità.

### 3. Materiali e metodi

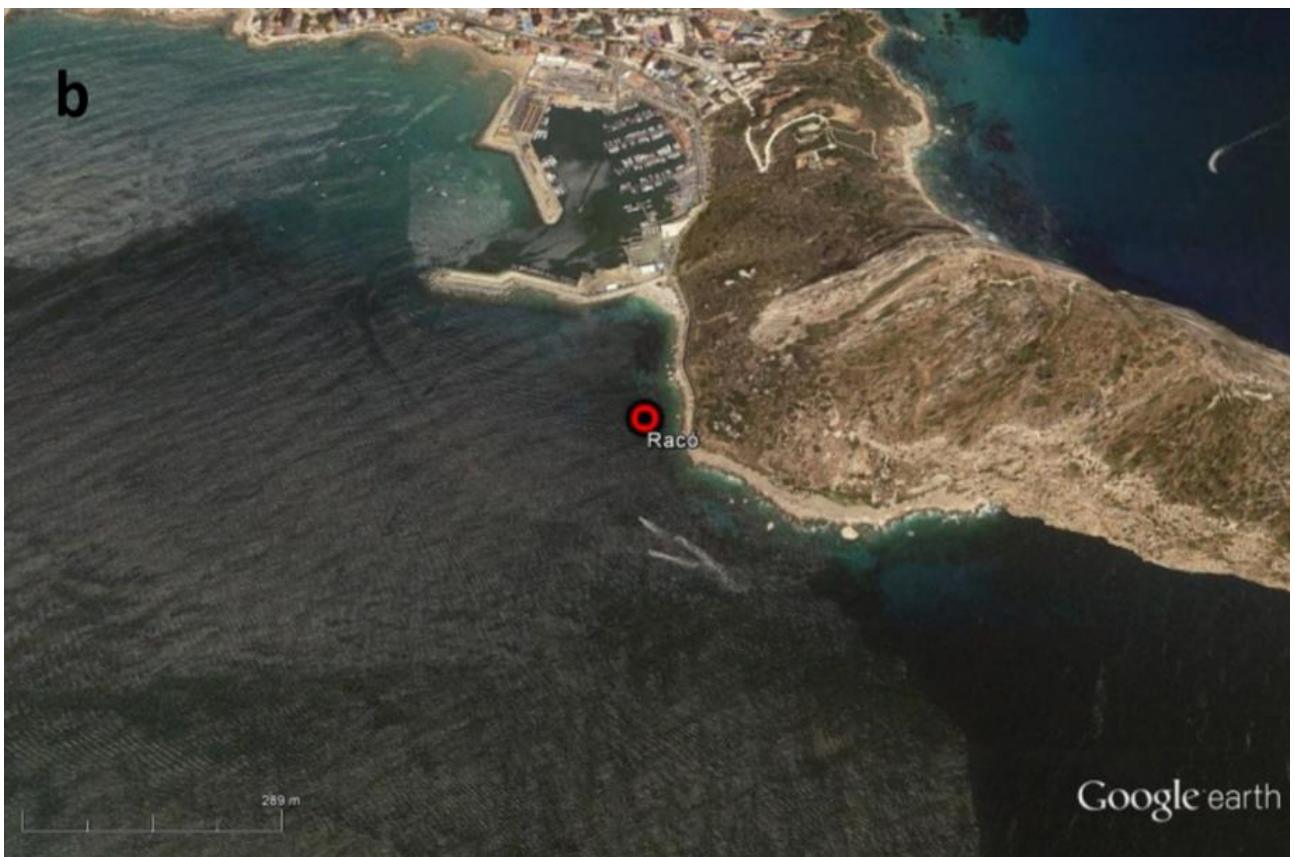
#### 3.1 Area di studio e raccolta campioni

Sulla base di conoscenze apprese da studi precedenti, è noto che le valve di *Pinna nobilis* alla morte dell'individuo rimangono, salvo rare eccezioni, nella zona di morte (Garcia-March, 2005). Per questo motivo sono state individuate popolazioni con un'altra densità di individui dove effettuare i campionamenti. Sono state selezionate due stazioni di campionamento nella provincia di Alicante (Regione di Valencia, Spagna, Mediterraneo Occidentale): Calpe (Cala El Racó) e Isola di Tabarca. (Tab.1; Fig. 18). I campionamenti sono stati effettuati ad una profondità compresa tra i 5 e i 10 metri, ad eccezione di un campione prelevato a Calpe ad una profondità di 12 metri.

La raccolta delle valve è stata effettuata mediante immersioni subacquee da imbarcazione, realizzando transetti perpendicolari alla costa. Si stima che le dimensioni adeguate di un campione siano di almeno 10 valve per ogni popolazione, che devono includere valve di diverse taglie. Per la popolazione di Calpe sono state prelevate 8 valve, definita come la dimensione minima di campione attendibile. Nonostante sia un valore abbastanza basso viene ritenuto rappresentativo della popolazione (Richardson *et al.*, 2004). Per la popolazione dell'Isola di Tabarca sono state prelevate 11 valve. Non sono state raccolte conchiglie aventi dimensioni ridotte; esiste infatti una dimensione minima cui riferirsi, appartenente ad individui la cui età si stima possa essere inferiore ai 3 anni. Questo significa che sono state raccolte solo valve lunghe più di 30cm. Durante l'immersione, ad ogni esemplare raccolto viene assegnato un numero identificativo, in questo modo si può annotare a quale profondità è stato trovato, così come le caratteristiche di interesse dell'ambiente in cui è vissuto.

**Tabella 1.** Localizzazione stazioni di campionamento

Stazione	Latitudine	Longitudine
Isola di Tabarca	38°10'18.27"N	0°29'12.16"O
Calpe Racó	38°38'1.34"N	0° 4'15.31"E



**Figura 18.** Stazioni di campionamento: (a) Isola di Tabarca: (b) Calpe, Cala El Raco

### 3.2 Trattamento campioni in laboratorio

Utilizzando la nuova metodologia sviluppata da Garcia-March *et al.* (2011), le valve sono state preparate in laboratorio al fine di valutare il tasso di crescita e l'età di ogni individuo. Lo scopo è quello di ottenere dati attraverso i quali calcolare i parametri dei modelli di crescita per ogni popolazione. Per prima cosa, per ogni valva sono state realizzate 22 misure distinte, con annesso fotografie per evidenziare la forma e le caratteristiche della valva. Le misure ottenute da tutti gli esemplari sono state riportate in una matrice dati (Tab.2).

**Tabella 2.** Matrice dimensioni campioni, con legenda esplicativa. Il campione della popolazione di Calpe evidenziato in giallo non è stato preso in considerazione per questo studio poiché è stato raccolto ad una profondità di 13.5 m, superiore al range prescelto.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X
1			Htr	Htr(m)	A1	A2	Peso	MAA(I) 1	MAA(I) 2	MAA(I) min	MAA(a)	MAPa	MAPp	MAPva	MAPvp	tMAP	DEM(1)	DEM(2)	PUP	H int	H anterior	Pm	Zv	Eje
2	Número	Valva	cm	cm	cm	cm	g	mm	mm	mm	mm	cm	cm	cm	cm	mm	cm	cm	cm	cm	cm	mm	mm	mm
3	Calpe Racó 2014_6m	I	48,7	47,8	19	18,8	221,4	27,9	28,11	24,67	13,11	21,7	26,5	27,6	18	25,9	9,5	11,8	6,7	3,8	28,9	36,7	2,5	42,54
4	Peñón 17/11/15_12m	I	55	52,7	19	17	471,2	36,3	35,6	30,21	18,56	26,6	26	34,2	17	31,1	13,8	16	8,5	4,4	33,2	56,9	5,6	28,33
5	Calpe Racó 27/11/15_13,5m	I	78,5	74,8	24	21	1189	42,2	46,74	38,95	23,77	34,6	41,9	41,2	33	38,6	18,5	19,6	10	5,3	50	82,1	5,8	78,93
6	Racó experimento 2015_1	I	59	55	22	19,6	440,7	26	29,55	25,71	15,33	22,5	32,2	30,8	24	31,3	13,1	14,6	9,5	4,5	33,4	47,8	4,8	53,75
7	Racó experimento 2015_2	I	60,8	57,5	23	22,7	588,7	32,11	33,45	28,19	38,35	27,9	30,9	36,4	19,2	39,8	13,5	15,2	10	4,5	37,3	61,4	6,2	57,47
8	Racó experimento 2015_3	I	56,5	53,5	20	18,6	752	34,73	35,4	33,2	23,51	22,2	28,6	28,2	20,5	35,5	12,1	13,7	10	4,6	25,2	57,4	6,6	45,35
9	Racó experimento 2015_4	I	58,3	56,4	18	17,8	454,6	28,76	32,77	26,38	18,46	27	30,6	34,3	22,5	31,9	13	15,6	11	5	33,8	49,7	5,4	49,94
10	Racó 6_5_10	I	54	49,5	18	17	401,9	22,64	19,78	26,04	17,54	21,6	29,4	28,2	18,5	30,3	12,4	14,7	9,3	4,2	28,3	46,3	4,9	52,49
11	Racó 7_5_10	I	55,1	53,2	20	19,9	379,9	24,48	29,41	23,96	17,46	24,6	27,9	30,1	20,6	30,6	14,5	17,1	10	3,6	32,08	47,5	7,1	43,45
12	IT/11 12 13/8/18	D	54,9	51,7	17	16,3	455,6	26,01	28,16	24,14	21,17	24,9	28,8	37	12,9	26,7	14,7	17,6	7,5	4,5	30	55	3,7	89,17
13	IT/11 12 13/8/19	I	50,05	48,07	21	18,5	429,2	29,55	28,93	26,05	20,48	21,1	24,05	27,05	17,1	30,3	18,2	18	3,9	3,6	29	46,4	4,6	66,16
14	IT/11 12 13/8/20	D						26,11	26,83	24,2	17,3	17,1		22		27,3	11,2	12,6	5,3	3,3	19	46,8	5	26,9
15	IT/11 12 13/8/21	I						26,99	23,5	21,77	17,49	17,1		22,7		22,7	8,9	11,3	7,9	3,8	21,8	36,9	3,9	60,9
16	IT/11 12 13/8/22	I	56,3	50,7	18	12,9	308	23,09	24,19	27,02	16,8	23	28	29	22,6	26,7	12,1	14,8	10	5	33,5	56,1	4,4	25,79
17	IT/11 12 13/8/23	I	59,5	58,7	22	19,8	525,5	28,79	29,42	26,75	16,86	22,7	34	28,6	27,8	29,5	12,4	14,3	9,6	4,3	36,4	32,1	4,2	65,61
18	IT/11 12 13/8/24	D						22,93	26,96	24	17,19	19				27,8	14,6	15	4,6	3,6	17,4	46,1	3,9	19,62
19	IT/11 12 13/8/25	I	35,2	31,3		12,5	204,2	21,57	19,98	20,13	12,22	17,2	14,5	17,9	13,3	23,1	9,8	11,1	7,1	3,4	21,5	38,9	3,7	26,03
20	IT/11 12 13/8/26	D						29,82	35,06	29,35	24,87	25,7				34	14,6	16,2	11	3,9	27,4	60,4	4,4	58,25
21	IT/11 12 13/8/27	D	40,9	37		14,5	139,3	17,65	19,85	19,47	13,53	16,7	21,5	20,4	16,5	24,2				3	24,4	13,6	4,3	16,95
22	IT/11 12 13/8/28	D	48,8	47,5	19	18,3	400	28,07	26,05	22,71	16,08	21,9	26,1	26,3	19	31,4	12,3	13,4	6,6	4	34,6	41,5	4,6	46,33

**Legenda:**

**Numero:** codice campione

**Htr:** dimensione totale del campione

**Htr(m):** dimensione del campione, misurata dalla parte più posteriore della valva fino alla parte più anteriore del muscolo adduttore anteriore

**A:** larghezza massima della valva. Vengono prese due misure:

- **1=** larghezza massima (si misura la parte effettivamente più ampia, anche se non coincide con il punto di inflessione)
- **2=** larghezza nel punto di inflessione (può succedere che le due misure coincidano)

**Peso:** peso della valva

**MAA(l):** lunghezza del muscolo adduttore anteriore (misurata nella parte dorsale e ventrale)

**MAA(l)min:** lunghezza minima del muscolo adduttore anteriore (misurata nel centro del registro)

**MAA(a):** larghezza massima del muscolo adduttore anteriore

**MAPa:** distanza dal muscolo adduttore posteriore (misurata a partire dall'inizio dell'aragonite, parte più posteriore) fino alla parte più anteriore del muscolo adduttore anteriore

**MAPp:** distanza dal muscolo adduttore posteriore alla parte più posteriore della valva

---

**MAPva:** distanza dal muscolo adduttore posteriore (misurata a partire dall'inizio dell'aragonite) fino alla parte più anteriore del muscolo adduttore anteriore, nel lobo ventrale (in realtà non corrisponde ad alcun muscolo! Il muscolo si trova nel lobo dorsale)

**MAPvp:** distanza dal muscolo adduttore posteriore alla parte posteriore della valva, nella parte ventrale.

**tMAP:** ampiezza del muscolo adduttore posteriore (si calcola come se fosse un diametro)

**DEM (1):** distanza dalla marca chiara più vecchia del muscolo adduttore posteriore alla marca più nuova del muscolo adduttore anteriore

**DEM (2):** distanza dalla seconda marca chiara più vecchia del muscolo adduttore posteriore alla marca più nuova del muscolo adduttore anteriore

**PUP:** distanza dalla prima all'ultima marca chiara del muscolo adduttore posteriore

**H interno:** volume interno della valva (spessore)

**H anteriore:** distanza dalla zona in cui si è misurato il volume interno della valva (H interno) fino alla parte più anteriore della valva

**Pm:** porzione migrata del muscolo adduttore anteriore. Si misura dalla marca più recente del muscolo adduttore anteriore fino alla parte più anteriore della valva (si misura quindi la migrazione; tale misurazione è relazionabile con l'erosione)

**Zy:** distanza tra la fine dell'aragonite nel muscolo adduttore anteriore e la parte più anteriore della valva, nella parte ventrale.

**Asse:** distanza dalla parte più anteriore dell'asse fino la parte più anteriore del muscolo adduttore anteriore

**I. D:** valva sinistra e valva destra

---

Una volta concluse le misurazioni, è stata creata una superficie di taglio idonea sulla valva di ogni esemplare. Il materiale che costituisce la valva, fondamentalmente calcite e aragonite, è molto fragile e per essere tagliato necessita di un'attenta preparazione in laboratorio. Per questo motivo, tutte le porzioni delle valve che dovevano essere tagliate, contenenti le impronte del muscolo adduttore posteriore, sono state incluse in una miscela di resina epossidica e indurente, in proporzione 2:1 (resina WWAS; indurente WWB4 di Resineco®). Successivamente, per far indurire la resina, i campioni sono stati posizionati sotto cappa aspirante per un periodo di 24-30 ore (Fig.19; Fig.20 a; b).



**Figura 19.** Esemplari della popolazione di Calpe Racó



Figura 20. (a): Resina WWAS; indurente WWB4 di Resineco<sup>®</sup>. (b): Valve di *Pinna nobilis* incluse in miscela di resina e indurente (rapporto 2:1) sotto cappa aspirante

Una volta incluse le valve si procede alla fase di taglio. È stata utilizzata la sega a nastro PROXXON<sup>®</sup> MBS 240/E. Le valve sono state tagliate radialmente per tutta la lunghezza delle impronte del muscolo adduttore posteriore, seguendo più precisamente possibile le linee di taglio disegnate su di esse (Fig.21 a; b). Ogni valva è stata sezionata anche dorso-ventralmente portando alla formazione di 6-8 porzioni, lunghe circa 8cm, contenenti, nella parte più interna, le impronte del muscolo adduttore posteriore. Tali sezioni devono avere una dimensione un poco inferiore rispetto a quella di un vetrino portaoggetti. Ognuna di queste è stata poi adeguatamente codificata, servendosi dell'aiuto di un disegno della valva sezionata (Fig. 22).





Figura 21. (a): Linea di taglio che attraversa le impronte del muscolo adduttore posteriore (linea orizzontale). (b): Sega a nastro PROXXON® MBS 240/E

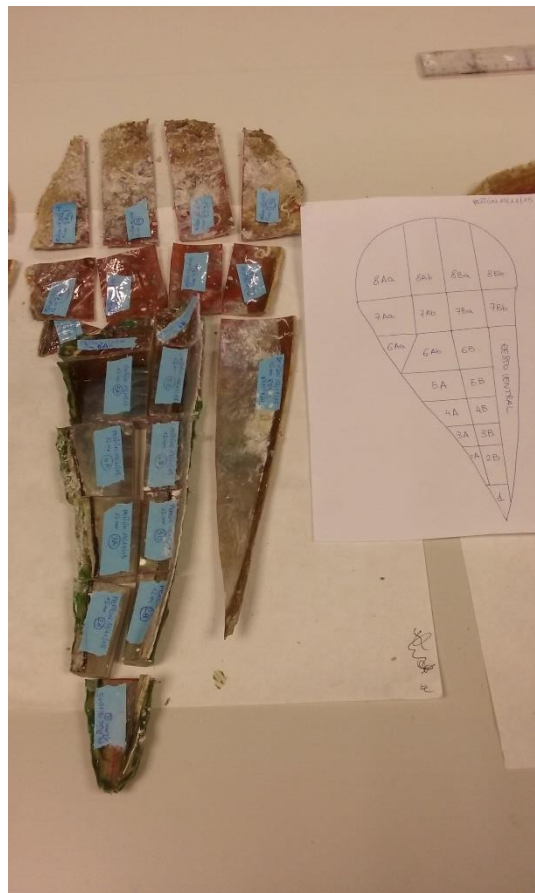
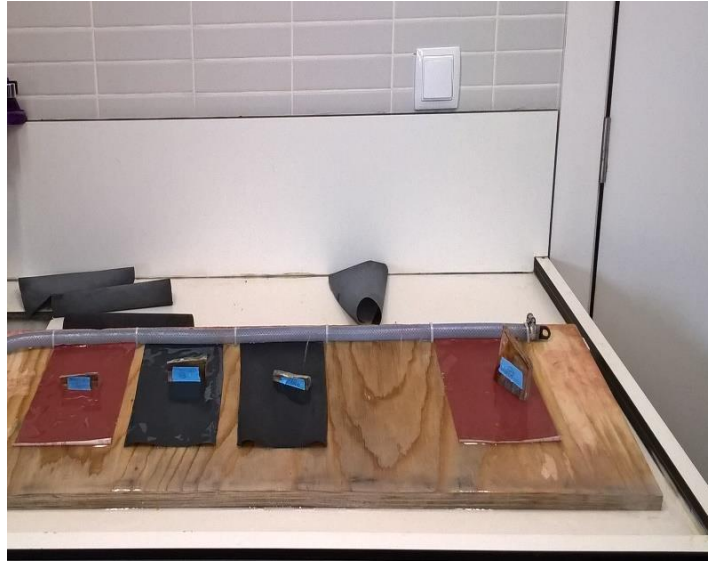


Figura 22. Valva sezionata e codificata

Segue una successiva fase di levigatura e lucidatura delle porzioni attraverso l'utilizzo di differenti fogli di carta abrasiva (FlexOvit®) in ordine di grana FEPA: 250, 400, 600, 800, 1000, 1200µm, al fine di togliere tutte le imperfezioni presenti sui campioni (Fig. 23). Durante la levigatura la carta abrasiva è stata costantemente bagnata con acqua per rimuovere la polvere fine che si forma e per diminuire la tensione superficiale tra la porzione da limare e la carta abrasiva stessa, in modo da ottenere una levigatura migliore. Le porzioni levigate sono state successivamente montate su un vetrino portaoggetti con una base di resina (Fig.24).



**Figura 23.** Rampa per limare i campioni con differenti tipi di carta abrasiva (FlexOvit®)



**Figura 24.** Porzioni levigate montate su vetrini portaoggetti con una base di resina

Passato il tempo necessario affinché la resina si consolidi (circa 24ore), si procede alla seconda fase di taglio. Le porzioni incollate al vetrino portaoggetti sono state tagliate utilizzando la sega con lama a diamante BUEHLER® Isomet “Low speed saw”, generando sezioni di 300µm di spessore (Fig.25). Le fettine così ottenute sono state levigate e lucidate con carta abrasiva di vari spessori per eliminare eventuali tracce di polvere e residui di resina. Le fettine levigate, disposte in sequenza antero-posteriore per ogni esemplare, sono state osservate e fotografate allo stereo-microscopio a luce trasmessa (Leica MZ16) che le illuminava dal basso, in modo da poterle vedere in trasparenza e distinguere i registri di crescita (Fig.27). È stato utilizzato il sistema fotografico automatico Leica MPS60 con databack e il software per ripresa di immagine, archiviazione, elaborazione e analisi Leica Image Manager con moduli Image Overlay e Multifocus (Fig.26).



**Figura 25.** Sega a diamante BUEHLER® Isomat “low speed saw”, con la quale si ottengono sezioni sottili di 300µm, incollate ai vetrini portaoggetti.



**Figura 26.** Stereo-microscopio Leica MZ16 con sistema fotografico automatico Leica MPS60

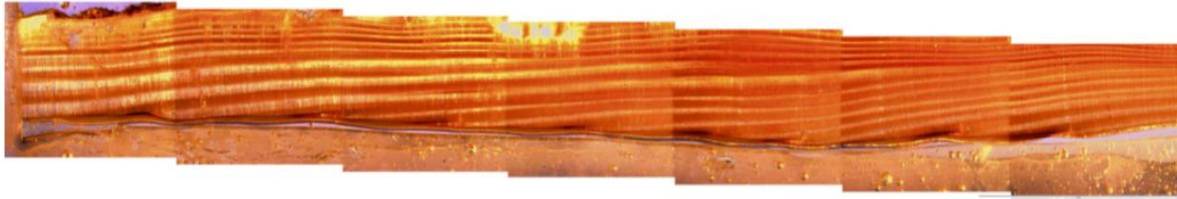


Figura 27. Fotomontaggio di più sezioni in sequenza osservate allo stereo-microscopio

### 3.3 Analisi dei campioni e calcolo dei modelli di crescita

L'analisi dei campioni avviene osservando le sezioni montate sui vetrini portaoggetti in sequenza, a partire dall'estremità anteriore verso la parte più posteriore della valva.

Valutare i registri interni di crescita è abbastanza semplice: ogni registro è costituito da una lingua di madreperla che si introduce nella frangia di calcite in direzione posteriore. Con lo stereo-microscopio sono state contate le lingue di madreperla di ogni individuo, iniziando una stima di età. Successivamente è stata misurata la distanza tra i registri di crescita individuati. Queste distanze tra i registri interni del muscolo adduttore posteriore (in mm) sono state convertite poi in distanze per ogni registro alla porzione più anteriore della valva (distanza definita dMAP, in cm) mediante i calcoli pertinenti eseguiti dal software di libero accesso R Statistic Program®. Quello che fa la funzione di R è automatizzare le somme, cioè somma le distanze tra i registri interni alla distanza totale di ogni registro interno alla parte più anteriore della valva. Dopo di che converte le somme in dimensioni totali teoriche per ogni registro di crescita, cioè si ottiene la lunghezza totale (in cm) che aveva l'individuo al momento della deposizione di ogni lingua di madreperla, cioè la lunghezza dell'esemplare per ogni anno di crescita. Come sappiamo, ogni registro interno equivale ad un anno di età, e la sua dMAP risulta essere proporzionale alla dimensione che aveva l'esemplare nel momento in cui è stato depositato il registro di crescita. Esiste dunque una relazione lineare tra la lunghezza totale dell'individuo (Htr) e la dMAP più recente, più semplicemente indicata come MAPa, cioè lunghezza del muscolo adduttore posteriore, misurata a partire dall'inizio dell'aragonite fino alla parte più anteriore del muscolo adduttore anteriore. L'obiettivo è dunque quello di riuscire a stimare la lunghezza dell'esemplare al momento della deposizione delle lingue di madreperla, sfruttando la regressione lineare tra le due variabili misurate. Inconvenienti sono sorti al momento della raccolta dei campioni; quattro di questi raccolti all'Isola di Tabarca sono stati rinvenuti con la valva rotta nella porzione posteriore, perciò non è stato possibile ottenerne la lunghezza totale (Htr). Per la popolazione di Calpe è stato possibile raccogliere solamente 8 esemplari, a causa della scarsa densità di popolazione. A seguito di ciò, il numero dei campioni disponibili, per entrambe le

popolazioni, non risultava essere sufficiente per poter impostare il grafico di regressione. Per questo motivo è stato necessario aggiungere dati di individui campionati precedentemente nei medesimi siti, ed analizzati dallo stesso istituto di ricerca IMEDMAR-UCV, al fine di ottenere una quantità di dati che permettesse di rappresentare la corretta relazione esistente tra le due dimensioni. Per la popolazione di Calpe sono stati aggiunti 21 individui, 17 individui per l'Isola di Tabarca. Le distanze (in mm) tra i registri di crescita interni devono sempre tenere in considerazione la porzione definita "lost in cut" presente tra un vetrino e l'altro, dunque quella porzione di sezione persa a causa del sezionamento del tessuto, alla quale viene attribuita arbitrariamente una dimensione di 0.4  $\mu\text{m}$ . La stima d'età non è affatto ovvia e perfezionata. Alla stima iniziale, derivante dalla conta delle lingue di madreperla tramite lo stereo-microscopio, sono stati aggiunti i dati derivanti dall'analisi dello spessore degli strati di calcite in prossimità dei registri interni di crescita più vecchi (Fig. 28). Come è usuale in *Pinna nobilis*, lo strato di calcite nella parte anteriore della valva risulta essere incompleto a causa dell'erosione, soprattutto in esemplari adulti; in questo modo alcuni dei registri di crescita più vecchi potrebbero essersi persi (Garcia-March *et al.*, 2011). Comparando lo spessore della calcite di tutti gli esemplari della stessa popolazione, in prossimità dei tre registri di crescita più vecchi, si può ottenere il numero dei registri persi a causa del fenomeno di erosione. Lo spessore dello strato di calcite nel punto dove si deposita ogni registro di crescita è funzione della età in cui questo è stato depositato, per questo motivo tutti gli spessori di calcite depositati alla stessa età dovrebbero avere una dimensione simile (Garcia-March e Marquez-Aliaga, 2007). Per avere una stima corretta dei registri di crescita annuali persi si aggiungono anni in corrispondenza degli spessori di calcite che sono chiaramente troppo spessi per poter corrispondere solamente al primo registro depositato. La stima dei registri persi, attraverso l'analisi dello spessore di calcite, viene effettuata utilizzando un processo a 4 steps. È una metodologia innovativa ancora in fase di studio, elaborata in via sperimentale dai ricercatori dell'istituto IMEDMAR-UCV per ottenere una stima più adeguata dell'età degli individui. Nel primo step, gli spessori di calcite che si trovano in corrispondenza dei tre registri di crescita più vecchi vengono rappresentati in un grafico con un'origine comune sull'asse delle x. Questo permette di rilevare gli spessori che risultano essere superiori rispetto a quelli a cui corrisponderebbe la calcite depositata il primo anno. Nel second step si tornano a rappresentare tutti i registri, però gli spessori di calcite identificati nello step 1 come eccessivamente spessi per poter corrispondere al primo anno di età, vengono spostati di una posizione sull'asse delle x. Questo processo si ripete fino a 4 volte, quando non si osservano più spessori di calcite che risultino essere superiori rispetto ai valori di riferimento, cioè anomali. I valori spostati sull'asse delle x saranno tradotti poi in anni che si andranno ad aggiungere ai registri di crescita, in modo che il primo registro di un esemplare che è stato spostato, per esempio + 3 volte

sull'asse delle x, rappresenterà il 4 anno di vita, invece che rappresentare solo un anno. In questo modo si ottiene una stima più corretta dell'età per ogni individuo.



**Figura 28.** Analisi dello spessore dello strato di calcite in prossimità di uno dei registri interni di crescita più antichi. Software per ripresa di immagine Leica Image Manager.

### 3.4 Analisi statistica

Tutti i calcoli matematici, così come i grafici, effettuati per la determinazione dei parametri dei modelli di crescita e dell'età di individui di *Pinna nobilis*, sono stati realizzati utilizzando il software di libero accesso R Statistic Program® (Versione 3.3.1), con il supporto del programma Excel di Microsoft Office®. La parte iniziale di tabulazione dei dati e delle stime di età è stata gestita tramite Excel, mentre la parte relativa all'analisi dati vera e propria e alla rappresentazione grafica è stata curata tramite il software R. Per poter essere importati in R, i dati delle tabelle Excel sono stati convertiti in file testo “.txt”.

La relazione tra lunghezza totale dell'individuo (Htr) e lunghezza del muscolo adduttore posteriore (MAPa) è una distribuzione bivariata di variabili numeriche e lo strumento più utile per studiarla è il diagramma di dispersione (*scatterplot*). L'esame della distribuzione bivariata di variabili numeriche è importante perché ci consente di studiare non solo la presenza o meno di una associazione più o meno forte fra le due variabili, ma anche la natura di tale associazione. In particolare, è sempre interessante valutare se l'associazione è lineare. Quando due variabili numeriche hanno una distribuzione bivariata compatibile con una associazione lineare, la distribuzione può essere riassunta usando la retta che si adatta meglio ai dati, ossia fittando un

modello lineare. Tale modello può essere utilizzato per prevedere il valore di y, noto il valore di x. La pendenza della retta può essere interpretata come la media bivariata, che riassume la tendenza positiva o negativa dell'associazione lineare. In forma grafica, la regressione lineare viene presentata sovrapponendo la retta fittata al diagramma di dispersione, e la sintassi di R consente di farlo rapidamente. Tanto più i dati sono raggruppati attorno a questa retta, tanto è maggiore la forza dell'associazione lineare, quindi il coefficiente di correlazione ( $R^2$ ), mentre è minore l'errore di previsione. Le equazioni di crescita delle due popolazioni sono state calcolate in seguito alla creazione di una matrice dati dimensione-età, attraverso la conversione delle posizioni dei registri interni di crescita in lunghezza totale della valva (Htr). Inizialmente una stima della lunghezza totale è stata effettuata attraverso una misurazione diretta delle valve tramite l'utilizzo di un righello, anche se tale metodo non viene considerato efficace a causa dell'elevato errore umano. Da aggiungere è il fatto che molte valve, soprattutto della popolazione dell'Isola di Tabarca, risultavano essere rotte nella porzione posteriore ed è stato dunque impossibile ottenere tale misura. Per questo motivo è stato deciso di calcolare le dimensioni totali delle conchiglie in funzione dei dati dei registri interni di crescita, in questo modo è stato possibile ricavare la lunghezza dell'esemplare (in cm) al momento della deposizione di ogni lingua di madreperla. Per stimare i parametri di crescita a partire dai registri interni è stato utilizzato il modello di crescita di Von Bertalanffy (1938). Questo modello viene comunemente applicato nella ricerca sui molluschi per dimostrare come l'accrescimento di una popolazione possa essere espresso osservando l'incremento delle dimensioni per unità di tempo (Von Bertalanffy, 1951; Pauly, 1981). Per questo studio è stato utilizzato un modello misto di effetti non lineari, considerando che  $L_{max}$ , la dimensione massima asintotica media raggiunta all'interno della popolazione, è un fattore random mentre  $t_0$  e  $k$  sono due fattori fissi. Il primo è il coefficiente di condizione iniziale, il secondo è la velocità con la quale si raggiunge la  $L_{max}$ , cioè la velocità di crescita. L'accrescimento di un organismo si misura infatti mediante specifici tassi di crescita e parametri di modelli matematici. Probabilmente non è stato ancora elaborato un modello matematico che possa rappresentare perfettamente la crescita di un individuo, quello più utilizzato risulta essere quello dovuto a Von Bertalanffy. La sua forma matematica esprime la lunghezza come una funzione dell'età:

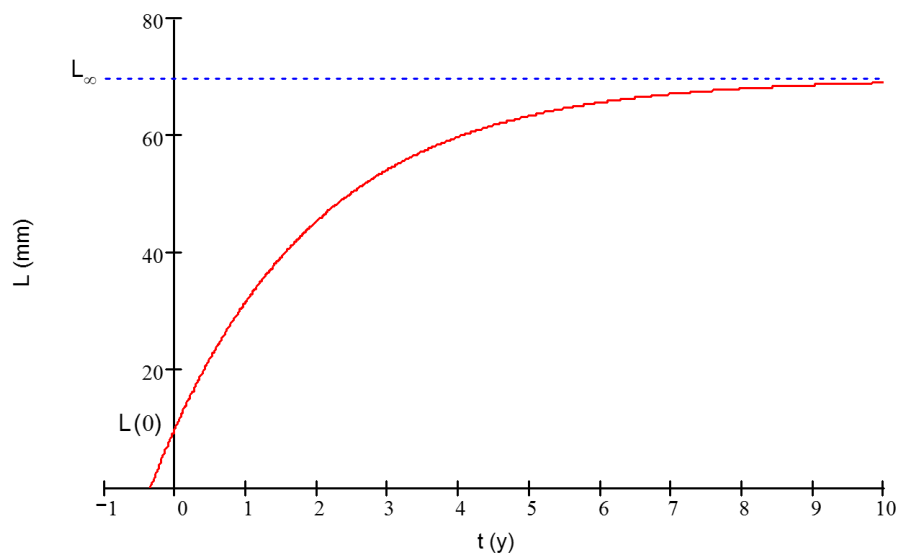
$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(t - t_0)}]$$

Attraverso la formula inversa è possibile ricavare l'età in funzione della taglia:

$$t = 1/k \cdot \ln L_{\infty}/(L_{\infty} - L_t) + t_0$$

Il parametro  $L_{\infty}$  (o  $L_{max}$ ) rappresenta la lunghezza asintotica a cui ogni individuo tende con il

raggiungimento dell'età massima;  $L_t$  rappresenta la lunghezza al tempo  $t$ ;  $k$  è un coefficiente di crescita che definisce il modo, lento o rapido, con il quale l'individuo tende a  $L_{max}$ , cioè il tasso di accrescimento. Tale parametro risulta essere compreso tra  $0.14 < k < 0.40$ . Il parametro  $t_0$ , detto coefficiente della condizione iniziale, determina il punto temporale in cui l'individuo ha lunghezza zero. Dal punto di vista biologico tale parametro non ha alcun significato. In base a tale modello matematico, il tasso di crescita diminuisce in funzione dell'età, fino a tendere a zero quando l'individuo ha raggiunto la massima età possibile all'interno della specie.



**Figura 29.** Modello di crescita secondo l'equazione di Von Bertalanffy ( $t_0$ =età individuo;  $L$ =lunghezza individuo;  $L(0)$ = lunghezza al tempo 0;  $L_{\infty}$ =lunghezza asintotica)

La stima dei parametri generalmente si realizza utilizzando i dati relativi all'età degli individui di una popolazione. Questo metodo richiede dunque una conoscenza adeguata dell'età degli esemplari per ogni misura.



#### 4. Risultati

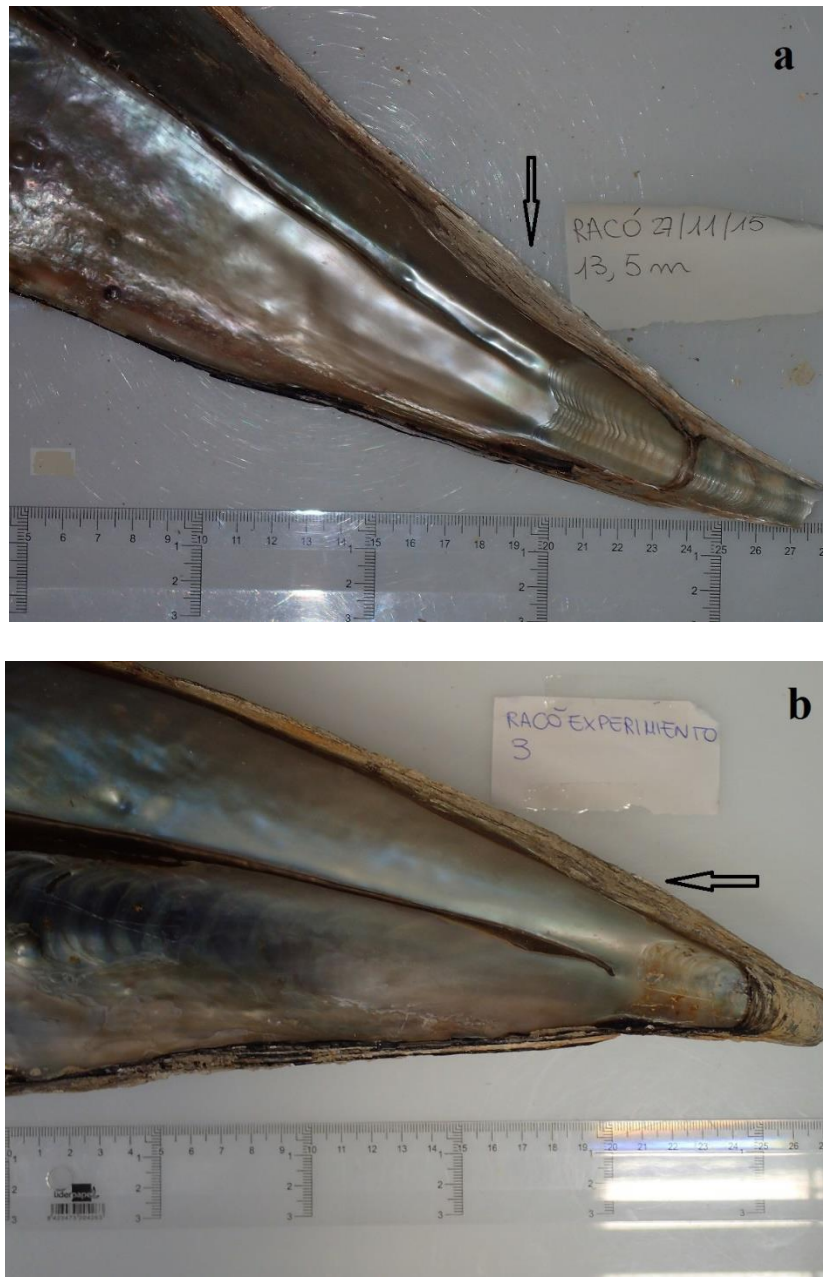
In totale sono state analizzate 19 valve di esemplari morti di *Pinna nobilis* (8 a Calpe, 11 a Isola di Tabarca). Fin da una prima osservazione si notano delle differenze tra le due popolazioni, sia per quanto riguarda la taglia degli individui, sia per lo stato di conservazione delle valve. Gli esemplari della popolazione dell'Isola di Tabarca risultano essere più rovinati, mostrano un elevato tasso rottura, soprattutto nella parte posteriore, ed erosione. In tutti i campioni analizzati, il lato ventrale e quello dorsale sono fortemente ricostruiti in prossimità della parte anteriore della conchiglia. Gli individui della popolazione di Calpe raggiungono invece dimensioni maggiori e le conchiglie sono state trovate quasi tutte intatte, senza segni evidenti di rottura e danni meccanici (Fig. 30). Gli unici segni dovuti a stress di tipo meccanico derivano dalla presenza di epibionti come balanidi, anellidi e spugne incrostanti, che rappresentano solo una piccola parte dell'ampia comunità tassonomica di specie associate e commensali di *P. nobilis* (Fig. 31). Anche in questa popolazione gli esemplari risultano essere fortemente ricostruiti nel lato ventrale della conchiglia, come ad esempio il campione Raco\_Experimento2015\_3 che mostra una ricostruzione avente uno spessore di circa 10mm. Una situazione simile è stata osservata anche in un altro campione (Calpe Raco 27/11/15) in cui gli strati ricostruiti nella parte ventrale superano addirittura i 12mm di spessore. Quest'ultimo campione non è stato preso in considerazione per lo studio, nonostante fosse quello con dimensioni maggiori (78.5cm), perché prelevato ad una profondità elevata (13.5m) (Fig. 32 a e b).



Figura 30. Valve di *Pinna nobilis*. A sinistra un esemplare dell'Isola di Tabarca, a destra un esemplare di Calpe Racó.



Figura 31. Esemplare della popolazione di Calpe Racó. Si notano i segni derivanti dalla presenza di balanidi



**Figura 32.** (a) e (b). Esemplari prelevati a Calpe Racó. Le frecce indicano il lato ventrale fortemente ricostruito (~10-12mm di spessore). Nella figura (a) si notano perfettamente le impronte del muscolo adduttore anteriore.

#### 4.1 Regressione tra lunghezza totale (Htr) e lunghezza del muscolo adduttore posteriore (MAPa)

È stata utilizzata un'equazione per il retro-calcolo della dimensione totale della valva per ogni registro interno di crescita. Diversi autori hanno infatti dimostrato che all'interno di ogni popolazione esiste una relazione lineare tra la lunghezza totale della valva (Htr) e la lunghezza del muscolo adduttore posteriore (MAPa) (Garcia-March e Marquez-Aliaga, 2007; Moreteau e

Vincente, 1990; Richardson *et al.*, 1999). Per questo motivo è stata creata una matrice dati contenente solo questi due parametri (Htr e MAPa) e da questi è stato ottenuto il digramma di dispersione (Tabella 3 e Fig. 33). L'obiettivo della regressione è quello di valutare la forza dell'associazione lineare tra le due variabili studiate e di individuare la retta che meglio si adatta ai dati. È stata utilizzata l'equazione di una retta, in cui:

$$y = mx + q$$

m= coefficiente angolare, cioè la pendenza della retta;

q = intercetta; corrisponde al valore di y del punto di intersezione della retta con l'asse delle ordinate.

Tale regressione ha mostrato un'alta correlazione in entrambe le popolazioni, con valori di R<sup>2</sup> intorno a 0.90 (Equazioni 1-2).

(1) Calpe Racó: Htr= 2.24x + 0.93; R<sup>2</sup>=0.88; n= 23

(2) Isola Tabarca: Htr= 2.10x + 3.27; R<sup>2</sup>= 0.87; n= 29

Utilizzando queste equazioni è stato possibile stimare quali fossero le dimensioni degli individui nel momento in cui è stato depositato ogni registro interno di crescita, sfruttando la regressione lineare tra le due variabili misurate. La stima di entrambe le dimensioni è stata effettuata attraverso una misurazione diretta, in cm. I valori sono riportati nella Tabella 3.

**Tabella 3.** Htr vs MAPa per le due popolazioni, Calpe e Tabarca. Valori in cm.

Htr	MAPa	CODICE	Htr	MAPa	CODICE
48	22.1	Raco_200513_6	51.1	22.2	I_Tabarca_111213_5_1
37.3	18.6	Raco_110913_6_7	37.9	16.9	I_Tabarca_111213_5_3
53.6	23.4	Raco_110913_7_3	44.4	19.9	I_Tabarca_111213_8_1
58	25.8	Raco_120913_9_8	62	28.6	I_Tabarca_111213_8_4
46	20.4	Raco_150913_8_3	57.2	23.7	I_Tabarca_111213_8_5
44.9	20.4	Raco_160913_5	52.1	23.6	I_Tabarca_111213_8_6
42.3	18.2	Raco_170913_7_3	53.6	24.1	I_Tabarca_111213_8_7
47.6	23.4	Raco_170913_8_9	56.1	25.7	I_Tabarca_111213_8_8

58.9	28.3	Raco_170913_9_3	60.4	25.4	I_Tabarca_111213_8_9
54.2	25.8	Raco_170913_9_9	56.7	25.4	I_Tabarca_111213_8_10
58.9	24.4	Raco_170913_10_2	60.9	25.8	I_Tabarca_111213_8_11
68.2	30	Raco_170913_12°	40.6	18.3	I_Tabarca_111213_8_12
49.6	23.9	Raco_190913_8	40.4	20.2	I_Tabarca_111213_8_13
29	13.4	Raco_200913_4_5	50.1	20.7	I_Tabarca_111213_8_14
33.5	15.3	Racó_200913_7_5°	58.4	26.7	I_Tabarca_111213_8_15
50.4	22	Raco_200913_7_5b	53.6	22.8	I_Tabarca_111213_8_16
41.6	18.1	Raco_111013_9°	68.8	30.4	I_Tabarca_111213_8_17
30.7	13.1	Raco_111013_9b	54.9	24.9	I_Tabarca_111213_8_18
55.2	23.6	Raco_111013_9c	50.05	21.05	I_Tabarca_111213_8_19
52.7	22.6	Raco_111013_9d	56.3	23	I_Tabarca_111213_8_22
47.7	20.5	Racó_191213_5	59.5	22.7	I_Tabarca_111213_8_23
48.7	21.7	CalpeRacó2014_6m	35.2	17.2	I_Tabarca_111213_8_25
55	26.6	Peñón17_11_15_12m	40.9	16.7	I_Tabarca_111213_8_27
59	22.5	Racóexperimento2015_1	48.8	21.9	I_Tabarca_111213_8_28
60.8	27.9	Racóexperimento2015_2			
56.5	22.2	Racóexperimento2015_3			
58.3	27	Racóexperimento2015_4			
54	21.6	Racó6_5_10			
55.1	24.6	Racó7_5_10			

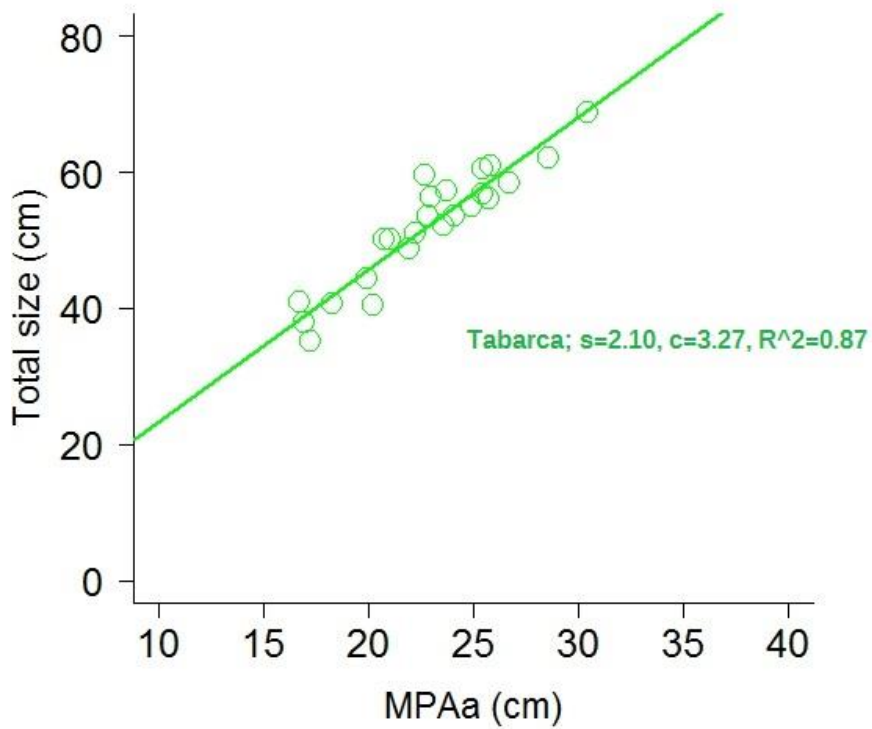
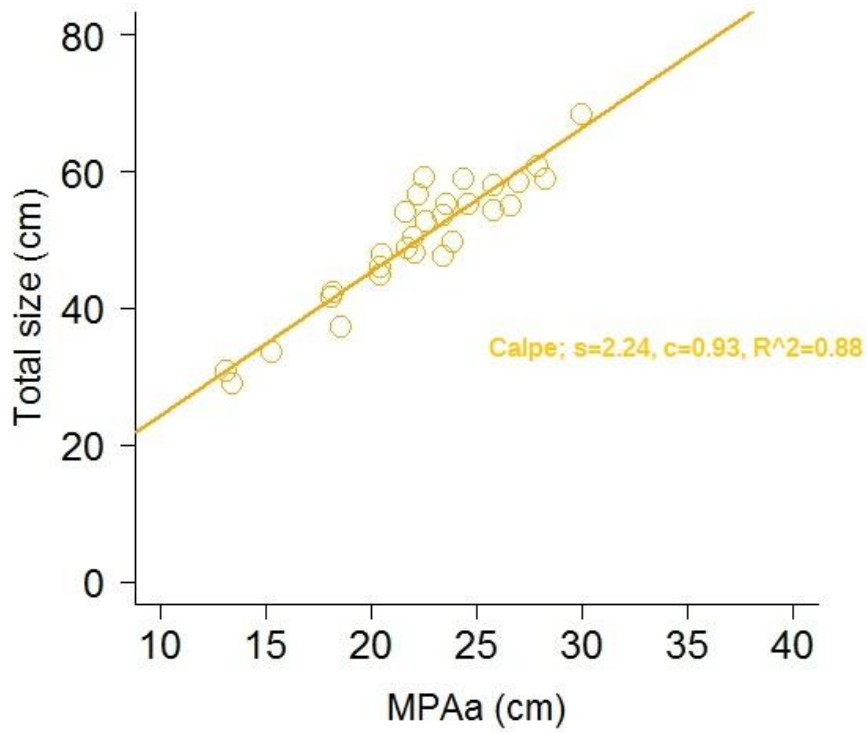


Figura 33. Diagrammi di dispersione. Regressione tra dimensione totale (Htr) e lunghezza del MAPa. Popolazione di Calpe e dell'Isola di Tabarca

Come si nota nella Tab. 3, il numero totale di campioni per la popolazione di Calpe è 29 (n= 29), mentre per la popolazione dell'Isola di Tabarca solo 23 (n=23). Gli esemplari di Calpe sottolineati in giallo indicano che sono stati raccolti ad una profondità di 12 metri, profondità superiore rispetto a quella stabilita per il campionamento (5-10m).

#### 4.2 Stima dei registri interni di crescita persi a causa del fenomeno di erosione

Lo strato di calcite nella parte anteriore della conchiglia risulta essere spesso incompleto a causa dell'erosione, in questo modo alcuni dei registri di crescita più vecchi potrebbero non essere più presenti (Garcia-March *et al.*, 2011). Per ottenere il numero dei registri di crescita persi è stato misurato innanzitutto lo spessore di calcite, in millimetri, nei punti in cui si sono depositati i tre registri di crescita più vecchi, dopo di che tali spessori sono stati comparati all'interno della stessa popolazione. Per avere una stima effettiva dei registri di crescita persi in seguito all'erosione sono stati aggiunti anni in corrispondenza degli spessori di calcite che risultavano essere chiaramente troppo spessi per poter corrispondere solamente al primo registro depositato.

##### 4.2.1 Popolazione di Calpe

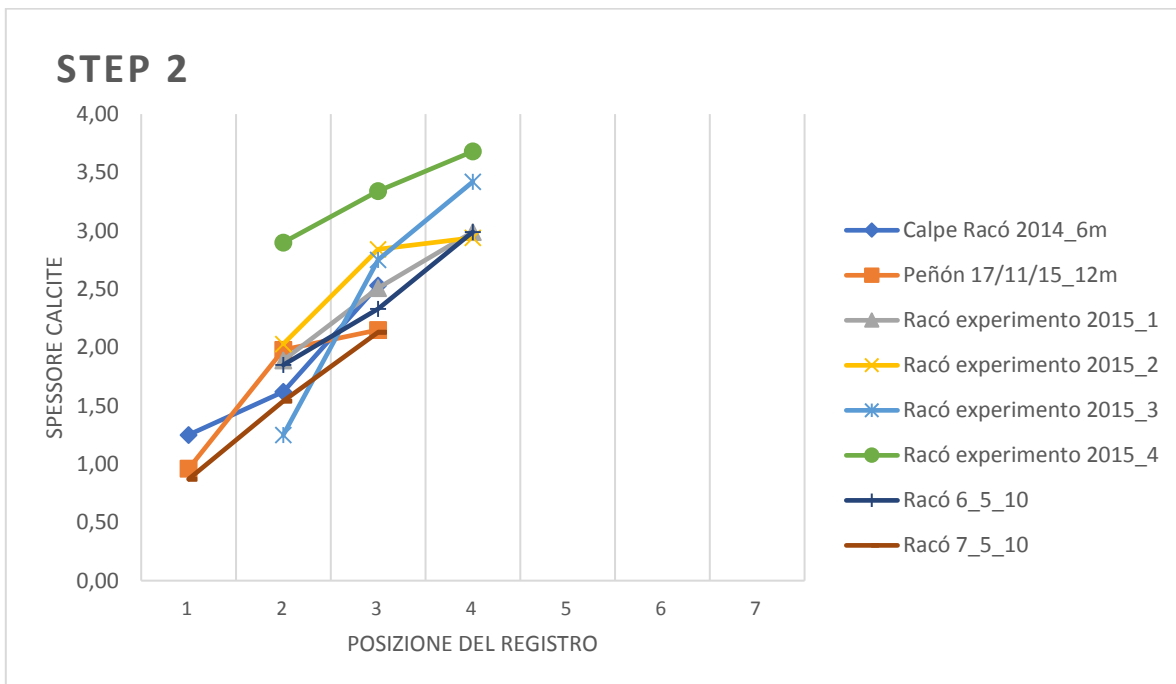
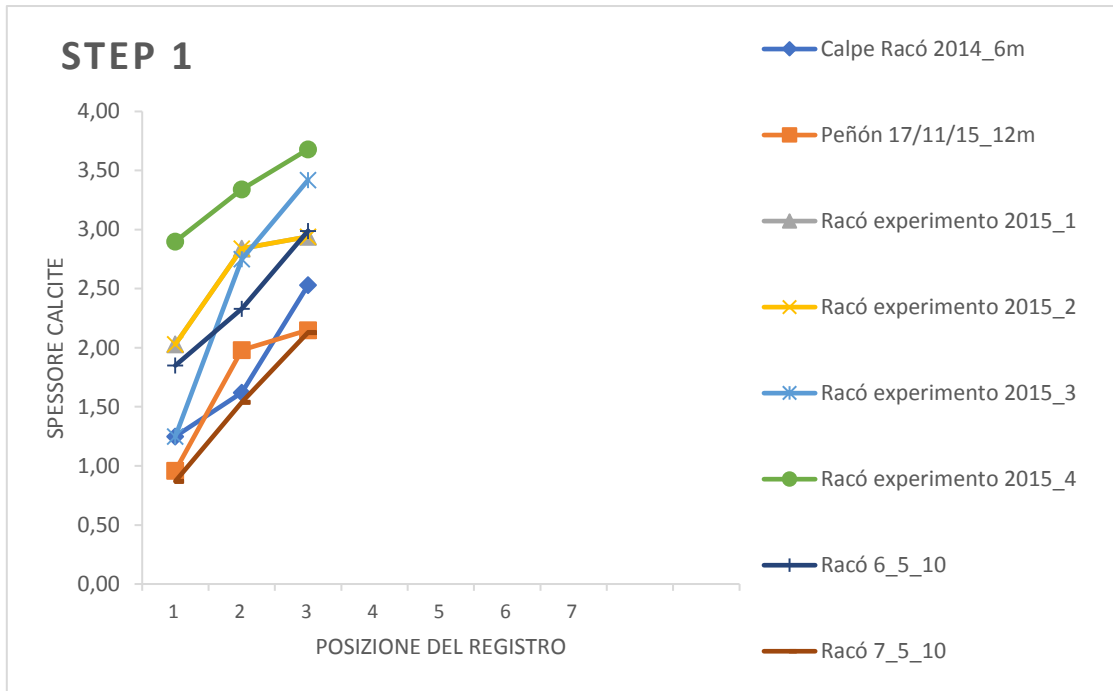
**Tabella 4.** Spessore degli strati di calcite nei tre registri di crescita più vecchi (mm).

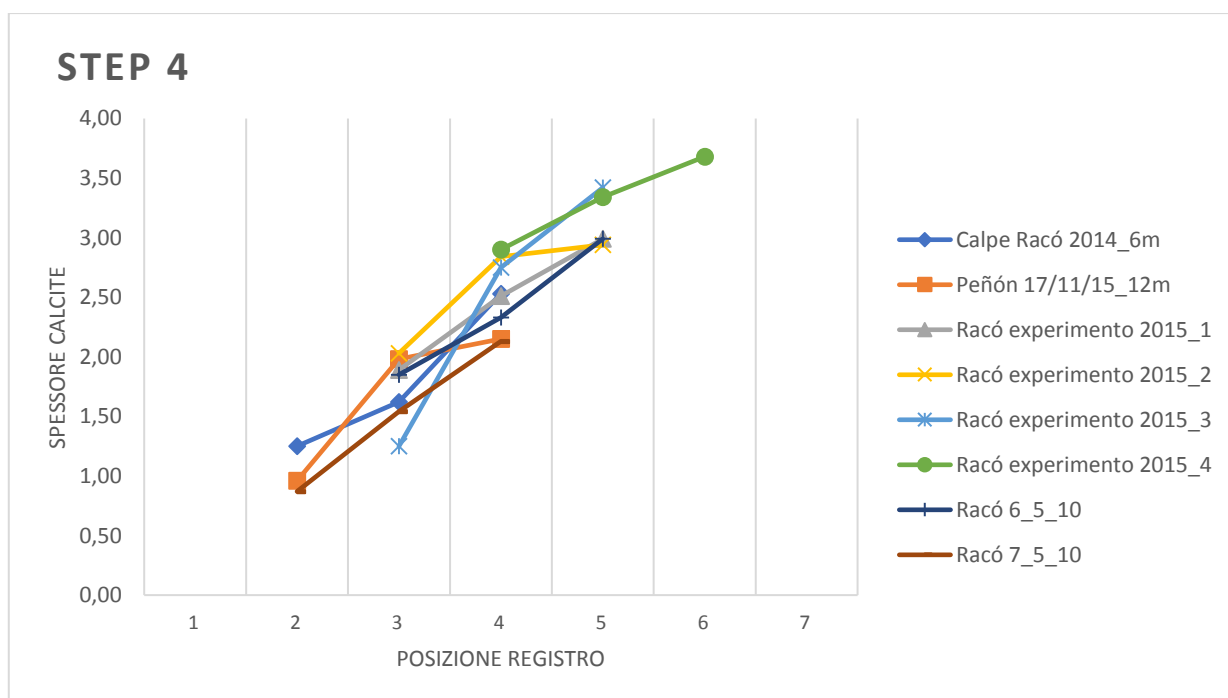
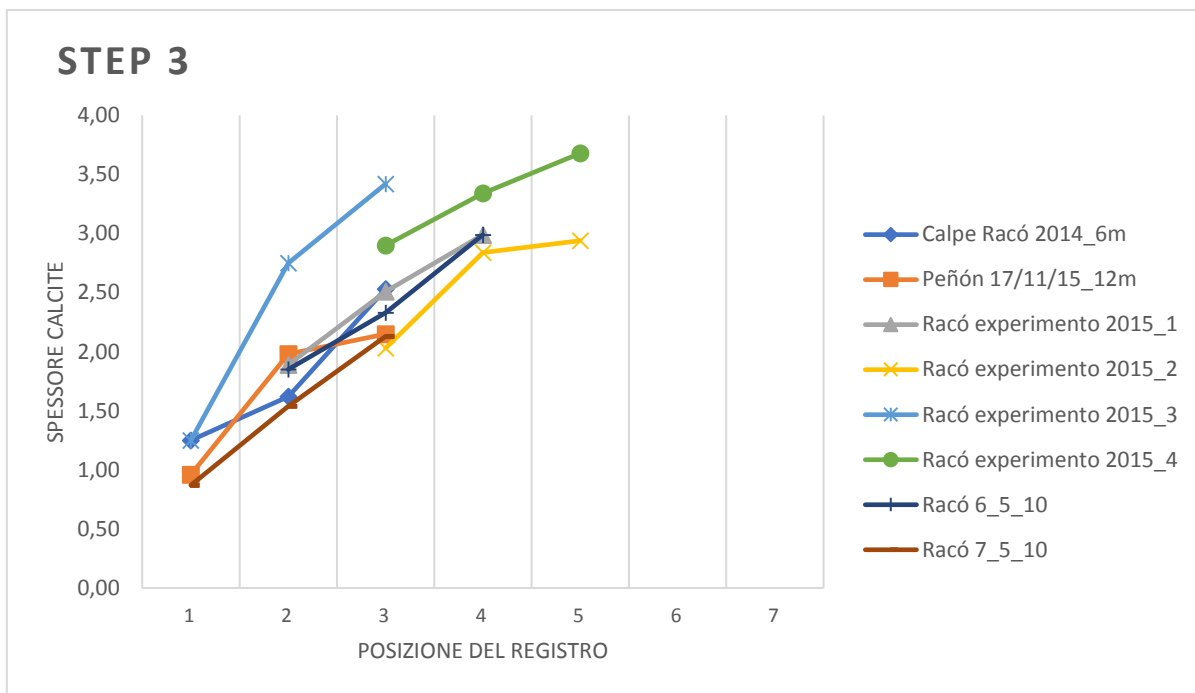
	1	2	3
CODICE	Media	Media	Media
Calpe Racó 2014_6m	1,25	1,62	2,53
Peñón 17/11/15_12m	0,96	1,98	2,15
Racó experimento 2015_1	1,89	2,51	2,99
Racó experimento 2015_2	2,03	2,84	2,94
Racó experimento 2015_3	1,25	2,75	3,42
Racó experimento 2015_4	2,90	3,34	3,68
Racó 6_5_10	1,85	2,33	2,99
Racó 7_5_10	0,87	1,54	2,13

Come si nota dalla Tabella 4, lo spessore degli strati di calcite aumenta in direzione posteriore; la calcite in prossimità del primo registro di crescita, cioè del più vecchio, è più sottile rispetto alle altre. Proprio per questo motivo, per stimare i registri di crescita annuali persi, si aggiungono anni

in corrispondenza degli spessori di calcite che risultano essere troppo spessi per poter corrispondere solamente al primo registro depositato, cioè equivalere al primo anno di età. L'obiettivo è quello di riuscire a creare, step by step, un grafico in cui vengono messi in comparazione gli spessori di calcite (Fig. 34). In tutti i campioni della popolazione di Calpe, quelli che presentano un minore spessore di calcite in prossimità del primo registro di crescita, quindi uno spessore adeguato al primo anno di età, sono Calpe Racó 2014\_6m, Peñon 17/11/15\_12m e Racó7\_5\_10. Per questo motivo, in tutti gli altri esemplari, la posizione del primo registro di crescita viene spostata di +1 posizione sull'asse delle ascisse nello step 1. Anche il campione RacóEsperimento2015\_3, nonostante lo spessore dello strato di calcite in prossimità del primo registro di crescita risulta essere 1.25mm, viene spostato di +1 posizione sull'asse delle ascisse nel primo step. Questo avviene perché tale valore è considerato inferiore rispetto al valore che dovrebbe assumere realmente. Il valore reale si stima debba essere intorno ai 2 mm ma, a causa del fenomeno di erosione della calcite nella parte anteriore della valva, questo risulta essere meno spesso. La conseguenza è una leggera alterazione dell'andamento del grafico. Alla fine di tutto questo processo, nello step 4, i tre campioni con lo spessore di calcite minore risultano spostati solo di +1 posizione, che si traduce nell'aggiunta di un solo anno di età per ognuno degli esemplari. I campioni RacóEsperimento2015\_1, RacóEsperimento2015\_2, RacóEsperimento2015\_3, Racó6\_5\_10 risultano spostati di +2 posizioni, cioè sono stati aggiunti due anni di età. L'esemplare RacóEsperimento2015\_4 è stato spostato di +3 posizioni, avendo uno spessore di calcite, in prossimità del suo primo registro di crescita, di 2.90mm, valore molto superiore rispetto a quello che dovrebbe avere per essere realmente il più vecchio. Difficoltà sono sorte anche al momento della conta dei registri di crescita interni, cioè delle lingue di madreperla, attraverso l'utilizzo dello stereo-microscopio. Nei campioni Racó6\_5\_10 e Racó7\_5\_10 è stata osservata una lingua di madreperla incompleta nella porzione più posteriore, cioè più giovane, della valva. Normalmente non viene attribuito un anno di età ai registri di crescita interni che non risultano del tutto formati, in quanto l'aggiunta di un anno potrebbe portare ad un errore nella stima d'età. Nonostante ciò, per questi campioni, è stato deciso di considerare le lingue di madreperla "incomplete" come anno intero, poiché l'errore nella stima d'età sarebbe stato maggiore se non le avessimo fatto (Tab. 5).







**Figura 34.** Processo a quattro step utilizzato per ottenere il numero dei registri interni di crescita persi a causa del fenomeno di erosione. Viene analizzato lo spessore dello strato di calcite in prossimità dei tre registri più vecchi, incrociando questi valori con una stima d'età. Popolazione di Calpe Racó.

**Tabella 5.** Stima d'età e dei registri interni di crescita persi a causa del fenomeno di erosione per ogni campione.

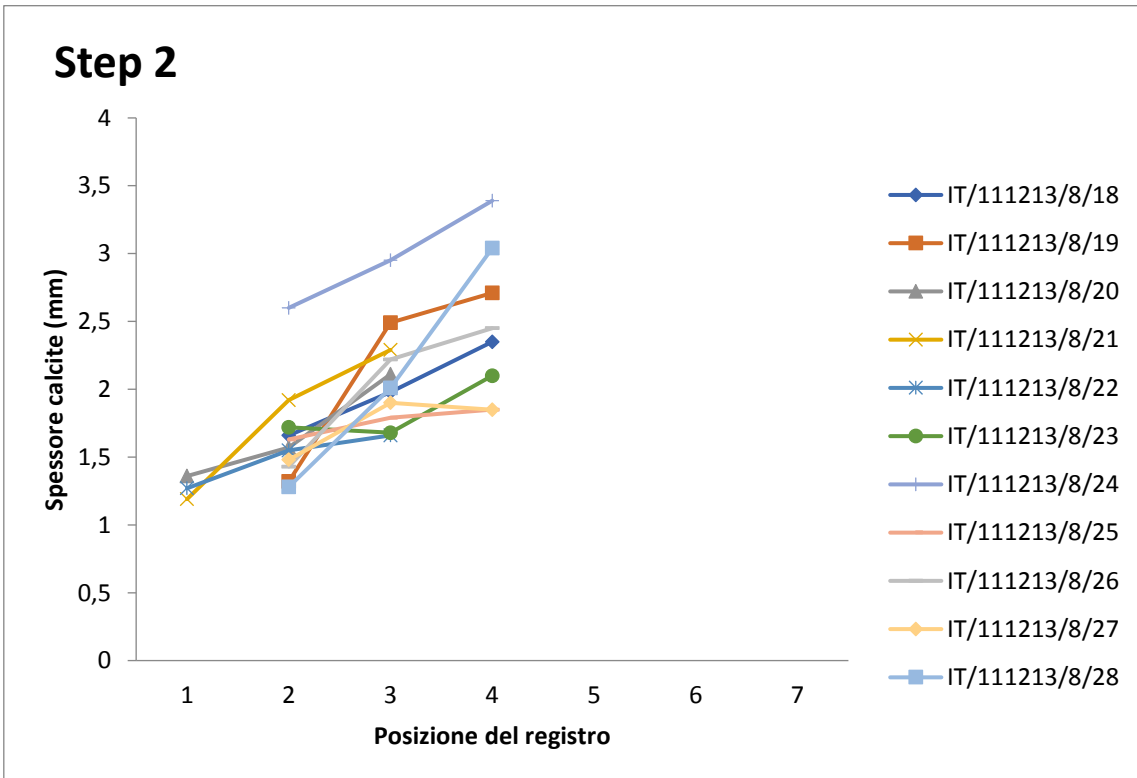
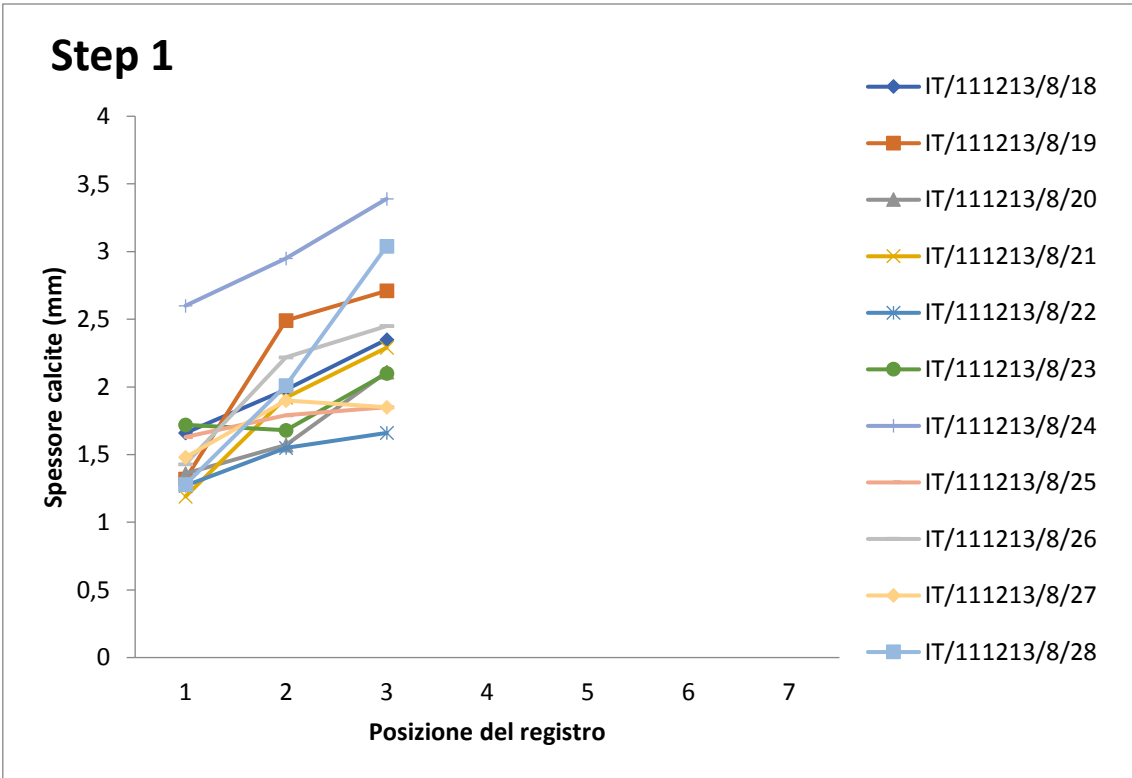
<b>CODICE</b>	<b>Stima età (anni)</b>
<b>CalpeRacó2014_6m</b>	<b>4 + 1</b>
<b>Racó6_5_10</b>	<b>8 + 2</b>
<b>Racó7_5_10</b>	<b>9 + 1</b>
<b>Racóesperimento2015_1</b>	<b>9 + 2</b>
<b>Racóesperimento2015_2</b>	<b>10 + 2</b>
<b>Racóesperimento2015_3</b>	<b>15 + 2</b>
<b>Racóesperimento2015_4</b>	<b>9 + 3</b>
<b>Peñon171115_12m</b>	<b>11 + 1</b>

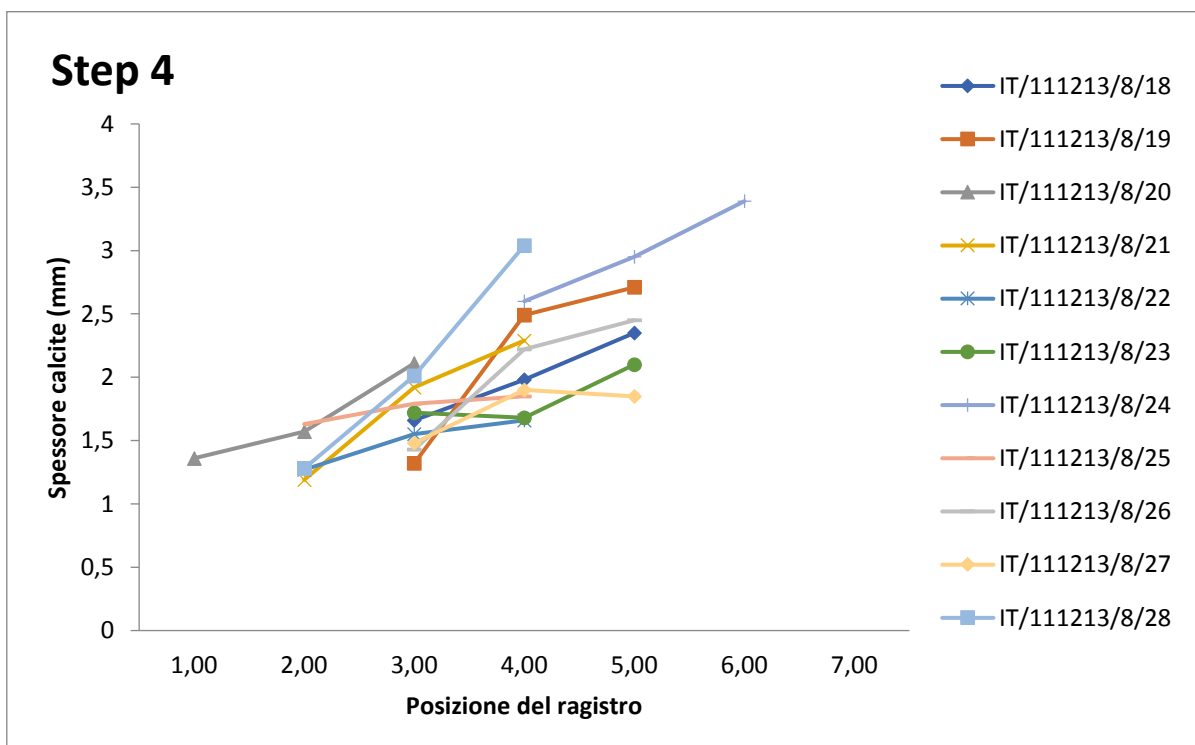
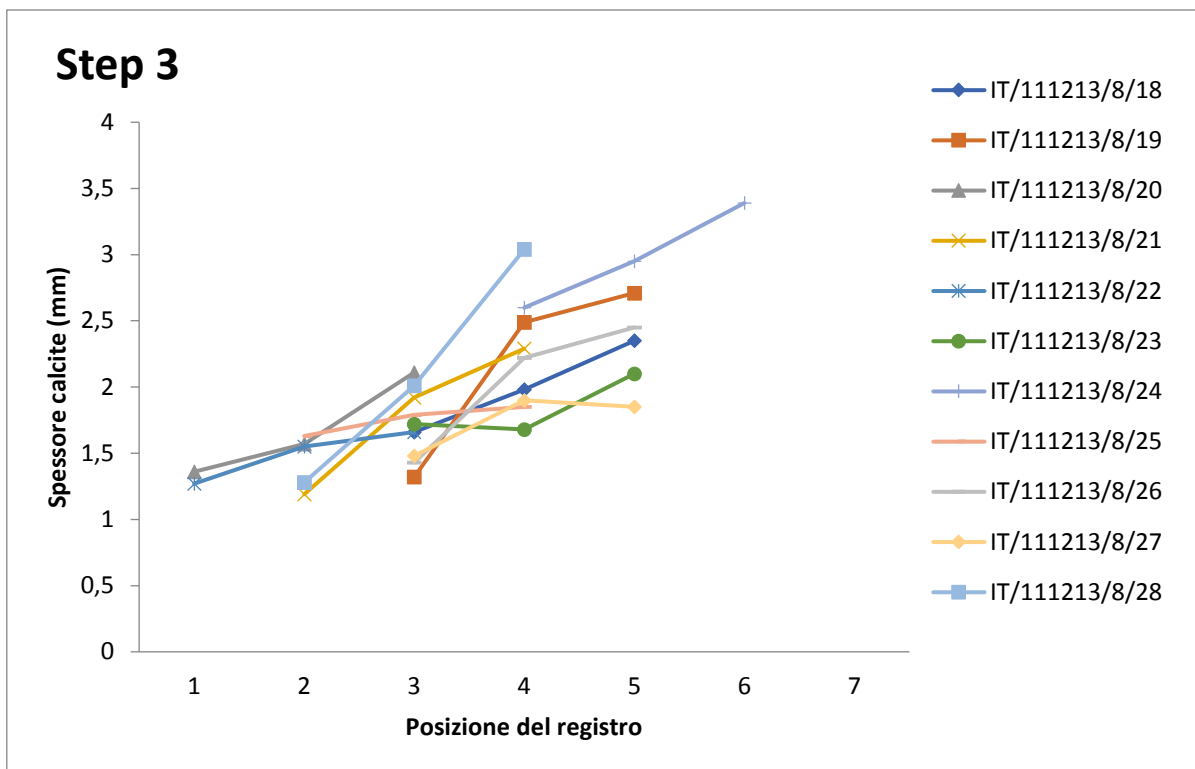
#### 4.2.2 Popolazione dell'Isola di Tabarca

**Tabella 6.** Spessore degli strati di calcite nei registri di crescita più vecchi (mm).

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>CODICE</b>	<b>Media</b>	<b>Media</b>	<b>Media</b>
IT/111213/8/18	1,66	1,98	2,35
IT/111213/8/19	1,32	2,49	2,71
IT/111213/8/20	1,36	1,57	2,11
IT/111213/8/21	1,19	1,92	2,29
IT/111213/8/22	1,27	1,55	1,66
IT/111213/8/23	1,72	1,68	2,10
IT/111213/8/24	2,60	2,95	3,39
IT/111213/8/25	1,63	1,79	1,85
IT/111213/8/26	1,43	2,22	2,45
IT/111213/8/27	1,48	1,90	1,85
IT/111213/8/28	1,28	2,01	3,04

L'ampio spessore dello strato di calcite nel primo registro di crescita dell'esemplare IT/111213/8/24 (2.60mm) suggerisce che questo non corrisponde al registro effettivamente più vecchio; per questo motivo, come si vede nello step 4, è stato spostato di + 3 posizioni, in modo da essere conforme con il resto dei campioni (Fig. 35). I campioni IT18, IT19, IT23, IT26, IT27 risultano spostati di + 2 posizioni, quindi vengono aggiunti due anni di età. Caso particolare sono i campioni IT23 e IT27, in cui lo spessore di calcite in prossimità, rispettivamente, del secondo e del terzo registro di crescita risulta essere inferiore a quello delle impronte che li precedono. Sono valori definiti "rari" e ciò accade perché la calcite è erosa in quella zona. Il gruppo di esemplari con spessore di calcite compreso tra 1.20 e 1.60 mm (IT21, IT22, IT25, IT28) è stato spostato solo di +1 posizione sull'asse delle ascisse, essendo tale spessore più consono al secondo registro di crescita piuttosto che al primo. Eccezione fa il campione IT20, la cui posizione nel grafico rimane invariata. Una peculiarità è il campione IT28, in cui lo spessore dello strato di calcite del primo registro di crescita risulta essere 1.28 mm, valore considerato "erroneo". Il valore reale si stima debba essere intorno ai 1.50mm ma, in seguito all'erosione della calcite nella parte anteriore della valva, questo risulta essere inferiore. Tale processo a quattro step ha permesso di identificare, in prossimità del primo registro di crescita di alcuni esemplari della popolazione di Tabarca, un valore nello spessore di calcite superiore a quello "normalmente" previsto. Ciò conferma che molto spesso il primo vero registro di crescita, equivalente al primo anno d'età, non viene identificato a causa del fenomeno di erosione nella parte anteriore della valva (Tab. 7).





**Figura 35.** Processo a quattro step utilizzato per ottenere il numero dei registri di crescita persi a causa del fenomeno dell'erosione. Viene analizzato lo spessore dello strato di calcite in prossimità dei tre registri più vecchi, incrociando questi valori con una stima d'età. Popolazione dell'Isola di Tabarca.

**Tabella 7.** Stima d'età e dei registri interni di crescita persi a causa del fenomeno di erosione per ogni campione.

<b>CODICE</b>	<b>Stima d'età (anni)</b>
IT_111213_8_18	18 + 2
IT_111213_8_19	23 + 2
IT_111213_8_20	19 + 1
IT_111213_8_21	19 + 1
IT_111213_8_22	11 + 1
IT_111213_8_23	16 + 2
IT_111213_8_24	12 + 3
IT_111213_8_25	11 + 1
IT_111213_8_26	22 + 2
IT_111213_8_27	9 + 2
IT_111213_8_28	18 + 2

Alla fine è stata ottenuta una matrice dati taglia-età per tutti gli esemplari, che è stata poi utilizzata per calcolare i parametri dei modelli di crescita delle popolazioni (Tab. 8 e 9). Gli esemplari più longevi appartengono alla popolazione dell'Isola di Tabarca e il campione con età massima è IT\_111213\_8\_19 (età max= 25anni). L'età massima all'interno della popolazione di Calpe è 17 anni, del campione Racóexperimento2015\_3.

**Tabella 8.** Matrice dati dimensione-età. In viola è indicata l'età massima raggiunta all'interno della popolazione di Calpe.

<b>CODICE</b>	<b>Htr(cm)</b>	<b>Età (anni)</b>
CalpeRacó2014_6m	46.1	5
Racó6_5_10	52.9	10
Racó7_5_10	55.4	10
Racóexperimento2015_1	55.9	11
Racóexperimento2015_2	61.4	12
Racóexperimento2015_3	57.8	17
Racóexperimento2015_4	58.7	12
Peñon171115_12m	55.6	12

**Tabella 9.** Matrice dati dimensione-età. In viola è indicata l'età massima raggiunta all'interno della popolazione dell'Isola di Tabarca.

<b>CODICE</b>	<b>Htr(cm)</b>	<b>Età (anni)</b>
IT_111213_8_18	59.1	20
IT_111213_8_19	56.9	25
IT_111213_8_20	49.4	20
IT_111213_8_21	44.9	20
IT_111213_8_22	61.2	12
IT_111213_8_23	58.6	18
IT_111213_8_24	53.6	15
IT_111213_8_25	46.2	12
IT_111213_8_26	62.4	24
IT_111213_8_27	42.7	11
IT_111213_8_28	49.9	20

Tempesta *et al.* (2013) nel loro studio hanno classificato gli individui in quattro classi dimensionali, di 20 cm ciascuna, suddivise in 0-20 cm (individui giovanili), 20-40 cm (giovani adulti), 40-60 cm (adulti) e maggiore di 60 cm (anziani). Considerando tale classificazione, nelle popolazioni di Calpe Racó e dell'Isola di Tabarca la quasi totalità delle valve raccolte raggiunge dimensioni ricadenti nella classe degli adulti, solamente 2 valve di Tabarca e una di Calpe superano la soglia dei 60 cm. In seguito alla rapida crescita iniziale, tipica degli stadi giovanili, si nota come gli accrescimenti siano piuttosto vari. A Calpe, in media, gli individui hanno mostrato una crescita di ~14-15 cm tra i 5 e i 10 anni d'età, minore a Tabarca, in cui si registra un incremento di soli 6-8 cm. La crescita rallenta con l'aumentare dell'età, come si evince dalla curva di crescita di popolazione. Il campione Racóexperimento2015\_3, unico esemplare che raggiunge e supera i 15 anni d'età, acquista ~8 cm tra i 10 e i 15 anni. Diversa la situazione per gli individui di Tabarca in cui l'aumento è pressoché minimo, dai 3 ai 5 cm. Ancor minore è l'accrescimento tra i 15 e i 20 anni, stimato di ~1-2 cm. Eccezione fa il campione più longevo di questo studio, IT\_111213\_8\_19, in cui tra i 15 e i 20 anni cresce di ben 5.2 cm, superando più del doppio la media di popolazione. Inoltre raggiunge l'età massima di 25 anni aumentando di altri 3.2 cm di lunghezza.



**Tabella 31.** Valori di lunghezza totale (Htr) raggiunti a 5, 10, 15 e 20 anni per ogni individuo della popolazione di Calpe Racó. L'esemplare CalpeRacó2014\_6m è un giovanile.

CODICE	Htr(cm)	Htr(cm)	Htr(cm)	Htr(cm)
	5 anni	10 anni	15 anni	20 anni
CalpeRacó2014_6m	46.1			
Racó6_5_10	39.3	52.9		
Racó7_5_10	39.9	55.4		
Racóexperimento2015_1	41.5	54.4		
Racóexperimento2015_2	45.5	57.8		
Racóexperimento2015_3	34.2	48.3	56.4	
Racóexperimento2015_4	42.1	55.9		
Peñon171115_12m	38.7	52.0		

**Tabella 14.** Valori di lunghezza totale (Htr) raggiunti a 5, 10, 15 e 20 anni per ogni individuo della popolazione dell'Isola di Tabarca.

CODICE	Htr(cm)	Htr(cm)	Htr(cm)	Htr(cm)	Htr(cm)
	5 anni	10 anni	15 anni	20 anni	25 anni
IT_111213_8_18	38.7	51.1	57.5	59.1	
IT_111213_8_19	36.6	44.9	48.5	53.7	56.9
IT_111213_8_20	39.4	45.9	48.7	49.4	
IT_111213_8_21	35.4	41.7	44.4	44.9	
IT_111213_8_22	44.4	57.5			
IT_111213_8_23	41.1	52.3	56.9		
IT_111213_8_24	43.7	50.4	53.6		
IT_111213_8_25	36.9	45.2			
IT_111213_8_26	46.1	54.8	59.1	60.8	
IT_111213_8_27	34.5	41.5			
IT_111213_8_28	36.9	46.8	49.5	49.9	

#### 4.3 Stima dei parametri di crescita: modello di Von Bertalanffy

L'accrescimento viene misurato in unità di lunghezza, mediante specifici parametri di crescita che seguono modelli matematici. Studi su *Pinna nobilis* hanno dimostrato che la crescita degli esemplari segue il modello di crescita di Von Bertalanffy (Vincente, 1990; Butler *et al.*, 1993; Richardson *et al.*, 1999), in cui si nota una rapida crescita negli stadi giovanili (fino a circa 5 anni) e un successivo rallentamento del tasso di crescita fino a che gli individui non raggiungono la massima taglia asintotica ( $L_{\infty}$  o  $L_{\max}$ ). La formula matematica di Von Bertalanffy esprime dunque la lunghezza come una funzione dell'età. Tale equazione è stata utilizzata per analizzare sia la crescita individuale di ogni singolo campione, sia l'andamento della crescita dell'intera popolazione:

$$L_t = L_{\max} [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

Per entrambe le popolazioni sono stati rappresentati graficamente i valori di  $L_{\max}$  individuale, cioè le potenziali dimensioni massime che potrebbero raggiungere gli esemplari se vivessero abbastanza a lungo. Nelle tabelle vengono riportati anche i valori della costante  $t_0$ , valore di maggior importanza matematica più che biologica, però fondamentale per l'equazione di crescita e la costante  $k$ , cioè la velocità di crescita. La linea viola del grafico rappresenta la crescita individuale di ogni esemplare, mentre la linea azzurra delinea il modello generale di crescita della popolazione. I punti definiscono la dimensione dell'esemplare per ogni registro interno di crescita calcolato (Fig. 36 e Fig. 37). Si sono osservati due comportamenti distinti: mentre alcuni esemplari si approssimano molto bene al modello di crescita della popolazione, altri mostrano un'approssimazione meno precisa alla curva di crescita di popolazione, sia per eccesso che per difetto.

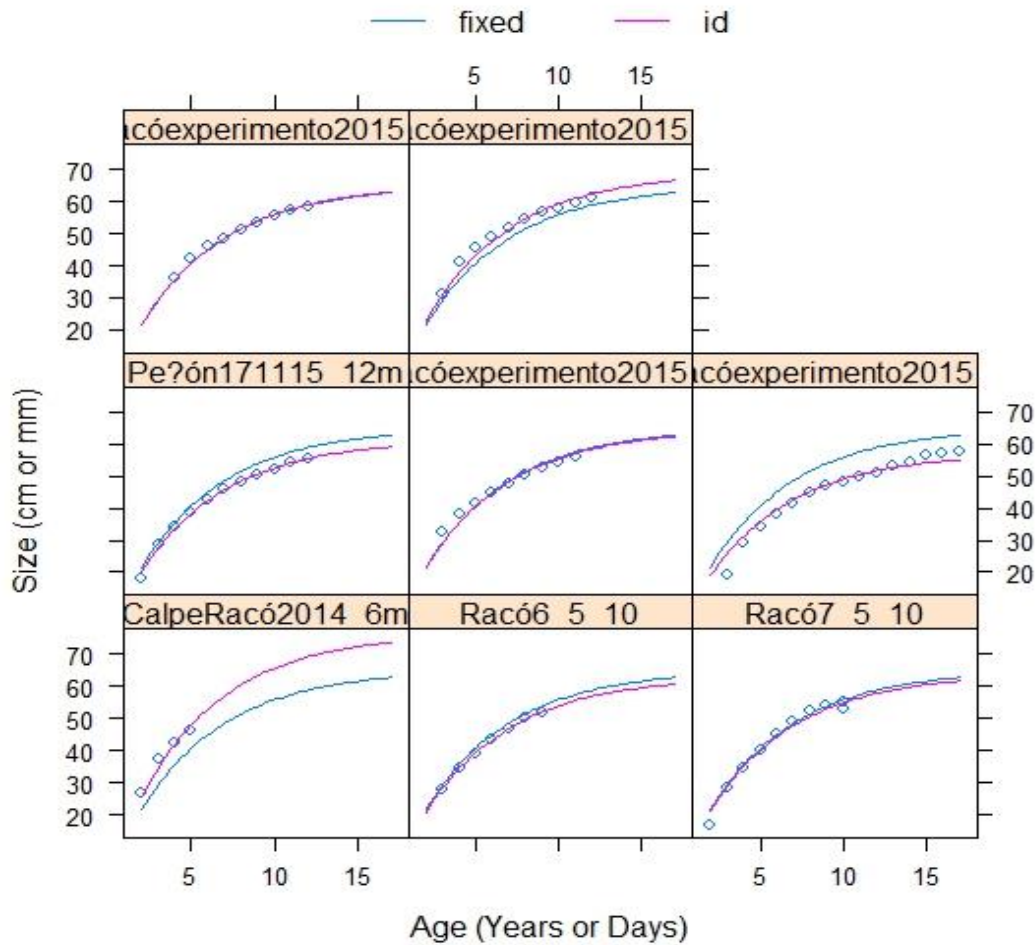
##### 4.3.1 Popolazione di Calpe

La popolazione di Calpe è quella che raggiunge la dimensione asintotica media massima più elevata ( $L_{\max}$  popolazione= 65.21cm), nonostante la velocità di crescita non sia così cospicua ( $k=0.19$ ). I maggiori valori di  $L_{\max}$  sono stati registrati proprio nella popolazione di Calpe Racó in campioni come CalpeRacó2014\_6m ( $L_{\max}= 76.68\text{cm}$ ) e Racóesperimento2015\_2 ( $L_{\max}= 69.12\text{cm}$ ). In questa popolazione, la  $L_{\max}$  individuale che più si approssima a quella del modello di crescita della popolazione è quella degli esemplari Racó7\_5\_10 ( $L_{\max}= 64.12\text{cm}$ ); Racóesperimento2015\_1 ( $L_{\max}= 64.72\text{cm}$ ) e Racóesperimento2015\_4 ( $L_{\max}= 65.35\text{cm}$ ), come mostra la tabella (Tab. 13).

**Tabella 13.** Parametri di crescita di Von Bertalanffy per la popolazione di Calpe.  $L_{max}$ = lunghezza massima asintotica;  $t_0$ = coefficiente di condizione iniziale;  $k$ = costante di crescita (velocità alla quale viene raggiunta la lunghezza asintotica  $L_{max}$ )

<b>CODICE</b>	<b><math>L_{max}</math></b>	<b><math>t_0</math></b>	<b><math>k</math></b>
<b>CalpeRacó2014_6m</b>	<b>76.68</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racó6_5_10</b>	<b>63.06</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racó7_5_10</b>	<b>64.12</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racóexperimento2015_1</b>	<b>64.72</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racóexperimento2015_2</b>	<b>69.12</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racóexperimento2015_3</b>	<b>57.22</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Racóexperimento2015_4</b>	<b>65.35</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>
<b>Peñon171115_12m</b>	<b>61.39</b>	<b>-0.08</b>	<b>0.19</b>

I modelli di crescita individuale che più si discostano dal modello di popolazione sono quelli dei campioni Racóexperimento2015\_3 (con  $L_{max}= 57.22$ , sottostima) e CalpeRacó2014\_6m (con  $L_{max}=76.68$ , sovrastima). Nel grafico, sull'asse delle ascisse, è indicata l'età (in anni), mentre sull'asse delle ordinate è indicata la dimensione degli esemplari (in cm).



**Figura 36.** Equazioni individuali di crescita di Von Bertalanffy della popolazione di Calpe; con  $t_0$  e  $k$  costanti,  $L_{max}$  varia liberamente. Prima riga, a partire da sinistra: Racóexperimento2015\_4; Racóexperimento2015\_2. Seconda riga: Peñón171115\_12m; Racóexperimento2015\_1; Racóexperimento2015\_3. Ultima riga: CalpeRacó2014\_6m; Racó6\_5\_10; Racó7\_5\_10

Nonostante in questo studio non sia stato preso in considerazione il fattore profondità, avendo dato maggior importanza al fattore sito e al concetto di distribuzione spaziale, è stato deciso di analizzare la curva di crescita della valva Peñón171115\_12m, prelevata ad una profondità superiore al range in cui sono state raccolte le altre valve (5-10m). L'obiettivo è determinare se l'andamento della crescita di questo individuo differisce dalla curva di crescita dell'intera popolazione. Come si può osservare dal grafico (Fig. 36) la curva di crescita della valva prelevata ad una profondità superiore si approssima molto bene alla curva di crescita dell'intera popolazione, e rimuovendo i suoi dati di crescita dalla curva globale la situazione non viene distorta di molto. Diversa è invece la situazione se si analizza campione CalpeRacó2014\_6m, valva di un esemplare giovanile prelevata a 6m, quindi una profondità idonea al range prescelto. La sua curva di crescita sovrastima la curva di

crescita della popolazione. Si è visto dunque come la minor profondità di 6 metri, inteso come “limite inferiore” del range, possa essere un fattore determinante l'accrescimento.

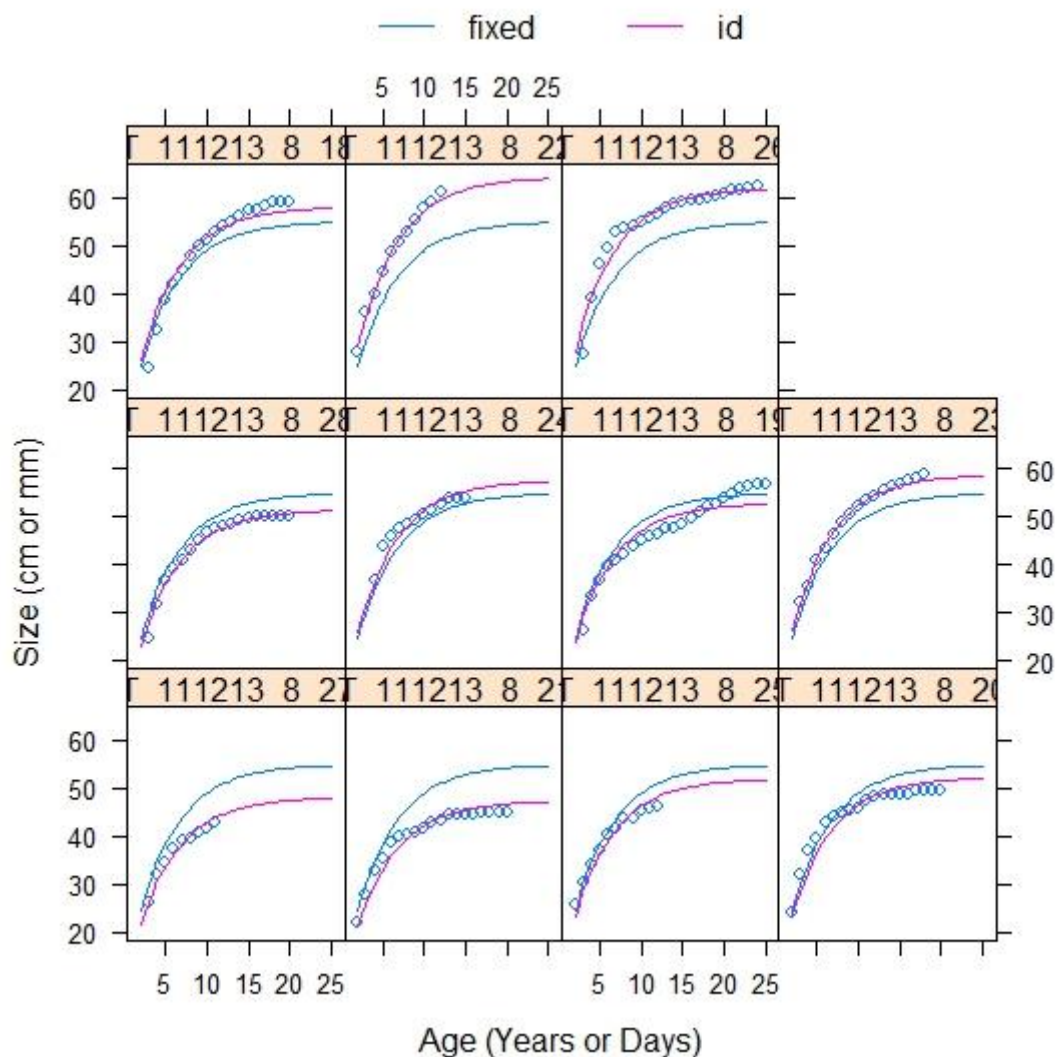
#### 4.3.2 Popolazione dell'Isola di Tabarca

La popolazione dell'Isola di Tabarca raggiunge una dimensione asintotica media massima più bassa ( $L_{max}$  popolazione= 54.95cm), mentre la velocità di crescita risulta essere un poco più elevata ( $k=0.20$ ). I maggiori valori di  $L_{max}$  sono stati registrati nei campioni IT\_111213\_8\_22 ( $L_{max}=64.16$ cm) e IT\_111213\_8\_26 ( $L_{max}= 61.95$ cm). In questa popolazione, la  $L_{max}$  individuale che più si approssima a quella del modello di crescita della popolazione è quella degli esemplari IT\_111213\_8\_19 ( $L_{max}= 52.84$ cm), IT\_111213\_8\_20 ( $L_{max}= 52.27$ cm) e IT\_111213\_8\_24 ( $L_{max}= 57.57$ cm), come mostrano la tabella (Tab. 14).

**Tabella 14.** Parametri di crescita di Von Bertalanffy per la popolazione dell'Isola di Tabarca.  $L_{max}$ = lunghezza massima asintotica;  $t_0$ = coefficiente di condizione iniziale;  $k$ = costante di crescita (velocità alla quale viene raggiunta la lunghezza asintotica  $L_{max}$ )

<b>CODICE</b>	<b><math>L_{max}</math></b>	<b><math>t_0</math></b>	<b><math>k</math></b>
<b>IT_111213_8_18</b>	<b>58.00</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_19</b>	<b>52.84</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_20</b>	<b>52.27</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_21</b>	<b>47.37</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_22</b>	<b>64.16</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_23</b>	<b>58.77</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_24</b>	<b>57.57</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_25</b>	<b>51.97</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_26</b>	<b>61.95</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_27</b>	<b>48.10</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>
<b>IT_111213_8_28</b>	<b>51.45</b>	<b>-0.97</b>	<b>0.20</b>

I modelli di crescita individuale che più si discostano dal modello di popolazione sono quelli dei campioni IT\_111213\_8\_22 (con  $L_{max}= 64.16$ , sovrastima), IT\_111213\_8\_26 (con  $L_{max}= 61.95$ , sovrastima), IT\_111213\_8\_21 (con  $L_{max}= 47.37$ , sottostima) e IT\_111213\_8\_27 (con  $L_{max}= 48.10$ , sottostima). Nel grafico, sull'asse delle ascisse, è indicata l'età (in anni), mentre sull'asse delle ordinate è indicata la dimensione degli esemplari (in cm).



**Figura 37.** Equazioni individuali di crescita di Von Bertalanffy della popolazione di Tabarca; con  $t_0$  e  $K$  costanti,  $L_{max}$  varia liberamente. Prima riga, a partire da sinistra: IT\_111213\_8\_18; IT\_111213\_8\_22; IT\_111213\_8\_26. Seconda riga: IT\_111213\_8\_28; IT\_111213\_8\_24; IT\_111213\_8\_19; IT\_111213\_8\_23. Ultima riga: IT\_111213\_8\_27; IT\_111213\_8\_21; IT\_111213\_8\_25; IT\_111213\_8\_20

#### 4.3.3 Confronto fra le popolazioni di Calpe e dell'Isola di Tabarca

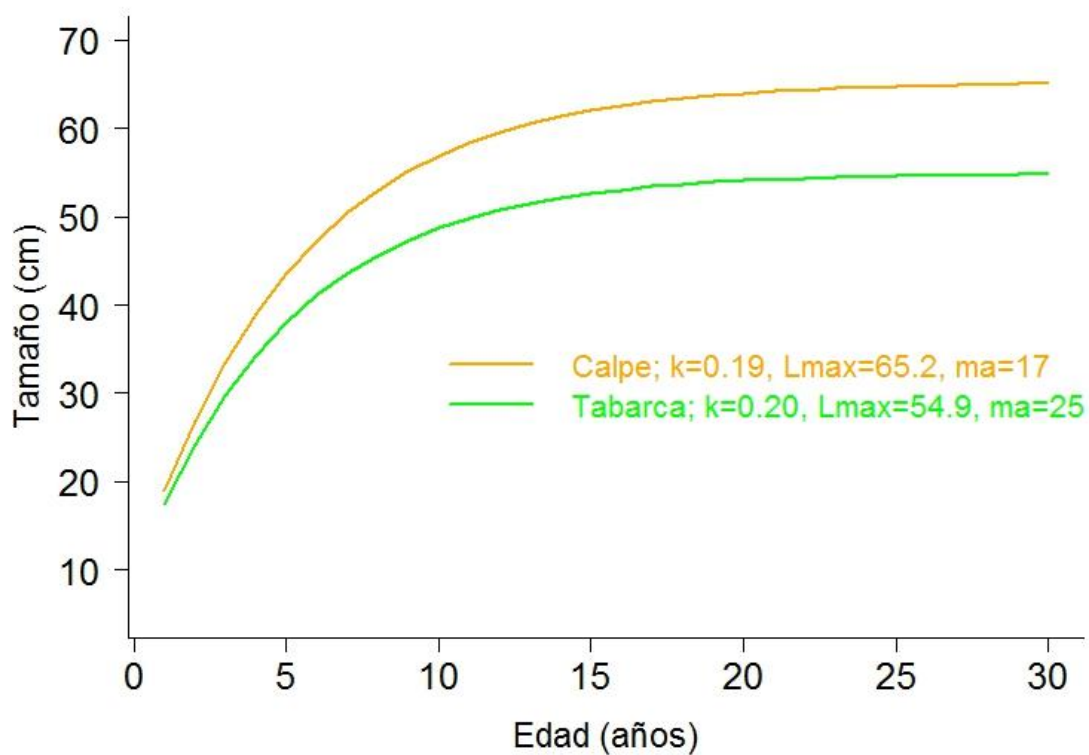
Nella popolazione dell'Isola di Tabarca la variabilità individuale è elevata, minore invece risulta essere nella popolazione di Calpe. Questo è il motivo per cui è necessario rendere al minimo l'errore "umano", cioè l'errore scientifico derivante dal campionamento o dall'analisi dati. Il parametro  $t_0$ , all'interno dell'equazione di crescita di Von Bertalanffy, rappresenta proprio l'errore del ricercatore. Analizzando le curve di crescita delle due popolazioni si osservano differenze significative nei parametri di crescita, nonostante mostrino una tendenza simile. La popolazione di Tabarca è quella che raggiunge la dimensione asintotica massima media ( $L_{max}=54.95\text{cm}$ ) a velocità maggiore ( $k=0.20$ ). La velocità di accrescimento della popolazione di Calpe risulta essere un poco inferiore ( $k=0.19$ ) mentre la  $L_{max}$  è più elevata ( $65.21\text{cm}$ ) (Equazioni 3 e 4, Tab. 15 e Fig.38).

**Tabella 15.** Parametri di crescita calcolati per le due popolazioni, derivanti dai dati dei registri interni di crescita e dal metodo dimensione-età, utilizzando lo spessore di calcite per l'unione dei dati.  $k$ =costante di crescita (velocità alla quale viene raggiunta la lunghezza asintotica  $L_{max}$ );  $L_{max}$ =lunghezza massima asintotica;  $t_0$ =età alla lunghezza 0.

	$k$	$L_{max}$	$t_0$
<b>Calpe Racó</b>	<b>0.19</b>	<b>65.2</b>	<b>-0.08</b>
<b>Isola di Tabarca</b>	<b>0.20</b>	<b>54.9</b>	<b>-0.97</b>

(3) Calpe Racó:  $L_t = 65.2(1 - e^{-0.19(t + 0.08)})$

(4) Isola di Tabarca:  $L_t = 54.9(1 - e^{-0.20(t + 0.97)})$



**Figura 38.** Equazione di crescita di Von Bertalanffy delle due popolazioni a confronto.

**Tabella 16.** Tabella riassuntiva dei valori massimi, minimi e medi della lunghezza totale (Htr) e della lunghezza massima asintotica (Lmax) misurati per gli individui di *Pinna nobilis* censiti nel 2016 nelle popolazioni di Calpe Racó e Isola di Tabarca.

	Numero campioni	Range Htr (max ÷ min) (cm)	Media Htr (cm)	Range Lmax (max ÷ min) (cm)	Media Lmax (cm)
<b>Calpe Racó</b>	<b>8</b>	<b>61.4 ÷ 46.1</b>	<b>55.5</b>	<b>76.7 ÷ 57.2</b>	<b>65.2</b>
<b>Isola di Tabarca</b>	<b>11</b>	<b>62.4 ÷ 42.7</b>	<b>53.2</b>	<b>64.2 ÷ 51.5</b>	<b>54.9</b>

## 5. Discussione

In questo studio si è voluto fare un'analisi comparativa del tasso di crescita del bivalve *Pinna nobilis* in due siti della regione di Valencia. L'obiettivo è quello di confrontare i modelli di crescita delle due popolazioni. I risultati ottenuti mostrano l'esistenza di differenze significative tra le due popolazioni studiate, sia per quanto riguarda la velocità di crescita (k) e la taglia massima asintotica ( $L_{max}$ ), sia per l'età massima raggiunta dagli individui. Facendo un confronto con i dati raccolti in uno studio precedente, condotto sempre a Calpe e nell'Isola di Tabarca (Martinez *et al.*, 2014), si nota come l'andamento della curva di crescita, i parametri di crescita e la stima d'età vengano confermati nei valori da me ottenuti a Calpe e nell'Isola di Tabarca (Fig. 39). Ciò è una conferma del fatto che il fattore sito sia un elemento determinante le modalità di accrescimento degli individui all'interno di una popolazione. Per esempio, possiamo affermare che tutti gli esemplari di Calpe Racó superano, in media, i 50 cm di lunghezza raggiunti i 10 anni di età, cosa che non accade nelle popolazioni dell'Isola di Tabarca. Allo stesso modo, a 5 anni di età, in seguito al rapido accrescimento iniziale, gli individui di Calpe Racó raggiungono dimensioni superiori ai 40 cm, mentre quelli di Tabarca non superano normalmente i 37-39 cm. È stato dunque ipotizzato che esiste una tendenza di variazione dei parametri di crescita che segue un gradiente spaziale. Senza dubbio, i risultati indicano che le condizioni locali influenzano in maniera intensa le caratteristiche della popolazione, e che quasi mascherano le possibili similitudini legate al fattore distanza. Ad esempio, nello studio condotto da Martinez *et al.* nel 2014, le popolazioni di Calpe Racó e Moraira, pur essendo molto vicine tra di loro (~15 km), hanno mostrato differenze maggiori rispetto a quelle che esistono tra due popolazioni più lontane. La popolazione dell'Isola di Tabarca è, a sua volta, più simile a quella di Calpe Racó rispetto a popolazioni a lei più limitrofe.



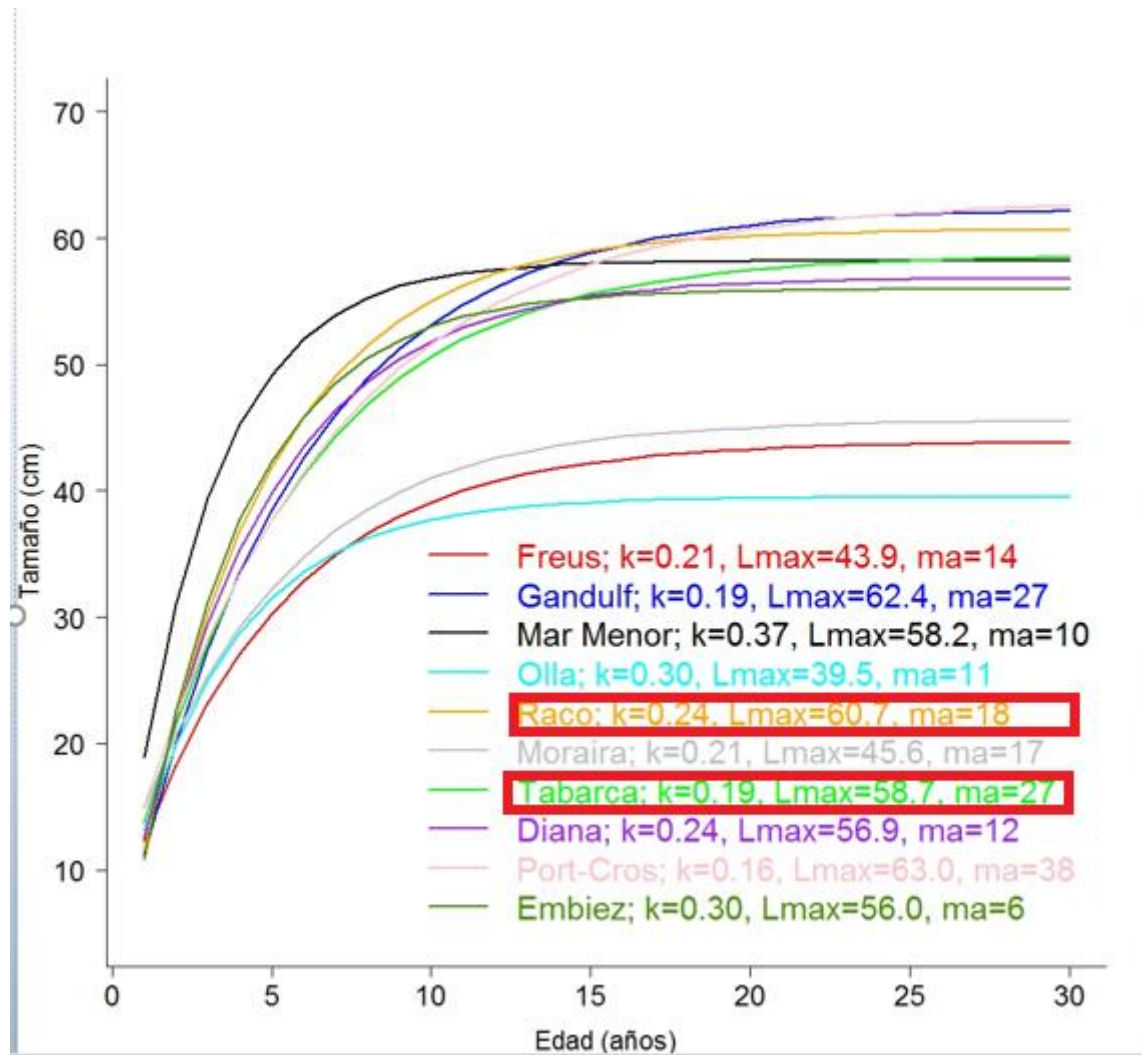
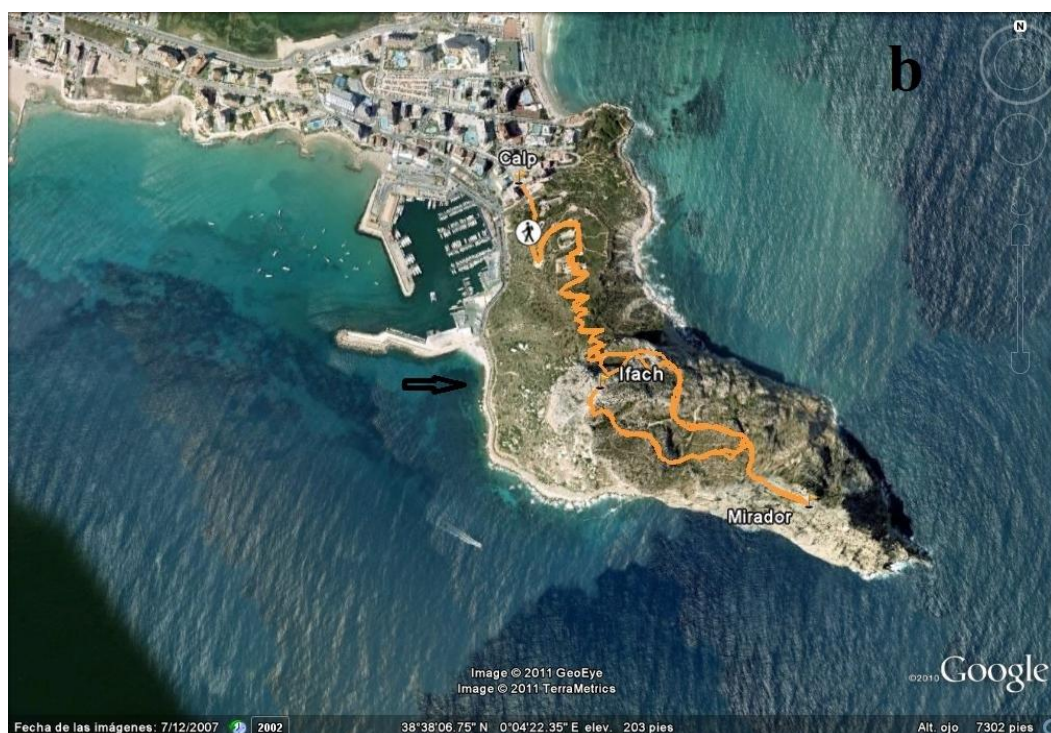


Figura 39. Equazioni di crescita di Von Bertalanffy di dieci popolazioni a confronto (Martinez *et al.*, 2014). In evidenza le popolazioni di Calpe Racó e Isola di Tabarca

L'influenza delle condizioni locali è ancora più evidente se prendiamo in considerazione il fattore profondità. Nello studio condotto nel 2011, Garcia-March *et al.* hanno studiato il modello di crescita di una popolazione di *P. nobilis* sita a Moraira analizzando, separatamente, campioni prelevati a 5-10 m di profondità e campioni prelevati a 10-15 m di profondità. I risultati hanno mostrato come la velocità di crescita  $k$ , velocità con la quale si raggiunge la dimensione massima asintotica ( $L_{max}$ ), sia minore nei campioni che si trovano ad una maggiore profondità. D'altro canto, la dimensione massima asintotica, così come l'età massima, sono maggiori alla profondità di 10-15m. Si può dunque affermare che i due parametri di crescita  $L_{max}$  e  $k$  sono inversamente proporzionali. Nel mio studio non è stato preso in considerazione il fattore profondità. È dunque un fattore fisso, tutti gli individui sono stati raccolti in un range di profondità compreso tra i 5 e i 10 metri. Questo probabilmente è il motivo per il quale le velocità di crescita delle due popolazioni

sono simili (Calpe:  $k= 0.19$ ; Tabarca:  $k= 0.20$ ), essendo la velocità di accrescimento un parametro correlato con profondità. Osservando la curva di crescita del campione Calpe Racó2014\_6m, che sovrastima la curva di crescita di popolazione, si può analizzare la modalità di crescita degli esemplari giovanili. Come sappiamo, la velocità di crescita è più elevata nei primi anni di vita, per poi rallentare con l'aumento dell'età, fino a che non viene raggiunta la lunghezza asintotica. Se siamo in possesso di pochi dati di crescita, come nel caso del campione Calpe Racó2014\_6m in cui abbiamo individuato solamente quattro lingue di madreperla, la stima del tasso di crescita dipenderà solo da questi. La rapida crescita negli stadi giovanili condurrà ad una stima di accrescimento "erronea", maggiore rispetto alle modalità di crescita reali, cioè se il campione fosse sopravvissuto più a lungo. Uno dei fattori ambientali locali che determina le modalità di crescita è senza dubbio il moto ondoso, il cui effetto è legato alla profondità. Lo stress dovuto al moto ondoso è minore ad una profondità più elevata, mentre gli esemplari che si trovano più superficialmente sono più esposti. Questo è il motivo per cui, alla profondità di 10-15 m, gli esemplari riescono a raggiungere dimensioni maggiori e vivere più anni (García-March *et al*, 2011). Un altro fattore determinate la crescita è il livello di esposizione del sito, cioè se questo è più o meno "protetto" dalla direzione di onde e correnti. Le forze idrodinamiche cui sono soggetti gli individui influenzano enormemente l'accrescimento; gli individui più vulnerabili sono quelli che si trovano in siti più esposti. Se prediamo in considerazione i due siti di campionamento, Calpe Racó e Isola di Tabarca, sono entrambe zone non particolarmente esposte al moto ondoso. Nel dettaglio, la cala El Racó di Calpe si trova ai piedi del Peñon de Ifach, promontorio di 332m a capofitto sul mare, il quale offre un'eccezionale protezione da correnti e onde, garantendo una minore esposizione (Fig. 40 a e b). Questo è il motivo principale per cui i campioni prelevati a Calpe raggiungono dimensioni maggiori, con una lunghezza massima asintotica di popolazione molto alta ( $L_{max}= 65.2\text{cm}$ ). Inoltre tutti i campioni sono stati trovati in ottimo stato di conservazione, con valve per lo più intatte senza segni evidenti di rottura.



**Figura 40.** Promontorio Peñon de Ifach e Cala El Racó. (a) Visione frontale; (b) Visione dall'alto. Le frecce nere indicano la Cala El Racó.

Ugualmente, la popolazione dell'Isola di Tabarca non si trova in una zona particolarmente esposta a correnti e onde, anche se la maggiore protezione del sito è dovuta alla presenza di una Riserva Marina. L'Isola di Tabarca è una piccola isola situata nelle acque del Mediterraneo, a 22 km dalla città di Alicante. Ha una superficie totale di 30 ettari, con una lunghezza di soli 1.8 km e una

larghezza massima di 450m. Nel 1986 le acque intorno a Tabarca sono state dichiarate Riserva Marina, con un'estensione di 1754 ettari. La creazione di tale riserva è avvenuta in seguito a uno studio condotto dall'Università di Alicante, nel quale veniva reso noto il buon stato ambientale delle acque intorno all'isola, e dunque la necessità di protezione. L'obiettivo fu quello di salvaguardare le comunità biologiche che vivono in quella zona, in particolare, le risorse di interesse per la pesca. Due anni dopo la sua istituzione, nel luglio del 1988, è stato concesso il permesso ai pescatori locali di esercitare l'attività di pesca all'interno della riserva (B.O.E. 8/7/88). La riserva marina è marcata dalla presenza di sei boe disposte a formare un rettangolo (Fig. 41 e 42). Per effetto delle normative per la protezione dell'area, la riserva è divisa in due zone: acque interne (40%) ed acque esterne (60%). La riserva integrale si trova nella zona più orientale delle acque esterne, zona denominata *Bajo de La Nao*, con acque profonde fino ai 20 metri. L'istituzione di una Riserva Marina, così come di un'Area Marina Protetta, garantisce una riduzione dello stress antropico sugli individui che la popolano, il che si traduce in un aumento della longevità degli esemplari di *P. nobilis*, grazie anche alla “duplice-protezione” derivante dalla salvaguardia delle praterie di *P. oceanica*.



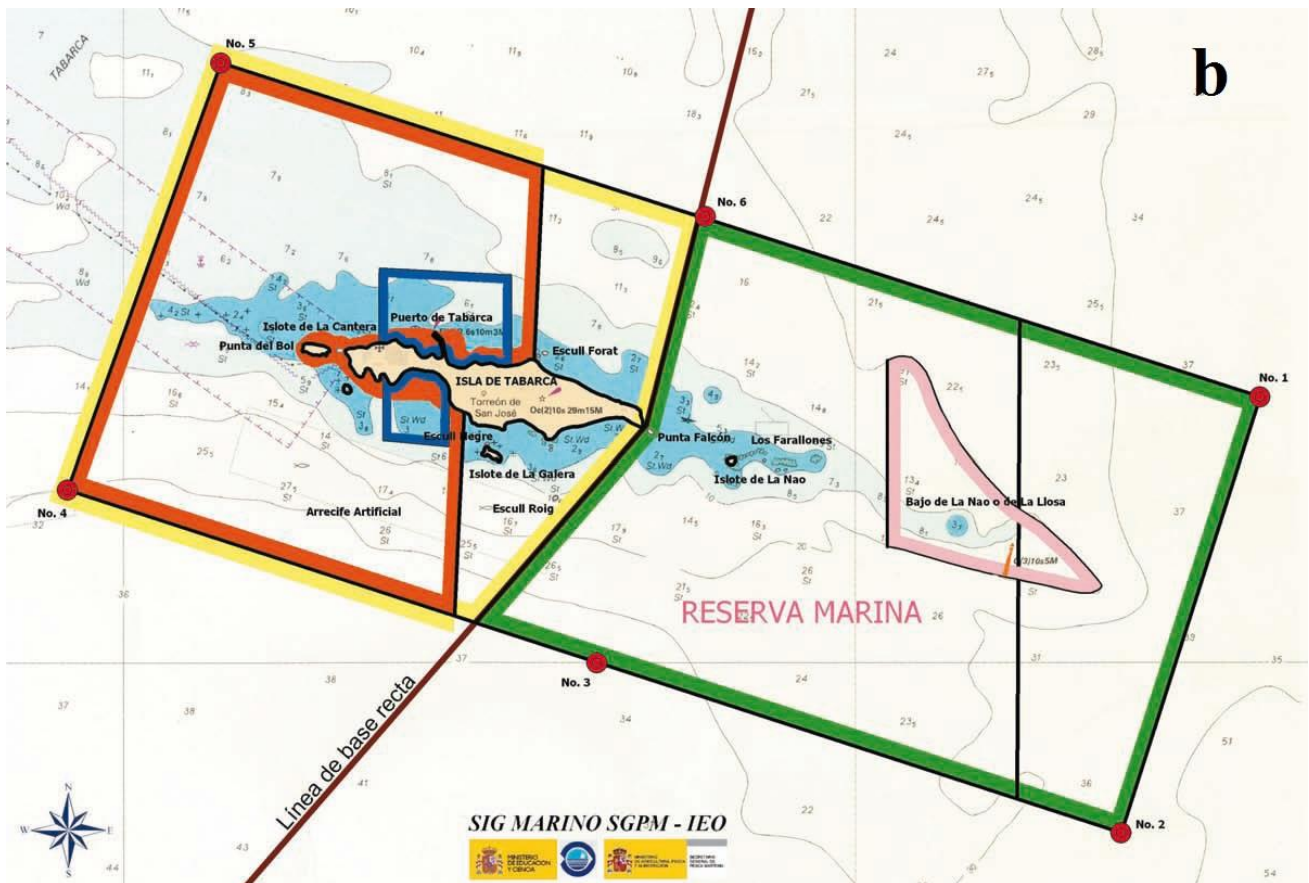


Figura 41. (a) Isola di Tabarca; (b) Perimetrazione della Riserva Marina

### Leyenda

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>Zonas de Aguas Exteriores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Buceo Autónomo</li> <li>Pesca profesional al currican</li> <li>Calamento de dos morunas gruesas</li> </ul>  | <p><b>Zonas Autorizadas de Fondeo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Boyas de Delimitación de Reserva</li> <li>Reserva Integral</li> </ul> |
| <p><b>Zona de Aguas Interiores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Buceo Autónomo con autorización de la Conselleria</li> <li>Pesca profesional de anzuelo, salvo palangre y variantes</li> <li>Calamento de 10 morunas xiliterras de septiembre a noviembre</li> </ul> |  |

Figura 42. Legenda Riserva Marina Isola di Tabarca. Zona di acque esterne: immersioni subacquee autonome; pesca professionale con canne da pesca; “piccola pesca” con un particolare tipo di rete da posta fissa, simile al tremaglio. Zona di acque interne: immersioni subacquee autonome, con autorizzazione; pesca professionale con ami, salvo utilizzo di palangaro e varianti (da settembre a novembre). Zona di ancoraggio autorizzato.

La presenza di una Riserva Marina nelle acque intorno all’isola è il motivo principale per cui i campioni prelevati nell’Isola Tabarca sono i più longevi, raggiungendo l’età massima di 25 anni (campione IT\_111213\_8\_19). Si può parlare dunque di “effetto-riserva”, una risposta a livello di

popolazioni o di comunità alla quale si assiste quando una porzione di ambiente acquatico viene sottoposta a un regime di gestione e conservazione, con misure per ridurre l'impatto antropico e per salvaguardare le comunità biologiche che vivono in quella zona. Misurare "l'effetto-riserva" significa verificare quanto tali regimi di tutela siano realmente efficaci, il che si può tradurre nel recupero degli stock delle specie commerciali. Per quanto riguarda la forma e lo stato di conservazione dei campioni, una spiegazione al perché gli esemplari della popolazione dell'Isola di Tabarca risultino essere più rovinati, mostrando un elevato tasso di erosione, è la maggiore esposizione a onde e correnti rispetto agli esemplari della popolazione di Calpe. Facendo un confronto della stima di età tra le due popolazioni analizzate nel mio studio e le stesse analizzate nello studio di Martinez *et al.* (2014) si nota come i valori siano molto simili. La differenza di età tra le popolazioni di Calpe e dell'Isola di Tabarca rimane un fattore costante; gli esemplari prelevati nella Cala El Racó di Calpe raggiungono un'età massima compresa tra i 17-18 anni, gli esemplari prelevati nella Riserva Marina di Tabarca sono invece i più longevi, 25-27 anni. Come si nota nella Fig. 39, anche Martinez *et al.* hanno individuato come più longeve le popolazioni che si trovano all'interno di una Riserva Marina: Reserva Marina Isla de Tabarca (ma=25anni) e Cala Gandulf, Parque Nacional del Archipiélago de Cabrera (ma=27anni). La minore età dei campioni prelevati a Calpe Racó è dovuta principalmente alla forte influenza antropica presente nella zona, soprattutto nei mesi estivi. L'elevato stress antropico fa sì che gli individui muoiano più giovani rispetto a quelli presenti in zone in cui vige un regime di protezione. A conferma di ciò, sempre nello studio di Martinez *et al.* (2014), si può notare come anche nei campioni prelevati a Moraira, zona turistica con un'importante pressione antropica, l'età massima raggiunta è 17 anni. Possiamo dunque affermare che, in siti privi di regimi di tutela particolari, gli esemplari siano più giovani di quelli delle Aree Marine Protette. Risultati peculiari sono stati ottenuti anche nei campioni prelevati a Freus e Gandulf, all'interno del Parque Nacional del Archipiélago de Cabrera, dunque una zona con regime di protezione. Queste due popolazioni mostrano parametri di crescita molto differenti, nonostante si trovino nel medesimo sito protetto e alla stessa profondità. Esclusa la velocità di crescita  $k$ , la lunghezza massima asintotica e l'età differiscono enormemente. I campioni prelevati a Gandulf, oltre ad essere più longevi, raggiungono dimensioni elevate, al contrario di quelli di Freus. La spiegazione più plausibile è legata al fattore esposizione del sito: Cala Gandulf è una cala protetta, mentre Freus si trova in una zona maggiormente esposta ad onde e correnti. L'esposizione al moto ondoso risulta essere dunque un fattore più determinante del fattore latitudinale, per questo motivo popolazioni che vivono vicine molto spesso hanno parametri di crescita così differenti (Martinez *et al.*, 2014).

## 6. Conclusioni

Questi studi sono stati svolti al fine di ottenere informazioni sulla biologia e sull'ecologia di *Pinna nobilis*. I dati raccolti indicano che tale specie mostra un'elevata variabilità nei parametri di crescita, i quali possono differire enormemente in funzione a determinati fattori locali. Ciò ci permette di ipotizzare che la forma degli individui, così come i parametri dei modelli di crescita, possano essere utilizzati come indicatori delle caratteristiche dell'ambiente in cui vivono. Questo potrebbe portare allo sviluppo di differenti equazioni di crescita che dipendono dalla forma dell'esemplare. Anche l'applicazione di un "fattore di correzione", da associare alle diverse forme che possono assumere gli individui, potrebbe essere una soluzione per comprendere meglio i modelli di crescita di popolazione. La metodologia utilizzata in questi studi minimizza quelle che sono le risorse necessarie per poter portare a termine uno studio di crescita. Utilizzando questo metodo è possibile studiare diverse popolazioni contemporaneamente, collezionando valve vuote in un singolo campionamento e completando lo studio di crescita solo successivamente in laboratorio. In questo modo si risparmia un'enorme quantità di tempo e risorse. Questo fornirà un importante beneficio per la comprensione e la conservazione di popolazioni di *P. nobilis*, tali dati contribuiranno infatti a gettare la basi per l'istituzione di specifiche misure di conservazione. L'attuazione di campagne di informazione e sensibilizzazione orientate a migliorare la coscienza pubblica sono un elemento basilico per poter trasmettere l'importanza della protezione e della conservazione di questa specie, così come della biodiversità in generale. Un'educazione ambientale per i subacquei amatoriali, a livello dei diving, o una semplice distribuzione di opuscoli informativi in zone turistiche potrebbero essere misure efficaci per realizzare questo obiettivo. L'individuazione, l'identificazione e il tagging di individui di *P. nobilis* in popolazioni situate vicino alla fascia costiera, insieme al posizionamento di pannelli educativi subacquei, hanno dimostrato essere delle misure efficaci di protezione. Attuato nella Riserva Marina delle isole di Port-Cros (Francia), questa forma di "sentiero sottomarino" viene visitato annualmente da molti subacquei amatoriali, e la sua utilità educativa/divulgativa è stata più che giustificata nel tempo. Un sentiero simile è stato ricreato proprio nella Cala El Racó di Calpe, auspicando questa modalità di conservazione. Analizzando la situazione con un approccio scientifico, lo sviluppo di progetti di studio, così come l'organizzazione di meetings e conferenze, potrebbe aiutare a migliorare le conoscenze sull'ecologia di tale specie, con l'obiettivo di condividere le informazioni più recenti tra gli scienziati coinvolti in questo campo di ricerca. È di buon esempio il RE.M.O.E.P.P. (Mediterranean Network for Observation, Study and Protection of Pinna), creato nel 1991 per lo scambio di conoscenze riguardanti la biologia e l'ecologia di *P. nobilis* e la standardizzazione delle metodologie di campionamento. Unificando le metodologie di ricerca sarà più facile stabilire quali siano le azioni prioritarie da svolgere e quali

invece rimangono i “knowledge-gaps” da colmare. Da un punto di vista pratico, come prima cosa bisognerebbe vietare ogni tipo di pesca considerata dannosa per la sopravvivenza della specie; senza dubbio la pesca a strascico in acque poco profonde. Anche l’utilizzo di reti da traino dovrebbe essere evitato in zone con elevate densità di individui, in questo modo diminuirebbe la probabilità di catture accidentali. Gli impatti provocati dalle ancore delle imbarcazioni sono un’altra minaccia importate, date soprattutto le grandi dimensioni delle valve. L’installazione di boe per l’ancoraggio “autorizzato” potrebbe facilmente risolvere questo problema. Questi moderni sistemi di ancoraggio salvaguarderebbero anche le praterie di *Posidonia oceanica*, garantendo così una duplice protezione. L’istituzione di Aree Marine Protette, così come di Riserve Marine, rimane il metodo più efficace per preservare l’ambiente, in particolare modo la flora e la fauna ad esso associato.

Concludo citando quelle che sono le nozioni fondamentali conseguite fino ad ora sullo studio del tasso di crescita del bivalve *P. nobilis*, auspicando una sempre maggiore comprensione della sua biologia ed ecologia attraverso l’attuazione di progetti di ricerca futuri.

- 1) Esistono dei registri interni di crescita (lingue di madreperla che si intromettono nello strato di calcite) nella porzione medio-dorsale della conchiglia a livello del muscolo adduttore posteriore, che però non coincidono con il numero di impronte presenti esternamente sul muscolo adduttore posteriore;
- 2) Così come le impronte del muscolo adduttore posteriore non corrispondono all’età degli individui, neanche i registri interni di crescita forniscono una stima adeguata d’età. Un numero elevato di impronte esterne viene ricoperto dalla deposizione dello strato di madreperla, rimanendo in questo modo occultate. Anche i registri interni di crescita possono venire “occultati” a causa del fenomeno di erosione nella parte anteriore della conchiglia (solitamente sempre 1-3 registri vengono persi). Per poter ottenere una stima d’età più precisa e adeguata è necessario unire i dati derivanti dalla conta delle lingue di madreperla tramite lo stereo-microscopio ai dati ottenuti dall’analisi dello spessore degli strati di calcite in prossimità dei registri interni di crescita più vecchi, attraverso l’utilizzo di una metodologia ancora in fase sperimentale elaborata dai ricercatori dell’IMEDMAR-UCV;
- 3) Le valve sono soggette quasi sempre a intensi processi di erosione nella porzione anteriore. L’erosione risulta essere proporzionale al livello di esposizione del sito in cui l’esemplare si trova, una maggiore esposizione si traduce in una valva più “rovinata”. L’erosione della valva causa una diminuzione delle dimensioni; gli individui contrastano questo disturbo tramite i) la migrazione dei tessuti molli in direzione posteriore; ii) la ricostruzione attiva di una nuova estremità anteriore, per poter mantenere così la forma triangolare della punta.



Come conseguenza, all'interno di una popolazione, nel medesimo range di profondità, gli individui che hanno le stesse dimensioni (Htr), ma forma differente, solitamente non hanno la stessa età;

- 4) Lo stress idrodinamico è un fattore importante che modula l'andamento della crescita degli individui all'interno di una popolazione. La forza del moto ondoso è infatti la causa principale del considerevole aumento di mortalità negli esemplari più grandi localizzati nelle zone superficiali. Maggiori sono le dimensioni degli esemplari, maggiore sarà l'effetto dell'idrodinamismo su di essi. Esistono però diversi fattori in grado di modulare gli effetti dell'idrodinamismo su *P. nobilis*. La topografia del fondale e la sua composizione possono modificare la direzione delle onde e le correnti di fondo, anche la presenza di praterie di *P. oceanica* garantisce una maggiore protezione dal moto delle onde. Una delle cause dei pattern di aggregazione di individui di *P. nobilis* all'interno di praterie fanerogame marine è proprio l'idrodinamismo, soprattutto in siti esposti;
- 5) In media, gli esemplari che presentano un maggior tasso di mortalità sono quelli di piccole dimensioni (minori di 30cm) e quelli che invece raggiungono dimensioni elevate ma si trovano più superficialmente (5-10 m);
- 6) La dimensione massima asintotica ( $L_{max}$ ) è inversamente proporzionale alla velocità di crescita ( $k$ ). I campioni che si trovano ad una maggiore profondità hanno una  $k$  minore rispetto a quelli che si trovano più superficialmente, mentre  $L_{max}$ , ed età risultano essere maggiori a profondità più elevate;
- 7) I parametri di crescita variano in relazione al fattore sito, il quale risulta essere un elemento determinante le modalità di accrescimento degli individui all'interno di una popolazione. In particolare il livello di esposizione del sito a correnti e al modo ondoso e l'impatto antropico sono i fattori più determinanti;
- 8) "L'effetto-riserva" garantisce un minor impatto antropico, il che si traduce in una maggiore longevità degli individui all'interno di zone in cui vige un regime di tutela e protezione.

Ulteriori studi di sclerocronologia e sugli isotopi stabili dell'ossigeno ( $O^{16}/O^{18}$ ) sono stati effettuati su valve di *P. nobilis* al fine di ottenere dati sempre più precisi dai quali estrapolare informazioni di carattere ecologico ed oceanografico. Vengono analizzate le variazioni fisico-chimiche dei registri di crescita interni per poter comprendere quali fossero le condizioni ambientali del passato, realizzando in questo modo delle ricostruzioni paleo-climatiche. L'utilizzo di valve come fonte di dati è da considerare dunque un metodo all'avanguardia per poter acquisire informazioni sul passato di un determinato individuo o di un'intera popolazione.

## 7. Bibliografia

- Addis, P., Secci, M., Brundu, G., Manunza, A., Corrias, S., Cau, A. (2009). Density, size structure, shell orientation and epibiontic colonization of the fan mussel *Pinna nobilis* L. 1758 (Mollusca: Bivalvia) in three contrasting habitats in an estuarine area of Sardinia (Western Mediterranean). *Sci. Mar.* 73: 143–152.
- Albertini, L. (1985). Recherches cytologiques et experimentales sur l'ovogenese chez la moule (*Mytilus edulis* L., mollusque bivalve). *Thèse de doctorat en Sciences biologiques et fondamentales appliquées, Université de Caen Basse-Normandie*.
- Alomar, C., Vazquez-Luis, M., Magraner, K., Lozano, L., Deudero, S. (2015). Evaluating stable isotopic signals at bivalve *Pinna nobilis* under different human pressures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 467: 77–86.
- Basso, L., Hendriks, I., Duarte, C. (2015a). Juvenile pen shells (*Pinna nobilis*) tolerate acidification but are vulnerable to warming. *Estuaries and Coasts* 38: 1976–1985
- Basso, L., Hendriks, I., Rodriguez-Navarro, A., Gambi, M., Duarte, C. (2015c). Extreme pH conditions at a natural CO<sub>2</sub> vent system (Italy) affect growth, and survival of juvenile Pen Shells (*Pinna nobilis*). *Estuar. Coast.* 38: 1986-1999
- Basso, L., Vázquez-Luis, M., Garcia-March, J.R., Deudero, S., Alvarez, E., Vicente, N., Duarte, C., Hendriks, I. (2015). The Pen Shell, *Pinna nobilis*: A Review of Population Status and Recommended Research Priorities in the Mediterranean Sea. *Advances in Marine Biology, Volume 7 pp. 109-160*.
- Box, A., Sureda, A., Deudero, S. (2009). Antioxidant response of the bivalve *Pinna nobilis* colonised by invasive red macroalgae *Lophocladia lallemandii*. *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* 149: 456–460.
- Butler, A., Vicente, N., Gaulejac, B. (1993). Ecology of the pteriod bivalves *Pinna bicolor* (Gmelin, 1791) and *Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758) *Mar. Life* 3: 37–45.
- Cabanellas-Reboredo, M., Deudero, S., Blanco, A. (2009a). Stable-isotope signatures (delta C-13 and delta N-15) of different tissues of *Pinna Nobilis* Linnaeus, 1758 (Bivalvia): isotopic variations among tissues and between seasons. *J. Molluscan Stud.* 75: 343–349.

- Calvín-Calvo, J. C. (1999). El litoral sumergido de la región de Murcia. Cartografía bionómica y valores ambientales. *Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, Región de Murcia*. 127 pp.
- Calvin-Calvo, J.C. (2001). Especies marinas singulares en el litoral de Murcia. *Dirección General del Medio Natural. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, Región de Murcia*. 63 pp.
- Camille, M. (1996). Etude de l'ecologie de *Pinna nobilis* Linne (1758), Mollusque bivalve, sur la cote nord Libanaise. *Memoria de Licenciatura. Faculte de St. Jerome, aix Marseille III*. 19pp.
- Carter, J.G. (1990). Evolutionary significance of shell microstructure in the Paleotaxodonta, Pteriomorpha and Isofilibranchia (Bivalvia; Mollusca). In: Carter, J.G., (Ed.), *Skeletal Biomineralization: Patterns, Process and Evolutionary Trends*. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 135-296
- Carter, S.P., Clark, II., G. R. (1985). Classification and phylogenetic significance of molluscan shell microstructure. In: Bottjer, D. J., Hickman, C. S., Ward, P. D. (Eds.), *Mollusks: Notes for a Short Course. University Of Tennessee Department of Geological Sciences Studies in Geology 13*: 50-71
- Catsiki, V. A., Catsilieri, C. (1992). Presence of chromium in *Pinna nobilis* collected from a polluted area. *Fresenius Envir. Bull. 1*: 644-649
- Catsiki, V. A., Catsilieri, Ch., y Gialamas, V. (1994). Chromium distribution in benthic species from a gulf receiving tannery wastes (Gulf of Geras - Lesbos Island, Greece). *Sci. Total Environ. 145(1-2)*: 173-185.
- Centoducati G., Tarsitano E., Bottalico A., Marvulli M., Lai R., Crescenzo G. (2007). Monitoring of the endangered *Pinna nobilis* Linneo, in the Mar Grande of Taranto (Ionian Sea, Italy). *Environ. Monit. Assess.*, 131 (1-3): 339-347.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS One 5 (8)*, e11842.
- Coma, R., Ribes, M., Serrano, E., Jimenez, E., Salat, J., Pascual, J. (2009). Global warming-enhanced stratification and mass mortality events in the Mediterranean. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106*: 6176–6181.
- Combelles, S., Moreteau, J. C. y Vicente, N. (1986). Contribution a la connaissance de l'ecologie de *Pinna nobilis* L. (Mollusque eulamelibranche). *Sci. Rep. Port-Cros Nat. Park 12*: 29-43.

- Coppa, S., de Lucia, G.A., Magni, P., Domenici, P., Antognarelli, F., Satta, A., Cucco, A. (2013). The effect of hydrodynamics on shell orientation and population density of *Pinna nobilis* in the Gulf of Oristano (Sardinia, Italy). *J. Sea Res.* 76: 201–210.
- Cuif, J. P., Denis, A., Flamand, D. y Frerotte, B. (1985). Étude ultrastructurale de la transition prismes/nacre dans le test de *Pinna nobilis* L. *Tra. Sci. Parc. Natl. Port-Cros* 11: 95-107.
- Czihak, G. y Dierl, W. (1961). *Pinna nobilis* L. eine präparationsanleitung. *Gustav Fisher Verlag. Stuttgart.* 44pp.
- Davenport, J., Ezgeta-Balic, D., Peharda, M., Skejic, S., Nincevic-Gladan, Z., Matijevic, S. (2011). Size-differential feeding in *Pinna nobilis* L. (Mollusca: Bivalvia): exploitation of detritus, phytoplankton and zooplankton. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 92: 246–254.
- De Gaulejac, B., Henry, M., Vicente, N. (1995a). An ultrastructural study of the gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) I. oogenesis. *J. Moll. Stud.* 61: 375-392.
- De Gaulejac, B., Henry, M., Vicente, N. (1995b). An ultrastructural study of the gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) II. spermatogenesis. *J. Moll. Stud.* 61: 393-403.
- De Gaulejac, B., Vicente, N. (1990). Ecologie de *Pinna nobilis* (L.) mollusque bivalve sur les cotes de Corse. Essais de transplantation et experiences en milieu controle 10: 83–100.
- Demir, M. (2003). Shells of Mollusca Collected from the Seas of Turkey. *Turk. J. Zool.* 27: 101-140.
- Duarte, C.M., Benavent E., Sanchez, M.C. (1999). The microcosm of particles within seagrass (*Posidonia oceanica*) canopies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 181: 289–295.
- Elliott, J. M. (1983). Some methods for the Statistical Analysis of samples of Benthic Invertebrates. *Freshwater Biological Association Scientific Publication N° 25. Oxford.* 157 pp.
- Fang, Y., Qi, X. (1988). Studies on ultrastructure of oocyte in processo of maturing in pen shell. *Acta Oceanol. Sin. (En. Ed.)* 7,3.
- Fiorito, G., Gherardi, F. (1999). Prey-handling behaviour of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) on bivalve preys. *Behav. Proc.* 46: 75-88.
- Foulquie, M., Dupuy, de la G. (2003). Mise en place d'un suivi des grandes nacres (*Pinna nobilis*) dans la zone Natura 2000 des "Posidonies du Cap d'Agde", Hérault, France. *Mem. Inst. Oc. Paul Ricard.* pp 49-55.

- Francillon-Vieillot, H., De Buffenil, V., Castanet, J., Geraudie, J., Meunier, F.J., Sire, J.Y., Zylberberg, L., De Ricqlès, A. (1990). Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues. In: Carter JG (ed) *Skeletal biomineralization: patterns, processes and evolutionary trends, vol I. Van Nostrand Reinhold, New York, pp 471–530.*
- García-March, J.R., Ferrer-Ferrer J. (1995). Biometría de *Pinna nobilis* L., 1758: una revisión de la ecuación de De Gaulejac y Vincente (1990). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 11(2): 175-181.
- García-March, J.R., García-Carrascosa, A.M., Peña, A.L., Wang, Y.G., (2006) Population structure, mortality and growth of two populations of *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 located at different depths in Moraira bay (Alicante, western Mediterranean). *Mar Biol.* 150: 861–871.
- García-March, J.R., Márquez-Aliaga, A., Wang, Y.G., Surge, D., Kurt, Kersting D. (2011). Study of *Pinna nobilis* growth from inner record: How biased are posterior adductor muscle scars estimates? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 407: 337-344.
- García-March, J.R., Vicente, N. (2006). Protocol to study and monitor *Pinna nobilis* populations within marine protected areas. *Malta Environment and Planning Authority, MedPAN Project: 78 pp.*
- García-March, J. R., Márquez-Aliaga, A. (2007b). *Pinna nobilis* L., 1758 age determination by internal shell register. *Mar Biol* 151: 1077–1085.
- García-March, J. R. (2003). Contribution to the knowledge of the status of *Pinna nobilis* (L.) 1758 in Spanish coasts. *Mem. Inst. Oc. Paul Ricard.* pp 29-41.
- García-March, J. R., García-Carrascosa, A. M. (2003). Diseño de metodologías de evaluación de parámetros poblacionales e indicadores de impacto para el molusco bivalvo *Pinna nobilis* en el litoral de la Comunidad Valenciana. *Contrato de investigación aplicada a la conservación de la nacra (Pinna nobilis) en la Comunidad Valenciana. Servicio de Conservación y Gestión de la Biodiversidad. Dirección General de Planificación y Gestión del Medio. Consellería de Territorio y Vivienda, Generalitat Valenciana.* 54 pp.
- García-March, J. R., García-Carrascosa, A. M., Peña, A. L. (2002). In situ measurement of *Pinna nobilis* shells for age and growth studies: a new device. *Mar. Ecol. P.S.Z.N.* 23(3): 207-217.
- García-March, J.R. (2005). Aportaciones al conocimiento de la biología de *Pinna nobilis* Linneo, 1758 (Mollusca: Bivalvia) en el litoral mediterráneo Ibérico. *Publication Service of the University of Valencia, Valencia,* p. 332.

- Garcia-March, J.R. (2005). Aportaciones al conocimiento de la biología de *Pinna nobilis* Linneo, 1758 (Mollusca, Bivalvia) en el litoral Mediterraneo Iberico. *Tesis Doctoral. Departamento de zoología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Valencia*.
- Garcia-March, J.R., Garcia-Carrascosa, A.M., Peña Cantero A.L., Wang, Y.G. (2007a). Population structure, mortality and growth of *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 (Mollusca, Bivalvia) at different depths in Moraira Bay (Alicante, Western Mediterranean). *J. Mar. Biol.* 150: 861-871.
- Garcia-March, J.R., Marquez-Aliaga, A., Carter, G. (2008). The duplivincular ligament of recent *Pinna nobilis* L., 1758: further evidence for Pterineid ancestry of the Pinnoidea. *J. Paleont.*, 82: 621-627.
- Garcia-March, J.R., Perez-Rojas, L., Garcia-Carrascosa, A.M. (2007). Influence of hydrodynamic forces on population structure of *Pinna nobilis* L., 1758 (Mollusca: Bivalvia): The critical combination of drag force, water depth, shell size and orientation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 342: 202–212.
- Garcia-March, J.R. (2015). Estudio del crecimiento del mayor bivalvo del Mediterraneo, la nacra (*Pinna nobilis*), en las costas de la Comunidad Valenciana. *Fundación de la Comunidad Valenciana para el Medio Ambiente*.
- Giorgi, F. (2006). Climate change hot-spots. *Geophys. Res. Lett.* 33.
- Gómez-Alba, J. A. S. (1988). Guía de campo de los fósiles de España y de Europa. *Ediciones Omega S. A., Barcelona*. 925 pp.
- Hendriks, I.E., Basso L., Deudero, S., Cabanellas-Reboredo, M., Alvarez, E. (2012). Relative growth rates of the noble pen shell *Pinna nobilis* throughout ontogeny around the Balearic Island (Western Mediterranean, Spain). *J. Shellfish Res.*, 31 (3): 749-756.
- Hendriks, I.E., Cabanellas-Reboredo, M., Bouma, T.J., Deudero, S., Duarte, C.M. (2011). Seagrass meadows modify drag forces on the shell of the fan mussel *Pinna nobilis*. *Estuar. Coasts* 34: 60–67.
- Hendriks, I.E., Duarte, C.M., Olsen, Y.S., Steckbauer, A., Ramajo, L., Moore, T.J.A., McCulloch, M. (2014). Biological mechanisms supporting adaptation to ocean acidification in coastal ecosystems. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*

- Hendriks, I.E., Sintes, T., Bouma, T., Duarte, C.M. (2007). Experimental assessment and modeling evaluation of the effects of seagrass (*Posidonia oceanica*) on flow and particle trapping. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 356: 163–173.
- Henry, M., Vincente, N., Houache, N. (1992). Hemocyte characterisation of the marine bivalve mollusc *Pinna nobilis*. *Société Française de Malacologie. Ifremer Actes Coll.* 13: 97-106.
- Jordà, G., Marba, N., Duarte, C.M. (2012). Mediterranean seagrass vulnerable to regional climate warming. *Nat. Clim. Chang.* 2: 821–824.
- Katsanevakis, S. (2007b). Growth and mortality rates of the fan mussel *Pinna nobilis* in Lake Vouliagmeni (Korinthiakos Gulf, Greece): a generalized additive modelling approach. *Mar. Biol.* 152: 1319–1331.
- Katsanevakis, S., Poursanidis, D., Issaris, Y., Panou, A., Petza, D., Vassilopoulou, V., Chaldaiou, I., Sini, M. (2011). “Protected” marine shelled molluscs: thriving in Greek seafood restaurants. *Medit. Mar. Sci.* 12 (2): 429–438.
- Kennedy, H., Richardson, C. A., Duarte, C. M. y Kennedy, D. P. (2001). Diet and association of *Pontonia pinnophylax* occurring in *Pinna nobilis*: insights from stable isotope analysis. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 81(1)177.
- Kuffner, I.B., Lidz, B.H., Hudson, J.H., Anderson, J.S. (2015). A century of ocean warming on Florida keys coral reefs: historic in situ observations. *Estuar. Coasts* 38: 1085–1096.
- Marba, N., Diaz-Almela, E., Duarte, C.M. (2014). Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) loss between 1842 and 2009. *Biol. Conserv.* 176: 183–190
- Marbà, N., Duarte, C.M. (2010). Mediterranean warming triggers seagrass (*Posidonia oceanica*) shoot mortality. *Glob. Chang. Biol.* 16: 2366–2375.
- Margaleff, R. (1998) *Ecologia. Ediciones Omega S.A., Barcelona*
- Marin, F., Narayanappa, P., Motreuil, S. (2011). Acidic shell proteins of the mediterranean fan mussel *Pinna nobilis*. *Progr. Mol. Subcell Biol. Conserv.* 176, 183-190.
- Martinez, A., Trigos, S., Garcia-March, J.R., Vicente, N., Torres, J., Deudero, S., Vazquez-Luis, M., Del Toro, M.J., Tena, J. (2014). Comparative study of growth of the endangered bivalve *Pinna nobilis* in marine protected areas vs. unprotected areas of the western Mediterranean Sea. *XVIII Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina, Septiembre de 2014.*

- Molinari, A., Bernat, P. (2016). Preliminary investigation on the *Pinna nobilis* L., 1758 populations in 5 ligurian coastal areas. *47° Congresso della Società Italiana di Biologia Marina*.
- Montefalcone, M., Chiantore, M., Lanzone, A., Morri, C., Albertelli, G., Bianchi, C.N. (2008). BACI design reveals the decline of the seagrass *Posidonia oceanica* induced by anchoring. *Mar. Pollut. Bull.* 56 (9): 1637–1645.
- Murillo, L. (1995). Adiciones a la malacofauna del Mar menor (Murcia). *I Noticiario del SEM* 23: 35-39.
- Najdek, M., Blazina, M., Ezgeta-Balic, D., Peharda, M. (2013). Diets of fan shells (*Pinna nobilis*) of different sizes: fatty acid profiling of digestive gland and adductor muscle. *Mar. Biol.* 160: 921–930.
- Nebot-Colomer, E., Vazquez-Luis, M., Garcia-March, J.R., Deudero, S. (2016). Population Structure and Growth of the Threatened Pen Shell, *Pinna rudis* (Linnaeus, 1758) in a Western Mediterranean Marine Protected Area. *Medit. Mar. Sci.* 785-793.
- Pipe, R.K. (1987). Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an ultrastructural study. *Mar. Biol.* 95: 405-414.
- Porcheddu, A., Castelli, A. y Romor, R. (1998). Considerazioni su un popolamento di *Pinna nobilis* L., nel Golfo degli Aranci (Sardegna nord-orientale): prospettive di salvaguardia. *Boll. Malacol.* 33(1-4): 21-24.
- Ramos, M. A. (1998). Implementing the habitats directive for mollusc species in Spain. *J. Conchol. Spec. Publ.* 2: 125-132.
- Richardson, C. A., Peharda, M., Kennedy, H. Kennedy, P., Onofri, V. (2004). Age, growth rate and season of recruitment of *Pinna nobilis* (L) in the Croatian Adriatic determined from Mg:Ca and Sr:Ca shell profiles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 299(1): 1-16.
- Richardson, C. A., Kennedy, H., Duarte, C. M., Kennedy, D. P., Proud, S. V. (1999). Age and growth of the fan mussel *Pinna nobilis* from south-east Spanish Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) meadows. *Mar. Biol.* 133: 205-212.
- Ros, J., Olivella, I., Gili, J. (1984). Els Sistemes Naturals de les Illes Medes. *Inst. Estud. Cat., Arx. Sec. Cien.* 73, Barcelona, 828 pp.
- Siletic, T., Peharda, M. (2003). Population study of the fan shell *Pinna nobilis* L. in Malo and Veliko Jezero of the Mljet National park (Adriatic Sea). *Sci. Mar.* 67(1): 91-98.



- Stenta, M. (1927). Di un singolare individuo di *Pinna nobilis* L. diminuito della regione apicale. *Boll. Soc. Adriat. Sci. Nat.* 29: 205-241.
- Sureda, A., Natalotto, A., Alvarez, E., Deudero, S. (2013a). Increased antioxidant response and capability to produce ROS in hemocytes of *Pinna nobilis* L. exposed to anthropogenic activity. *Environ. Pollut.* 181: 321–324.
- Sureda, A., Tejada, S., Box, A., Deudero, S. (2013b). Polycyclic aromatic hydrocarbon levels and measures of oxidative stress in the Mediterranean endemic bivalve *Pinna nobilis* exposed to the Don Pedro oil spill. *Mar. Pollut. Bull.* 71: 69–73.
- Taylor, J. D., Kennedy, W. J. y Hall, A. (1969). The shell structure and mineralogy of the Bivalvia. Introduction. Nuculacea-Trigonacea. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology. Suplemento 3.* 125 pp.
- Tempesta, M., Del Piero, D., Ciriaco, S. (2013). Definition of a new formula for the calculation of the total height of the fan shell *Pinna nobilis* in the Miramare Marine Protected Area (Trieste, Italy). *Annales Ser. Hist. Nat.*, 23: 17-24.
- Templado, J. (2001). *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758. En: Ramos, M. A., Bragado D. y Hernández J. eds.: *Los Invertebrados no insectos de la "Directiva Hábitat" en España. Ministerio de Medio Ambiente, Serie Técnica, Madrid.* pp 82-92.
- Templado, J., Calvo, M., Garvía A., Luque, A. A., Maldonado, M. y Moro, L. (2004). Guía de invertebrados y peces Marinos protegidos por la legislación nacional e internacional. *MMA-CSIC. Madrid,* 214 pp.
- Trigos, S., Garcia-March, J.R., Vicente, N., Tena, J., Torres, J. (2014a). Utilization of muddy detritus as organic matter source by the fan mussel *Pinna nobilis*. *Mediterr. Mar. Sci.* 667-674.
- Trigos, S., Garcia-March, J.R., Vicente, N., Tena, J., Torres, J. (2014b). Respiration rates of the fan mussel *Pinna nobilis* at different temperatures. *J. Molluscan Stud.*, 81 (2): 217–222.
- Vafidis, D., Antoniadou, C., Voultziadou, E., & Chintiroglou, C. (2014). Population structure of the protected fan mussel *Pinna nobilis* in the south Aegean Sea (eastern Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(4): 787-796.
- Vafidis, J.O, Vaughan, I. P., Jones, T.H., Facey, R.J., Parry, R., Thomas, R.J. (2014). Habitat Use and Body Mass Regulation among Warblers in the Sahel Region during the Non-Breeding Season. *PLoS ONE* 9(11): e113665.

- Vàzquez-Luis, M., Banach-Esteve, G., Alvarez, E., Deudero, S. (2014). Colonization on *Pinna nobilis* at a marine protected area: extent of the spread of two invasive seaweeds. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 1–8.
- Vicente, N. (1990). Estudio ecológico y protección del molusco lamelibranquio *Pinna nobilis* L. 1758 en la costa mediterránea. *Iberus* 9(1-2): 269-279.
- Vicente, N., Moreteau, J. C. (1991). Statut de *Pinna nobilis* L. en Mediterranee (mollusque eulamellibranche). En: Boudouresque, C. F., Avon, M. y Gravez, V. eds.: *Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée. Gis Posidonie publ. Marseille pp 159-168.*
- Vicente, N., Moreteau, J. C., Escoubet, P. (1980). Etude de l'évolution d'une population de *Pinna nobilis* L. (Mollusque Eulamellibranche) au large de l'anse de la Palud (Parc National de Port-Cros). *Trav. Sci. Parc Natl. Port-Cros* 6: 39-67.
- Von Bertalanffy, L. (1951). Theoretical Models in Biology and Psychology.
- Wise, S.W. (1970). Microarchitecture and mode of formation of nacre (mother of pearl) in Pelecypods, Gastropods, and Cephalopods. *Eclogae Geol. Helv.* 63: 775–797.
- Yonge, C. M. (1953). Form and habit in *Pinna carnea* (Gmelin, 1791). *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 237: 335-374.
- Zaouali, J. (2003). Le Statut de *Pinna nobilis* en Tunisie. *Mem. Inst. Océanogr. Paul Ricard.* pp 25-28.
- Zavodnik, D. (1967). Contribution to the ecology of *Pinna nobilis* L. (Moll. Bivalvia) in the Northern Adriatic sea. *Thalas. Jugol.* 3: 93-102.
- Zavodnik, D., Hrs-Brenko, M., Legac, M. (1991). Synopsis on the fan shell *Pinna nobilis* L. in the eastern Adriatic sea. En: Boudouresque, C. F., Avon, M. y Gravez, V. eds.: *Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée. Gis Posidonie publ. Marseille.* pp 169-178.

