

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

Analisi del tasso di crescita in *Pinna nobilis* (Mollusca Bivalvia): confronto fra una popolazione profonda e due superficiali del Parco Nazionale di Cabrera (Isole Baleari, Spagna)

Tesi di laurea in Alterazione e conservazione degli habitat marini

Presentata da

Gwendaline Giusy Provenzani

Relatore

Prof. Marco Abbiati

Correlatore

Dott. Josè Rafael Garcia March

I sessione

Anno Accademico 2016/2017

Sommario

1. Introduzione.....	1
2. <i>Pinna nobilis</i>.....	5
2.1 Microstruttura.....	8
2.2 Rigenerazione della conchiglia.....	11
2.3 Crescita.....	14
2.4 Biologia ed ecologia.....	16
3. Materiali e metodi.....	20
3.1 Area di studio e raccolta campioni.....	20
3.2 Trattamento campioni in laboratorio.....	22
3.3 Acquisizione dati.....	30
3.4 Elaborazione dati.....	34
4. Risultati.....	35
4.1 Regressione Htr-MAPa.....	35
4.2 Registri annuali persi in seguito all'erosione.....	37
4.3 Stima dei parametri di crescita.....	40
5. Discussione.....	48
6. Bibliografia.....	53

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 dell'andamento di tale relazione permette l'elaborazione delle curve di crescita. Il passaggio più delicato consiste proprio nell'identificazione di una misura, che sia correlata con l'età dell'individuo (Margaleff, 1998). La sclerocronologia, si è dimostrata una tecnica molto utile per valutare l'età degli individui e i tassi di crescita di una popolazione (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990). Infatti permette di determinare l'età degli organismi, nonché stimare i tempi e la durata delle variazioni di accrescimento verificatisi durante il loro ciclo vitale. Il termine "sclerocronologia" deriva dal greco: riunisce le tre parole Skleros = duro Chronos = tempo Loghia = studio, è dunque lo studio della crescita e dell'età degli organismi attraverso le loro parti dure mineralizzate (gusci, conchiglie, ossa e denti). Tutte le strutture calcificate, seppure con intensità differente, hanno la potenzialità di avere un accrescimento continuo durante la vita dell'individuo, agendo dunque da "registri". L'età di un mollusco può essere determinata analizzando la struttura interna della sua conchiglia; questa infatti si accresce in maniera non uniforme durante la vita dell'animale: nella stagione calda, più propizia (per temperatura e disponibilità di cibo) il mollusco deposita una maggior quantità di carbonato di calcio. Nella stagione fredda o in seguito ad uno stress, la deposizione rallenta o cessa del tutto, quando invece le condizioni migliorano, la crescita riprende normalmente. Ciò viene evidenziato da un'alternanza di bande chiare e scure e lo studio degli 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. Molti autori hanno proposto metodi per stimare l'età e i parametri di crescita studiando le conchiglie vuote di molluschi bivalvi. Una delle specie utilizzate, date le elevate dimensioni delle valve, è proprio *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 addirittura i 100cm di lunghezza, con esemplari che raggiungono i 27 anni di età (Garcia-March *et al.*, 2011). È considerata una specie minacciata (IUCN, International Union for Conservation of Nature), per questo motivo è inclusa fra le specie di interesse per la sua protezione nella "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 garantire la biodiversità nel Mediterraneo. La drastica riduzione delle sue popolazioni è stata osservata a partire dalla metà del secolo scorso, ed è causata principalmente dal deterioramento del suo habitat naturale, le praterie di *Posidonia oceanica* (Vicente, 1990; Ramos, 1998; García-March, 2003; Richardson *et al.*, 2004). Quest'ultime hanno subito un degrado in tutto il Mar Mediterraneo a causa dell'aumento della pressione antropica (Marba *et al.*, 2014). Si stima che negli ultimi decenni siano andate perdute tra il 13% e il 50% delle aree occupate da *P. oceanica* nel Bacino del Mediterraneo, influenzando negativamente il reclutamento larvale, così come la protezione degli individui delle popolazioni di *P. nobilis* dalle forze idrodinamiche (Hendriks *et al.*, 2011). Senza dubbio, le grandi dimensioni degli individui adulti, così come la forma, fanno sì che questi siano più vulnerabili allo stress meccanico, come quello prodotto dal movimento delle onde in prossimità della costa. A differenza delle foglie di posidonia, che ondeggiano con il movimento dell'acqua (Granata *et al.*, 2001) riducendo l'attrito, la rigidità della conchiglia di *P. nobilis* impedisce la mitigazione dell'idrodinamismo. In più, la forma a ventaglio della conchiglia fa sì che vi siano differenze sulle forze che agiscono sugli individui tra la parte laterale e dorso-ventrale rispetto alla direzione del flusso principale. L'effetto dell'energia delle onde sugli organismi marini è stata studiata prevalentemente in ambiente intertidale (Denny, 1994, 1995, 1999, 2000; Denny e Blanchette, 2000; Denny *et al.*, 2003; Helmuth e Denny, 2003; Martínez, 2001; Prowse e Pile, 2005) e macro alghe subtidali poco profonde (Utter e Denny, 1996; Denny *et al.*, 1997, 1998; Denny e Hale, 2003; Gaylord e Denny, 1997; Kawamata, 2001). Modelli teorici mostrano che per molti animali intertidali la forza di resistenza aumenta con la crescita dell'organismo. Di conseguenza, l'energia delle onde non risulta essere un vincolo per la taglia massima. (Denny e Blanchette, 2000). Tuttavia, la taglia degli organismi che vivono in zone esposte, è molto ridotta. L'ipotesi più probabile è che vi sia una regolazione endogena, per quanto riguarda la taglia massima negli organismi bentonici (Denny, 1999). Purtroppo esistono pochi lavori che indagano la relazione tra l'effetto delle onde e la distribuzione di taglia degli animali sessili subtidali. Fanno eccezione gli studi di Massel e Done (1993) e Massel (1996), i quali non hanno osservato alcuna relazione tra la forza dell'acqua e la taglia dei coralli. Tuttavia, la forza di resistenza dei coralli aumenta con il peso, invece di aumentare con la superficie di adesione durante la crescita. Anche la principale forza idrodinamica sostenuta da questi coralli, chiamata forza di accelerazione, aumenta con il peso. Pertanto esiste un trade-off tra l'aumento della forza di resistenza dei coralli e la forza di accelerazione, il rischio di dislocazione è indipendente dalla dimensione. (Denny, 1999). Al contrario, *P. nobilis* è un caso speciale di animale epibentonicico sessile avente una conchiglia con una superficie piatta. La superficie esposta aumenta durante la crescita, proporzionalmente alla forza dell'idrodinamismo. La forza di resistenza invece è relazionata

alla fissazione al substrato mediante il bisso, mentre l'incremento della forza in relazione alla crescita degli animali è sconosciuta (Garcia-March, 2006). Quindi è necessario che la forza di resistenza, la quale tiene ancorata l'individuo al substrato, aumenti velocemente, quanto l'impatto della forza idrodinamica la quale invece, in relazione alla grandezza dell'animale porta allo staccamento dalla superficie. Se quindi ad un aumento della forza idrodinamica non corrispondesse un incremento della forza di resistenza operata dal bisso, la sopravvivenza di individui di grandi dimensioni e di quelli con orientamento laterale delle valve rispetto al flusso principale dell'acqua sarebbero in pericolo. In questo caso, l'idrodinamismo è un potenziale fattore determinante la struttura della popolazione di *P. nobilis* in grado di spiegare contemporaneamente: 1) la distribuzione di taglia con la profondità, cioè l'assenza di individui grandi a livelli poco profondi (Zavodnik, 1967; Vincente *et al.*, 1980; Vincente, 1990), 2) gli individui di una stessa area orientano la conchiglia nella stessa direzione (Combelles *et al.*, 1986), 3) l'elevata mortalità di individui di grandi dimensioni nelle popolazioni di acque poco profonde ed esposte (Foulquie e Dupuy, 2003). Uno studio condotto a Port-Cros, in Francia, ha dimostrato che l'80% degli individui che si trovavano ad una profondità compresa tra i 20 e i 26m, ha mostrato un orientamento comune della conchiglia in direzione della scarpata, causata probabilmente dalla disponibilità di cibo dovuta alle correnti dominanti. Un'altra popolazione situata nello stesso sito, ma più in profondità, non ha mostrato alcuna preferenza di orientamento. Esistono dunque differenze significative nella resistenza idrodinamica in popolazioni situate a profondità differenti. Il mediterraneo occidentale è caratterizzato da cicli stagionali e sub-stagionali con periodi di grande stabilità atmosferica, definito da acque calme (all'inizio dell'autunno fino alla fine dell'inverno e metà dell'estate) e altri di instabilità, con rapidi cambi di pressioni atmosferiche (metà settembre e fine di ottobre), che producono forti venti e grandi onde, con tempeste estreme periodiche che a volte causano danni alle infrastrutture costiere, come porti e spiagge (Duarte *et al.*; 1999). In questo contesto, *P. nobilis* è soggetta a lunghi periodi di moderato o basso stress idrodinamico e ad eventi periodici più brevi, con forte instabilità idrodinamica. Questi eventi stremi possono essere critici per la sopravvivenza degli adulti più grandi, e determinanti per la struttura della popolazione della specie, dato che essa è correlata con l'inclinazione del fondo, l'indice di esposizione alle onde, le caratteristiche delle onde e la distribuzione di taglia in profondità. Nello studio condotto in Tunisia da Rabaoui *et al.*, (2008) si dimostra che, *P. nobilis* preferisce stare in habitat protetti con condizioni idrodinamiche ottimali, in particolare a bassa velocità di correnti e turbolenze, una bassa azione delle onde e un substrato sabbioso-fangoso o substrati costituiti da un insieme di massi, ghiaia e detriti. In questo studio vengono prese in considerazione differenti popolazioni superficiali ($\leq 6m$). Le analisi dimensionali mostrano che la maggioranza delle popolazioni analizzate è dominata da piccoli individui che non superano una lunghezza massima di 40 cm. Un altro studio, condotto in Grecia da

Katsanevakis (2007), ha dimostrato che il tasso di mortalità di individui di grandi dimensioni, è maggiore in zone poco profonde ed era praticamente nullo a profondità ≥ 9 m. Inoltre viene evidenziata una chiara distribuzione di taglia in base alla profondità. Individui di grandi dimensioni sono limitati a zone più profonde, mentre i giovani e piccoli individui sono più abbondanti nelle zone poco profonde, dove maggiore è il reclutamento. Quindi il trade-off tra profondità dell'acqua, forze di resistenza, taglia e orientamento indicato da García-march (2006) è l'ipotesi più adeguata per spiegare l'aumento del numero di individui di grandi dimensioni all'aumentare della profondità.

L'orientamento della conchiglia e la crescita, così come la distribuzione di taglia e la distribuzione spaziale, sono tutti fattori legati, direttamente o indirettamente, all'idrodinamismo, elemento determinante nell'ecologia di questa specie. Lo scopo di questa tesi è quello di:

- 1) stimare i tassi crescita in diverse popolazioni di *Pinna nobilis* nel Parco Nazionale di Cabrera (Isole Baleari, Spagna).
- 2) confrontare i tassi di crescita di 3 popolazioni, che si trovano a profondità ed esposizioni differenti; la prima a 5/10 m in un sito esposto, la seconda alla stessa profondità della precedente ma in un sito riparato, la terza ad una profondità di 20/30 m.
- 3) testare l'ipotesi che la popolazione che si trova a maggiore profondità abbia un tasso di crescita analogo a quello della popolazione sita in acque superficiali ma in un sito protetto, ed entrambe differiscano dalla popolazione superficiale esposta al moto ondoso.

2. *Pinna nobilis*

È un mollusco bivalve pteriomorfo, che abita il Mar Mediterraneo a partire dalla fine del Miocene (Gomez-Alba, 1988). Le grandi dimensioni degli esemplari di *Pinna nobilis*, comuni in a tutti i membri della famiglia Pinnidae, sono dovute principalmente allo sviluppo del mantello lontano dai muscoli adduttori posteriori (Yonge, 1953). La conchiglia ha forma triangolare, con una superficie più ampia nella parte posteriore e più stretta nella parte anteriore (Fig. 1).



Figura 1. Valva sinistra di un esemplare di *Pinna nobilis*.

Tale morfologia, come mostrato nella Figura 2, permette all'animale di vivere infossato nel sedimento, sepolto per circa un terzo del suo apice anteriore (Zavodnik *et al.*, 1991; Richardson *et al.*, 1999; Templado, 2004).

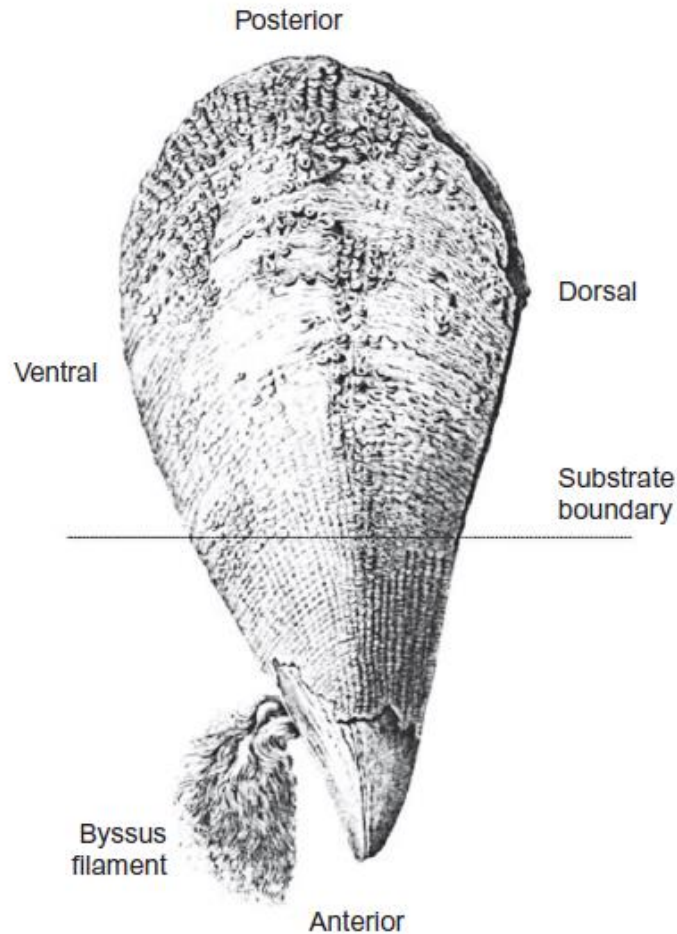


Figura 2. Disegno di una conchiglia di un esemplare adulto di *Pinna nobilis*. La linea indica la separazione dell'apice anteriore infossato nel substrato dall'apice posteriore che rimane esposta.

L'ancoraggio al sedimento, come succede per molti altri Pteriomorphia, avviene grazie al sistema del bisso che permette l'adesione a strutture solide sepolte nel substrato, quali sabbia, bio-detriti, radici e rizomi di *Posidonia oceanica* (García-March, 2005), grazie all'elevato numero di filamenti del quale è costituito. Questa strategia di adesione, permette agli esemplari di *P. nobilis* di rafforzare continuamente, con tutti i mezzi possibili, la fissazione. 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 della conchiglia 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. La collocazione sistematica di *P. nobilis* è riportata in Tabella 1:

Regno	Animalia
Phylum	Mollusca
Classe	Bivalvia
Sottoclasse	Pteriomorpha
Ordine	Pterioida
Famiglia	Pinnidae
Genere	Pinna
Specie	<i>Pinna nobilis</i>

Tabella 1. Collocazione sistematica di *Pinna nobilis*.

La conchiglia è la parte più appariscente dell'organismo, la sua funzione è quella di sostegno e protezione dell'animale contenuto al suo interno (Fig. 3). Quest'ultime, seppure indipendenti, sono collegate dorsalmente da un **legamento** elastico, coinvolto nel processo di apertura e chiusura della conchiglia. In questa specie, l'unica funzione del legamento è quella di mantenere le valve unite; l'apertura è prodotta dalla flessione della parte posteriore della conchiglia, mentre il legamento rimane immobile. 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. 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, le branchie, il cuore, gli organi sessuali, e l'organo palleale.



Figura 3. Esemplare di *Pinna nobilis* con valve aperte. Si intravede l'organismo al loro interno.

2.1 Microstruttura della conchiglia

La conchiglia è formata da 3 strati ben definiti. Il **periostraco** è lo strato proteico più esterno, è molto sottile e solitamente viene eroso con la stessa velocità con la quale viene generato (Yonge, 1953). Gli strati successivi, di natura inorganica, sono lo strato prismatico, formato da prismi regolari di calcite e lo strato madreperlaceo, formato da lamelle impilate di madreperla. Lo **strato di calcite** è spesso, formato da prismi poliedrici di calcite (Fig. 4), questi sono più grandi rispetto a quelli di qualsiasi altra famiglia, raggiungendo diametri di 1mm.



Figura 4. Prismi poliedrici di calcite in *Pinna nobilis*.

La grande quantità di proteine che li avvolge conferisce una natura elastica allo strato prismatico. Lo strato di calcite si estende per tutta la conchiglia. La conchiolina, sostanza organica di cui è composto il periostraco, è una scleroproteina. La quantità assorbita nello strato di calcite è molto alta e conferisce una grande flessibilità alla parte posteriore della conchiglia. In *Pinna nobilis* lo strato interno è costituito da **madreperla**, che forma una struttura di fogli impilati in modo sfalsato (Fig. 5), creando uno strato molto spesso, a differenza di altri Pinnidae che depositano madreperla fogliare, cioè un singolo strato, che aumenta in spessore nella parte anteriore.

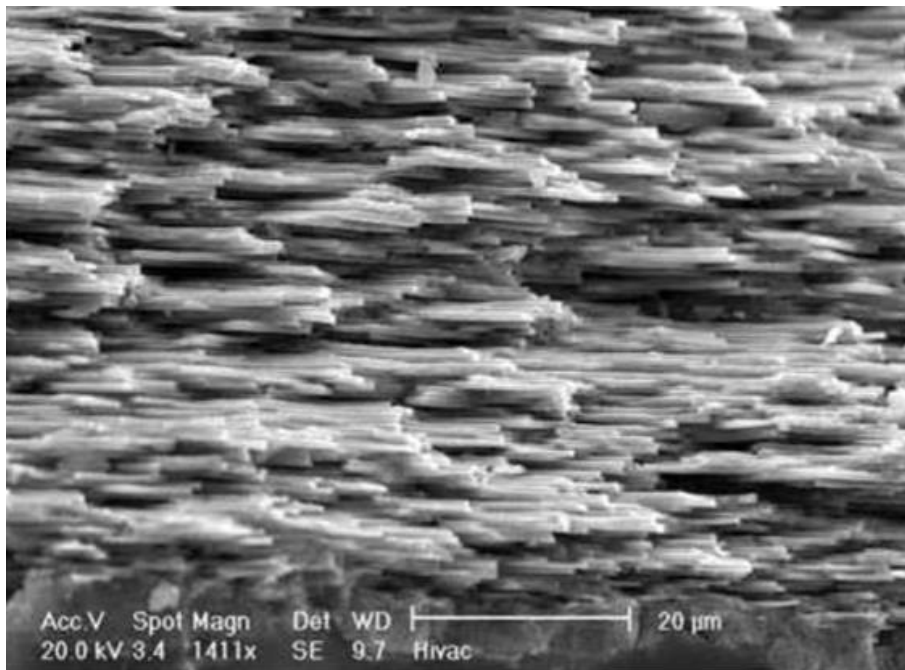


Figura 5. Fogli di madreperla della conchiglia di *Pinna nobilis*.

L'estensione dello strato madreperlaceo nella zona anteriore assume un valore sistematico, in quanto come si può notare nelle Figura 6, in *P. nobilis* è presente un solco di calcite, cioè un cuneo di calcite che separa la madreperla in un lobo dorsale e ventrale, mentre in generi primitivi come *Atrina* questo solco non esiste e lo strato madreperlaceo è più sviluppato. Si osserva che il solco, così come le foglie impilate di madreperla, sono coinvolte nel movimento di apertura-chiusura delle valve, in quanto conferiscono una flessibilità dorso-ventrale alle due valve.

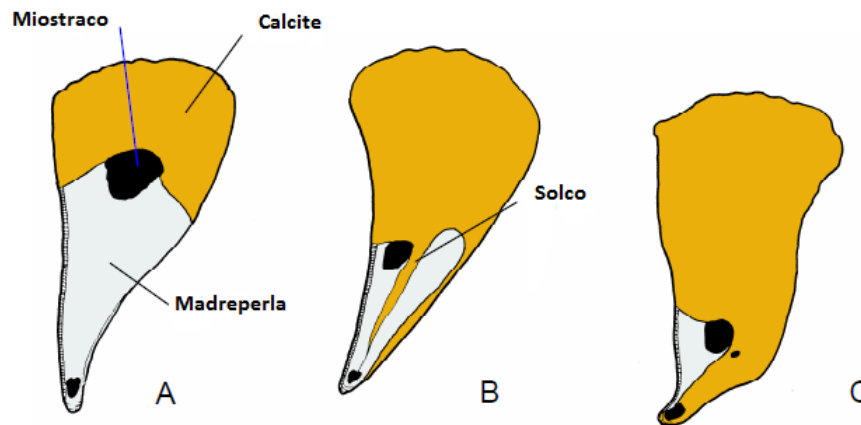


Figura 6. Estensione dello strato di madreperla nella conchiglia di diversi generi di Pinnidae. A) *Atrina*; B) *Pinna*; C) *Servantina*.

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. Come accennato in precedenza, i prismi di calcite, sia per la struttura che per l'alto contenuto di conchiolina, conferiscono grande flessibilità alla conchiglia. 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. Un'osservazione più accurata di questi strati, in sezioni sottili, in seguito ad un taglio radiale della conchiglia, mostra che la madreperla si deposita in almeno due fasi nella parte più interna della conchiglia. Inizialmente, un primo strato di madreperla si deposita coprendo lo strato sottostante di calcite; successivamente un secondo strato di madreperla, con le medesime caratteristiche, viene depositato andando a coprire il miostraco nella parte anteriore della conchiglia, crescendo in direzione posteriore con l'ontogenesi (Garcia-March e Marquez-Aliaga, 2007; Garcia-March *et al.*, 2011). Questo secondo strato copre e nasconde i dati precedentemente osservabili nella parte interna della conchiglia. Il **miostraco** è uno strato minerale sottile e continuo che copre la madreperla, dove i muscoli si attaccano alla conchiglia. Questo si osserva in sezioni radiali di individui adulti. Nel lobo dorsale, del lato interno di una valva vuota, la presenza dei muscoli è evidenziata da tipiche impronte di forma circolare (PAMS).

2.2 Rigenerazione della conchiglia

A differenza di altri bivalvi, i Pinnidae hanno la capacità di retrarre i lobi del mantello, ciò permette l'estensione posteriore della conchiglia che può essere ricostruita in caso di danneggiamenti. Il deterioramento della conchiglia è comune nella parte posteriore in quanto è notevolmente esposta al moto ondoso, impatti antropici e altri disturbi meccanici rispetto alla parte anteriore infissa nel substrato. Molti esemplari di *Pinna nobilis* soprattutto di dimensioni elevate, mostrano segni di riparazione (Yonge, 1953). Come si evince nella Figura 7, gli individui possono subire danni nel lato dorsale o ventrale e rigenerare anche queste parti tramite la creazione di nuovi strati.



Figura 7. Esempi di rigenerazione parte posteriore: rigenerazione lato dorsale e ventrale (A); rigenerazione lato dorsale (B).

La conchiglia può essere ricostruita in poco tempo, la deposizione di nuovi strati di calcite inizia nel punto di rottura in direzione posteriore (Yonge, 1953). La ricostruzione della conchiglia si può riassumere in due fasi: 1) crescita delle valve fino a che si possano chiudere; 2) riduzione significativa della taglia dell'individuo (De Gaulejac, 1990). Alla fine del processo di ricostruzione delle regioni rotte, la conchiglia è completa, anche se la linea di rottura continua a persistere sotto forma di un bordo irregolare sulla superficie delle valve (Vincente, 2003). Anche la parte anteriore dell'animale può subire danni o rotture in seguito all'erosione (Fig. 8).

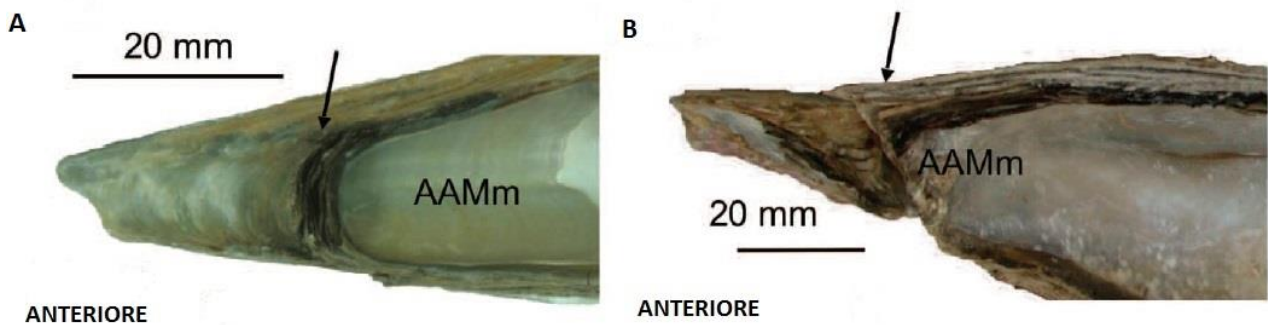


Figura 8. Confronto tra due valve destra: parte anteriore parzialmente erosa(A); valva destra di un esemplare il cui muscolo adduttore anteriore (AAMm) è migrato in direzione posteriore(B). Le frecce indicano la deposizione di nuovi strati ai fini di riparare la parte anteriore.

In tutti gli esemplari, l'estremità della conchiglia viene erosa a causa della frizione con il substrato, prodotta quando l'animale si interra nel sedimento. Il mantello produce una serie di strati nell'estremità anteriore, per proteggere il muscolo adduttore anteriore durante ogni stadio di crescita e, come conseguenza, l'estremità anteriore mostra dei loculi formati da questi strati temporali (Fig. 9).



Figura 9. Parte anteriore rigenerata. La freccia indica i loculi generati in seguito alla migrazione del muscolo adduttore.

Queste nuove strutture sostituiscono l'impronta originale del muscolo adduttore anteriore, nella sua porzione più anteriore, in seguito ad una migrazione dei tessuti molli in direzione posteriore, garantendo così la classica forma a punta dell'estremità della conchiglia. Se la fissazione al substrato viene mantenuta e le due valve possono aprirsi posteriormente, gli animali riescono a sopportare una grande quantità di danni in questa zona. Una conseguenza del danneggiamento della conchiglia è una forte riduzione delle dimensioni dell'individuo (Fig.10), le valve infatti assumono una forma triangolare, tipica degli organismi giovanili e quindi solo 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.



Figura 10. Esemplare di *Pinna nobilis* che ha subito danni alla conchiglia.

2.3 Crescita

Per monitorare la crescita di *Pinna nobilis*, è stato sviluppato un approccio che sfrutta la sclerocronologia, ovvero studia e analizza la crescita degli individui partendo da gusci vuoti. Ciò è possibile in quanto i registri di crescita si osservano nella parte interna della conchiglia, nel lobo dorsale di madreperla. Esternamente formano le cosiddette PAMS, ovvero impronte a forma di semicerchio, che come è stato già detto corrispondono all'impronte del muscolo adduttore posteriore, mentre internamente formano le lingue di madreperla (Fig.10). Un importante progresso è stato apportato dalla scoperta di una relazione tra la lunghezza totale della conchiglia (Ht) e la posizione delle PAMS (Moreteau e Vincente, 1980), utilizzando una regressione lineare tra queste due misure. Avendo una relazione tra le PAMS e la dimensione totale della conchiglia, oppure tra PAMS e l'età dell'individuo, è possibile calcolare le curve di crescita, usando i dati di lunghezza età. Ma studi sui cambiamenti di temperatura nel mediterraneo occidentale, correlati con il rapporto degli isotopi stabile dell'ossigeno ($^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$) registrati nella calcite esterna di *P. nobilis*, hanno dimostrato che ogni PAMS viene depositata annualmente e che almeno due impronte vengono perse (Richardson *et al.*, 1999). Tale metodo perciò risulta non essere accurato, in quanto non solo i primi, ma anche altri anelli di crescita risultano essere oscurati, o meglio coperti dalla madreperla durante la crescita (Garcia March *et al.*, 2007). Inoltre le impronte osservate in conchiglie di esemplari giovanili, non si possono considerare omologhe a quelle osservate in individui adulti.

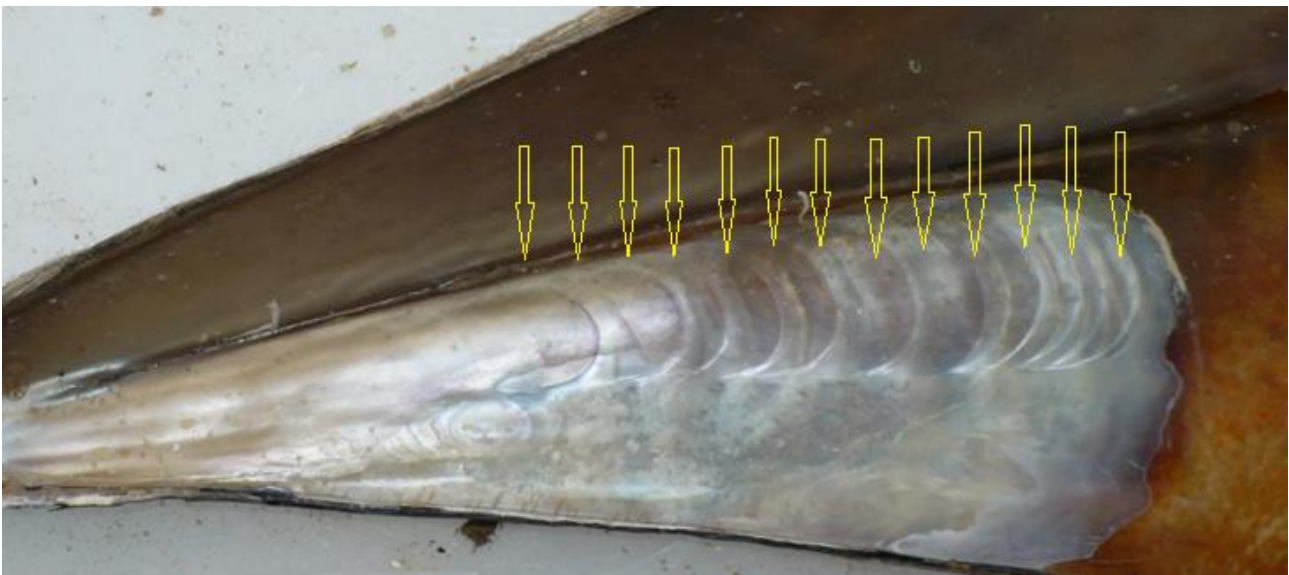


Figura 10. Lobo dorsale di una valvola di *Pinna nobilis*. Le frecce indicano le impronte del muscolo adduttore posteriore (PAM).

Garcia-March (2011), ha descritto un nuovo metodo per stimare la crescita usando i registri interni delle conchiglie. Analizzando la conchiglia da un punto di vista microstrutturale, si osservano infatti

i registri di crescita interni, ovvero lingue di madreperla che si introducono nelle frange di calcite in direzione posteriore. Ogni lingua di madreperla è accompagnata da strisce di calcite chiare e scure (Fig. 11). Il registro di crescita viene segnalato dall'intrusione di miostraco, struttura primitiva formata da prismi irregolari di aragonite, che si deposita in prossimità dei muscoli dei bivalvi al principio delle lingue di madreperla (Fig. 12). Una lingua di madreperla formata, è il risultato di due cicli di deposizione avvenuti tra la fine dell'estate e l'inizio dell'inverno (autunno). Quando la crescita di madreperla viene ripresa all'inizio dell'estate, dopo la pausa invernale (tra primavera ed estate), comincia nella parte più 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. Gli individui giovani fanno eccezione perché non mostrano queste pause di crescita invernali (Katsanevakis, 2007; Richardson *et al.*, 1999) e quindi 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). Si afferma quindi che i PAMS non si depositano annualmente, al contrario dalle lingue di madreperla, dimostrando che per studiare l'età di individui utilizzando le valve l'analisi dei registri interni è il metodo più affidabile, nonostante richieda una metodologia complicata.

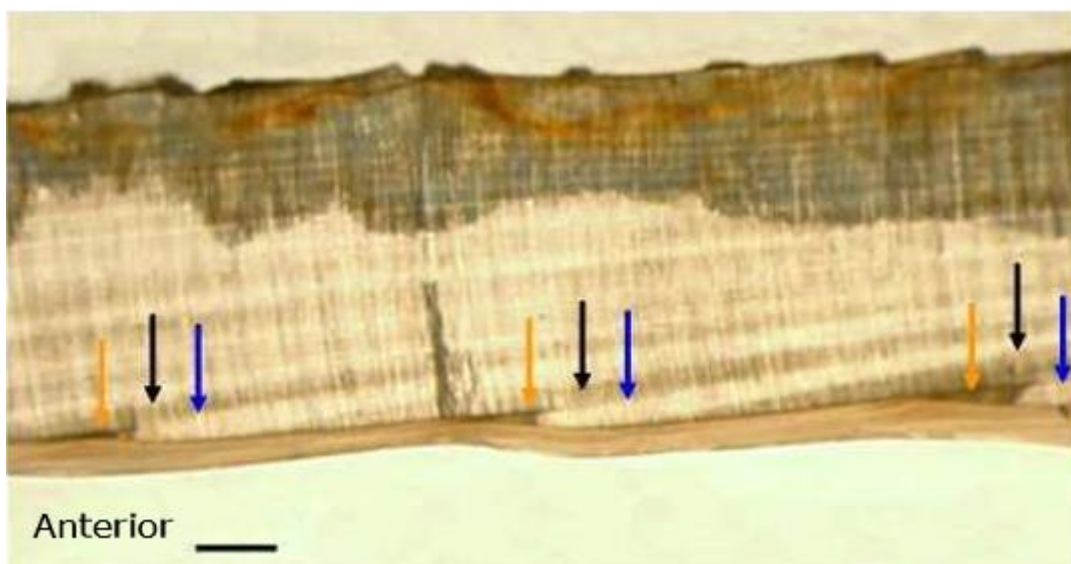


Figura 11. Registro interno di crescita di *Pinna nobilis*. Le frecce arancioni indicano le lingue di madreperla; le frecce nere e blu indicano le strisce di calcite.

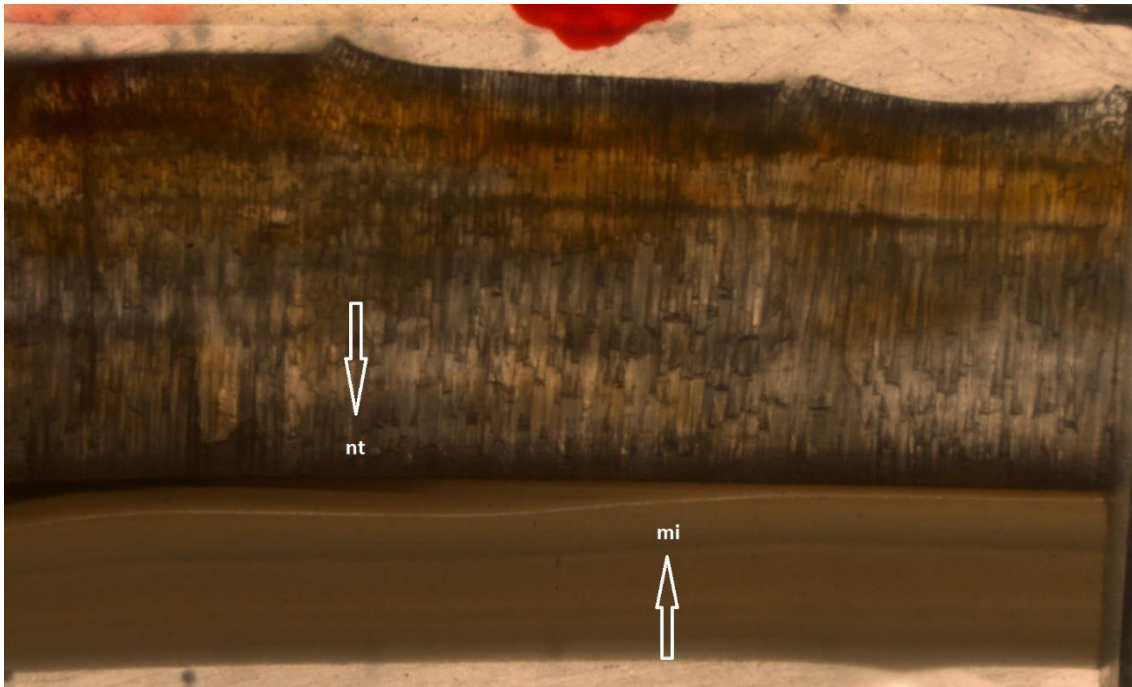


Figura12. Intrusione di miostraco in prossimità della lingua di madreperla. nt, lingua madreperlacea; mi, miostraco.

2.3 Biologia ed ecologia

Pinna nobilis è un mollusco bivalve con un basso tasso di reclutamento, la sua dinamica di popolazione si basa su una strategia ecologica radicata nell'adattamento e sopravvivenza degli individui adulti (strategia K). Raggiunge la maturità sessuale dopo circa due anni di vita. Essendo una specie ermafrodita, produce sia gameti femminili che maschili, i quali vengono espulsi in periodi differenti direttamente in acqua durante le stagioni calde. La fecondazione è legata all'azione delle correnti. Dopo la schiusa dell'uovo si origina una larva veliger, che per un periodo di tempo limitato è parte dello zooplancton. Quando la conchiglia raggiunge 1 mm di lunghezza, si insedia sul fondale dove inizia la sua fase di vita bentonica. Le praterie di fanerogame, in cui vive, sono in grado di intrappolare le particelle in sospensione presenti nel flusso, fornendo, in tal modo, un ambiente favorevole con un maggiore possibilità di reclutamento e disponibilità alimentare. *P. nobilis* si nutre di particolato organico derivante dalle praterie stesse. È un filtratore e sembra ingerire preferibilmente detriti (~95%), fitoplancton, micro-meso zooplankton e polline. Ciò come dimostrato da Alomar *et al.*, (2015), dipende dal fatto che la dieta è "regione-specifica", ovvero legata al comparto pelagico piuttosto che a quello bentonico, che vede come fonte principale di alimento il fitoplancton. Recentemente, analisi fatte sulle ghiandole digestive e sui tessuti del muscolo adduttore dimostrano che, in organismi di piccole dimensioni, vi è una presenza elevata di grassi saturi con alte concentrazioni di detriti, mentre in organismi di medie e grandi dimensioni, di acidi grassi polinsaturi,

quindi di fitoplancton (Najdek *et al.*, 2013). Davenport *et al.*, (2011), nel suo studio sui contenuti stomacali evidenzia la differenza di alimentazione in organismi di taglia diversa: l'alimentazione degli organismi di taglia piccola è legata al comparto bentonico, mentre l'alimentazione degli individui adulti è legata al comparto pelagico.

P. nobilis ha quindi un ruolo ecologico molto importante, poiché filtra e trattiene grandi quantità di materia organica dal materiale in sospensione, contribuendo al mantenimento della limpidezza dell'acqua (Trigos *et al.*, 2014). La rapida risposta della popolazione di *P. nobilis* alle alterazioni del suo habitat naturale, ha fatto sì che questa specie venisse proposta come bioindicatore dello stato di conservazione del habitat (Vicente, 1990; Vicente e Moreteau, 1991; Garcia-March e Ferrer, 1995, Vicente, 2003). La specie risulta essere una buona indicatrice di contaminazione da metalli pesanti in quanto questi vengono accumulati nei tessuti molli (Catsiki *et al.*, 1994). Inoltre, anche la conchiglia è utile per ottenere informazioni sulle caratteristiche dell'ambiente circostante, in quanto la microstruttura della conchiglia conserva tracce di variazione fisico-chimiche del biotopo. Infatti, analisi condotte sulle conchiglie, mediante l'utilizzo di isotopi stabili di ossigeno e carbonio, sono stati utilizzate per ricostruire le temperature superficiali nella costa spagnola e dell'adriatico settentrionale (Kennedy *et al.*, 2001; Richardson *et al.*, 2004).

Anche se esistono poche informazioni dettagliate riguardanti la distribuzione geografica di *P. 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 (Fig. 13), dai fondali con substrato molle in acque superficiali, fino ai 60m di profondità (Vicente, 1990; Templado *et al.*, 2004), costituendo così, un substrato duro in un fondo marino molle, fornendo una superficie che può essere colonizzata da diverse specie della flora e della fauna bentoniche.

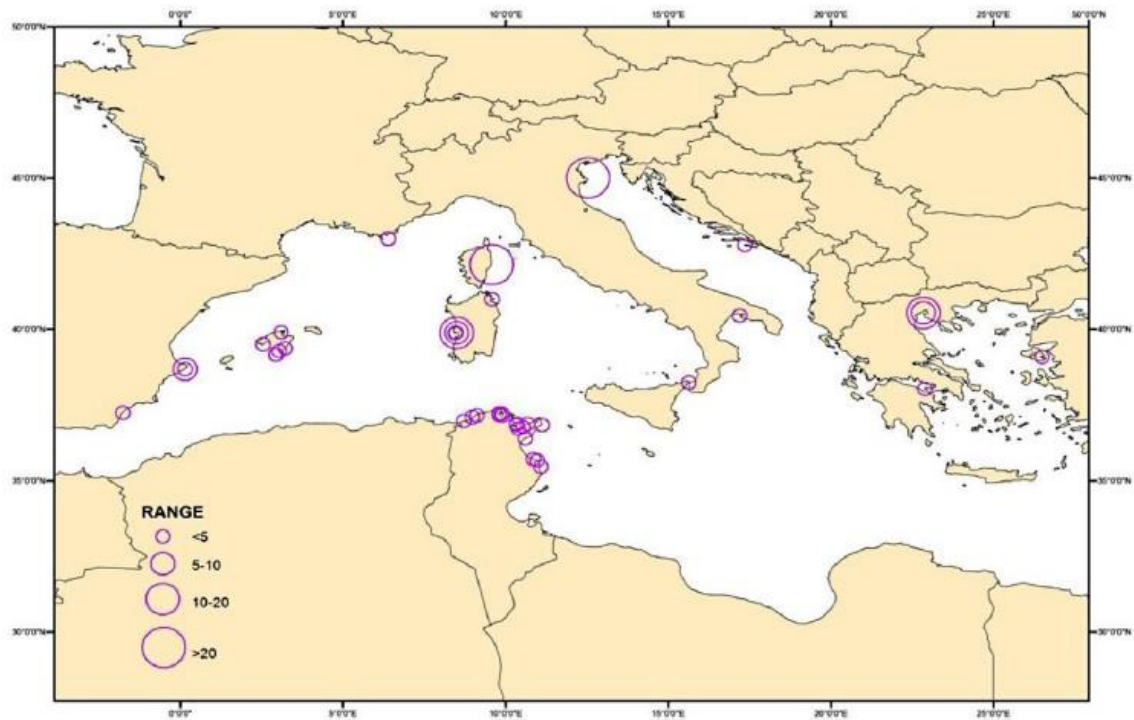


Figura 13. Mappa del Mediterraneo. I cerchi viola indicano la desintà di *Pinna nobilis* nei vari siti (Individui per 100m²).

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 (Fig. 14). 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 cespugli di fanerogame marine. Nelle coste croate del Mar Adriatico, all'interno di lagune generate dalle numerose isole, è comune nelle praterie di *P. oceanica*, dove si possono localizzare popolazioni con un elevato numero di individui (Siletic e Peharda, 2003).

Nelle preterie di posidonia situate nelle Isole Baleari, esistono dense popolazioni di *P. nobilis* che possono raggiungere densità di addirittura 15individui/m². Tali popolazioni sono però soggette a varie forme di impatto antropico, tipico di quelle zone altamente popolate soprattutto durante il periodo estivo. Il risultato è una diminuzione della densità degli individui.

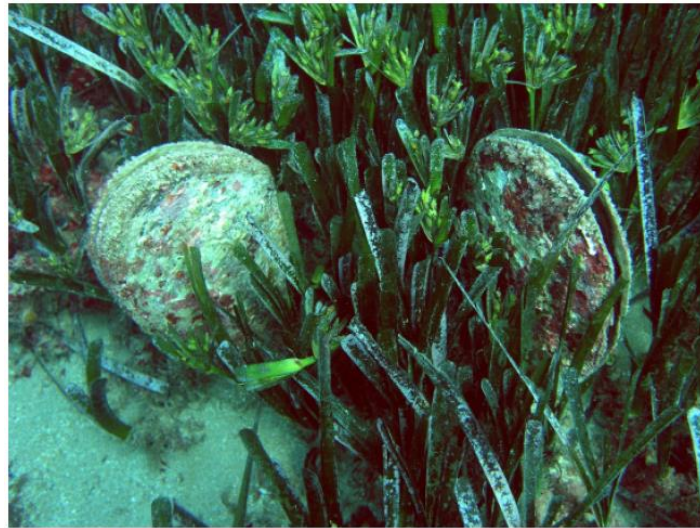


Figura 14. Esempari di *Pinna nobilis* localizzati all'interno di praterie di *Posidonia oceanica*.

3. Materiali e Metodi

3.1 Aria di studio e raccolta campioni

Il Parco nazionale di Cabrera si trova a sud-est dall'isola di Maiorca, Isole Baleari, Spagna (39.14° N, 2.96° E). È una zona naturale che custodisce un importante patrimonio ecologico. Questo complesso di isole e isolotti calcarei racchiude un eccezionale ecosistema marino, con praterie di *Posidonia oceanica*, che consente la proliferazione di numerose specie marine.

Abbiamo campionato diversi siti in tutto il Parco nazionale di Cabrera e in prossimità di esso all'interno dell'arcipelago delle Isole Baleari (Fig.15). In particolar modo i campioni, conchiglie di individui morti, sono stati raccolti nelle isole di Cabrera, Ibiza, Maiorca e Minorca (Fig.16). I campionamenti sono stati effettuati ad una profondità di 20 metri, ad eccezione di un campione prelevato ad una profondità di 30 metri.



Figura 15. Area di campionamento: Arcipelago delle Isole Baleari.

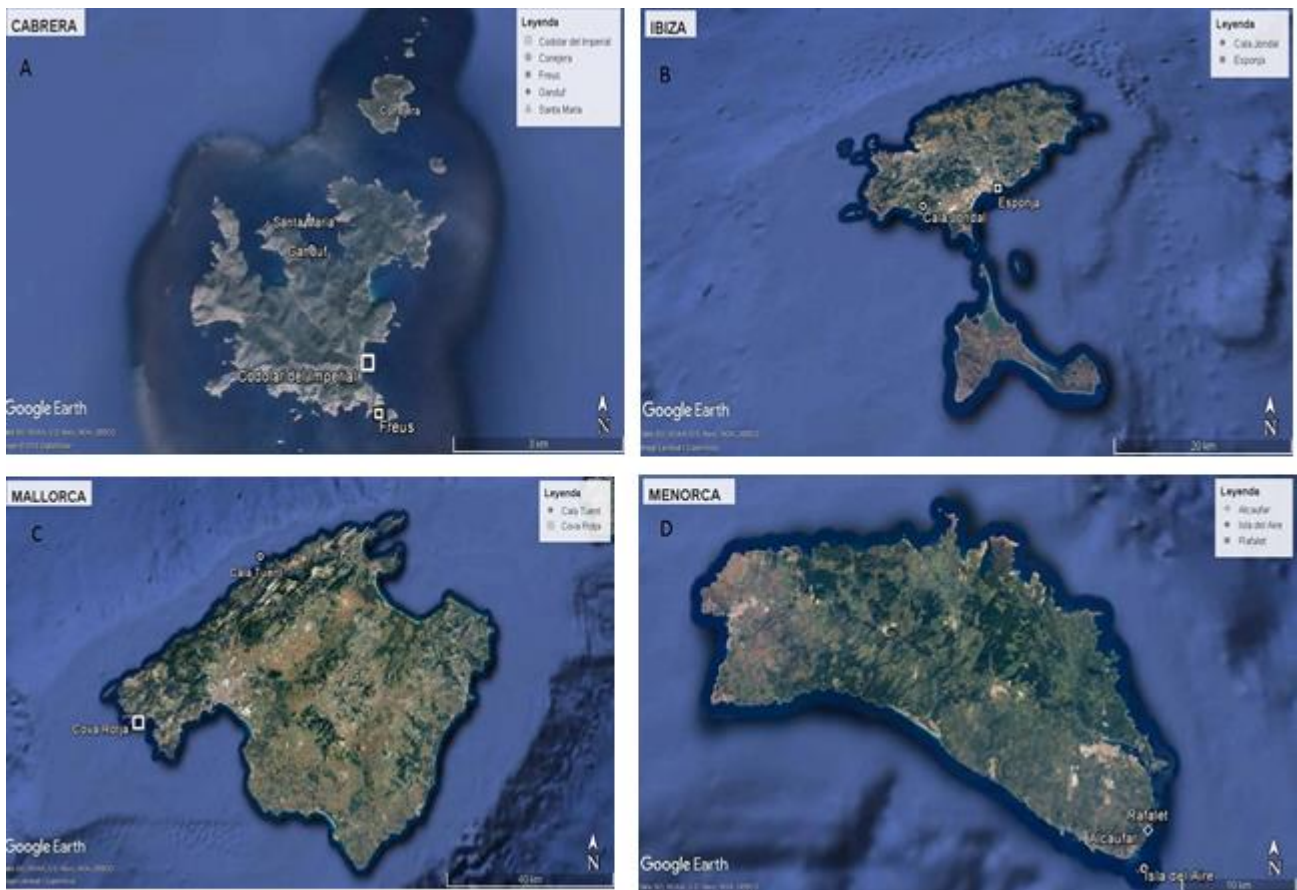


Figura 16. Area di campionamento nel dettaglio: A) Isola di Cabrera; B) Isola di Ibiza; C) Mallorca; D) Menorca.

La raccolta dei campioni è stata effettuata attraverso immersioni subacquee, condotte da tecnici scientifici esperti, mediante transetti paralleli alla costa. Sono stati raccolti 21 campioni, ai quali è stato assegnato un codice di identificazione, rappresentante il sito e la profondità di raccolta (Tab.2)

	Codigo id	Profundidad	Ex	Isla	Localidad	Año	Estadio
1	366 - 20 m	20		Cabrera	Santa Maria		
2	345 - 20 m	20		Cabrera	Santa Maria		
3	363 - 20 m	20		Cabrera	Santa Maria		
	CONJERAP130071	20	si	Cabrera	Conejera	2011	Adulto
21	CONJERAP230071 - 20m	20	si	Cabrera	Conejera	2011	Adulto
4	CONJERAP330071 - 20m	20	si	Cabrera	Conejera	2011	Adulto
	CONJERAP430071	20	si	Cabrera	Conejera	2011	Adulto
5	ESPONJA11_p_1 20m	20	no	Ibiza	Esponja	2008	Adulto
6	ESPONJA2D_p_1 20m	20	no	Ibiza	Esponja	2008	Adulto
7	ESPONJA318108L 20m	20	no	Ibiza	Esponja	2008	Adulto
17	ESPONJA4L_p_1 20m	20	no	Ibiza	Esponja	2008	Juvenil
	FREUSP4220711D_	20	si	Cabrera	Freus	2011	Adulto
	FREUSP5220711D_	20	si	Cabrera	Freus	2011	Adulto
	FREUSP6223711D_	20	si	Cabrera	Freus	2011	Juvenil
7	ROJAP127711D_p_20m	20	no	Cabrera	Cova Rotja	2011	Adulto
8	ROJAP227711D_p_20m	20	no	Cabrera	Cova Rotja	2011	Adulto
9	SANTAMARIAP122711D_20m	20	no	Cabrera	Santa Maria	2011	Adulto
	SANTAMARIAP3220711D	20	no	Cabrera	Santa Maria	2011	Adulto
10	Ibiza 20m 300513	20		Ibiza	Cala Jondal o Moranell		
11	Tuent 20m I	20		Mallorca	Cala Tuent		
12	Tuent 20m II	20		Mallorca	Cala Tuent		
	Tuent 20m III	20		Mallorca	Cala Tuent		
	Codolar 18 m 6814	18		Cabrera	Codolar del Imperial		
	Aire 20m	20		Menorca	Isla del Aire		
13	Aire 1 20m I	20		Menorca	Isla del Aire		
18	Aire 1 20m II (REDI DAV. FOTO)	20		Menorca	Isla del Aire		
	Aire 2 20m	20		Menorca	Isla del Aire		
14	Alcaufar 20m I	20		Menorca	Alcaufar		
	Alcaufar 20m II	20		Menorca	Alcaufar		
	Alcaufar 20m III	20		Menorca	Alcaufar		
	Alcaufar 20m III	20		Menorca	Alcaufar		
15	Rafalet 20m	20		Menorca	Rafalet		
16	352 - 20 m						
20	163 - 20 m						

TOT = 20
(SI) 1 SOLO FOTO
(AIRE 120m II)
X STUDIO
GWE 21
20

Tabella 2. Codice di identificazione degli individui campionati.

3.2 Trattamento campioni in laboratorio

Una volta in laboratorio, le conchiglie sono state preparate al fine di stimare la crescita individuale (dimensione-età) di ogni individuo e così ottenere dati che ci permettano di calcolare i parametri dei modelli di crescita della nostra popolazione. In primo luogo, di ogni valva sono state realizzate 22 misure distinte (Tab.3) con annesse fotografie, utili per immortalare caratteristiche esterne della conchiglia creando così un supporto digitale.

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)

Zv: 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

Tabella 3. Elenco delle misure effettuati agli esemplari campionati.

Si ottiene quindi una matrice in cui sono riportate tutte le misure rilevate(Tab.4):

	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	Número	Valva	Htr cm	Htr(m) cm	A1 cm	A2 cm	Peso g	MAA(I)1 mm	MAA(I)2 mm	MAA(I)min mm	MAA(a) mm	MAPa cm	MAPp cm	MAPva cm	MAPvp cm	tMAP mm	DEM(1) cm	DEM(2) cm	PUP cm	Hint cm	Hanterior cm	Pm mm	Zv mm	Eje mm
3	AIRE_20ml	I	47.7	44.03	17.2	16.2	264.6	20.54	22.93	18.27	16.6	21.3	25	27.8	16	23.86	13.1	14.1	5.2	3.9	27.9	35.26	3.39	3147
4	AIRE_20ml	D	42.8	42	17.3	16	236	24.89	17.06	15.71	12.56	18	23.4	23.3	18.5	24.99	6.8	8.2	8.1	4	23.9	29.59	5.01	33.54
5	ALCAUFAR_20m	D	56.1	54	21.1	19.4	378.4	22.94	28.28	22.63	18.56	23.4	30.4	32.2	19.3	31.86	8.6	10.5	11.7	4.4	30.3	48.47	6.42	46.73
6	CONEJERAP230071_20r	I	46.8	44.4	20.5	17.2	237.1	16.62	19.21	16.17	14.79	19.6	25.9	25.3	17.5	26.3	8.8	10.8	8.5	3.9	23.5	44.11	3.85	18.71
7	CONEJERAP330071_20r	D	44.9	40.7	20.2	19.5	317.3	30.93	25.07	25.14	14.8	22	20.5	28.7	14.5	32.39	10.5	11.8	7.7	3.9	23	39.81	5.12	10.93
8	Esonjatl_p_120m	I	71	66.5	22.5	19	805.9	29.13	34.42	26.89	21.54	31.6	33.2	36.8	28.4	33.33	13	14.2	14.8	5	41	75.24	8.57	64.49
9	Esonja2D_p_120m	I	66.2	65	21.2	20.9	753.9	33.54	33.88	31.14	22.43	27.5	36.3	36.3	27	34.3	10.1	11.8	19	5.5	31	52.13	8.31	74.07
10	Esonja318-1081_20m	D	42.3	41	19.5	18	204.9	17.59	20.27	17.41	12.92	16.8	24.3	22.5	16.6	34.33	6.3	8.1	8.5	3.5	29.2	32.06	4.84	32.54
11	Esonja4L_p_120m	D	39.7	38.2	17.9	17.9	162.7	19.84	17.33	17.07	11.97	16.8	21.5	21.9	13	26.62	12.7	13.2	4	3.6	22	32.8	5.48	23.03
12	Ibiza 20m	D	62.5	60	20.5	19.7	470.3	25.64	31.38	24.18	17.63	24.2	36	33.5	25.3	29.28	13.8	15.2	9.6	4.6	33.9	56.91	6.43	47.44
13	Rafelet 20m	I	50.5	49			469.1	29.53	31.26	27.23	20.58	23.6	26.3	28.8	22	36.99	16.3	15.8	4.5	5.5	29.9	47.46	4.45	23.21
14	Rojap1277HD_p_20m	D	62	59.3	24	21	645.3	29.33	30.31	23.91	21.29	27.8	31.5	37	19.5	36.33	14.2	14.7	10	5	35.6	57.41	9.03	100.89
15	Rojap2277HD_p_20m	I	68	66	24.7	23.2	782.9	31.98	33.89	29.99	20.6	29	37.4	45	20	45.05	15.02	17.09	5.8	35.7	10	50.71	4.23	35.41
16	SantamariaP1227HD_20m	I	43.4	41	17.3	17.3	165.5	17.16	16.81	15.09	13.58	17.4	25	22	18.9	25.48	8.4	11	6.9	3.3	24.4	27.67	3.23	23.84
17	Tuent_20mI	I	64	60.5	22.3	20	674.8	39.29	34.88	30.27	23.06	27	32.6	33.8	27.2	31.07	13.4	14.9	9.4	4.9	33.7	69.93	7.59	77.76
18	Tuent_20mII	D	62.8	61.7	21.6	19.3	569.5	36.19	37.94	31.27	22.44	28.2	33.5	43.5	17.8	32.23	14.3	15.5	9.6	5.1	36.6	49.12	6.32	106.42
19	163_20m	D	39	37.6	17.6	17.6	138.5	13.17	16.17	15.68	14.78	16.4	21	19.5	16.5	22.65	8.1	8.5	5.5	3.2	27.2	34.23	2.62	7.47
20	345_20m	I	79.1	75.3	22.4	21.5	1064.7	40.37	34.27	31.43	22.78	31.8	43.5	41.5	33.2	43.55	14	16.2	13.4	6	43.5	84.43	6.77	91.21
21	352_30m	I	61.5	56.5	22.8	21.2	696.89	31.22	37.35	30.84	21.63	25.8	33.6	34.7	20.5	42.65	14.8	15.3	7.8	5	32.1	58.84	4.48	215.3
22	363_20m	D	56.6	54.5	21.5	21.2	339.6	20.18	25.45	20.85	17.22	24.3	30.9	30.7	23.2	29.17	11.1	12	10.5	4.4	28.6	45.28	6.7	48.98
23	368_20m	I	61.4	58.2	20.6	20	667	32.1	31.75	29.42	37.1	27.4	31.5	33.6	24.2	36.27	12.2	14	11.1	5	36.1	62.39	3.98	38.67
24																								

Tabella 4. Matrice dimensione campioni.

Una volta realizzate le misurazioni, si crea una superficie di taglio idonea sulla conchiglia. Il materiale delle valve, calcite e aragonite, è fragile e la conchiglia non può essere tagliata senza un'adeguata preparazione preliminari. Per questo, la porzione della valva contenente l'impronta del muscolo adduttore posteriore è stata inclusa in resina epossidica (resina WWAS; indurente WWB4 de Resineco®). I due componenti della resina, la base e l'indurente, vengono mescolati insieme in un rapporto 2/1 e la resina così ottenuta viene versata sulla conchiglia, precedentemente privata dell'estremità posteriore per facilitarne il maneggio e posta nella campana di estrazione di gas (Fig.17). Per evitare lo spreco di resina si creano dei supporti in plastilina, tutto intorno alla conchiglia. La resina viene lasciata indurire all'interno della campana d'estrazione di gas per circa 24/32 ore (Fig.18).



Figura 17. A) Resina WWAS; indurente WWB4 de Resineco®; B) Impronta del muscolo adduttore posteriore inclusa in resina epossidica



Figura 18. Esemplici di *Pinna nobilis* imbevuti di resina epipossidica, lasciata indurire all'interno della campana per estrazione dei gas.

Una volta inclusa la conchiglia, si procede alla fase di taglio. Una valva di ogni esemplare viene tagliata radialmente, lungo l'impronta del muscolo adduttore posteriore, utilizzando la serra a nastro PROXXON® MBS 240/E (Fig.19 a; b).



Figura 19. a) Serra a nastro PROXXON® MBS 240/E; b) Linea di taglio lungo l'impronta del muscolo adduttore posteriore (linea orizzontale). Scala 1 cm.

La valva viene poi sezionata dorso-ventralmente in porzioni di circa 8 cm, ovvero qualche centimetro in meno di un vetrino porta-oggetti. È importante che ogni porzione venga codificata secondo il metodo adeguato che prevede l'assegnazione del codice di prima identificazione, ovvero quello assegnato al momento del prelievo del campione, seguito dal numero della porzione (ricordando che il numero 1 viene sempre assegnato alla parte inferiore) e da una lettera A o B. La scelta della lettera è strettamente legata alla posizione del legamento, quindi viene assegnata la lettera A alla porzione di conchiglia che “presenta” legamento (zona dorsale) mentre la lettera B viceversa verrà assegnata alla porzione di conchiglia che non presenta il legamento (zona ventrale). È fondamentale fare sempre uno schema delle porzioni codificate (Fig.20).

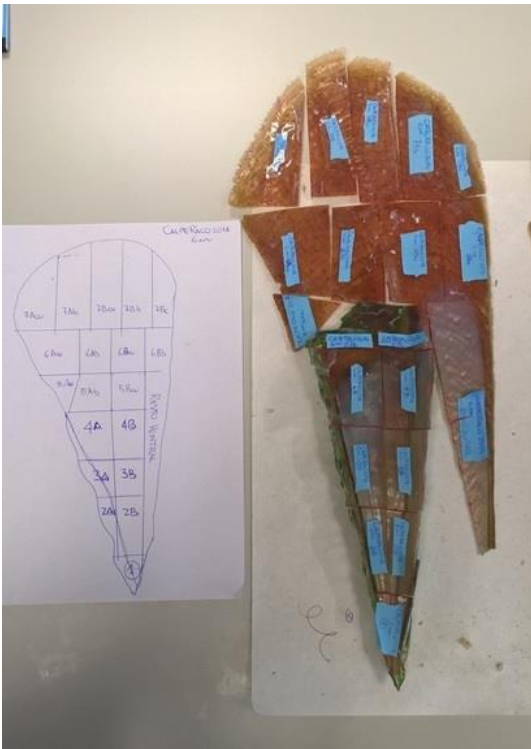


Figura 20. Esempio sezionato e codificato. Sulla sinistra si nota il relativo schema di riconoscimento.

Scelte le parti della conchiglia idonee (A o B), vengono limate con differenti tipi di carta abrasiva (FlexOvit®, da 250-1200µm), al fine di togliere tutte le imperfezioni presenti sui campioni (Fig.21a; b).



Figura 21. a) Sezione di conchiglia selezionate per lo studio; b) tavola di levigatura con carta abrasiva.

Successivamente vengono montate sul vetrino porta-oggetti con una base di resina (Fig.22).

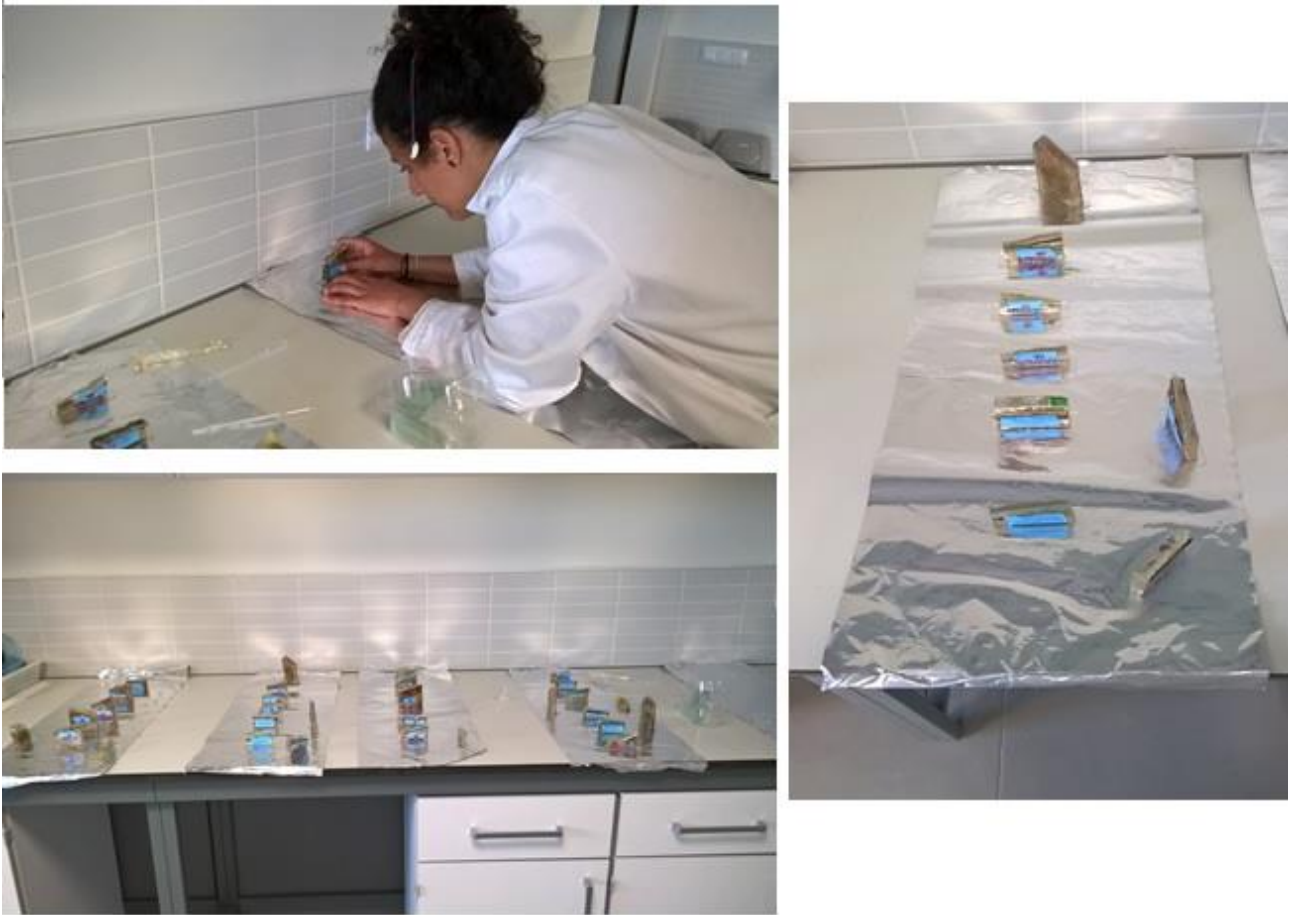


Figura 22. Montaggio delle sezioni di conchiglia sul vetrino porta

Trascorse le 24 ore necessarie alla resina per fissare la porzione di conchiglia sul vetrino (Fig.23), si è passato ad un secondo taglio attraverso l'utilizzo di una macchina dotata di una sega diamantata BUEHLER® Isomet "Low speed saw" (Fig.24).

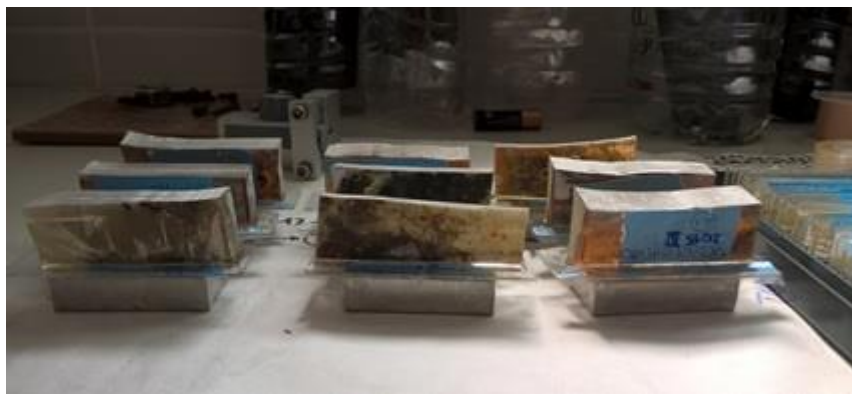


Figura 23. Sezioni di conchiglia montate sul vetrino porta-oggetto e fissate ad una placca di metallo necessaria per il taglio.

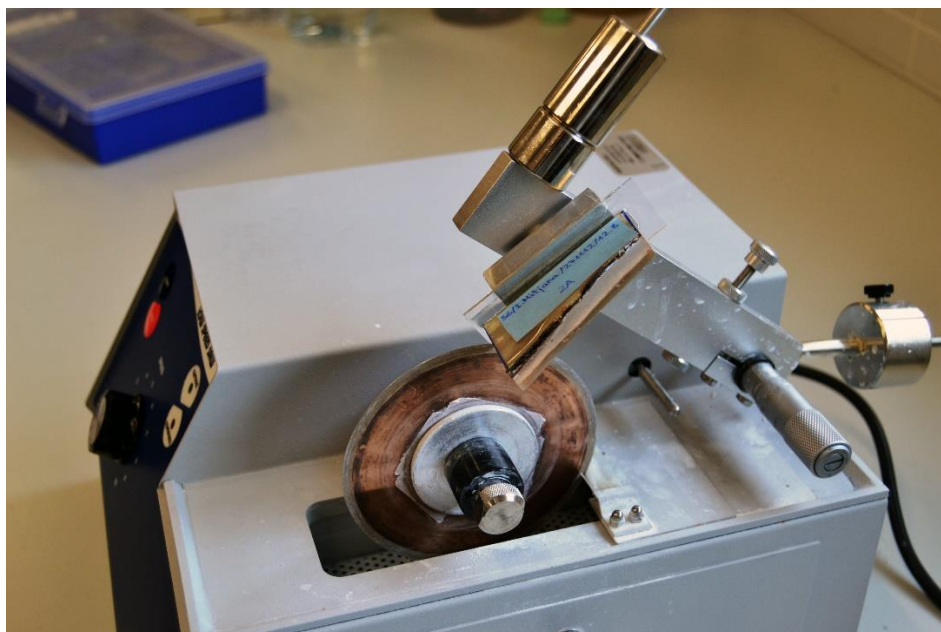


Figura 24. Serra BUEHLER® Isomet “Low speed saw” dotata di sega diamantata, utile per effettuare tagli sottili.

Lo scopo è quello di creare delle sezioni di 300 μ m di spessore (Fig.25). Ma un semplice taglio delle valve non può mostrare delle linee di crescita definita, a causa delle variazioni nella microstruttura delle deposizioni del guscio (Ropes, 1984). Segue quindi una seconda fase di levigatura e lucidatura attraverso l'uso della carta abrasiva. Durante la levigatura la carta abrasiva viene costantemente bagnata con l'acqua per ridurre la tensione superficiale tra la sezione e la carta abrasiva in modo tale da ottenere una levigatura migliore.



Figura 25. Vetrini con sezione di 300 μ m di spessore del muscolo adduttore posteriore.

Alla fine, quando tutti i vetrini sono pronti, si può procedere con l'osservazione dei campioni allo stereo-microscopio (Leica MZ16) (Fig.26). Per analizzare i registri di crescita interni viene 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.



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

3.3 Acquisizione dati

Per stimare il tasso di crescita si è preceduto al conteggio dei registri interni, o impronte, analizzando in sequenza, con lo stereo-microscopio, le porzioni di conchiglia montate sui vetrini portaoggetti. L'individuazione dei registri è molto semplice, ogni registro è composto da una lingua di madreperla che si introduce nella calcite in direzione posteriore. Ogni lingua di madreperla è accompagnata dall'alternanza di bande di calcite (chiara e scura) che segnalano la presenza del registro. Inoltre negli individui adulti è possibile notare un'intrusione di miostraco in prossimità della lingua di madreperla (Fig.27).



Figura 27. Registri interni di un esemplare di *Pinna nobilis*. Le linee gialle rappresentano le singole impronte individuate tra le lingue di madreperla e l'intrusione di miostraco.

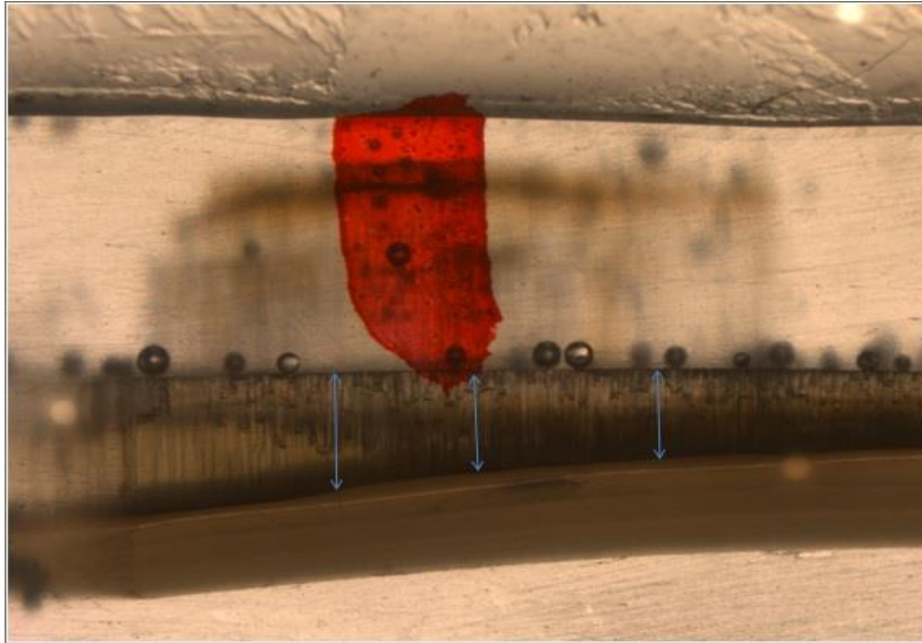
In ogni registro si evidenzia un inspessimento della madreperla in direzione anteriore (Garcia-March *et al.*, 2011). Dopo aver individuato i registri interni, si misura la distanza tra i registri interi del muscolo adduttore posteriore (MAP). Le distanze tra le impronte, sono state riportate immediatamente su un foglio di calcolo Excel, creando una matrice che tiene sempre in considerazione la porzione definita "lost in cut" presente tra un vetrino e l'altro, ovvero quella porzione di sezione persa a causa del sezionamento del tessuto, alla quale viene attribuita arbitrariamente una dimensione di $0.4 \mu\text{m}$ (Tabella 4).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Registro	4Ab	Lost in cut	3A	Lost in cut	2A	Lost in cut	Resto 1		Summa
2	1-2	4.4								4.4
3	2-3	5.0								5
4	3-4	7.3								7.3
5	4-5	7.2								7.2
6	5-6	6.8								6.8
7	6-7	9.8								9.8
8	7-8	3.7	0.4	6						10.1
9	8-9(?)			38.6						38.6
10	9(?)-extremo			10.6	0.4	57.3	0.4	51.7		120.5

Tabella 4. Esempio registro impronte dell'esemplare Aire_20mI: nel foglio excel vengono riportate le distanze tra le impronte di ogni vetrino.

Il passo successivo prevede la conversione delle distanze tra le impronte (in mm) in distanza per ogni registro alla porzione più anteriore della valva (dMAPa) attraverso calcoli pertinenti mediante l'utilizzo di R (Versione 3.3.1). Quello che fa la sintassi di R è automatizzare le somme, cioè somma le distanze tra le impronte calcolate per ogni vetrino alla distanza totale di ogni impronta dalla parte più anteriore della valva. Dopo di che converte le somme in dimensione totale teorico per ogni impronta, cioè si ottiene la lunghezza totale (in cm) che aveva l'individuo al momento della deposizione di ogni lingua di madreperla. Ogni impronta equivale ad un anno di età e la sua dMAP è proporzionale alla dimensione che aveva l'esemplare al momento in cui è stato depositato il registro. La relazione tra la dimensione dell'esemplare (Htr) e la dMAPa più recente, ovvero situata in posizione più posteriore, ci aiuta a stimare, mediante una regressione lineare, le dimensioni che avevamo gli individui della nostra popolazione al momento della deposizione. In questo modo, si costruisce una matrice dimensione-età per ogni esemplare che può essere utilizzata per calcolare i parametri dei modelli di crescita della popolazione.

Dato che, lo strato di calcite in *Pinna nobilis* risulta essere incompleta a causa dell'erosione nella parte anteriore della conchiglia, è possibile che alcuni dei registri interni più antichi siano andati perduti (Garcia-March *et al.*, 2011). Per questo motivo sono stati comparati gli spessori di calcite nei 3 registri più antichi di tutti gli esemplari della popolazione (Fig.28).



Figurata 28. Misurazione spessore di calcite di una delle tre impronte più vecchie.

Lo spessore dello strato di calcite nel punto dove si deposita ogni impronta è in funzione della età in cui questo è stato depositato e, per questo, tutti gli spessori di calcite depositati alla stessa età, in individui appartenenti alla stessa popolazione, dovrebbero avere una dimensione simile (Garcia-March e Marquez-Aliaga, 2007). Quindi per stimare i registri di crescita annuali persi sono stati aggiunti anni in corrispondenza degli spessori di calcite che sono notevolmente troppo spessi per poter coincidere al primo anno di deposizione. 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 per ottenere una stima più adeguata dell'età degli individui. Nel primo step, abbiamo riportato gli spessori di calcite (in mm) in un grafico con un'origine comune nell'asse delle x. In questo modo siamo stati in grado di rilevare gli spessori che risultavano superiori rispetto a quelli a cui corrisponderebbe la calcite depositata il primo anno. Nel secondo step abbiamo rappresentato nuovamente tutti i registri, però gli spessori di calcite individuati nello step 1 come "spessi" per corrispondere al primo anno di età sono stati spostati di una posizione sull'asse delle x. Questo processo è stato ripetuto per 4 volte, fino a che non stati più riscontrati valori anomali. I valori spostati sull'asse delle x sono stati tradotti in anni che sono stati aggiunti ai registri di crescita, per esempio un registro che è stato spostato 2 volte sull'asse delle x, rappresenterà il terzo anno di vita. In questo modo è stato possibile ottenere una stima adeguata dell'età di ogni individuo.

3.4 Elaborazione dati

I dati ottenuti sono stati analizzati mediante l'uso del software di libero accesso R Statistic Program® (Versione 3.3.1), con il supporto del programma Excel di Microsoft Office®.

È già stato evidenziato precedentemente che esiste una relazione tra la dimensione totale (Htr) e la lunghezza del muscolo adduttore (MAPa), questa non è altro che una distribuzione bivariata numerica compatibile con un'associazione lineare. È stata quindi calcolata un'equazione di regressione per tutte le valve raccolte nel Parco Nazionale di Cabrera e all'interno dell'arcipelago delle Isole Baleari.

La pendenza della retta può essere interpretata come la media bivariata, che riassume la tendenza positiva o negativa dell'associazione lineare delle variabili.

In forma grafica, la regressione lineare è stata rappresentata, grazie a R, sovrapponendo la retta fittata al diagramma di dispersione.

Per stimare i parametri di crescita dei registri interni è stato utilizzato il modello di crescita di Von Bertalanffy (1938). 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:

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

Il parametro L_{∞} rappresenta la lunghezza asintotica (o L_{\max}) a cui ogni individuo tende con il raggiungimento dell'età massima; k è un coefficiente di crescita che definisce la velocità con cui l'individuo tende ad L_{∞} , 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 questo parametro non ha alcun significato.

Questo modello è comunemente usato nelle ricerche sui molluschi per mostrare una rappresentazione corretta della dimensione all'età "x" (Bertalanffy, 1951; Pauly, 1981). 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.

4. Risultati

Durante i campionamenti sono stati prelevati 21 gusci vuoti di *Pinna nobilis* in diversi siti del Parco Nazionale di Cabrera e dell'arcipelago delle Isole Baleari. Gli esemplari sono stati prelevati tutti alla profondità di 20 m, tranne un campione (b352_30 m) che è stato prelevato ad una profondità di 30 m. Per questo motivo è stato deciso di creare un'unica popolazione dell'arcipelago delle Isole Baleari. Per quanto riguarda i dati delle due popolazioni superficiali (5-10 m) essi sono stati forniti dall'Istituto di ricerca IMEDMAR-UCV. I campioni di queste popolazioni sono stati raccolti in due siti distinti all'interno del Parco Nazionale di Cabrera: Freus e Gandulf.

4.1 Regressione Htr-MAPa

La regressione tra la dimensione totale (Htr) e la lunghezza del muscolo adduttore posteriore (MAPa), ha mostrato un'alta correlazione con un valore R^2 più alto dello 0,90, eccetto la popolazione di Freus con un R^2 di 0,81 (Fig. 29).

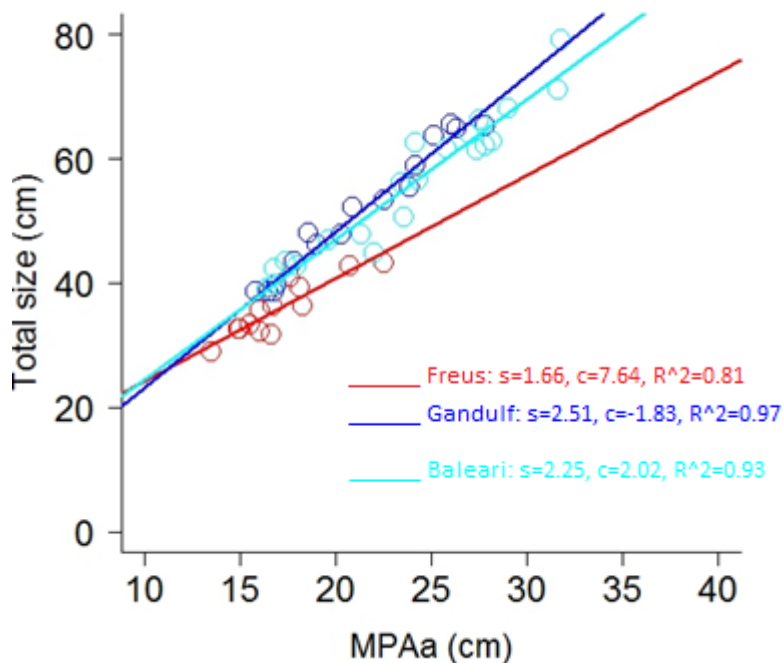


Figura 29. Calcolo dell'equazione per stimare la dimensione degli individui nel momento in cui è stato depositato ogni registro interno della popolazione delle Baleari, Gandulf e Freus (MAPa = Lunghezza del muscolo adduttore).

Popolazione delle Baleari: $Ht = 2,02 + 2,25, R^2 = 0,93, n = 21$ (Fig. 30, Tabella 5)

Htr	MAPa	CD
47.7	21.3	Aire_20ml
42.8	18	Aire_20mlII
56.1	23.4	Alcaufar_20m
46.8	19.6	ConejeraP230071_20m
44.9	22	ConejeraP330071_20m
71	31.6	Esponja1I_p_1_20m
66.2	27.5	Esponja2D_p_1_20m
42.3	16.8	Esponja318108I_20m
39.7	16.8	Esponja4I_p_1_20m
62.5	24.2	Ibiza 20m
50.5	23.6	Rafalet 20m
62	27.8	RojaP127711D_p_20m
68	29	RojaP227711D_p_20m
43.4	17.4	SantamariaP122711D_20m
64	27	Tuent_20m I
62.8	28.2	Tuent_20m II
39	16.4	163_20m
79.1	31.8	345_20m
61.5	25.8	352_30m
56.6	24.3	363_20m
61.4	27.4	366_20m

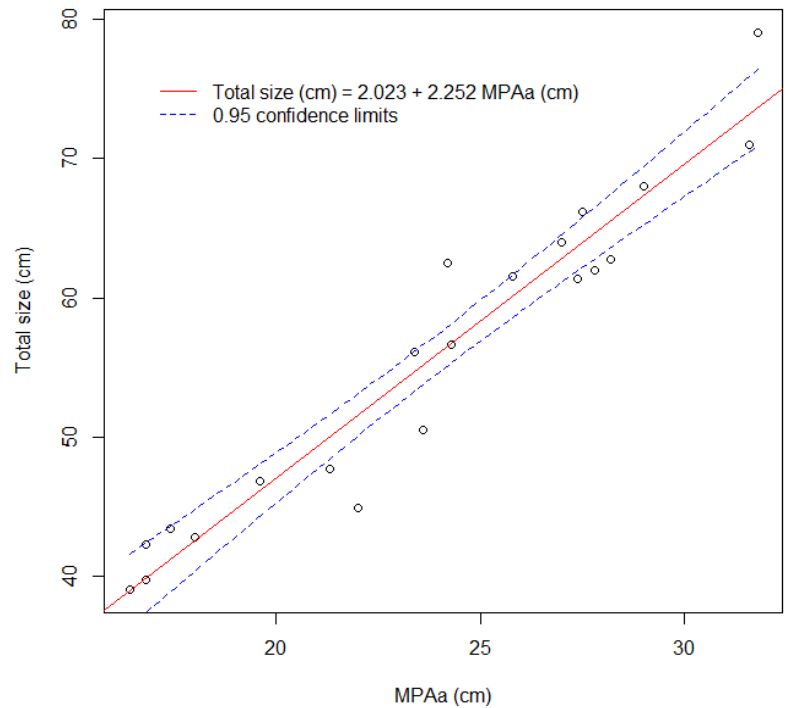


Tabella 5. Htr-MAPa della popolazione Baleari.

Figura 30. Calcolo dell'equazione per stimare la dimensione degli individui nel momento in cui è stato depositato ogni registro interno della popolazione delle Baleari.

Popolazione di Freus: $Ht = 1,66 + 7,64, R^2 = 0,81, n = 16$ (Fig. 31, Tabella 6)

Htr	MAPa	CD
33.4	15.5	Freus_051213_1
36.2	18.3	Freus_051213_3
31.8	16.6	Freus_051213_4
35.7	16	Freus_051213_6
32.7	14.9	Freus_051213_7
39.3	18.1	Freus_051213_8
41	17.6	Freus_051213_9
42.7	20.7	Freus_051213_10
43.2	22.5	Freus_051213_11
32.1	16	Freus_051213_12
28.9	13.5	Freus_051213_13
36.4	16.7	Freus_051213_14
32.5	15	Freus_051213_15

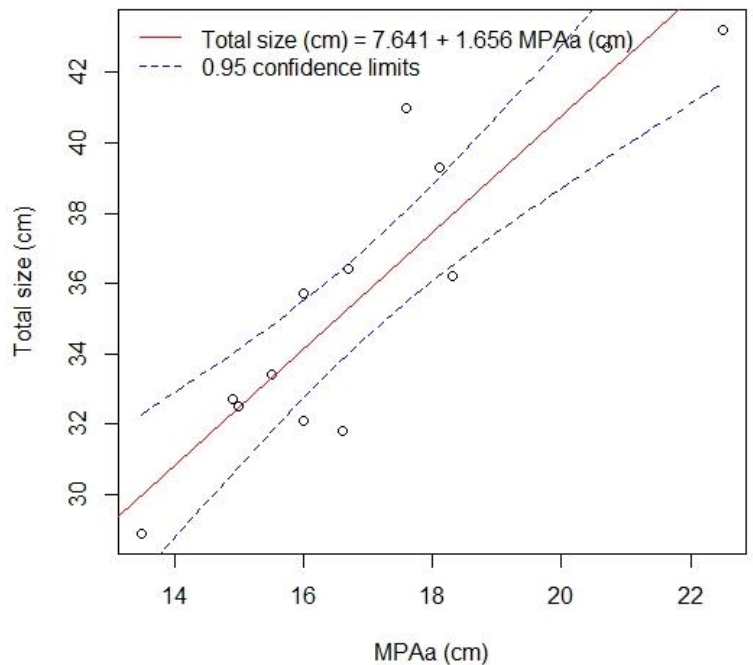


Tabella 6. Htr-MAPa della popolazione di Freus.

Figura 31. Calcolo dell'equazione per stimare la dimensione degli individui nel momento in cui è stato depositato ogni registro interno della popolazione di Freus.

Popolazione di Gandulf: $Ht = 2,52 - 1,83, R^2 = 0,97, n = 16$ (Fig. 32, Tabella 7)

Htr	MAPa	CD
58.9	24.2	GAN_S1_100112
46.1	19	GAN_S1_240112
63.6	25.1	GAN_S1_150312
52.2	20.9	GAN_S2_100112
53.3	22.5	GAN_S3_251111
38.5	16.8	GAN_S3_240112
39.7	16.9	GAN_S4_240112
64.9	26.3	GAN_S4_150312
47.8	20.3	GAN_S4_100120
38.5	16.5	GAN_S5_251111
38.5	15.8	GAN_S6_251111
48	18.6	GAN_S7_150312
65.6	26	GAN_S7_170212
43.4	17.8	GAN_S8_150312
55.4	23.9	GAN_S8_240112
65.2	27.8	GAN_S10_240112

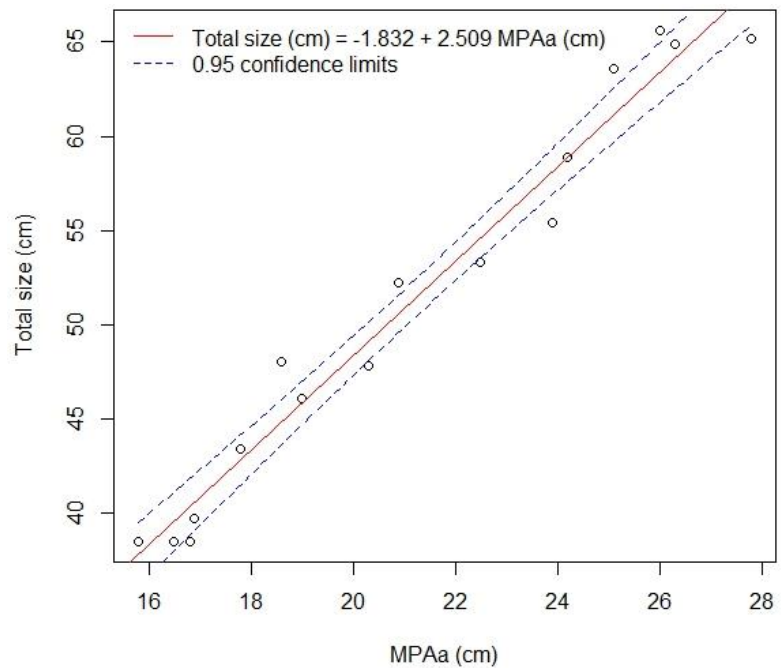


Tabella 7. Htr-MAPa della popolazione di Gandulf.

Figura 3. Calcolo dell'equazione per stimare la dimensione degli individui nel momento in cui è stato depositato ogni registro interno della popolazione di Gandulf.

Attraverso l'uso di questa equazione è stato possibile calcolare la dimensione della conchiglia al momento della deposizione di ogni registro interno di crescita di tutti gli individui della popolazione.

4.2 Stima dei registri annuali persi in seguito all'erosione

La stima dei registri annuali persi in seguito all'erosione si basa, come descritto in materiali e metodi, sulla misurazione dello spessore di calcite dei tre registri più antichi. In questo processo a 4 step vengono aggiunti anni a quegli spessori di calcite che risultano essere troppo "spessi" per coincidere con i primi anni di deposizione.

Popolazioni delle Baleari

Nel grafico, allo Step 1 (Fig. 33a), sono stati riportati i dati derivati dalle misurazioni dello spessore di calcite. Questo ci ha aiutato a valutare quali di queste misure fossero idonee per il primo anno di età. Come si può notare nel grafico, allo Step 1 gli esemplari b163_20m, SantamariaP122711D_20m e ConejeraP230071_20m hanno uno spessore di calcite più basso rispetto agli altri esemplari. Il loro spessore varia da 0,8 a 0,9 mm, per questo motivo vengono ritenuti idonei per il primo anno di età.

Tutti gli altri esemplari sono stati spostati di una posizione (+1) sull'asse delle x in quanto lo spessore del loro primo registro interno di crescita varia da 1,1 mm (esemplare Esponja4I_p_1_20m) a un massimo di 2,4 mm (esemplare Rafalet20m), quindi ritenuti troppo elevati per il primo anno di età (Fig. 33b). In seguito ad una seconda analisi, come si può notare nello Step 3 (Fig. 33c), i campioni Aire_20mI, Esponja2D_p_1_20m, Esponja318108I_20m, Rafalet20m, RojaP127711D_p_20m, RojaP227711D_p_20m, Tuent_20m I, Tuent_20m II, b352_30m e b366_20m sono stati spostati di un'altra posizione (+2) sull'asse delle x. Lo spessore dello strato di calcite del campione Rafalet20m è stato ritenuto troppo spesso per corrispondere al terzo anno di età, per questo motivo è stato spostato di un'altra posizione sull'asse delle x (+3), rendendolo conforme con il resto dei dati (Fig. 33d).

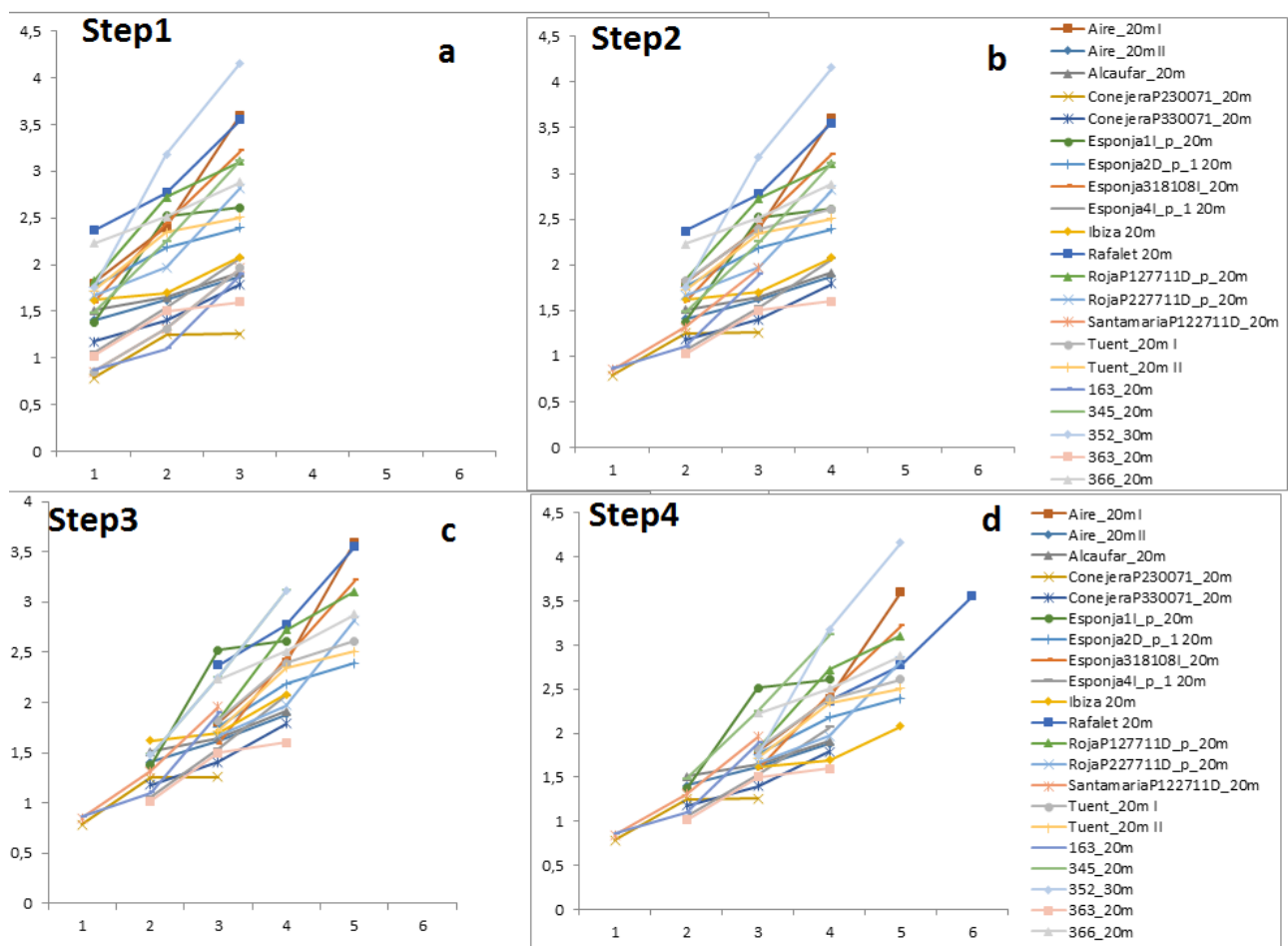


Figura 33. Stima dei registri persi della popolazione delle Baleari. (a) Step1, (b) Step2, (c) Step3, (d) Step4.

Popolazioni di Gandulf

Analizzando il grafico allo Step 1 (Fig. 34a) 9 esemplari (Gan-S1-240112, Gan-S1-100112, Gan-S2-100112, Gan-S3-240112, Gan-S4-240112, Gan-S5-251111, Gan-S6-251111, Gan-S8-150312, Gan-

S10-240112) su 16 presentano uno spessore di calcite, che varia da 0,88 a 1,17 mm, idoneo al primo anno di età. I restanti 7 sono stati spostati tutti di una posizione (+1) sull'asse delle x in quanto il loro spessore è superiore di 1,40 mm (Fig. 34b).

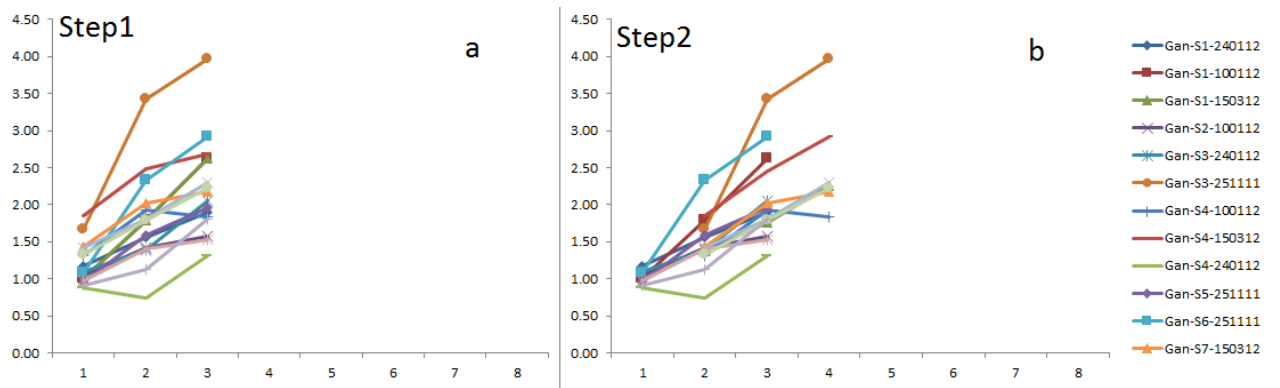


Figura 34. Stima dei registri persi della popolazione di Gandulf. (a) Step1, (b) Step2, (c) Step3, (d)

Popolazioni di Freus

Nello Step 1 (Fig. 35), si può notare come vi siano esemplari con uno spessore di calcite superiore al resto degli esemplari. In particolar modo gli esemplari Freus-051213-4, Freus-051213-11 e Freus-051213-17 hanno uno spessore molto più elevato rispetto al resto degli esemplari (rispettivamente 2,00mm, 2,28mm e 2,06mm). Il loro primo registro è stato spostato di 3 posizioni sull'asse delle x, mentre nel caso degli esemplari Freus-051213-6, Freus-051213-8, Freus-051213-9 gli spostamenti effettuati sono solo due (+2 posizioni). Gli esemplari Freus-051213-7 e Freus-051213-15, avendo nel primo registro di crescita uno spessore superiore a 1mm, sono stati spostati di una posizione (+1) sull'asse delle x. Lo spessore di calcite del primo registro di crescita degli esemplari Freus-051213-1, Freus-051213-3 (0,80mm), Freus-051213-10 (0,89mm) e Freus-051213-16 (0,88mm) rientra invece nel rango che corrisponde al primo anno di età, per questo motivo non sono state ritenute necessarie alcune modifiche.

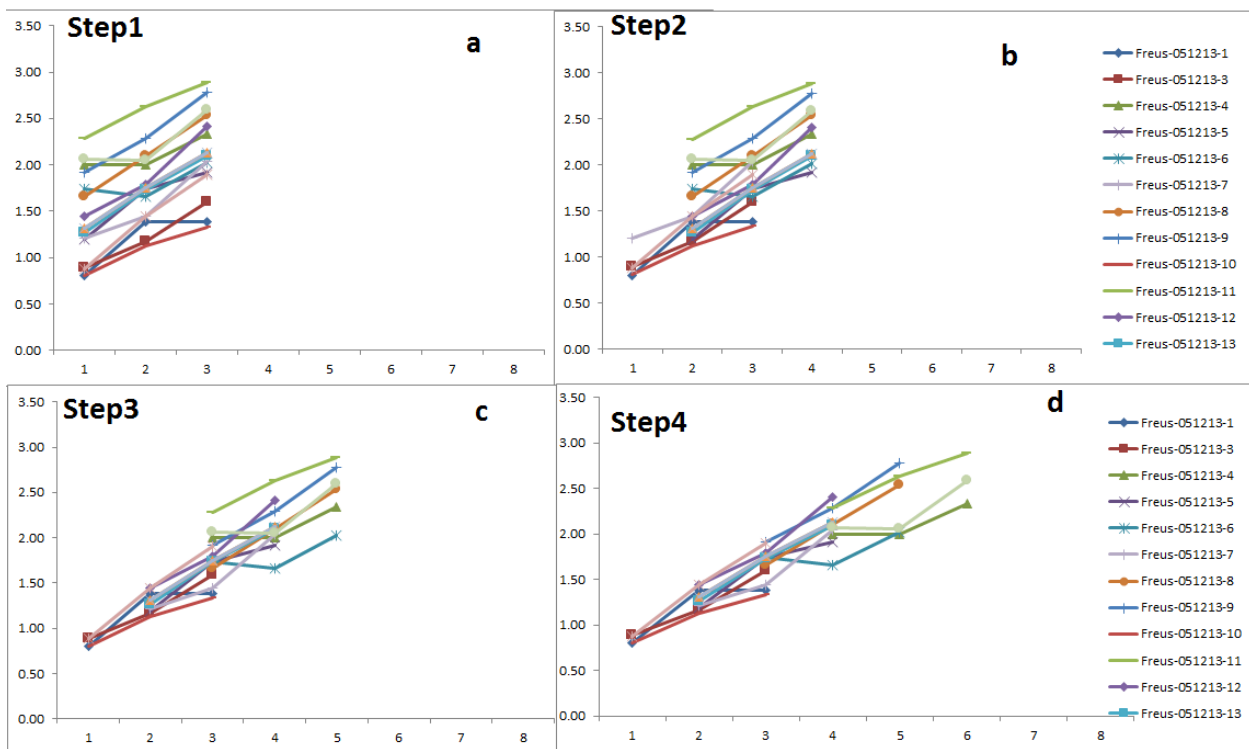


Figura 35. Stima dei registri persi della popolazione di Freus. (a) Step1, (b) Step2, (c) Step3, (d) Step4.

4.3 Stima dei parametri di crescita

Durante l'individuazione dei registri interni di crescita, in alcuni esemplari della popolazione delle Baleari, sono stati riscontrati problemi legati ad errori nel riconoscimento delle lingue di madreperla, causati da danni riportati sul vetrino analizzato. All'esemplare Rafalet20m sono stati aggiunti 2mm di lunghezza tra i registri di crescita in corrispondenza della ventesima e della ventunesima lingua di madreperla, in quanto era evidente che mancasse parte della conchiglia. Questa mancanza causava un'alterazione nella curva di crescita. All'esemplare Esponja318108I_20m, durante la stima d'età, è stata rimossa un'impronta (un anno) che era stata precedentemente segnata. Analizzando il vetrino è stato osservato che questa impronta non rappresentava un anno completo bensì mezzo anno, per questo motivo il modello di crescita individuale risultava anomalo. La curva di crescita individuale mostrava un picco di crescita, seguito da un brusco rallentamento, che andava ad alterare il modello di crescita della popolazione. Risolti questi problemi, si è passati all'analisi del tasso di crescita della Popolazione delle Baleari.

Popolazioni delle Baleari

Di seguito vengono riportati i grafici e le tabelle con i valori di Lmax individuale (ovvero la dimensione massima che avrebbe raggiunto l'esemplare se fosse vissuto a sufficienza) ottenuti con i

calcoli dei modelli di crescita. In queste tabelle vengono indicati anche i valori delle costanti t_0 (l'età a dimensione 0), un valore di importanza matematica e non biologica, ma necessario nell'equazione di crescita, e K (la velocità con la quale si raggiunge la dimensione asintotica della popolazione) per tutte le popolazioni. La linea viola rappresenta la crescita individuale di ogni esemplare, mentre la linea azzurra rappresenta il modello generale di crescita per ogni popolazione. I punti definiscono la dimensione degli esemplari per ogni registro di crescita calcolato con l'equazione. Si osservano due comportamenti distinti: mentre alcuni si adattano bene al modello, altri, sia per eccesso che per difetto, mostrano un adattamento minore al modello della popolazione. La curva di crescita dell'esemplare Esponja1I_p_1_20m, si discostava molto dalla curva di crescita della popolazione (il suo andamento era completamente diverso da quello della popolazione), per questo motivo si è preferito escluderlo dall'analisi del tasso di crescita della popolazione. Di conseguenza abbiamo ricalcolato il tasso di crescita della popolazione senza l'esemplare Esponja1I_p_1_20m e ordinando il database seguendo un senso logico, non aggiungendo anni in base al calcolo dei registri annuali persi. Questo è stato possibile perché gli esemplari, prelevati in siti differenti, presentano sia una variabilità individuale che una variabilità legata alla differenza dei siti. Dal punto di vista statistico la situazione non è variata molto, semplicemente si è cercato di rendere i dati più precisi. Tali modifiche hanno fatto variare di qualche mm la L_{max} di pochi esemplari, determinando un cambiamento ridotto nel tasso di crescita dell'intera popolazione. Anche la velocità di crescita K è aumentata, cambiamento non elevato ma comunque significativo.

La tabella 8. riportata di sotto, mostrano queste variazioni:

Popolazione Baleari (con Esponja1I_p_1_20m)	Popolazione Baleari (escluso Esponja1I_p_1_20m)
$t_0= 1,8 ; L_{max}= 65,5; K=0,13$	$t_0= 1,8 ; L_{max}= 65,5; K=0,13$

Tabella 8. Mostra le variazioni tra L_{max} , t_0 , K della popolazione delle Baleari in presenza e/o assenza dell'esemplare Esponja1I_p_1_20m.

Come si nota nel grafico della Figura 36 e nella Tabella 9, la popolazione delle Baleari mostra una variabilità elevata tra le equazioni di crescita individuali e il modello di crescita della popolazione. Gli esemplari che si adattano maggiormente al modello di crescita della popolazione sono quelli che raggiungono una dimensione asintotica massima (L_{max}) compresa tra i 57,6 cm e i 66,1 cm (Esponja2D_p_1_20m, Ibiza_20m, RojaP127711D_p_20m, Tuent_20m I, Tuent_20m II, 352_30m).

Al contrario, il modello di crescita di altri esemplari (b345_20m, Aire_20mII), si discosta notevolmente dal modello di crescita stabilito per la popolazione.

POPOLAZIONE BALEARI	
$t_0=1.2$	$k=0.14$
Codice identificativo	Lmax
Aire_20ml	47,4
Aire_20mII	41,0
Alcaufar_20m	54,9
ConejeraP230071_20m	47,3
ConejeraP330071_20m	49,4
Esponja2D_p_1_20m	62,1
Esponja318108I_20m	38,9
Esponja4I_p_1_20m	39,7
Ibiza_20m	57,6
Rafalet_20m	55,0
RojaP127711D_p_20m	64,3
RojaP227711D_p_20m	65,3
SantamariaP122711D_20m	39,1
Tuent_20ml	66,1
Tuent_20mII	63,0
b163_20m	33,9
b345_20m	77,7
b352_30m	61,1
b363_20m	56,6
b366_20m	63,2

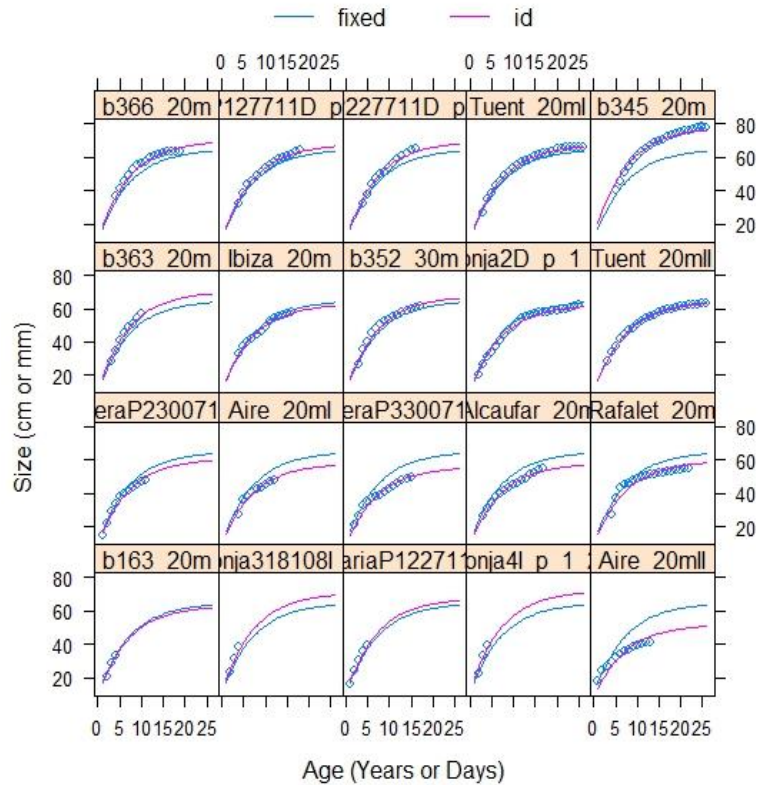


Tabella 9. Equazione di crescita di Von Bertalanffy delle Baleari.
 t_0 = età a lunghezza 0;
 k =velocità alla quale si raggiunge L_{max} ;
 L_{max} = dimensione asintotica massima.

Figura 36. Equazione individuale di crescita di von Bertalanffy della popolazione delle Baleari.
 t_0 e K sono fisse (L_{max} varia liberamente).

Popolazioni di Gandulf

Gli esemplari che maggiormente si adattano all'andamento della popolazione sono S3-251111, S1-100111, S2-100111, S1-240112 e S7-170212. Come si nota nella tabella 10, L_{max} di questi individui oscilla tra i 61,6 cm e i 63,4 cm, molto simile al valore dell'interna popolazione ($L_{max}=62,4$). Senza dubbio, si osservano leggere differenze nei modelli di crescita degli esemplari S3-240112, S6-251111 e S4-100112, in particolar modo l'esemplare S8-150312 è quello che si discosta notevolmente dall'andamento della popolazione (Fig. 37), non raggiungendo nemmeno i 50cm di lunghezza.

POPOLAZIONE GANDULF	
$t_0 = -0,04$ $K = 0,19$	
Codice identificativo	Lmax
GAN_S6_251111	55.4
GAN_S8_150312	49.0
GAN_S3_240112	69.3
GAN_S5_251111	65.3
GAN_S4_240112	59.1
GAN_S7_150312	59.8
GAN_S1_240112	63.4
GAN_S4_100112	61.9
GAN_S2_100112	61.9
GAN_S3_251111	61.6
GAN_S1_100112	61.6
GAN_S8_240112	66.8
GAN_S1_150312	65.2
GAN_S7_170212	61.6
GAN_S4_150312	65.4
GAN_S10_240112	70.0

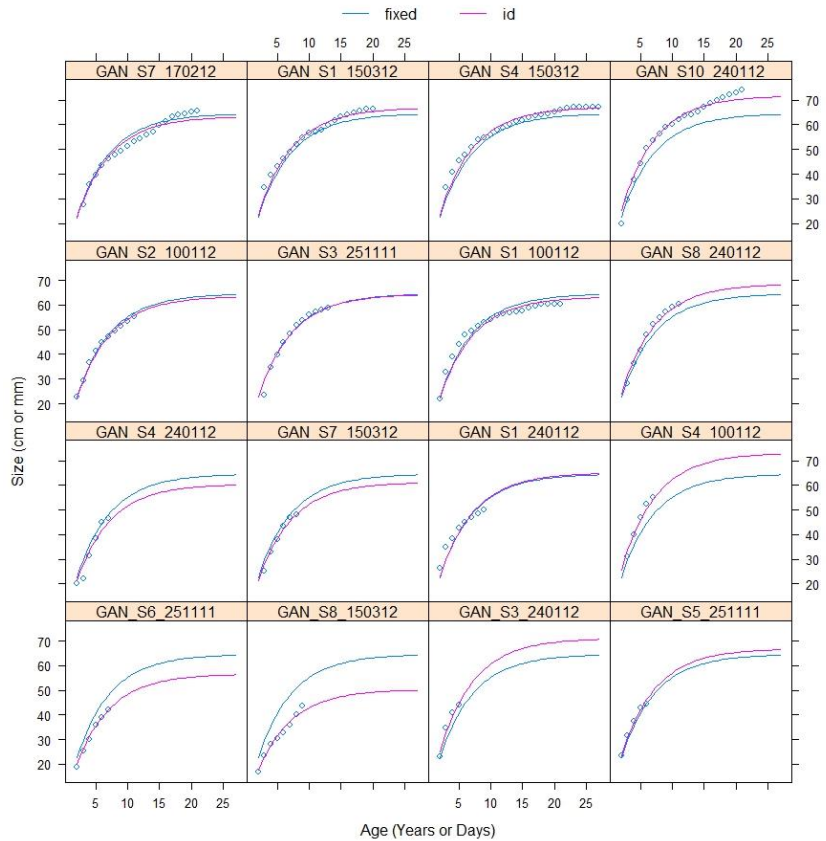


Tabella 10. Equazione di crescita di Von Bertalanffy di Gandulf.

t_0 = età a lunghezza 0;

k =velocità alla quale si raggiunge

L_{max} ;

L_{max} = dimensione asintotica massima.

Figura 36. Equazione individuale di crescita di von Bertalanffy della popolazione di Gandulf.

t_0 e K sono fisse (L_{max} varia liberamente)

Popolazione di Freus

Nel caso di Freus, il valore di L_{max} che si avvicina maggiormente a quello di popolazione oscilla intorno ai 43.6 cm, fino ad un massimo di 44,9 cm, come dimostrano gli esemplari Freus-051213-6, Freus-051213-10, Freus-051213-11, Freus-051213-14 e Freus-051213-4. I modelli di crescita che si allontanano dal modello della popolazione sono quelli di Freus-051213-5, Freus-051213-15 e Freus-051213-7 (Fig. 38, Tabella 11).

POPOLAZIONE FREUS	
$t_0 = -0,57$ $K = 0,21$	
Codice Identificativo	Lmax
Freus_051213_5	36.2
Freus_051213_13	45.2
Freus_051213_12	42.8
Freus_051213_15	48.8
Freus_051213_1	47.9
Freus_051213_14	44.3
Freus_051213_7	39.7
Freus_051213_4	44.9
Freus_051213_6	44.0
Freus_051213_8	40.2
Freus_051213_9	41.5
Freus_051213_3	45.5
Freus_051213_17	46.3
Freus_051213_11	43.6
Freus_051213_10	44.4
Freus_051213_16	47.0

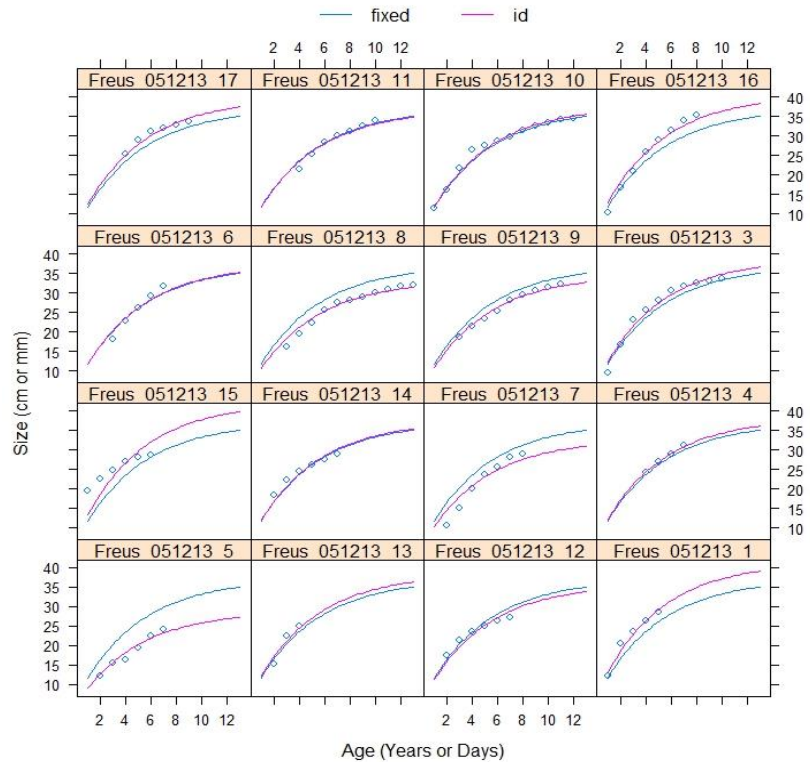


Tabella 11. Equazione di crescita di Von Bertalanffy di Freus.

t_0 = età a lunghezza 0;

k =velocità alla quale si raggiunge

L_{max} ;

L_{max} = dimensione asintotica

Figura 37. Equazione individuale di crescita di von Bertalanffy della popolazione di Freus.

t_0 e K sono fisse (L_{max} varia liberamente)

Fin dall'inizio i parametri di crescita delle tre popolazioni hanno mostrato delle differenze significative (Fig. 39). Le differenze osservate sono molto importanti e influiscono sia sulla velocità con la quale si raggiunge la dimensione asintotica della popolazione (K), sia sulla dimensione massima raggiunta (L_{max}). Le due popolazioni superficiali (5-10m), Freus e Gandulf, seguono un andamento simile fino a quando non raggiungono i 12cm di lunghezza, dopodiché la curva di crescita delle due popolazioni mostra una tendenza differente. La popolazione di Gandulf, una volta raggiunti i 35cm di lunghezza segue un andamento analogo a quello delle popolazioni delle Baleari. La popolazione di Freus è quella che raggiunge la dimensione asintotica massima di popolazione (L_{max}) ad una maggiore velocità ($K = 0,21$), seguita dalla popolazione di Gandulf ($K = 0,19$) e infine dalla popolazione delle Baleari ($K = 0,14$). Il valore di L_{max} raggiunto dalla popolazione di Freus è significativamente più basso ($L_{max} = 43,9$) rispetto alle altre due popolazione. Il valore più alto di L_{max} viene registrato nella popolazione delle Baleari ($L_{max} = 65,1$), seguito da quello della popolazione di Gandulf ($L_{max} = 62,4$). Infine, come si può notare nelle Tabelle 12,13 e 14, la stima dell'età ha messo in evidenza che gli esemplari più giovani sono quelli della popolazione di Freus

($m_a = 14$), mentre gli esemplari più longevi sembrano essere quelli della popolazione di Gandulf e delle Baleari, entrambe con un'età massima pari a 27.

Codice Identificativo	Lmax	Età
GAN_S1_100112	60.3	21
GAN_S1_240112	50.1	9
GAN_S1_150312	66.4	20
GAN_S2_100112	55.2	11
GAN_S3_251111	58.7	13
GAN_S3_240112	43.9	5
GAN_S4_240112	46.5	7
GAN_S4_150312	67.2	27
GAN_S4_100120	55.0	7
GAN_S5_251111	44.6	6
GAN_S6_251111	42.0	7
GAN_S7_150312	48.2	8
GAN_S7_170212	65.8	21
GAN_S8_150312	43.5	9
GAN_S8_240112	60.5	11
GAN_S10_240112	74.3	21

Tabella 12. Lmax-Età della popolazione di Gandulf. Si evidenzia in blu l'esemplare più longevo.

Codice Identificativo	Lmax	Età
Freus_051213_1	35.5	6
Freus_051213_3	40.4	11
Freus_051213_4	37.9	8
Freus_051213_5	30.9	8
Freus_051213_6	38.7	8
Freus_051213_7	35.7	9
Freus_051213_8	38.7	14
Freus_051213_9	39.1	12
Freus_051213_10	41.5	14
Freus_051213_11	40.8	11
Freus_051213_12	34	8
Freus_051213_13	31.9	5
Freus_051213_14	35.6	8
Freus_051213_15	35.6	7
Freus_051213_16	42.1	9
Freus_051213_17	40.5	10

Tabella 13. Lmax-Età della popolazione di Freus. Si evidenzia in blu l'esemplare più longevo.

Codice identificativo	Lmax	Età
Aire_20ml	47.4	12
Aire_20mlI	41.0	13
Alcaufar_20m	54.9	17
ConejeraP230071_20m	47.3	11
ConejeraP330071_20m	49.4	15
Esponja2D_p_1_20m	62.1	25
Esponja318108I_20m	38.9	4
Esponja4I_p_1_20m	39.7	4
Ibiza_20m	57.6	16
Rafalet_20m	55.0	22
RojaP127711D_p_20m	66.3	18
RojaP227711D_p_20m	65.3	16
SantamariaP122711D_20m	39.1	5
Tuent_20ml	66.1	26
Tuent_20mlI	63	27
b163_20m	33.9	4
b345_20m	77.7	25
b352_30m	61.1	17
b363_20m	56.6	10
b366_20m	63.2	19

Tabella 14. Lmax-Età della popolazione delle Baleari. Si evidenzia in blu l'esemplare più longevo.

Questi comportamenti indicano che gli esemplari crescono fino a raggiungere la stessa dimensione durante i primi cinque anni di vita; successivamente gli esemplari della popolazione di Freus (5-10m, esposta) sono soggetti ad un brusco rallentamento. Le differenze tra le curve di crescita sono significative con un p-value $\ll 0,001$, per tanto si può affermare che esistono differenze importanti nel tasso di crescita degli individui appartenenti alle tre distinte popolazioni. La limitazione di taglia massima nella zona superficiale ha come conseguenza la presenza di individui “nani” rispetto agli individui localizzati nella costa più profonda a partire da una certa età.

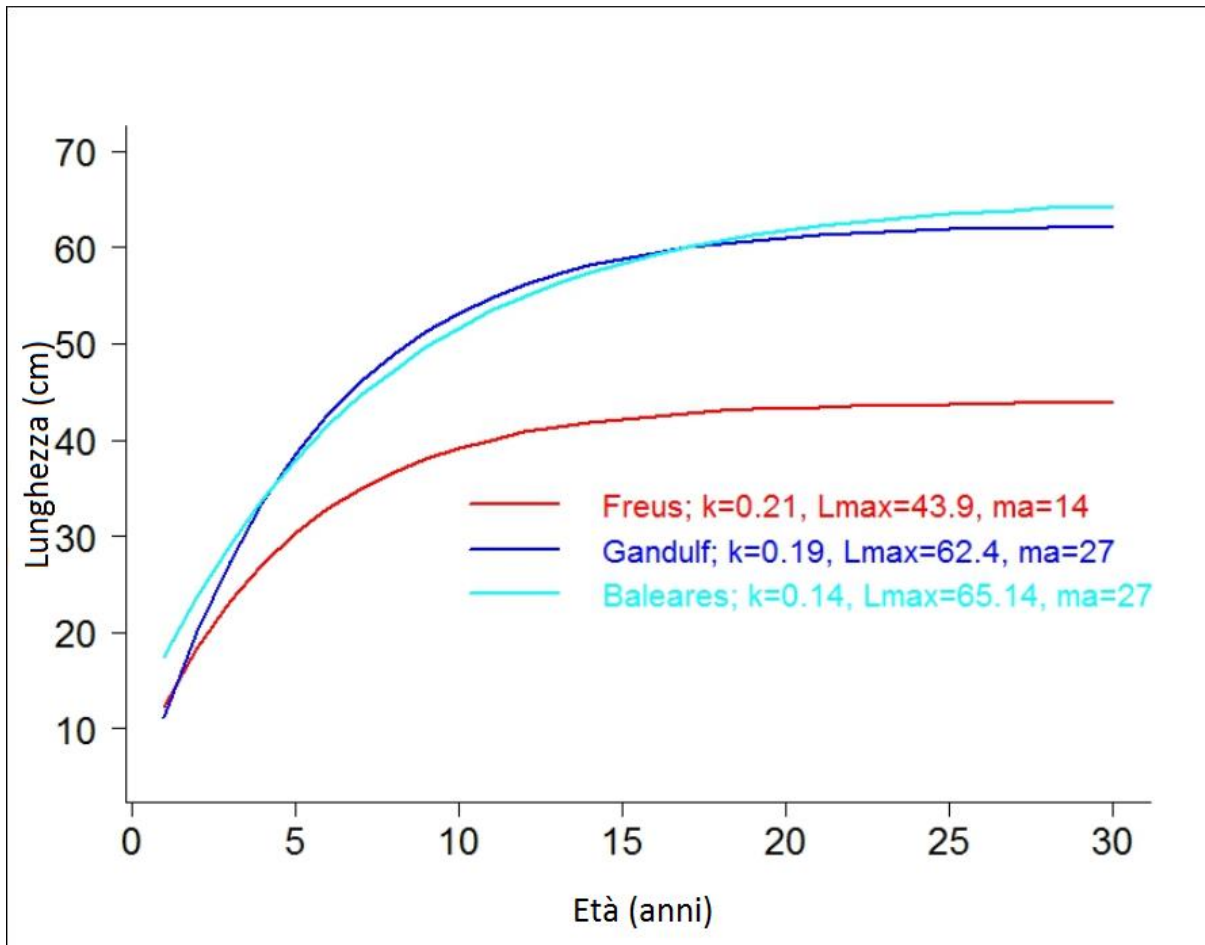


Figura 39. Equazione di crescita von Bertalanffy delle tre popolazioni (**K**: velocità di crescita, **ma**: età massima osservata in ogni popolazione, **L_{max}**: dimensione asintotica massima).

5. Discussioni

I risultati ottenuti mostrano differenze importanti tra le 3 popolazioni di *Pinna nobilis* studiate, nello specifico in relazione alla velocità di crescita, rispetto alla taglia massima e alla differente età degli individui. È stato riscontrato che ad ogni popolazione, a seconda della profondità, corrisponde un'equazione di crescita specifica valida per calcolare il tasso di crescita soltanto di quella particolare popolazione, questo ne determina un'eterogeneità evidente tra di esse.

Le strutture delle due popolazioni di *P. nobilis* studiate, quella nel Parco Nazionale di Cabrera e nell'arcipelago delle isole Baleari, seguono gli stessi trend osservati in altre popolazioni di *P. nobilis* di altre aree. Questi trend sono: la segregazione della taglia in base alla profondità, il numero di individui e l'orientamento delle valve (Zavodnik, 1967; Vicente *et al.*, 1980; Moreteau & Vicente, 1982; Combelles *et al.*, 1986; Vicente, 1990; Vicente & Moreteau, 1991; Tlig-Zouari, 1993; De Gaulejac, 1993; Templado, 2001; Siletik & Peharda, 2003; García-March, 2003 2005; García-March *et al.*, 2006; Katsanevakis, 2006). Oltre a queste caratteristiche, come è stato riscontrato da differenti studi, il tasso di crescita delle popolazioni di *P. nobilis* può essere influenzato da differenze oceanografiche tra i siti, correlate agli effetti delle forze idrodinamiche (Garcia-March *et al.*; 2006). Butler *et al.*, nel 1993, hanno inoltre indicato che *P. nobilis* è assente in aree soggette a severi disturbi, anche se, come riscontrato da Hipeau-Jacquotte, (1972), l'azione delle onde fornisce una buona parte della fonte alimentare della popolazione, infatti, la quantità di particolato ingerito, dipende dalla materia organica contenuta e trasportata dalle correnti d'acqua (Shimeta e Jumars, 1991). Un altro fattore che può influenzare il tasso di crescita, come è stato evidenziato dalla ricerca di Hendriks *et al.*, (2012), è la temperatura la quale cambia sostanzialmente in base alla profondità. Garcia-March *et al.*, nel 2006, hanno dimostrato che la lunghezza massima raggiunta da esemplari di acque poco profonde, all'interno della popolazione di Moraira (Spagna, Mediterraneo occidentale), è significativamente minore rispetto alla lunghezza massima raggiunta dagli individui che vivono in zone profonde. Ciò suggerisce che la dimensione degli individui è determinata dalle forze idrodinamiche che interagiscono con *P. nobilis*, così come dalla sua profondità di insediamento. Anche se la presenza di individui giovani di piccole dimensioni sia in zone superficiali sia a livelli più profondi è una prova che le larve si stabiliscono a diversi range di profondità, come era già stato sostenuto da Cambelles *et al.* nel 1986, i quali, dopo aver studiato popolazioni di *P. nobilis* a Port-Cross in Francia, avevano riscontrato la presenza di individui giovanili anche a livelli più profondi di 5-10m. Questo dimostra che il comportamento larvale influenza la struttura di popolazione di *P. nobilis*. Inoltre, è stato rilevato un certo grado di movimento seguente all'insediamento di quella

popolazione prima della metamorfosi, infatti, il passaggio da larva ad individuo giovanile non rende più possibile il movimento. (Shanks and Brinks, 2005).

Gli esemplari di grandi dimensioni sono maggiormente influenzati dallo stress idrodinamico, inteso come velocità ed energia delle correnti, rispetto agli individui più piccoli (Foulquié and Dupuy, 2003). La forza di dislocazione, intesa come forza idrodinamica necessaria per eradicare gli individui dal substrato, è proporzionale alla dimensione degli individui (Garcia-March, 2003; Garcia-March *et al.*; 2007b). Ulteriormente, un continuo stress idrodinamico in luoghi poco profondi aumenta la probabilità di morte per affaticamento prima del raggiungimento della taglia critica di dislocazione (Garcia-March *et al.*; 2007a). È stato rilevato che il tasso di mortalità di grandi individui in zone superficiali è maggiore rispetto a quello di individui di popolazioni profonde (Garcia-March *et al.*; 2006). Come suggeriscono Combelles *et al.* nel 1986, esistono diversi fattori, sia di origine antropica sia naturale, che compromettono la sopravvivenza di individui di grandi dimensione in zone superficiali. Il trade off tra la velocità delle onde, la taglia e l'orientamento della conchiglia è sicuramente la prima causa. In aggiunta a questo, la profondità di insediamento, oltre a determinare la dimensione media degli individui, determina la struttura di popolazione di *Pinna nobilis*. Ciò dimostra come lo stress idrodinamico, diminuendo con l'aumento di profondità, limita indirettamente la taglia e la struttura di popolazione, riducendo, in questo modo, la pressione selettiva (o mortalità) sulla popolazione. Anche le onde alte, però, prodotte durante le forti mareggiate, riescono a regolare la struttura di popolazione di *P. nobilis*, in quanto eradicano gli individui di grandi dimensioni presenti nelle zone profonde. Questi eventi estremi, che secondo lo studio di Durante *et al.* del 1999 si verificano ogni 22 anni, producono un declino della popolazione, causando la morte di molti esemplari prima che questi abbiano raggiunto il loro massimo potenziale riproduttivo. Riassumendo, quindi, possiamo affermare che la dimensione media degli individui all'interno di una popolazione di *Pinna nobilis* aumenta gradualmente all'aumentare della profondità, in seguito ad una riduzione dello stress idrodinamico.

Nella popolazione di Freus da me analizzata, è stata infatti riscontrata l'assenza di individui di grandi dimensioni a livelli più superficiali. Partendo da questa caratteristica si è dunque ipotizzata l'esistenza di variazioni nei parametri di crescita secondo un gradiente di profondità che si è cercato di analizzare durante questa ricerca.

In aggiunta alla profondità, però, sono anche le condizioni locali ad influenzare intensamente le caratteristiche delle popolazioni ad una stessa profondità (5-10m e 20m), al punto da annullare le differenze ipotizzate dalle varie teorie riguardo i modelli di crescita in relazione alla profondità. Infatti, la popolazione superficiale di Gandulf (5-10 m) messa in comparazione alle altre popolazioni studiate, mostra delle differenze maggiori con la popolazione superficiale di Freus (5-10 m)) rispetto

alle differenze riscontrate con la popolazione delle Baleari che ha profondità nettamente superiori (20m).

La popolazione di Gandulf, anche se può essere considerata una popolazione superficiale è più simile alla popolazione delle Baleari in riferimento alla taglia e all'età degli individui (fig.39).

Data la forza idrodinamica è stato riscontrato che la velocità con la quale si raggiunge la dimensione asintotica massima (K) sia minore nella popolazione di Gandulf, che si trova nella fascia superficiale protetta (5-10 m) e nella popolazione delle Baleari (rispettivamente $K=0,19$ e $K=0,14$), che invece si trova ad una profondità di 20m, rispetto alla popolazione di Freus ($K=0,21$), anch'essa popolazione della zona superficiale(5/10m). Analizzando la dimensione asintotica massima (L_{max}) si nota come questa sia maggiore nella popolazione delle Baleari (20m) e in quella di Gandulf (5-10m). La popolazione di Freus è caratterizzata invece da individui di dimensioni ridotte ($L_{max} \approx 44$ cm) e giovani di età ($ma= 14$). L'equazione di crescita di Von Bertalanffy ha mostrato una rapida crescita nei primi anni di vita, infatti gli organismi che vivono in zone superficiali cercano di raggiungere la taglia massima in poco tempo possibile, successivamente subiscono un brusco rallentamento, limitando la loro taglia massima a 43,9cm (nel caso di Freus). In accordo con questi risultati, Richardson *et al.*; (1999) osservarono notevoli differenze nel tasso di crescita e nella taglia massima in quattro popolazioni di *P. nobilis* ad Almeria (Sud-Est Spagna, Mediterraneo ovest). Nonostante non si tenessero in considerazione gli aspetti relativi alla profondità, i dati hanno mostrato come le popolazioni che abitano la zona superficiale (profondità < 5m) abbiano piccole dimensioni ($L_{max}=45,7$ cm) raggiunte però ad un'alta velocità ($K=0,28$). Garcia-March *et al.* nel 2011, studiando la popolazione di Moraira, hanno dimostrato come un esemplare di *P. nobilis* che vive nel range di profondità di 5-10 m, a dieci anni di età può arrivare a misurare poco più di 35 cm, mentre la dimensione di un esemplare della stessa età, che vive però in una zona profonda (10-15m), è sensibilmente maggiore, arrivando a superare i 45 cm di lunghezza. Queste differenze si devono fondamentalmente a fattori locali, principalmente al minor stress idrodinamico della popolazione profonda (range 20-30m); ciò permette agli esemplari di raggiungere dimensioni maggiori e di vivere più anni. Nelle popolazioni superficiali gli individui sono sottoposti ha un maggior stress idrodinamico, è proprio questo specifico fattore a limitare la loro capacità di crescita.

La popolazione di Gandulf, nonostante sia collocata in una zona superficiale (profondità 5-10m), ha un tasso di crescita di popolazione molto simile a quello della popolazione delle Baleari (20 m), caratterizzato da individui di grandi dimensione e longevi. Questa anomalia nella crescita della popolazione di Gandulf può essere spiegata in relazione alla sua collocazione, essendo infatti, sì in una zona superficiale, ma, a differenza di Freus, sita in una zona protetta. È stato rilevato, quindi, come il fattore locale influenza il tasso di crescita. Sia Freus che Gandulf, come precedentemente

detto, sono due popolazioni site nel Parco Nazionale di Cabrera nello stesso range di profondità. La differenza riscontrata è che la popolazione di Freus si trova in un sito esposto, mentre la popolazione di Gandulf è collocata in una cala protetta. Questo è il motivo per cui, quest'ultima, si comporta come una popolazione di una zona profonda, in quanto è maggiormente riparata dallo stress idrodinamico. Gli individui che la caratterizzano raggiungono grandi dimensioni ($L_{max}=62,4\text{cm}$) e sono i più longevi, insieme agli individui della popolazione profonda delle Baleari (fino a 27 anni di età). Inoltre il Parco nazionale di Cabrera è un'area naturale protetta dal 1991, suddivisa in diverse zone con diversi livelli di protezione. L'AMP comprende diversi tipi di habitat: substrati rigidi, substrati molli, come i sedimenti costieri detritici, sabbiosi e fangosi, ma soprattutto vaste praterie di posidonia, situate sia in acque costiere poco profonde che in zone più profonde (Nebot-Colomer *et al*; 2016). Tutte queste caratteristiche hanno dimostrato avere un'influenza positiva sugli individui della popolazione Gandulf, con particolare importanza attribuita al grado di tutela che viene esercitato sulle praterie di *Posidonia oceanica*. Difatti, la protezione delle praterie fa sì che gli individui trovino facilmente un habitat idoneo per insediarsi e crescere, ricevendo anche una grande protezione dallo stress idrodinamico. Il motivo di questo risiede nel fatto che le foglie di *P. oceanica* modulano la forza delle onde e l'impatto che queste hanno sugli individui di grandi dimensioni. Tuttavia, con i dati in nostro possesso, non siamo in grado di affermare se la longevità degli esemplari della popolazione di Gandulf sia dovuta direttamente alla protezione naturale contro l'idrodinamismo (essendo una cala riparata) o all'effetto-riserva che aumenta la sopravvivenza degli individui. Ma possiamo ragionevolmente dichiarare che la combinazione di questi due fattori è determinante. Se questa teoria fosse vera, analizzando l'area in studi futuri, dovremmo poter trovare organismi sempre più longevi, a dimostrazione del fatto che l'idrodinamismo influenza solamente la dimensione massima raggiunta dagli individui e non l'età.

Per concludere, possiamo affermare di aver osservato importanti differenze nei parametri di crescita tra le popolazioni:

- 1) I parametri di crescita con maggiore variabilità sono la lunghezza massima (L_{max}) e l'età massima (ma).

-Lunghezza massima (L_{max}): strettamente legata all'idrodinamismo, è un fattore importante in quanto modula la crescita di *Pinna nobilis* e la sua sopravvivenza. Popolazioni esposte raggiungono una dimensione ridotta rispetto alle popolazioni di siti protetti (come cale protette o zone profonde). Nel nostro caso, la popolazione di Freus, che vive in una zona esposta, viene influenzata negativamente dallo stress idrodinamico. Questa popolazione è caratterizzata da individui "nani", che hanno una lunghezza media di 43.9 cm, e un'età non superiore ai 14 anni.

- **Età massima (ma):** strettamente legata all'effetto-riserva. Le popolazioni di aree marine protette sono più longeve (Martinez *et al.*; 2014). Gli esemplari della popolazione di Gandulf, grazie al grado di protezione del sito in cui vivono, raggiungono circa 27 anni di età.

- 2) L'esposizione alle onde è un fattore che influisce notevolmente sul tasso di crescita della popolazione rispetto alla distribuzione latitudinale. Questo è il motivo per il quale le popolazioni vicine come Freus e Gandulf (entrambe popolazioni superficiali) hanno parametri di crescita molto diversi. La popolazione di Gandulf si comporta invece come la popolazione profonda delle Baleari, ove gli individui crescono più lentamente e raggiungano grandi dimensioni.

Questi risultati indicano che *Pinna nobilis* è una specie con grande variabilità nei parametri di crescita i quali, come abbiamo segnalato precedentemente, differiscono in relazione ai fattori locali. Questo ci permette di ipotizzare che la forma degli individui e i parametri di crescita possono servire come indicatori delle caratteristiche dell'ambiente in cui vive. Queste informazioni sono usate generalmente in sclerocronologia, nello studio delle variazioni chimico-fisiche dei registri di crescita delle strutture dure di invertebrati e alghe coralline, per interpretare le condizioni dell'ambiente nel passato così da poter realizzare ricostruzioni paleoclimatiche. Per questo motivo, per completare questo studio sarebbe molto interessante studiare le serie temporali isotopi stabili $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^{13}\text{C}$ nelle conchiglie di *P. nobilis* per ricostruire le proprietà di massa d'acqua del mediterraneo occidentale.

6. Bibliografia

Alomar C, Vazquez-Luis M, Magraner K, Lozano L, Deudero S, 2015. *Evaluating stable isotopic signals at bivalve *Pinna nobilis* under different human pressures*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 467, pp. 77–86.

Butler A, Vicente N, De Gaulejac B, 1993. *Ecology of de Pteroid bivalves *Pinna bicolor* Gmelin and *Pinna nobilis* Linneaus*. Life 3 (1–2), pp. 37–45.

Carter JG, 1980. *Environmental and biological controls of Bivalve shell mineralogy and microstructure*. In: Rhoads DC, Lutz RA (eds) Skeletal growth of aquatic organisms biological records of environmental change. New York, London, pp. 69-114.

Catsiki VA, Catsikieri CH, 1992. *Presence of chromium in *P. nobilis* collected from a polluted area*. Fresenius Environ Bull 1, pp. 644–649

Combelles S, Moreteau JC, Vicente N, 1986. *Contribution a la connaissance de l'ecologie de *Pinna nobilis* Linneaus (*Mollusque eulamelibranche*)*. Scientific Reports of Port-Cross National Park 12, pp. 29–43.

Davenport J, Ezgeta-Balic D, Peharda M, Skejic S, Nincevia-Gladan Z, Matijevic S, 2011. *Size differential feeding in *Pinna nobilis* Linneaus (Mollusca: Bivalvia): Exploitation of detritus, phytoplankton and zooplankton*. Estuarine Coastal and Shelf Science, 92 (2), pp. 246-254.

De Gaulejac B, 1993. *Etude ecophysiologique du mollusque bivalve méditerranéen *Pinna nobilis* Linneaus: Reproduction, croissance, respiration*. Thèse Doctorat, Université d'Aix-Marseille III, 220.

Denny MW, 1994. *Extreme drag forces and the survival of wind and water-swept organisms*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 194, pp. 97–115.

Denny MW, 1995. *Predicting physical disturbance: mechanistic approaches to the study of survivorship on wave swept shores*. Ecological Monographs 65 (4), pp. 371–418.

Denny MW, 1999. *Are there mechanical limits to size in wave-swept organisms?* Journal of Experimental Marine Biology and ecology 202, pp. 3463–3467.

Denny MW, 2000. *Limits to optimization: fluid dynamics, adhesive strength and the evolution of shape in limpet shells*. Journal of Experimental Biology and Ecology 203, pp. 2603–2622.

- Denny MW, Blanchette CA, 2000. *Hydrodynamics, shell shape, behaviour and survivorship in the owl limpet *Lottia gigantea**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 203, pp. 2623–2639.
- Denny MW, Hale BB, 2003. *Cyberkelp: an integrative approach to the modelling of flexible organisms*. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Biological sciences* 358, pp. 1535–1542.
- Denny MW, Gaylord BP, Cowen EA, 1997. *Flow and flexibility II The roles of size and shape in determining wave forces on the bull kelp *Nereocystis luetkeana**. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 200, pp. 3165–3183.
- Denny MW, Gaylord B, Helmuth B, Daniel T, 1998. *The menace of momentum: dynamic forces on flexible organisms*. *Limnology and Oceanography* 43, pp. 955–968.
- Duarte CM, Agustí S, Kennedy H, Vaqué D, 1999. *The Mediterranean climate as a template for Mediterranean marine ecosystems: the example of the northeast Spanish littoral*. *Progress Oceanography* 44, pp. 245–270.
- Fiorito G, Gherardi F, 1999. *Prey-handling behaviour of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) on bivalve preys*. *Behavioural Process* 46 (1), pp. 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*. *Mémoires de l'Institut Océanographique de Paul Ricard*, 9, pp. 49-55.
- Francillon-Vieillot H, de Buffénil V, Castanet J, Géraudie 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.
- Gaylord B, Denny MW, 1997. *Flow and flexibility I Effects of size, shape and stiffness in determining wave forces on the stipitate kelps *Eisenia arborea* and *Pterygophora californica**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 200, pp. 3141–3164.
- García-March JR, Ferrer JF, 1995. *Biometría de *Pinna nobilis* Linneus 1758: una revisión de la ecuación de De Gaulejac y Vicente (1990)*. *Bol Inst Esp Oceanogr* 11(2), pp. 175–181.

- García-March JR, García-Carrascosa AM, Peña A, 2002. *The problems of in situ measurement of Pinna nobilis Linnaeus, 1758 shell, for age and growth studies: a new device*. Marine Ecology PSZN 23(3), pp. 207–217.
- García-March JR, 2003. *Contribution to the knowledge of the status of Pinna nobilis (Linnaeus.) 1758 in Spanish coasts*. Mem Inst Oceanografic Paul Ricard 9, pp. 29–41.
- García-March JR, 2005. *Aportaciones al conocimiento de la Biología de Pinna nobilis Linnaeus, 1758 (Mollusca: Bivalvia), en el litoral mediterráneo Ibérico*. Publication Service of the University of Valencia, Valencia.
- García-March JR, Márquez-Aliaga A, 2007. *Pinna nobilis Linnaeus, 1758 age determination by internal shell register*. Marine Biology 151, pp. 1077–1085.
- García-March JR, Perez-Rojas L, Garcia-Carrascosa AM, 2007a. *Influence of hydrodynamic forces on population structure of Pinna nobilis Linnaeus, 1758 (Mollusca: Bivalvia): The critical combination of drag force, water depth, shell size and orientation*. Journal of Experimental Marine biology and Ecology 342, pp. 202-2012.
- García-March JR, Garcia-Carrascosa AM, Pena Cantero AL, Wang YG, 2007b. *Population structure, mortality and growth of Pinna nobilis Linnaeus, 1758 (mollusca, Bivalvia) at different depths in Moraira bay (Alicante, Western Mediterranean)*. Marine Biology 150, pp. 861-871.
- García-March JR, Marquez-Aliaga A, Carter JG, 2008. *The duplivincular ligament of recent Pinna nobilis L., 1758: further evidence for pterineid ancestry of the Pinnoidea*. Journal of Paleontology 82, pp. 621–627.
- García-March JR, Marquez-Aliaga A, Wang YG, Surge D, Kurt Kersting D, 2011. *Study of Pinna nobilis growth from inner record: How biased are posterior adductor muscle scars estimates?* Journal of Experimental Marine Biology Ecology 407, pp. 337-344
- García-March JR, Surge D, Lees J M, Kersting DK, 2011. *Ecological information and water mass properties in the Mediterranean recorded by stable isotope ratios Pinna nobilis shells*. Journal of Geophysical Research, vol 116.
- Giacobbe, S. 2002. *Epibiontic mollusc communities on Pinna nobilis Linnaeus, (Bivalvia, Mollusca)*. Journal of Natural History 36(12), pp. 1385-1396.

- Granata TC, Serra T, Colomer J, Casamitjana X, Duarte CM, Gacia E, 2001. *Flow and particle distributions in a near shore seagrass meadow before and after a storm*. Marine Ecology Progress Series 218, pp. 95–106.
- Helmuth B, Denny MW, 2003. *Predicting wave exposure in the rocky intertidal zone: Do bigger waves always lead to larger forces?* Limnology and Oceanography 48 (3), pp. 1338–1345.
- Hendriks IE, Cabanellas-Reboredo M, Bouma TJ, Deudero S, Duarte CM, 2011. *Seagrass meadows modify drag forces on the shell of the fan mussel *Pinna nobilis**. Estuaries and Coasts 34, pp. 60–67.
- Hipeau-Jacquotte R, 1972. *Etude des Crevettes Pontoniinae (Paleomonidae) Associees Aux Mollusques Pinnidae a Tulear (Madagascar)II*. Alimentation. Tethys 3, pp. 287–295.
- Katsanevakis S, 2007. *Growth and mortality rates of the fan mussel *Pinna nobilis* in Lake Vouliagmeni (Korinthiakos Gulf, Greece): a generalized additive modelling approach*. Marine Biology 152, pp. 1319–1331.
- Kawamata S, 2001. *Adaptive mechanical tolerance and dislodgement velocity of the kelp *Laminaria japonica* in wave-induced water motion*. Marine Ecology Progress Series 211, pp. 89–104.
- Kennedy H, Richardson CA, Duarte C M, Kennedy DP, 2001. *Oxygen and carbon stable isotopic profiles of the fan mussel, *Pinna nobilis*, and reconstruction of sea surface temperatures in the Mediterranean*. Marine Biology Berlin, 139(6), pp. 1115–1124.
- Marba N, Diaz-Almela E, Duarte CM, 2014. *Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) loss between 1842 and 2009*. Biology Conservation. 176, pp. 183–190.
- Margaleff R, (ed) 1998. *Ecologia*. Ediciones Omega S.A., Barcelona.
- Martínez MM, 2001. *Running in the surf: hydrodynamics of the shore crab *Grapsus tenuicrustatus**. Journal of Experimental of Biology and Ecology. 204, pp. 3097–3112.
- Martínez A, Sergio Trigos S, García-March JR, Tena Medialdea J, Deudero S, Vázquez-Luis M, Torres J, 2014. *Growth of the endangered bivalve *Pinna nobilis* in the western Mediterranean Sea*. IV International Symposium on Marine Science. 11-13 June 2014 Canary Islands.
- Massel SR, 1996. *Ocean Surface Waves: Their Physics and Prediction*. World Scientific, London.
- Massel SR, Done T J, 1993. *Effects of cyclone waves on massive coral assemblages on the Great Barrier Reef: meteorology, hydrodynamics and demography*. Coral Reefs 12, pp. 153–166.

- Moreteau JC, Vicente N, 1980. *Etude morphologique et croissance de Pinna nobilis Linneaus (Mollusque Eulamelibranche) dans le parc national sous-marin de Port-Cros (Var-France)*. Vie Marine 2, pp. 52–58.
- Moreteau J, Vicente N, 1982. *Evolution d'une population de Pinna nobilis Linneaus (Mollusca, Bivalvia)*. Malacologia 22, pp. 341–345.
- Murillo L, 1995. *Adiciones a la malacofauna del Mar menor (Murcia)*. I Noticiario del SEM 23, pp. 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*. Marine Biology 160, pp. 921–930.
- Nebot-Colomeri E, Vazquez-Luis M, Garcia-March JR, Deudero S, 2016. *Population Structure and Growth of the Threatened Pen Shell, Pinna rudis (Linnaeus, 1758) in a Western Mediterranean*. Mediterranean Marine Science.
- Prowse TAA, Pile AJ, 2005. *Phenotypic homogeneity of two intertidal snails a wave exposure gradient in South Australia*. Marine Biology Research 1 (3), pp. 176–185.
- Rabaoui L, Tlig Zouari S, Katsanevakis S, Ben Hassine O, 2007. *Comparison of absolute and relative growth patterns among five Pinna nobilis populations along the Tunisian coastline: an information theory approach*. Marine Biology. 152, pp.537–548.
- Rabaoui L, Tlig Zouari S, Katsanevakis S, Ben Hassine O, 2008. *Distribution and habitat of the fan mussel Pinna nobilis Linneaus, 1758 (Mollusca: Bivalvia) along the northern and eastern Tunisian coasts*. Cahiers de Biologie Marine Journal 49, pp. 67-78.
- Ramos MA, 1998. *Implementing the habitats directive for mollusc species in Spain*. Journal of Conchology Special Publ. 2, pp. 125–132.
- Richardson CA, Kennedy H, Duarte CM, Kennedy DP, Proud SV, 1999. *Age and growth of the fan mussel Pinna nobilis from south-east Spanish Mediterranean seagrass (Posidonia oceanica) meadows*. Marine Biology 133, pp. 205–212.
- Richardson CA, Peharda M, Kennedy H, Kennedy P, Onofri V, 2004. *Age, growth rate and season of recruitment of Pinna nobilis (Linneaus) in the Croatian Adriatic determined from Mg:Ca and Sr:Ca shell profiles*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 299 (1), pp. 1–16.

- Seed R, 1980. *Shell growth and form in the Bivalvia In: Rhoads, DC, Lutz, RA (Eds), Skeletal Growth of Aquatic Organisms*. Biological Records of Environmental Change. Pp. 23–67.
- Shanks AL, Brink L, 2005. *Upwelling, downwelling, and crossshelf transport of bivalve larvae: test of a hypothesis*. Marine Ecology Progress Series 302, pp. 1–12
- Shimeta J, Jumars PA, 1991. *Physical mechanisms and rates of particle capture by suspension feeders*. Oceanography and Marine Biology an Annual Review 29, pp.191–275.
- Siletik T, Peharda M, 2003. *Population study of the fan shell Pinna nobilis Linnaeus in Malo and Veliko Jazero of the Mljet National Park (Adriatic Sea)*. Scientia Marina, 67, pp. 91-98.
- Templado J, 2001. *Pinna nobilis Linnaeus, 1758*. En: Ramos M A, Bragado D, 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, 2004. *Pinna nobilis*. In: Templado, J., Calvo M. (Eds.), Guía de invertebrados y peces marinos protegidos por la legislación nacional e internacional. Ministerio de Medio Ambiente. Organismo Autónomo de Parques Nacionales, Madrid, pp. 86–89.
- Terrados J, Duarte CM, 2000. *Experimental evidence of reduced particle resuspension within a seagrass (Posidonia oceanica L.) meadow*. Journal of Experimental Marine biology and Ecology 243, pp. 45–53.
- Tlig-Zouari S, 1993. *Contribution à l'étude écobioologique de deux espèces de mollusques lamellibranches Pinctada radiata (Leach, 1814) et Pinna nobilis, Linné 1758 des îles Kerkennah*. Thèse en Sciences: Eco-biologie marine: Université de Tunis: Faculté des Sciences de Tunis: pp. 215.
- Torres J, Giner ML, Esteban JL, Capaccioni R, Garcia-Carrascosa AM, 1990. *Distribution and preliminary evaluation of the state of the Posidonia oceanica meadows on the coasts of Alicante*. Rapp. Com. Int. Expl. Sci. Mer Mediterr, pp. 32-9.
- Torres J, García-Carrascosa AM, Benedito V, Esteban JL, Giner LM, Capaccioni R, 1990. *Posidonia oceanica barrier-reefs at Spain eastern coasts. Preliminary data*. Rapport Commission International pour Exploration Scientifique de la méditerranée. Mer Mediterr 32 (1), pp. 9.

- Trigos-Santos S, García-March JR, Vicente N, Torres-Gavilá J, Tena-Medialdea J, 2014. *Phytoplankton Profitability and Use as Organic Matter Source by Pinna nobilis*. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación 7, pp. 77-82.
- Trigos S, Garcia-March JR, Vicente N, Tena J, Torres J, 2014. *Utilization of muddy detritus as organic matter source by the fan mussel Pinna nobilis*. Mediterranean Marine Science, 15(3), pp. 667-674.
- Utter B D, Denny MW, 1996. *Wave-induced forces on the giant kelp Macrocystis pyrifera (Agardh): field test of a computational model*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 199, pp. 2645–2654.
- Vicente N, 1990. *Estudio ecológico y protección del molusco lamelibranquio Pinna nobilis Linneaus 1758 en la costa mediterránea*. Iberus, 9, pp. 269-279.
- Vicente N, Moreteau JC, 1991. *Statut de Pinna nobilis (Linneaus) en Mediterranee (mollusque eulamellibranche)*. In: Boudouresque, C.F., Avon M., Gravez V. (Eds.), Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée. Gis Posidonie publ, Marseille, pp. 159–168.
- Vicente N, Moreteau J, Escoubet P, 1980. *Etude de l'évolution d'une population de Pinna nobilis Linneaus (mollusque eulamellibranche) au large de l'anse de la Palud (Parc National sous-marin de Port-Cros)*. Trav. Scient. Parc Natn. Port-Cros 6, pp.39–68.
- Von Bertalanffy L, 1938. *A quantitative theory of organic growth: inquiries on growth laws II*. Human Biology 10, pp.181–213.
- Yonge CM., 1953. *Form and habit in Pinna carnea Gmelin*. Phil. Trans. Royal Society London Series Biology 237, pp. 335–374.
- Zavodnik D, 1967. *Contribution to the ecology of Pinna nobilis Linneaus (moll. bivalvia) in the Northern Adriatic sea*. Thalass. Jugosl. 3, pp.93–102.
- Zavodnik D, Hrs-Brenko M, Legac M, 1991. *Synopsis on the fan shell Pinna nobilis (Linneaus) in the eastern Adriatic Sea*. In: C. F. Boudourescque, M. Avon & V. Gravez, editors. Les especes marines a proteger en Mediterranee. Marseille: GIS Posidonie, pp. 169–178.