

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

UNIVERSITA' DI BOLOGNA

SCUOLA DI SCIENZE

Corso di Laurea Magistrale in Biologia Marina

Biologia riproduttiva di *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in due zone della Sardegna

Tesi di laurea in “**Disegni Sperimentali e Analisi Dati**”

Relatore: Prof.ssa Marina Antonia Colangelo

Presentata da: Maria Letizia Vitelletti

Correlatori: Dott.ssa Barbara Loi

Dott. Simone Farina

Fondazione IMC – Centro Marino Internazionale, Torregrande (OR)

II Sessione

Anno Accademico 2012/2013

*A Bianca Maria,
nella speranza che possa essere sempre il mio punto di riferimento*

Indice

1. Introduzione

- 1.1: Obiettivi della tesi pag. 1
- 1.2: Classificazione di *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) pag. 2
- 1.3: Anatomia di *P. lividus* pag. 3
- 1.4: Descrizione della gonade di *P. lividus* pag. 4
- 1.5: Ciclo riproduttivo pag. 6
- 1.6: L'indice gonadosomatico e l'analisi istologica come strumenti per descrivere il ciclo riproduttivo pag. 7
 - 1.6.1: Istologia degli ovari (gonadi femminili) pag. 9
 - 1.6.2: Istologia dei testicoli (gonadi maschili) pag. 12
- 1.7: Ecologia pag. 14

2. Materiali e Metodi

- 2.1: I siti studiati pag. 19
 - 2.1.1: AMP di Tavolara – Punta Coda Cavallo pag. 19
 - 2.1.2: Su Pallosu pag. 21
- 2.2: Disegno sperimentale pag. 21
- 2.3: Attività di campo pag. 22
- 2.4: Attività di laboratorio pag. 23
- 2.5: Analisi istologiche pag. 26
- 2.6: Caratterizzazione dei venti nelle località di studio pag. 28
- 2.7: Caratterizzazione della copertura algale dei siti di campionamento pag. 29
- 2.8: Analisi statistica pag. 31

3. Risultati

- 3.1: Analisi dell'andamento dell'IGS a livello regionale pag. 33
- 3.2: Analisi istologiche e riconoscimento degli stadi di maturità pag. 37
- 3.3: Frequenza, intensità e direzione dei venti e andamento della temperatura nelle due località di campionamento pag. 44
- 3.4: Andamento dell'IGS relazionato alla copertura macroalgale bentonica dei siti di prelievo pag. 47
- 3.5: Andamento dell'IGS su roccia e in praterie di *P. oceanica* pag. 49

4. Discussione

pag. 55

5. Conclusioni

pag. 59

6. Bibliografia

pag. 61

7. Appendici

- Appendice 1
- Appendice 2
- Appendice 3

1. Introduzione.

1.1 - Obiettivi della tesi

Paracentrotus lividus (Lamarck, 1816), comunemente conosciuto come “riccio viola”, è un invertebrato facente parte del phylum Echinodermata (fig. 1). Questo organismo si distribuisce lungo le coste di tutto il Mar Mediterraneo e per un’ampia parte delle coste atlantiche, che va dalla Scozia fino alle Isole Canarie, passando per le coste marocchine (Tortonese, 1965; Mortensen, 1943; Allain, 1975; Kitching e Thain, 1983; Bacallado *et al.*, 1985; Le Gall *et al.*, 1990; Fernandez e Caltagirone, 1994; Fernandez, 1996).



Fig.1: Fotografia di Paracentrotus lividus (fonte: internet)

Dal punto di vista ecologico *P. lividus* è considerato una specie chiave (key-stone species) in quanto, essendo un erbivoro estremamente attivo, mantiene un controllo diretto sulla comunità di macrofite e indiretto su altri organismi che le popolano (*top-down control*) (Guidetti, 2001; Gianguzza *et al.*, 2006).

In molteplici Paesi, tra cui Italia, Francia e Spagna, il riccio è molto apprezzato anche come alimento. Grazie al crescente valore commerciale delle gonadi, il suo apparato riproduttore, questo invertebrato è diventato una risorsa economica in molte regioni del Mar Mediterraneo (Byrne, 1990; Lozano *et al.*, 1995; Shpigel *et al.*, 2004; Jacquin *et al.*, 2006; Visconti *et al.*, 2008; Soualili e Monique, 2009; Garmendia *et al.*, 2010; Tomšić *et al.*, 2010; Gianguzza *et al.*, 2012; Tenuzzo *et al.*, 2012).

Un esempio tipico è la Sardegna, regione in cui il riccio di mare viene tradizionalmente consumato da generazioni. Nonostante il tentativo delle amministrazioni locali di regolarizzarne la pesca su base stagionale (Decreto n. 1525/DecA/102 del 25 ottobre 2012),

la popolazione di *P. lividus* oggi giorno sta soffrendo un graduale e preoccupante impoverimento.

Per questo motivo, recentemente *P. lividus* è stato inserito in numerosi programmi di ricerca con il fine di migliorarne la conservazione e la gestione. Tra i numerosi obiettivi si considera auspicabile approfondire le conoscenze sul ciclo riproduttivo, informazioni utili per esempio per una produzione larvale in cattività o per regolare in forma più dettagliata i periodi di prelievo tra i diversi settori dell'isola.

Grazie agli studi realizzati finora, si è dimostrato che lo sviluppo gonadico e il momento di deposizione dei gameti (*spawning*) dipendano da variabili ambientali quali il fotoperiodo, la temperatura, l'idrodinamismo e la tipologia di pascolo (Starr *et al.*, 1993; Byrne *et al.*, 1998; Guillou e Lumingas, 1999).

Questo studio si propone di descrivere parte del ciclo riproduttivo di *P. lividus* durante i mesi estivi in due aree distinte della Sardegna (Su Pallosu, nella Penisola del Sinis Sardegna centro - Occidentale, e nell'Area Marina Protetta di Tavolara – Punta Coda Cavallo, Sardegna Nord-Orientale). Nello specifico la ricerca è volta a trovare possibili correlazioni tra lo sviluppo gonadico con l'esposizione al moto ondoso e la copertura macroalgale dei due siti di campionamento. Si osservano inoltre possibili relazioni con l'habitat di appartenenza del riccio prelevato (roccia o prateria di *Posidonia oceanica*).

Lo sviluppo gonadico è stato studiato mediante i processi di: calcolo e analisi dell'indice gonadosomatico degli organismi prelevati, analisi istologica ed osservazione al microscopio dei vetrini preparati presso la Fondazione IMC – Torregrande, Oristano

1.2 - Classificazione di *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816)

- Regno: Animalia
 - Phylum: Echinodermata
 - Subphylum: Echinozoa
 - Classe: Echinoidea
 - Famiglia: Parechinidae
 - Genere: *Paracentrotus*
 - Specie: *Paracentrotus lividus*

Gli Echinodermi sono invertebrati marini bentonici con una spiccata simmetria pentamera nella fase adulta opposta ad una simmetria bilaterale in fase larvale; una delle loro caratteristiche peculiari è la presenza di un dermascheletro, al di sotto del derma superficiale, composto da piastre calcaree spesso caratterizzate da tubercoli o aculei. Tali piastre, costituite da carbonato di calcio e magnesio, sono piccole e distanziate o non completamente saldate tra di loro: assicurano, in questo modo, all'organismo un certo grado

di flessibilità (come nelle oloturie o nelle stelle); se, invece, esse risultano saldate si è in presenza di un dermascheletro rigido come quello mostrato ad esempio dai ricci di mare.

La locomozione degli Echinodermi avviene grazie alla presenza del sistema acquifero, e ha luogo tramite la variazione del turgore nei pedicelli usando l'acqua prelevata dall'ambiente. Oltre alla locomozione, il sistema acquifero permette lo svolgimento di funzioni respiratorie, che avvengono sempre nei pedicelli, ed escretorie.

All'interno della Classe Echinoidea, che comprende tutte le specie di riccio di mare, troviamo organismi regolari (bocca centrale sul lato ventrale, ano sulla parte dorsale e simmetria pentaradiale) ed irregolari (con bocca situata frontalmente, ano situato nella direzione opposta e simmetria bilaterale), che vivono rispettivamente su substrati rocciosi e sabbioso-fangosi.

1.3 - Anatomia di *P. lividus*

P. lividus appartiene alla sottoclasse *Regularia*. Questa specie è caratterizzata da una forma globosa, dai colori vivaci che vanno dal verde al marrone, viola e nero.

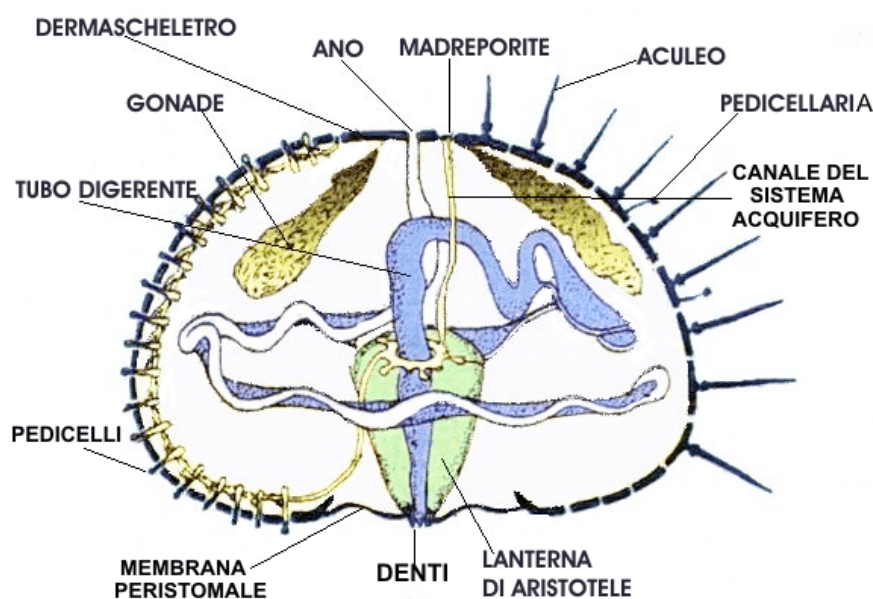


Fig.2: Anatomia di *P. lividus* (fonte: internet)

L'emisfero orale (fig. 2), rivolto verso il fondo, ha in posizione centrale la bocca circondata dalla membrana peristomiale che, oltre ad essere corredata da 5 paia di pedicelli boccali e 5 paia di branchie, sostiene un apparato raschiatore denominato "lanterna di Aristotele", formato da 5 piastre calcaree dette piramidi disposte radialmente e terminanti con dei denti appuntiti che sporgono dall'estremità orale. La lanterna di Aristotele può essere protrusa o retratta per mezzo di fibre muscolari. Al di sotto della lanterna, si estende un lungo canale

alimentare dall'andamento sinuoso, costituito da faringe, esofago, stomaco e intestino, che termina con il retto nella zona aborale.

Nell'emisfero aborale si trova l'ano o periprocto, circondato da 5 grosse piastre genitali, una delle quali è porosa ed è detta madreporite, forata ed attraverso la quale entra l'acqua destinata a riempire i canali del sistema acquifero. L'acqua, passando per il canale petroso, arriva al canale anulare e da qui viene indirizzata ai canali radiali che attraversano le regioni ambulacrali. A questi sono collegate ampolle (internamente) e pedicelli (esternamente), di forma tubolare e terminanti con delle ventose, che si trovano nella zona ambulacrale e consentono il movimento del riccio al variare del loro turgore. La locomozione è garantita anche dalle spine mobili, disposte più o meno simmetricamente nelle regioni ambulacrali e interambulacrali. Le spine sono una caratteristica peculiare dei ricci di mare e la loro forma è specie specifica. Sono composte da calcite e sostanza organica e sono articolate al corpo tramite il tubercolo della piastra calcarea e fibre muscolari. La loro rigenerazione avviene in tempi abbastanza rapidi: se una spina viene persa, un'altra viene rigenerata nello stesso punto anche se più piccola e sottile. Anche le spaccature del dermascheletro possono essere riparate con la formazione di una membrana di celomociti e cellule dermiche, successivamente si rideposita materiale calcareo per ripristinare lo scheletro calcareo.

1.4 - Descrizione della gonade di *P. lividus*

In *P. lividus* l'apparato riproduttore si trova nell'emisfero aborale, esso si compone di 5 gonadi sospese nelle regioni interambulacrali, ognuna è ricoperta da un epitelio peritoneale flagellato la cui parete è composta di collagene e tessuto muscolare liscio.

Le gonadi sono interconnesse da canali genitali celomatici ed ematici e per ognuna si diparte, dal tessuto connettivo aborale, un gonodotto che emerge all'esterno dell'organismo attraverso un gonoporo situato in una piastra genitale vicino all'ano, e dal quale, durante lo *spawning*, vengono emessi i gameti che verranno fecondati esternamente.

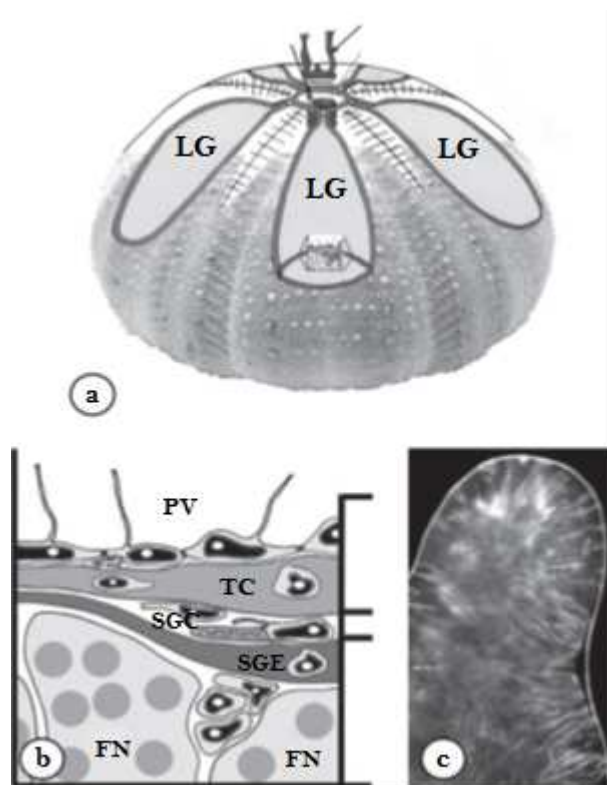


Fig. 3: (a) Rappresentazione del sistema riproduttivo di *P. lividus* (vista aborale); (b) rappresentazione del tessuto della parete gonadale; (c) lobo di una gonade di riccio di mare che mostra la muscolatura (strisce bianche) che si affaccia sul seno genitale emale. Legenda: LG – lume della gonade; PV – peritoneo viscerale; TC – tessuto connettivo; SGC – seno genitale celomatico; SGE – seno genitale emale; FN – fagociti nutritivi (Walker et al, 2007)

Secondo la descrizione di Walker *et al.* (2007) (fig. 3) la gonade presenta due sacche multistrato, una esterna e una interna, separate dal seno genitale celomatico: la prima include il peritoneo viscerale, che si affaccia sul celoma periviscerale e si collega allo strato di tessuto connettivo, la seconda è detta seno emale genitale, ricca di cellule ciliate mioepiteliali sul lato esterno che si contraggono ritmicamente durante il rilascio dei gameti (Okada *et al.*, 1984; Okada e Iwata, 1985), e composta in parte da tessuto epiteliale germinativo che si occupa principalmente della gametogenesi e dell'accumulo di sostanze nutritive.

Ciascuna gonade è costituita da centinaia di acini disposti a grappolo. In ogni acino sono presenti due tipologie di cellule (Chatlynne, 1969): le cellule germinative (oogoni, oociti, uova nell'ovario e spermatogoni, spermatociti, spermatidi, spermatozoi nel testicolo), e le cellule somatiche (altresì chiamate fagociti nutritivi), le cui funzioni consistono nell'immagazzinare sostanze nutritive (proteine, lipidi e carboidrati) da rendere disponibili alle cellule germinative al momento della gametogenesi (Walker, 2007), ma anche nel fagocitare uova e spermatozoi relitti alla fine del ciclo riproduttivo (Walker, 2005). La proporzione tra le due tipologie cellulari varia

in base allo stadio di maturità della gonade. Prima dell'inizio della gametogenesi, il lume degli acini è carico di fagociti; durante la gametogenesi, i fagociti forniscono nutrienti alle crescenti cellule germinative diminuendo a loro volta di taglia; durante la piena maturazione della gonade, il lume degli acini è composto quasi esclusivamente di gameti (Unuma *et al.*, 2002) che, al momento della deposizione (*spawning*) vengono emessi dall'individuo attraverso i gonopori.

1.5 - Ciclo riproduttivo

Il ciclo gonadico annuale di *P. lividus* ha uno o due picchi stagionali e può differire in maniera consistente tra località vicine (Lozano *et al.*, 1995; Guettaf, 1997; Sanchez-España *et al.*, 2004). Studi istologici delle gonadi indicano l'esistenza di un unico ciclo gametogenico annuale (Byrne, 1990; Lozano *et al.*, 1995; Guettaf, 1997; Spirlet *et al.*, 1998; Martinez *et al.*, 2003). Tuttavia si riportano sia casi di individui con gonadi mature tutto l'anno (Sanchez-España *et al.*, 2004) e sia differenze interannuali nel periodo di emissione (Byrne, 1990).

Come è facile intuire quindi, le informazioni bibliografiche sul ciclo riproduttivo di *P. lividus* mostrano un'ampia variabilità tra una località e l'altra, a testimonianza del fatto che le caratteristiche della zona in cui vive la popolazione dettano i tempi di riproduzione.

I fattori che generalmente influenzano la riproduzione dei ricci di mare sono la temperatura, l'idrodinamismo, il fotoperiodo e la disponibilità delle risorse trofiche. A supporto di ciò, esistono numerosi studi, effettuati sia in campo che in laboratorio. La quantità e la qualità delle risorse trofiche, così come il fotoperiodo, sono stati identificati come fattori di una certa importanza (Walker e Lesser, 1998; Kelly, 2000; Spirlet *et al.*, 2000; Gago *et al.*, 2003; Sánchez-España *et al.*, 2004; Muthiga e Jaccarini, 2005; Böttger *et al.*, 2006). Boudouresque e Verlaque (2001) sostengono che lo sviluppo gonadico dipenda principalmente da questi fattori, mentre ancora più specifico è Starr *et al.* (1993) che dimostra come l'abbondanza di fitoplancton moduli l'inizio del periodo di *spawning*.

Altri autori osservano come l'idrodinamismo e il grado di esposizione al moto ondoso influenzino la gametogenesi (Lozano *et al.*, 1995; Guettaf *et al.*, 2000; Sánchez-España *et al.*, 2004; Sellem e Guillou, 2007).

Per esempio Lozano *et al.* (1995) ha studiato due popolazioni mediterranee di *P. lividus* nella Spagna Nord-Orientale, riportando un maggiore sviluppo gonadico per la popolazione più esposta alle fluttuazioni idrodinamiche e ai cambi di salinità e di temperatura. Al contrario, un lavoro a Nord delle coste siciliane ha evidenziato una maggiore crescita gonadica nei siti di campionamento caratterizzati da basso idrodinamismo (Gianguzza *et al.*, 2012), a sostegno di quanto riportato anche da Guettaf *et al.* (2000) lungo le coste algerine qualche anno prima.

Infine molti autori ritengono che tanto lo sviluppo gonadico così come la gametogenesi siano fortemente influenzate dalla temperatura e dal fotoperiodo (López *et al.*, 1998; Spirlet *et al.*, 2000; Kelly, 2001; Muthiga e Jaccarini, 2005; James *et al.*, 2007; Byrne, 1990; Spirlet *et al.*, 2000; Visconti *et al.*, 2008).

La maturazione gonadica infatti viene raggiunta dagli individui nella stagione fredda, quando la temperatura dell'acqua diminuisce e la durata del giorno si accorcia, mentre le temperature estive più elevate e l'illuminazione prolungata inibiscono l'avanzamento della gametogenesi (Shpigel *et al.*, 2004). In particolare, le osservazioni di Byrne (1990) sull'indipendenza tra fotoperiodo e rilascio dei gameti, supportate anche da Visconti *et al.* (2008), indicano che il cambio di temperatura tra inverno e primavera sia il solo fattore scatenante dell'inizio dell'emissione.

Tuttavia studi in laboratorio realizzati da Shpiegel *et al.* (2004) dimostrano in realtà come la gametogenesi di *P. lividus* sia anche influenzata dal fotoperiodo, e che lo sviluppo gonadico con l'accumulo di nutrienti siano condizionati solo ed esclusivamente dalla temperatura dell'acqua quando questa è superiore a 22°C.

1.6 - L'indice gonadosomatico e l'analisi istologica come strumenti per descrivere il ciclo riproduttivo

L'indice gonadosomatico (IGS), proporzione della massa delle gonadi con il peso totale del corpo dell'organismo, è uno strumento ampiamente utilizzato dai ricercatori per descrivere lo sviluppo gonadico. Lo studio dell'andamento annuale dell'indice gonadosomatico infatti evidenzia le fluttuazioni delle dimensioni della gonade, permettendo così di caratterizzare il ciclo riproduttivo nel tempo e di individuare i periodi di *spawning* (Lawrence *et al.*, 1965; Fenaux, 1968; Guettaf e San Martin, 1995; Lozano *et al.*, 1995).

Solo per *P. lividus*, si contano almeno 25 autori che usano l'IGS per il calcolo dello sviluppo gonadico (vedi tab. 1). La formula precisa che definisce questo indice varia, tuttavia, da autore ad autore; normalmente è indicato come il rapporto percentuale tra peso delle gonadi e peso corporeo, intesi come pesi freschi o secchi; alcuni autori relazionano i pesi o i volumi delle gonadi con il diametro dell'individuo o addirittura con il volume totale di questo.

Tab. 1: Tipologie differenti di IGS riscontrati in letteratura

| IGS | Autori |
|---|---|
| $\frac{\text{Volume della gonade (ml)}}{\text{Volume totale del riccio (ml)}} * 100$ | Moore (1934) |
| $\frac{\text{Volume della gonade (ml)}}{\text{Peso fresco del riccio (g)}} * 100$ | Lasker e Giese (1954), Feneaux (1968) |
| $\frac{\text{Peso fresco della gonade (g)}}{\text{Peso fresco del riccio (g)}} * 100$ | Allain (1972), Catoira <i>et al.</i> (1988, 1991, 1995), Haya de la Sierra (1990), Miguez e Catoira (1990), Guettaf e San Martín (1995), Fernández e Boudouresque (2000), Gago <i>et al.</i> (2001), Sánchez – España (2003), Sphigel <i>et al.</i> (2003, 2005), Arafa <i>et al.</i> (2006), Barbaglio <i>et al.</i> (2007), Harrington <i>et al.</i> (2007) |
| $\frac{\text{Peso secco della gonade (g)}}{\text{Peso fresco del riccio (g)}} * 100$ | Urgorri <i>et al.</i> (2004), Sellem e Rezig (1995) |
| $\frac{\text{Peso secco della gonade (g)}}{\text{Peso secco del riccio (g)}} * 100$ | Regis (1978), Byrne (1990), Lozano <i>et al.</i> (1995), Spirlet <i>et al.</i> (1998), Tomas <i>et al.</i> (2005), Sellem e Guillou (2007) |
| $\frac{\text{Peso secco della gonade (mg)}}{\text{Diametro del riccio (cm}^3\text{)}} * 10$ | Semroud e Kada (1987), Guettaf (1997, 2000), Fernández e Boudouresque (1997), Bayed <i>et al.</i> (2005) |

Durante il ciclo riproduttivo, il valore dell'IGS cresce nel periodo precedente all'emissione dei gameti, per poi crollare drasticamente dopo lo *spawning* a causa dello svuotamento della

gonade. Nonostante questa tendenza generale esistono numerosi fattori che possono influenzare il suo andamento. E' dimostrato come l'indice gonadico esibisca una grande variabilità sia su scala spaziale che su scala temporale (Moore, 1966; Lozano *et al.*, 1995).

Visti i fattori da cui abbiamo detto, anteriormente, dipendere lo sviluppo gonadico, l'indice gonadico che descrive il ciclo di riproduzione di *P. lividus* varia a seconda della stagione e delle condizioni trofiche (Regis, 1979; Semroud e Kada, 1987; Semroud, 1993; Guettaf e San Martin, 1995), della temperatura (Byrne, 1990), delle condizioni idrodinamiche (Fenaux, 1978), del fotoperiodo e dei bloom fitoplanctonici (Fenaux, 1978; Regis, 1979).

Questa estrema variabilità spesso genera numerosi errori di interpretazione e poiché l'IGS non permette di distinguere i vari stadi della gametogenesi e non consente la discriminazione dei sessi, è opportuno affiancare a questo descrittore altri strumenti di analisi del ciclo gonadico come le analisi istologiche (Spirlet *et al.*, 1998; Walker e Lesser, 1998; Garrido e Barber, 2001; Barbaglio *et al.* 2007; González-Irusta J.M. *et al.*, 2009; Soualili e Monique, 2009).

Il primo autore ad utilizzare l'analisi istologica in associazione all'IGS è stato Fenaux (1968). Egli calcolò la percentuale di femmine mature per descrivere il ciclo gonadico di tre specie di riccio di mare tra cui *P. lividus*. Byrne (1990), successivamente, ha stilato una classificazione del ciclo gonadico di *P. lividus* che si articola in sei fasi successivamente descritte anche da Guettaf (1997), mentre solo un anno dopo si classificavano ben 8 fasi (Spirlet 1998). Questi due autori utilizzarono le dimensioni degli oociti come strumento di classificazione, altri autori, per esempio Lozano *et al.* (1995), invece utilizzano la dimensione dei fagociti nutritivi. Una delle più esaustive scale di classificazione di maturità gonadica presenti in letteratura è sicuramente quella redatta da Byrne (1990), che si basa sulle classificazioni usate anteriormente da Fuji (1960a), Chatlynne (1969) e Pearse (1969). Byrne descrive 6 stadi di maturità sia per le gonadi femminili che per le maschili.

1.6.1 - Istologia degli ovari (gonadi femminili) (fig. 4)

- **Stadio I - Recovery Stage:** gli ovari contengono gli oociti primari e lungo le pareti acinali sono visibili raggruppamenti di oociti prematuri. Gli oociti sono fortemente basofili, risultano di colore viola scuro se colorati con ematossilina/eosina. I fagociti nutritivi fanno apparire l'ovario vacuolato, la matrice contiene granuli eosinofili che possono derivare dalla fagocitosi di oociti relitti. L'ovario può contenere uova mature non emesse in lisi, che verranno fagocitate.
- **Stadio II – Growing Stage:** con l'inizio della vitellogenesi gli oociti primari aumentano di dimensioni diventando meno basofili, e assumendo una tonalità viola acceso. Gli oociti rimangono attaccati alla parete acinale, circondati dai fagociti nutritivi che sono

abbondanti in tutto l'ovario. Possono essere presenti e visibili dei raggruppamenti di oociti prematuri, così come oociti relitti.

- **Stadio III – *Premature Stage*:** la vitellogenesi procede e sono presenti oociti a ogni stadio di sviluppo. Gli oociti primari più grandi, di colore rosa in ematossilina/eosina, sono di forma ovoidale e si spostano gradualmente verso il centro dell'acino. Mano a mano che la vitellogenesi avanza i fagociti nutritivi sono sostituiti, dalla loro posizione centrale, dagli oociti in fase di maturazione. Una volta che questi hanno raggiunto la taglia massima, maturano diventando uova che iniziano ad accumularsi nel lume dell'ovario.
- **Stadio IV – *Mature Stage*:** è lo stadio di *prespawning*, gli ovari contengono un elevato numero di uova eosinofile raggruppate tra loro, sono presenti alcuni piccoli oociti lungo le pareti acinali. I fagociti sono scarsi e formano un sottile strato intorno agli oociti primari. Possono essere presenti oociti prematuri.
- **Stadio V – *Partly Spawned Stage*:** le uova presenti nella gonade sono meno compattate tra loro a causa di spazi vuoti dovuti al rilascio di alcune uova mature. Possono essere presenti uova mature nell'ovidotto. I fagociti sono scarsi o assenti. Alcuni ovari possono contenere oociti a diversi stadi di sviluppo, e le uova mature che vengono gradualmente emesse vengono sostituite all'interno della gonade con oociti primari che gradualmente maturano a uova. In altri ovari, si osserva una grande presenza di uova mature che, una volta emesse, non vengono sostituite in quanto non vi sono oociti primari che le possano rimpiazzare.
- **Stadio VI – *Spent Stage*:** gli ovari appaiono svuotati eccetto per la presenza di oociti relitti e le pareti acinali sono sottili. Il numero e la tipologia di oociti presenti nell'ovario alla fine della stagione riproduttiva sono variabili. Alcuni contengono uova non deposte mentre altri ne sono completamente privi. Gli oociti vitellogenicici e le uova eventualmente presenti in questo stadio verranno riassorbiti dai fagociti. Ammassi di oociti primari possono essere presenti lungo le pareti acinali.

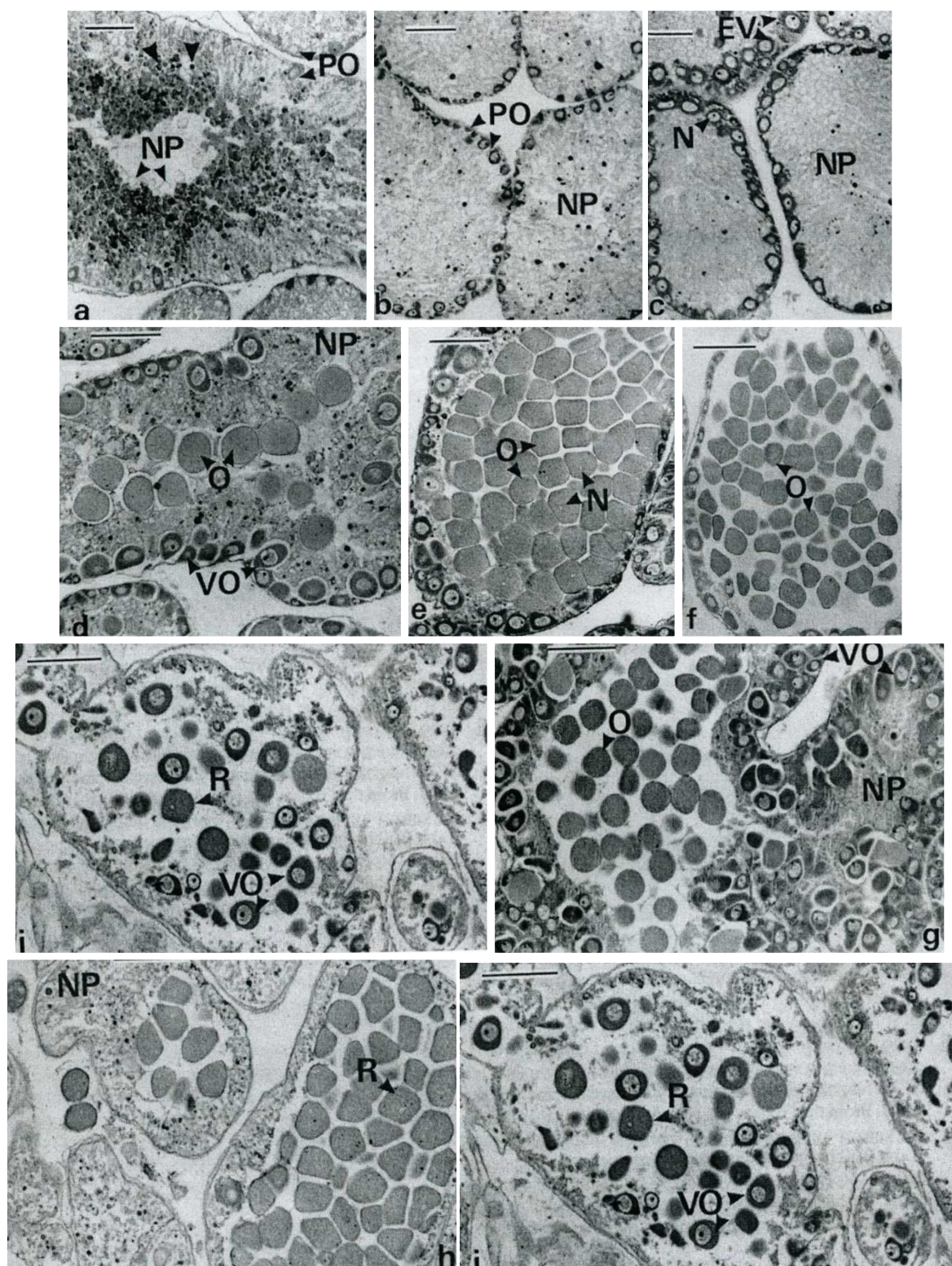


Fig. 4: Istologia delle gonadi femminili di *P. lividus*. (a) e (b) Stadio I; (c) Stadio II; (d) Stadio III; (e) Stadio IV; (f) e (g) Stadio V; (h) e (i) Stadio VI. Legenda: NP – Fagociti nutritivi; PO – piccoli oociti previtellogenici; EV – oociti vitellogenici immaturi; VO – oociti vitellogenici, O – uova; R – uova relitte (Byrne, 1990)

1.6.2 - Istologia dei testicoli (gonadi maschili) (fig. 5)

- **Stadio I – Recovery Stage:** la parete acinale presenta un piccolo strato basofilo di spermatogoni e spermatociti primari. I fagociti contengono granuli eosinofili e formano una rete in tutto l'acino. Possono essere presenti spermatozoi relitti del ciclo riproduttivo precedente.
- **Stadio II – Growing Stage:** lo strato basofilo aumenta di profondità con colonne di spermatociti che gradualmente si dirigono verso il lume della gonade. Gli acini sono ancora ricchi di fagociti con granuli eosinofili.
- **Stadio III – Premature Stage:** i testicoli prematuri contengono colonne di spermatociti lungo le pareti acinali e spermatozoi che cominciano ad accumularsi nel lume. I fagociti nutritivi sono ancora presenti anche se non nella parte centrale dell'acino.
- **Stadio IV – Mature Stage:** i testicoli maturi sono ricchi di spermatozoi e i fagociti nutritivi sono limitati alla periferia.
- **Stadio V – Partly Spawned Stage:** è simile allo stadio IV ma gli spermatozoi sono meno concentrati nella parte centrale della gonade. La parete acinale appare sottile e alcuni spermatozoi sono presenti nel gonodotto.
- **Stadio VI – Spent Stage:** i testicoli appaiono vuoti, con pareti acinali sottili. In periferia, si possono notare i fagociti nutritivi privi di contenuto. Possibile presenza di spermatozoi relitti.

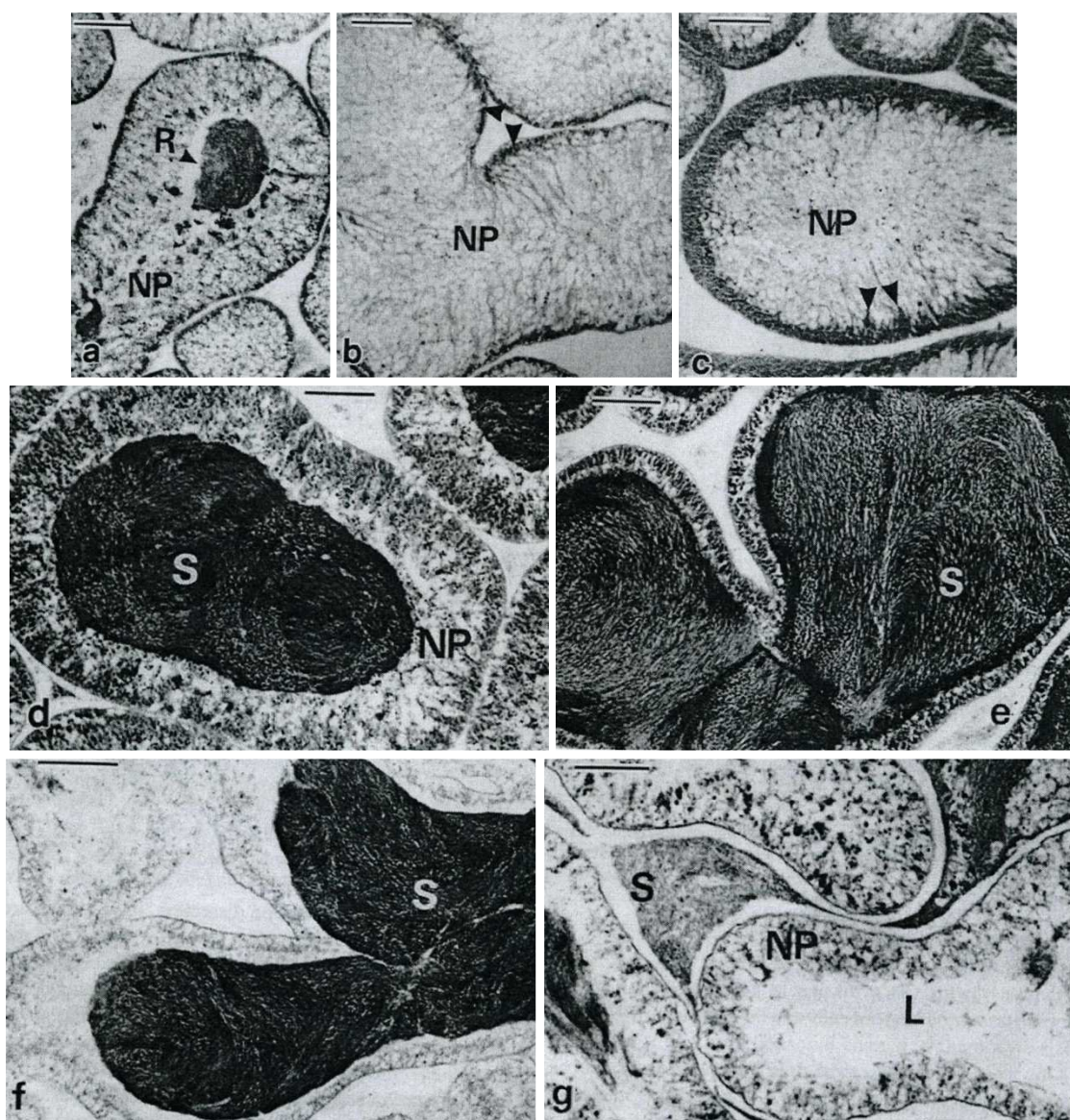


Fig.5: Istologia delle gonadi maschili di *P. lividus*. (a) e (b) Stadio I; (c) Stadio II; (d) Stadio III; (e) Stadio IV; (f) Stadio V; (g) Stadio VI. Legenda: R – spermatozoi relitti; NP – fagociti nutritivi; S – spermatozoi; L – lume (Byrne, 1990)

Poiché esistono distinte metodologie per descrivere le fasi del ciclo delle gonadi di *P. lividus*, in questo lavoro si è optato per l'utilizzo degli stadi di maturità osservati e descritti da Byrne (1990), più semplici ed interpretabili rispetto alle classificazioni di Spirlet *et al.* (1998) e da Sánchez-España (2004).

La tabella 2 sotto riportata mostra una comparazione di queste metodologie.

Tab. 2: Comparazione delle tre classificazioni con i relativi stadi. Le caselle con lo stesso colore indicano la stessa fase.

| Byrne (1990) | Spirlet <i>et al.</i> (1998) | Sanchez-España (2004) |
|--|---|--|
| Fase I: Ricostituzione della gonade | Fase I: Nessuna presenza di oociti maturi a parte qualche oocita relitto | Fase I: Post – deposizione delle uova |
| Fase II: Sviluppo degli oociti | Fase II: Inizio della ricostituzione dei fagociti nutritivi | Fase II: Maturazione degli oociti |
| Fase III: Prematurazione della gonade | Fase III: Inizio della ricostituzione della gonade | Fase III: Maturazione completa, la gonade appare piena di oociti maturi |
| Fase IV: Maturazione della gonade | Fase IV: Inizio dello sviluppo degli oociti | Fase IV: Ricostituzione della gonade a seguito della deposizione delle uova |
| Fase V: Deposizione parziale delle uova | Fase V: Prematurazione della gonade | |
| Fase VI: Post-deposizione delle uova | Fase VI: Maturazione della gonade | |
| | Fase VII: Deposizione parziale delle uova | |
| | Fase VIII: Post-deposizione delle uova | |

1.7 - Ecologia

P. lividus si distribuisce lungo le coste mediterranee e atlantiche che si caratterizzano per avere la temperatura dell'acqua compresa tra 10°C e 15°C nei periodi invernali e tra i 18°C e 25 °C in quelli estivi.

Questo invertebrato è tipico degli ambienti subtidali, e il suo limite superiore è dovuto allo stress da essiccamento (Lawrence, 2013). Tuttavia sono stati registrati individui anche nella fascia intertidale, in habitat rocciosi ma anche individui singoli ed isolati a profondità importanti come 80 m (Cherbonnier, 1956; Tortonese, 1965).

In mare aperto *P. lividus* colonizza ambienti rocciosi e praterie di *P. oceanica* o *Zostera marina* (Mortensen, 1927; Tortonese, 1965; Ebling *et al.*, 1966; Verlaque, 1987a); in ambienti sabbiosi o detritici non è comune trovarlo, ed è presente solo come comunità isolate vicino a

massi, grandi conchiglie, gusci o carcasse, oppure nelle vicinanze di detriti di origine antropica (Zavodnik, 1980). La sua dinamica di popolazione dipende da processi ecologici anche su scale spaziali diverse quali per esempio il reclutamento, la disponibilità larvale e la predazione (Guidetti *et al.*, 2003).

P. lividus in generale di notte pascola mentre di giorno vive in luoghi sicuri sia per far fronte a situazioni di elevata esposizione all'idrodinamismo (Kitching e Thain, 1983; Verlaque, 1984, 1987a; Azzolina e Willsie, 1987; Azzolina, 1988; San Martin, 1995) ma soprattutto per rifugiarsi dai suoi predatori (Sala, 1997; Farina *et al. in press*).

Le reclute di *P. lividus* (con diametro minore di 10 – 20 mm) sono particolarmente vulnerabili alla predazione, che durante questa fase di vita rappresenta il processo più importante di controllo della sua popolazione. Le reclute tendono a vivere per questo motivo occultate negli anfratti, nelle cavità al di sotto di massi o ciottoli; si possono rinvenire anche all'interno delle matte di *P. oceanica* o al di sotto di una densa copertura di macroalghe (Kempf, 1962; Gamble, 1966 – 1967; Kitching e Thain, 1983; Verlaque, 1984, 1987a; Azzolina e Willsie, 1987; Azzolina, 1988; San Martin, 1995; Farina *et al.*, 2009).

P. lividus è un organismo erbivoro che predilige una dieta a base di alghe e macrofite marine; Boudouresque e Verlaque (2007) riportano una lista (tab. 3) di specie presenti nella dieta di *P. lividus* e testate durante esperimenti in laboratorio. Tra queste si annoverano Rhodophyceae, Chlorophyceae, Seagrasses, Phaeophyceae.

Tab. 3: Lista delle macrofite algali bentoniche facenti parte della dieta di *P.lividus*.

| <u>Rhodophyceae</u> | <u>Chlorophyceae</u> | <u>Seagrasses</u> | <u>Phaeophyceae</u> |
|--|-----------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| <i>Amphiroa rigida</i> | <i>Anadyomene stellata</i> | <i>Cymodocea nodosa</i> | <i>Cystoseira amentacea</i> |
| <i>Asparagopsis armata</i> | <i>Bryopsis muscosa</i> | <i>Posidonia oceanica</i> | <i>Cystoseira barbata</i> |
| <i>Boergeseniella fruticulosa</i> | <i>Caulerpa prolifera</i> | <i>Zostera marina</i> | <i>Cystoseira brachycarpa</i> |
| <i>Bonnemaisonia hamifera</i> | <i>Caulerpa racemosa</i> | | <i>Cystoseira compressa</i> |
| <i>Botryocladia botryoides</i> | <i>Caulerpa taxifolia</i> | | <i>Cystoseira crinita</i> |
| <i>Centroceras clavulatum</i> | <i>Chaetomorpha linum</i> | | <i>Cystoseira mediterranea</i> |
| <i>Ceramium ciliatum</i> | <i>Cladophora dalmatica</i> | | <i>Cystoseira spinosa</i> |
| <i>Ceramium rubrum</i> | <i>Cladophora rupestris</i> | | <i>Dictyota dichotoma</i> |
| <i>Corallina elongata</i> | <i>Codium bursa</i> | | <i>Dictyota fasciola</i> |
| <i>Cryptonemia lomation</i> | <i>Codium fragile</i> | | <i>Dictyota spiralis</i> |
| <i>Falkenbergia rufolanosa</i> | <i>Codium vermilara</i> | | <i>Fucus serratus</i> |
| <i>Gelidium spinosum</i> | <i>Flabellia petiolata</i> | | <i>Laminaria japonica</i> |
| <i>Gracilaria bursa-pastoris</i> | <i>Halimeda tuna</i> | | <i>Padina pavonica</i> |
| <i>Haliptilon virgatum</i> | <i>Ulva compressa</i> | | <i>Pseudolithoderma adriaticum</i> |
| <i>Halopithys incurva</i> | <i>Ulva intestinalis</i> | | <i>Saragassum muticum</i> |
| <i>Halurus flosculosus</i> | <i>Ulva linza</i> | | <i>Scytosiphon lomentaria</i> |
| <i>Herposiphonia secunda</i> | <i>Ulva lactuca</i> | | <i>Sphacelaria cirrosa</i> |
| <i>Jania rubens</i> | <i>Ulva rigida</i> | | <i>Stilophora tenella</i> |
| <i>Laurencia obtusa</i> | <i>Valonia utricularis</i> | | <i>Stypocaulon scoparium</i> |
| <i>Liagora viscida</i> | | | <i>Undaria pinnatifida</i> |
| <i>Lithophyllum incrustans</i> | | | |
| <i>Neogoniolithon brassica-florida</i> | | | |
| <i>Osmundaria volubilis</i> | | | |
| <i>Osmundea truncata</i> | | | |
| <i>Osmundea verlaquei</i> | | | |

| | | | |
|---|--|--|--|
| <i>Phyllophora nervosa</i> | | | |
| <i>Plocamium cartilagineum</i> | | | |
| <i>Rhodymenia ardissoni</i> | | | |
| <i>Rissoella verruculosa</i> | | | |
| <i>Rytiplhaea tinctoria</i> | | | |
| <i>Soliera chordalis</i> | | | |
| <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> | | | |

Molti studi riportano che questo invertebrato si nutre anche di organismi foto sintetici unicellulari, spugne, idrozoi, copepodi (Mortensen, 1943; Tortonese, 1965; Pastor, 1971; Niell e Pastor, 1973; Regis, 1978; Delmas e Regis, 1986; Fernandez, 1990; Mazzella *et al.*, 1992).

Con la sua intensa attività di *grazing*, *P. lividus* ha un ruolo rilevante nell'ecologia bentonica attraverso il controllo sulla dinamica e il funzionamento di numerose comunità (Barnes *et al.*, 2002; Benedetti-Cecchi *et al.*, 1998; Sala *et al.*, 1998).

Numerosi autori hanno dimostrato che esiste una correlazione negativa tra un'elevata densità di individui con la densità e l'abbondanza di macrofite erette (Kempf, 1962; Kitching e Ebling, 1967; Pastor, 1971; Verlaque e Nédélec, 1983b; Verlaque, 1987a). Un'elevata densità di *P. lividus* dai 7 ai 20 individui per metro quadro, con un diametro non inferiore ai 5 cm, si tradurrebbe in un'attività di pascolo così insostenibile che provocherebbe la completa rimozione del manto algale e la conseguente desertificazione dell'habitat (fenomeno di *overgrazing*) potenzialmente colonizzabile da specie di alghe aliene (Lawrence, 2013).

Per un effetto a cascata molti autori hanno dimostrato come una diminuzione del numero di predatori diretti di *P. lividus* (pesci e crostacei), per esempio per cause antropiche come la sovrappesca, abbia determinato un sensibile aumento della densità dei ricci, causando indirettamente la scomparsa di una grossa prateria di fanerogame o comunità algali (Giaccone, 1971; Katzmann, 1974; Gros, 1978; Verlaque e Nedelec, 1983b).

2. Materiali e Metodi

2.1 - Siti di studio

I campionamenti sono stati effettuati in due diverse località della Sardegna per stimare l'andamento dello sviluppo gonadico di *P. lividus*, una si trova sulla costa Est e l'altra sulla costa Ovest. Le due località di campionamento sono l'Area Marina Protetta di Tavolara – Punta Coda Cavallo nella zona Nord - Orientale e Su Pallosu nella Penisola del Sinis, nella parte centro – Occidentale dell'isola (fig. 6).

Le due località di studio sono state scelte con orientazioni diverse ai venti e al moto ondoso, in modo tale da poter determinare il grado di influenza dell'idrodinamismo sullo sviluppo gonadico. I punti di campionamento delle due località si distinguono inoltre per avere substrati arenario-carbonatico a su Pallosu, granitico a Tavolara.

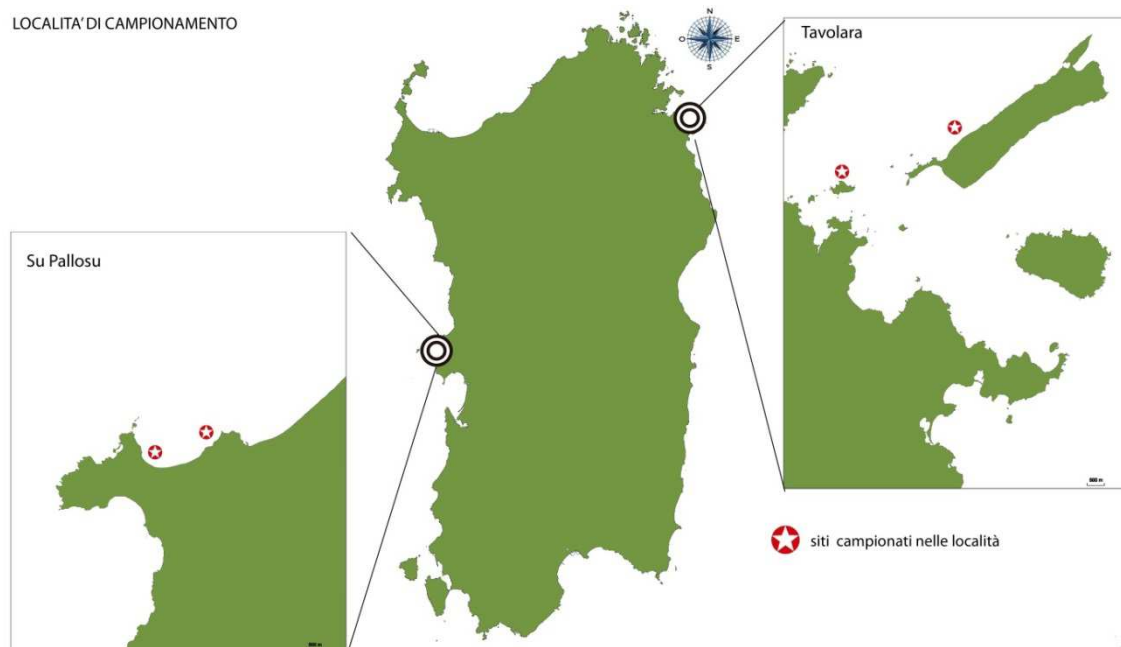


Fig. 6: Località di campionamento scelte per esposizione opposta ai venti e al moto ondoso

2.1.1 - AMP di Tavolara - Punta Coda Cavallo (<http://www.amptavolara.com/territorio/>)

L'Area Marina Protetta (AMP) di Tavolara – Punta Coda Cavallo è stata istituita nel 1997 con decreto del Ministero dell'Ambiente e nel 2007 ha ottenuto l'importante titolo di Area Specialmente Protetta d'Importanza Mediterranea (ASPIM). E' gestita da un Consorzio di tre comuni: Olbia, Loiri Porto San Paolo e San Teodoro e il suo territorio comprende 15.000 ha tra cui: l'Isola di Tavolara, lunga 6 km e larga 1,5 km, si innalza 565 m a Punta Cannone e la linea di cresta si mantiene costante sopra i 500 m, ha una superficie di 600 ha; l'Isola di Molaru, con una forma rotondeggiante e i tre rilievi di Punta La Guardia (158m), Punta

Leonеду (157m) e Punta Castello (150m); lo scoglio di Molarotto, punto più remoto dell'AMP interamente granitico e circondato da scogli e secche; e tutta la parte di costa compresa fra Cala Finocchio e Capo Ceraso che comprende le restanti 12 piccole isole tra cui l'Isola Piana il cui punto più alto si eleva 15m sopra il livello del mare (Navone e Trainito, 2008).

L'AMP è stata suddivisa in tre zone di salvaguardia con divieto di navigazione libera e di ancoraggio, caccia, pesca subacquea ed immersioni (fig. 7).

- **Zona A: Riserva Integrale.** Comprende il tratto marino dalla zona sud di Cala Levante a Punta del Papa e Punta del Passo Malo. Comprende inoltre tutta la zona circostante all'Isola Molarotto. Sono vietate la balneazione e le immersioni subacquee ricreative.
- **Zona B: Riserva Generale.** Comprende il tratto di mare tra Capo Ceraso e la caletta Sa Enas Appara, il tratto da Coda dellu Ferru e Punta di Tameriggio, alcuni punti dell'Isola di Tavolara e la zona circostante attorno all'Isola di Molara. Qui è consentito lo svolgimento della pesca professionale dei pescatori locali autorizzata e regolamentata dall'Ente Gestore; le immersioni subacquee sono consentite solo attraverso centri di immersione autorizzati, mentre le attività in apnea e la balneazione sono libere.
- **Zona C: Riserva Parziale.** Si estende per il restante tratto di mare della Riserva non descritta fino ad ora. Qui si consentono l'attività subacquea, la balneazione, la pesca sportiva anche se in parte regolamentata.

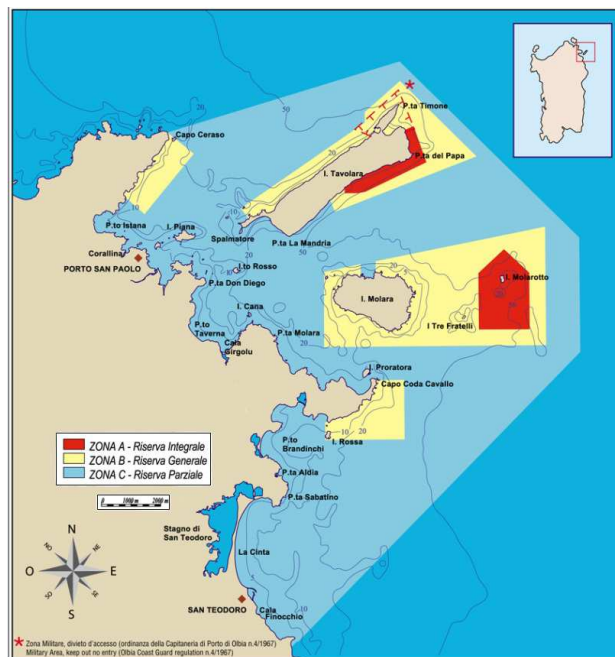


Fig. 7: Zonazione dell'AMP Tavolara – Punta Coda Cavallo

Il territorio dell'AMP si caratterizza per la presenza di graniti rosa, da spiagge litoranee quarzoso – feldspatiche e da rilievi calcareo – dolomitici. Sulle coste prospicienti si trovano dune, depressioni retrodunali e canali di connessione col mare aperto che formano stagni e lagune costiere. La piattaforma continentale si estende per circa 10 miglia nautiche e presenta un ciglio alla profondità di circa 140 m con accumuli di sedimenti fini, limi argillosi e argille limose. Questa zona si caratterizza anche per affioramenti rocciosi interrotti da coperture di sabbie quarzoso – feldspatiche e colonizzate da *matte* di *P. oceanica*, oltre il quale si estendono piane a sedimenti bioclastici la cui componente organogena consiste in briozoi, foraminiferi e altri organismi a scheletro carbonatico (Navone e Trainito, 2008).

Sui fondi sabbiosi fino a profondità di 30 – 35 m sono presenti praterie di *P. oceanica*, mentre a profondità maggiori troviamo popolamenti di coralligeno e *Cystoseira zosteroides*.

2.1.2 - Su Pallosu

Situata nella provincia di Oristano, la località di Su Pallosu non è parte dell'AMP del Sinis – Isola di Mal di Ventre.

La baia si caratterizza per avere un esteso campo dunale retrostante alla spiaggia con depositi sabbiosi che seguono la ritmicità del moto ondoso e del vento di Maestrale (AA.VV., 2011); il fondale è costituito da formazioni rocciose di origine vulcanica su cui poggiano rocce sedimentarie, clastiche e carbonatiche mentre nella parte prospiciente la spiaggia si trovano formazioni rocciose costituite da arenarie con granuli di quarzo; colonizzati, a seconda delle condizioni di luminose, da alghe fotofile e sciafile (Facheris C., 2004).

Lungo la costa, nel tratto antistante la cala, si possono trovare praterie di *P. oceanica* particolarmente frammentate a causa dell'eterogeneità del fondale e del forte idrodinamismo presente in questo tratto di mare (AA.VV., 2011).

2.2 - Disegno sperimentale

Il disegno sperimentale è stato pensato e realizzato seguendo un modello gerarchico a tre fattori. Le differenze del ciclo di riproduzione del riccio infatti sono state determinate tanto su scala regionale (Tavolara e Su Pallosu), che su due scale locali: una dell'ordine del chilometro (sito A e sito B) e una dell'ordine delle centinaia di metri (stazione 1 e stazione 2). Nello specifico per ogni località sono stati presi due siti di campionamento distanti qualche chilometro e all'interno dei quali sono state selezionate due stazioni di prelievo distanti qualche centinaio di metri l'una dall'altra (fig. 8).

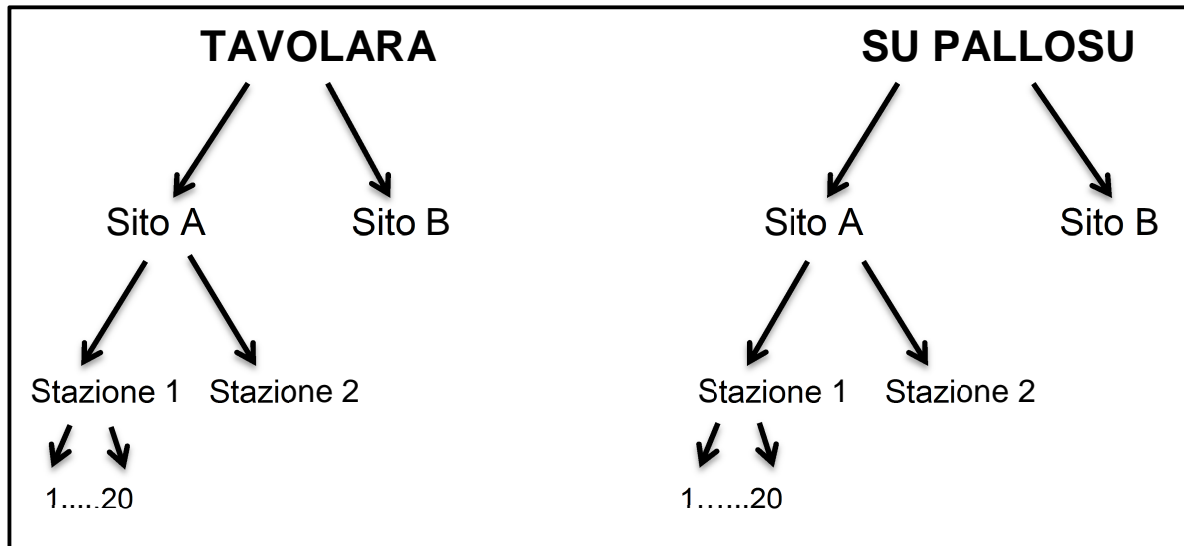


Fig. 8: Disegno sperimentale

2.3 - Attività di campo

I campionamenti sono stati condotti mensilmente da Giugno ad Agosto 2013 ad una profondità media di 5m. Durante ogni campionamento è stata rilevata la temperatura dell'acqua tramite un termometro graduato immerso, a una profondità compresa fra 2 e 5 m, per un tempo consono.

I prelievi dei ricci nelle due località sono stati effettuati sempre a distanza del minor tempo possibile (normalmente due giorni) per evitare di immettere una variabilità temporale.

I punti di prelievo hanno le seguenti coordinate GPS:

| Area di prelievo | Località | Coordinate geografiche |
|--|------------------|-------------------------|
| AMP Tavolara – Punta Coda Cavallo | | |
| TA1 (Sito A, Stazione 1) | Isola Piana W | 40°53.331N;009°38.855E |
| TA2 (Sito A, Stazione 2) | Isola Piana E | 40°53.408N;009°38.958E |
| TB1 (Sito B, Stazione 1) | Isola Tavolara W | 40°53.894N;009°41.225E |
| TB2 (Sito B, Stazione 2) | Isola Tavolara E | 40°53.933N; 009°41.300E |
| Su Pallosu | | |
| SA1 (Sito A, Stazione 1) | Sca'e Sali N | 40°03.089N;008°25.618E |
| SA2 (Sito A, Stazione 2) | Sca'e Sali S | 40°03.055N;008° 25.630E |
| SB1 (Sito B, Stazione 1) | Su Pallosu N | 40°03.239N;008°24.780E |
| SB2 (Sito B, Stazione 2) | Su Pallosu S | 40°03.205N;008°24.794E |

Durante ogni campionamento sono stati prelevati 20 esemplari di *P. lividus*, inoltre durante il mese di Agosto sono stati prelevati 10 esemplari di riccio in praterie continue di *P. oceanica* necessari per evidenziare possibili differenze fra lo sviluppo gonadico su roccia, previsto nel campionamento classico, e quello nell'habitat di *P. oceanica* (nota per essere un importante rifugio ma anche una possibile fonte di alimento per il riccio).

Una volta raccolti, i ricci sono stati organizzati prontamente all'interno di contenitori isolanti (fig. 9) e mantenuti umidi con acqua di mare e ghiaccio per evitare che bruschi sbalzi termici aumentassero il livello di stress e il rischio di emissione dei gameti durante il trasporto ai laboratori. All'interno dei contenitori, i ricci sono stati sistemati con l'apparato boccale rivolto verso il basso, posti su più strati e separati tramite panni bagnati per evitare gli si danneggiassero gli uni con gli altri (fig. 10).



Fig. 9 e 10: Fotografie dei contenitori refrigerati e della disposizione dei ricci all'interno degli stessi

2.4 - Attività di laboratorio

Arrivati ai laboratori, i campioni sono stati accuratamente sistemati su carta assorbente per eliminare l'eccesso di acqua, successivamente è stato misurato il loro diametro (escludendo gli aculei) mediante l'utilizzo di un calibro ed è stato successivamente registrato il peso umido dell'animale tramite una bilancia tecnica (*Bicasa FX 3000®* a due cifre decimali, errore $\pm 0,1g$).

Successivamente i campioni sono stati aperti mediante l'asportazione della lanterna di Aristotele (fig. 11). Quindi si è identificato per osservazione diretta delle gonadi il sesso dell'individuo e, quando non era possibile, per esempio nel caso di individui immaturi o di individui di taglia piccola, i sessi sono stati classificati come indeterminati. Le cinque gonadi,

quando possibile, sono state attentamente asportate (fig. 12) e pesate per rilevarne il loro peso umido (fig. 13).



Fig. 11: Apertura dei ricci e asportazione della Lanterna di Aristotele



Fig. 12: Prelievo delle gonadi dall'organismo



Fig. 13: Peso umido delle gonadi asportate

Il peso umido del riccio e delle sue gonadi sono stati utilizzati successivamente per calcolare l'indice gonadosomatico (IGS) con la seguente formula:

$$\frac{\text{Peso umido gonade}}{\text{Peso umido individuo}} * 100$$

In questo studio si è deciso di utilizzare i pesi umidi e non quelli secchi perchè più facili da ottenere, sia per tempistiche che per strumentazione. Inoltre è ampiamente dimostrato che l'Indice gonadosomatico calcolato con i pesi umidi offra un'approssimazione migliore del rendimento gonadico (Lozano *et al.*, 1995; Minor e Scheibling, 1997; Byrne *et al.*, 1998; Meidel e Scheibling, 1998; Spirlet *et al.*, 1998; Kelly 2001; Chiantore *et al.*, 2002; Sanchez – España *et al.*, 2004; Muthiga e Jaccarini, 2005; Philip, 2006; Barbaglio *et al.*, 2007; Fabbrocini e D'Adamo, 2010; Tomsic *et al.*, 2010; Gianguzza *et al.*, 2012; Murrillo – Navarro e Jiménez – Guirado, 2012; Tenuzzo *et al.*, 2012).

Infine, dopo aver misurato il peso umido delle gonadi per il calcolo dell'IGS, è stata conservata una gonade per 5 individui tra quelli di taglia grande (*Test diameter* esclusi gli aculei > 50 mm) necessaria per le analisi istologiche.

2.5 - Analisi istologiche

Per realizzare queste analisi sono stati scelti, in maniera casuale, 6 campioni di gonadi per sito (3 per stazione) appartenenti a ricci di taglia grande prelevati nei mesi di Giugno e Agosto, per un totale di 24 campioni per località.

La tecnica per l'allestimento di preparati istologici si articola in 6 fasi e sono le seguenti:

1. **Fissazione:** questo procedimento serve a fissare, chimicamente e fisicamente, la gonade permettendo lo svolgimento dei successivi passaggi senza incorrere in rotture o perdite di tessuto. La miscela fissativa utilizzata in laboratorio è stata il "liquido di Bouin", composta da: 15cc di Acido Picrico, 5cc di Formalina al 35% e 1cc di Acido Acetico Glaciale. Il fissativo viene preparato al momento dell'uso ed è estremamente penetrante, riuscendo a fissare pezzi molto voluminosi. Generalmente la gonade non deve rimanere in fissativo per più di 48 ore per evitare l'eccessivo indurimento del campione (fig. 14).

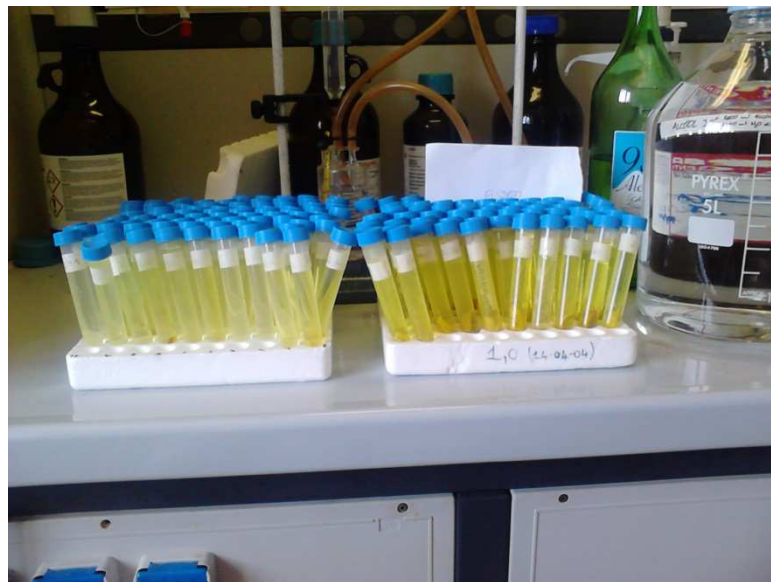


Fig. 14: Campioni fissati in liquido di Bouin

2. **Disidratazione:** serve a eliminare l'acqua presente nei tessuti e per allontanare il fissativo residuo contenuto nella gonade. Si procede con una serie di lavaggi giornalieri in alcool a 70° fino a che la gonade non perde il classico colore giallo dovuto all'Acido Picrico. Una volta avvenuto ciò si passa a una gradazione di alcool superiore, 90°, per due giorni con cambi ogni 24 ore; in seguito si effettua un cambio in alcool a 95° per un'ora e successivamente 2 cambi in alcool a 100° per 30 minuti.

- 3. Diafanizzazione:** serve a preparare il campione al mezzo infiltrante, in quanto gli agenti diafanizzanti (che conferiscono un aspetto diafano al pezzo) sono solventi della paraffina. Il processo avviene ponendo sotto cappa il campione in un recipiente di vetro contenente Bioclear per una notte intera. Il Bioclear, che chimicamente è una miscela di terpeni, è stato utilizzato al posto del toluolo perché meno tossico.
- 4. Inclusione:** procedimento che serve ad impregnare il pezzo in paraffina e quindi includerlo nella confezione del blocchetto. Lo scopo di questo passaggio è di trasformare il tessuto in una massa omogenea in modo da non creare problemi durante il taglio. La paraffina utilizzata in laboratorio ha un punto di fusione 60-62°C. Inizialmente si è proceduto a immergere i pezzi in una miscela 1:1 di paraffina:bioclear in stufa, quindi i campioni sono passati in vari bagni di paraffina pura (primo passaggio da 30 minuti seguito da due passaggi da 1 ora ciascuno, sempre in stufa); quindi, il pezzo è stato finalmente incluso in un blocchetto di paraffina utilizzando delle formelle apposite.
- 5. Taglio:** il blocchetto di paraffina solida viene attaccato a un supporto di legno e opportunamente etichettato, in seguito viene tagliato con microtomo rotativo manuale (*RM2125 Leica Microsystems®*) per ottenere un nastro di fette continue di 7µm. Queste vengono poggiate su un piano di lavoro e, ottenuto un numero consono, vengono adagiate su un vetrino precedentemente bagnato con una soluzione di acqua distillata e 2-3 gocce di albumina glicerinata; quindi vengono fatte distendere su una piastra tiepida ed infine i vetrini si pongono in stufa a 40°C per una notte intera.
- 6. Colorazione:** i vetrini sono stati posti in vaschette porta-vetrini (in vetro per il Bioclear e in plastica per alcool, coloranti e acqua) (fig. 15) e colorati con emallume di Mayer (ematossilina) per evidenziare i tessuti nucleari, e con eosina per evidenziare invece i tessuti citoplasmatici. I passaggi di colorazione con le rispettive tempistiche sono i seguenti:

| | | | |
|-----------------------|--------------|-----------------------|------------|
| Bioclear 1..... | 20 minuti | Acqua distillata..... | 5 minuti |
| Bioclear 2..... | 20 minuti | Eosina..... | 2/3 minuti |
| Bioclear 3..... | 20 minuti | Acqua distillata..... | risciacquo |
| Alcool 95°..... | 3 minuti | Alcool 90°..... | risciacquo |
| Alcool 90°..... | 3 minuti | Alcool 95°..... | 3 minuti |
| Alcool 70°..... | 3 minuti | Alcool 100°..... | 5 minuti |
| Alcool 50°..... | 3 minuti | Alcool 100°..... | 5 minuti |
| Acqua distillata..... | 5 minuti | Bioclear 1..... | 20 minuti |
| Emallume..... | 20/30 minuti | Bioclear 2..... | 20 minuti |
| Acqua distillata..... | risciacquo | Bioclear 3..... | 20 minuti |
| Acqua rubinetto..... | 20 minuti | | |

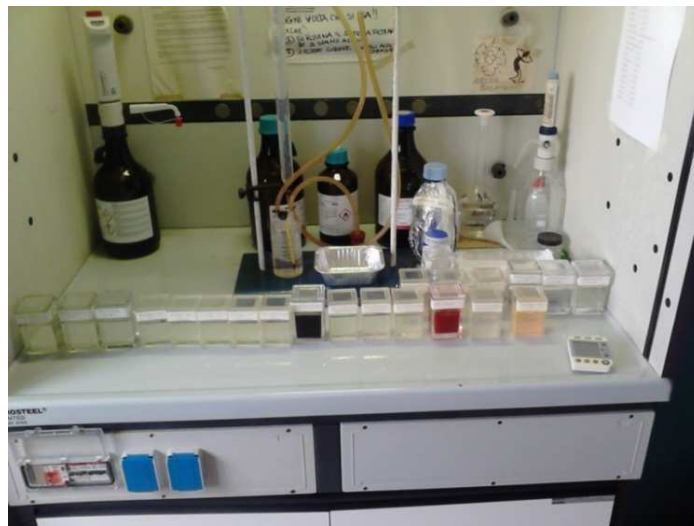


Fig. 15: Batteria di colorazione dei vetrini

Terminata la colorazione si procede alla chiusura del vetrino incollando un coprioggetto con la colla *Eukitt®*, evitando di creare bolle d'aria sulle fette colorate. Il vetrino va lasciato asciugare qualche giorno prima di poterlo osservare al microscopio.

2.6 – Caratterizzazione dei venti nelle località di studio

Come già spiegato i siti di prelievo sono stati scelti con orientazione diversa rispetto al moto ondoso generato dai venti. E' dimostrato che lo sviluppo gonadico possa infatti essere fortemente influenzato da fattori idrodinamici. I venti che soffiano sulla superficie del mare generano un moto ondoso in funzione della loro intensità e del *fetch* di percorrenza. Per questo motivo, si è deciso di caratterizzare i venti che soffiano nelle località scelte durante il periodo di campionamento.

Secondo la scala Beaufort venti da 4 nodi in su generano moto ondoso che in funzione della sua altezza e durata potrebbe determinare una situazione di stress influenzando l'emissione dei gameti dei ricci.

Per caratterizzare le condizioni idrodinamiche delle località, come prima cosa si sono quindi ottenuti i dati relativi all'intensità e alla direzione dei venti nelle zone di Olbia e Oristano attraverso gli archivi di Eurometeo, Regione Sardegna e ISPRA (www.eurometeo.com/italian/home, www.mareografico.it/, www.sar.sardegna.it/).

In seguito, con il programma Grapher 8, si sono realizzate i grafici con frequenza, direzione e intensità dei venti.

2.7 – Caratterizzazione della copertura algale dei siti di campionamento

I siti sono stati caratterizzati con le percentuali di copertura delle alghe potenzialmente appetibili per *P. lividus* durante la stagione estiva (campionamento effettuato durante il mese di Agosto).

Sono state scattate nei siti di prelievo numerose fotografie utilizzando un quadrato 25x25 cm e successivamente 16 di esse sono state selezionate in maniera casuale per l'analisi della copertura algale analizzata con il programma Seascape (Teixidó *et al.*, 2011).

La copertura delle specie sessili è stata ottenuta attraverso la segmentazione automatica dell'immagine basandosi sulla scala cromatica della fotografia. Con questo programma è stata inoltre organizzata una libreria personalizzata che raggruppa le specie di alghe d'interesse secondo la classificazione più opportuna ai fini del lavoro (nel nostro caso si è usata la classe e/o il gruppo funzionale).

Al momento dell'analisi è necessario calibrare la foto, tramite una funzione specifica, per permettere al software di calcolare l'area e il perimetro delle diverse superfici; poiché i quadrati coprivano un'area di 50 cm² è stato tracciato un segmento di 25 cm di lato (fig. 16).

Tenendo conto della lista di specie vegetali elencate da Boudouresque e Verlaque (2007), si sono determinate le specie macroalgali che colonizzano i fondali delle nostre zone di campionamento e sono state classificate secondo l'indice di gradimento alimentare (*Food Preferences of Multicellular Photosynthetic Organisms*) di *P. lividus* con la seguente legenda: A (*strongly preferred species*), B (*moderately preferred species*), C (*indifferent or slightly avoided species*), D (*strongly avoided species*) ed E (roccia e sabbia non vegetata) (tab. 4)

Tab. 4: Specie algali raggruppate secondo l'indice di appetibilità redatto da Boudouresque e Verlaque (2007).

| A | B | C | D | E |
|--------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|------|
| Cystoseira spp. | <i>Chaetomorpha linum</i> | Laurencia complex | <i>Posidonia oceanica</i> | Rock |
| <i>Padina</i> | <i>Cladophora</i> | | <i>Cryptonemia</i> | Sand |
| <i>Pavonica</i> | <i>rupestris</i> | | <i>lomation</i> | |
| | Codium spp. | | <i>Liagora viscida</i> | Turf |
| | Dictyotales spp. | | | |
| | <i>Jania rubens</i> | | | |

Alle categorie di classificazione secondo il grado di appetibilità ne è stata aggiunta un'altra chiamata *Other* che raggruppa tutti gli elementi presenti nelle fotografie che non sono alimento per il riccio, come le alghe blande (*turf*) e naturalmente le superfici rocciose e sabbiose senza copertura algale. In questa categoria inoltre sono state incluse le superfici non identificabili nelle foto.

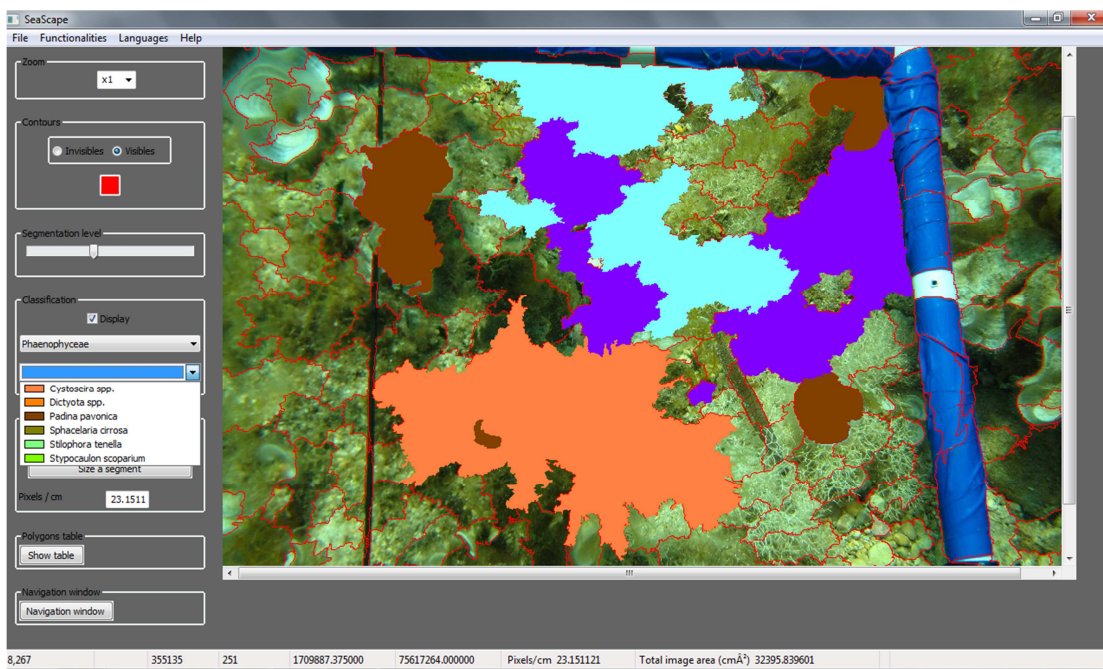


Fig. 16: Analisi della copertura macroalgale bentonica delle fotografie subacquee

Il passo seguente è stato quello di convertire tramite un foglio di calcolo Excel le superfici di copertura a percentuali.

2.8 - Analisi statistica

In generale non sono state realizzate analisi per la classe di taglia (grande e media), visto che questa variabile fornisce un'informazione ridondante con quelle dell'indice gonadosomatico (poiché è un rapporto tra pesi).

Come prima cosa è stata fatta una correlazione lineare della distribuzione dei valori dell'IGS per le due popolazioni osservate.

La correlazione lineare permette di indicare la tendenza che presentano due variabili (x e y) al variare insieme; a seconda della tipologia di relazione, essa può essere lineare, quando assume la forma di una retta, o non lineare, quando la forma è più dispersiva o comunque caotica. Per poter esprimere al meglio il coefficiente di correlazione, si utilizza un valore standardizzato che va da -1 a +1 (dove 0 indica nessuna relazione fra le due variabili) il quale nelle regressioni lineari prende il nome di R^2 o coefficiente di determinazione e varia tra 0 e 1. R^2 è la misura di associazione fra le due variabili prese in esame:

$$R^2 = \frac{SSR}{SST}$$

dove SSR indica la devianza spiegata dal modello (detta anche devianza della regressione) e SST indica la devianza totale.

Essendo l'IGS il rapporto del peso umido delle gonadi sul peso umido dell'individuo, i punti sono rappresentati in un grafico che avrà sulle ordinate il peso delle gonadi e sulle ascisse il peso totale dell'individuo. Su questo grafico sono stati poi calcolati i valori R^2 della correlazione lineare e le curve di tendenza (*smoothing curves*).

Le *smoothing curves* sono uno strumento esplorativo per descrivere e rappresentare in modo più realistico la distribuzione dei dati, nel nostro caso esse rappresentano la tendenza della correlazione fra il peso delle gonadi e il peso totale del riccio e gli intervalli di varianza.

Dopo aver determinato la natura della distribuzione dei nostri dati con il test della normalità di Shapiro - Wilk e di Pearson si è optato per realizzare un test della varianza di tipo parametrico. Nello specifico è stata realizzata un'ANOVA con i fattori "mese" e "località" ortogonali.

All'interno della "località", i fattori "sito" e "stazione" sono stati considerati, come da disegno sperimentale, come *nested*.

Successivamente, sulla base del risultato dell'ANOVA si è realizzato il Tukey – Kramer test (*Honestly Significant Differenced – HSD*), un post-hoc test che compara le medie di ogni trattamento con le medie di tutti gli altri trattamenti e identifica ogni eventuale differenza:

$$HSD = \frac{M_{max} - M_{min}}{\sqrt{MS_w \left(\frac{1}{n}\right)}}$$

Nella formula M_{max} e M_{min} indicano rispettivamente la media con il valore massimo e il valore minimo all'interno dei dati, MS_w è la media entro gruppi ed n è il loro numero.

I dati sono stati poi rappresentati con un grafico box-plot che evidenzia non solo le mediane IGS di ogni località, sito e stazione durante i mesi osservati, ma anche la distribuzione dei valori attraverso i quartili e le varianze positive e negative rispetto all'asse.

I risultati IGS sono stati successivamente messi in relazione con i dati relativi alla frequenza e intensità dei venti e con i risultati delle analisi istologiche (vedere sopra per la metodologia).

Nel mese di Agosto si sono introdotti nelle analisi statistiche due nuovi fattori: la percentuale della copertura algale nei siti di campionamento e l'habitat *P. oceanica* come comparazione a quello roccioso.

Dopo aver tradotto le coperture algali (vedere sopra per la metodologia), si sono rappresentate le percentuali delle alghe, classificate per gruppi di preferenza alimentare, in un istogramma a barre usando il programma grafico Sigmaplot.

Successivamente ne è stata analizzata la differenza tra località con un test di varianza. Visto che la natura dei dati in questo caso non soddisfaceva l'assunzione di normalità, si è deciso di applicare un test di regressione non lineare non parametrico.

Si è utilizzato un *General Linear Model* (GLM) per calcolare l'eventuale esistenza di una relazione significativa tra la percentuale di copertura delle alghe e due covariabili, nel nostro caso "località" e "sito".

Questo modello è stato applicato per ogni categoria di alga.

Il passo seguente è stato quello di caratterizzare le stazioni di prelievo, caratterizzando la massima varianza, sia in funzione degli IGS misurati per la taglia grande e media, che delle percentuali di coperture di tutte le categorie algali ritrovate con un'analisi multivariata (*Redundancy Analysis* – RDA).

L'ultima analisi della varianza degli habitat roccia e *P. oceanica* è stata effettuata attraverso una *Linear Model* parametrica.

Tutte le analisi sono state realizzate con il software R (*R development Core Team* 2010).

3. Risultati

3.1 - Analisi dell'andamento dell'IGS a livello regionale

L'andamento dell'indice gonadosomatico (IGS) delle popolazioni di Tavolara e di Su Pallosu è stato rappresentato su un piano cartesiano dove il peso totale dell'organismo è la variabile indipendente (x) e il peso delle sue gonadi la variabile dipendente (y) (fig. 17-18).

Per le due località si sono calcolate sia le curve di tendenza dell'IGS (*smoothing curve*) sia le rette di regressione lineare della correlazione x-y durante i mesi di campionamento. Naturalmente la correlazione tra il peso delle gonadi e il peso dell'individuo non può che essere lineare e altamente significativa per ambo le località (Tavolara $R^2 = 0.6$, p-value = $2.2E-16$; Su Pallosu $R^2 = 0.54$, p-value = $2.26E-16$); più il peso delle gonadi cresce, più il riccio è grande e quindi il suo peso è elevato.

A Tavolara i valori dell'IGS nella popolazione diminuiscono nel periodo di campionamento con scarto maggiore tra Luglio e Agosto (tab. 5). Nello specifico, partendo da valori nulli per la classe di taglia dei ricci più piccoli (peso delle gonadi = 0), le curve di tendenza dell'indice (*smoothing curves*) non si intersecano mai nei tre mesi di campionamento nonostante le forti oscillazioni che caratterizzano i valori del mese di Luglio (fig. 17).

La retta di regressione relativa alla relazione tra peso delle gonadi e il peso dell'individuo è più pendente nel mese di Giugno che a Luglio, che a sua volta è più pendente rispetto ad Agosto.

Tab. 5: IGS della popolazione di Tavolara per i tre mesi di campionamento

| Valori medi dell'IGS ± ES a Tavolara | |
|--------------------------------------|-------------|
| Giugno | 5.54 ± 0.32 |
| Luglio | 4.65 ± 0.28 |
| Agosto | 3.3 ± 0.21 |

I valori IGS a Su Pallosu nei mesi estivi si mantengono pressoché costanti (tab. 6). Le curve di tendenza si intersecano e non si discostano molto tra di loro almeno fino a quando non raggiungono i valori più elevati (fig. 18a). Le rette di regressione dei tre mesi hanno una pendenza praticamente uguale e gli intervalli di varianza sono altamente sovrapponibili (fig. 18b).

Tab. 6: IGS della popolazione di Su Pallosu per i tre mesi di campionamento

| Valori medi dell'IGS \pm ES a Su Pallosu | |
|--|-----------------|
| Giugno | 1.79 \pm 0.14 |
| Luglio | 1.98 \pm 0.11 |
| Agosto | 1.68 \pm 0.12 |

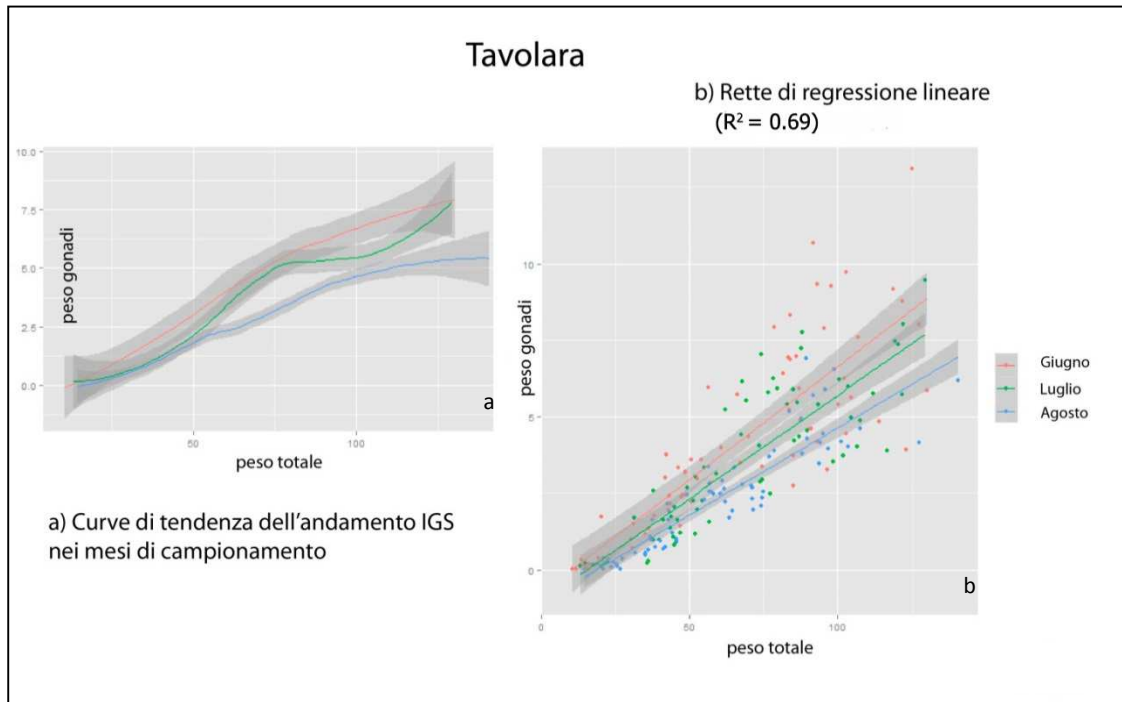


Fig. 17: Curve di tendenza (a) e rette di regressione lineare (b) dell'IGS di Tavolara

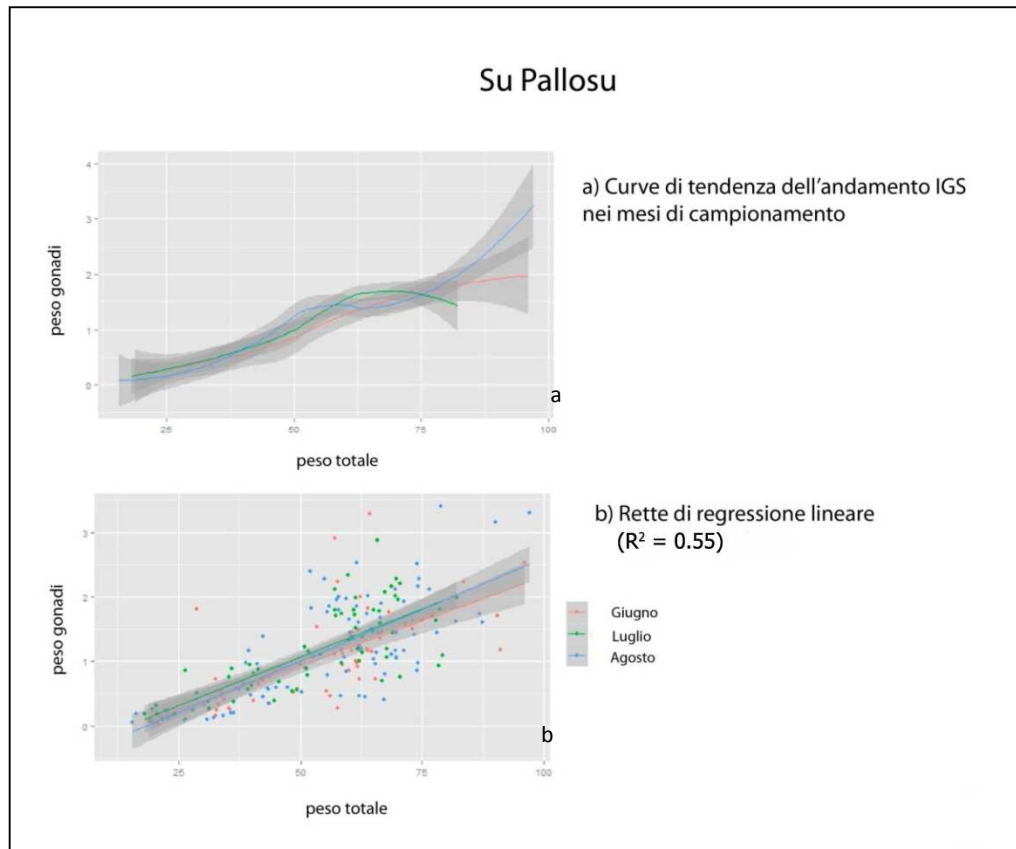


Fig. 18: Curve di tendenza (a) e rette di regressione lineare (b) dell'IGS di Su Pallosu

Le eventuali differenze fra i fattori ortogonali “mese” e “località” per la variabile IGS sono state analizzate mediante ANOVA a due fattori fissi. Dai risultati dell’analisi è emerso che tanto il fattore “mese” che il fattore “località”, con “sito” e “stazione” *nested*, sono altamente significativi ($p = 2.51E-07$; $p = 2E-16$ rispettivamente; vedi tab. 7).

Tab 7: Significatività emersa dall'ANOVA 2-way applicata sulla totalità dei campioni

| Fattori | Gradi di libertà | Somme dei quadrati | Medie dei quadrati | F - value | p - value | |
|-------------------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----|
| mese | 2 | 105.16 | 52.582 | 15.78 | 2.51E-07 | *** |
| località(sito(stazione)) | 4 | 689.12 | 172.279 | 51.70 | < 2E-16 | *** |
| mese*località(sito(stazione)) | 8 | 78.64 | 9.830 | 2.95 | 0.00323 | ** |

Anche il fattore incrociato “mese*località” è risultato altamente significativo; perciò solo su quest’ultimo è stato effettuato un Tukey test (appendice 3), che ha dato conferma all’analisi precedente.

In base a questi risultati si è realizzato anche un *Interaction plot* (fig. 19) che determina visivamente le differenze significative dell’andamento IGS durante i tre mesi di

campionamento per le due località. E' emersa una differenza altamente significativa del valore medio dell'indice tra le due località, evidenziata dalla netta separazione delle due linee, e una sua significativa diminuzione nel mese di Agosto a Tavolara (tab. 8; fig. 20) .

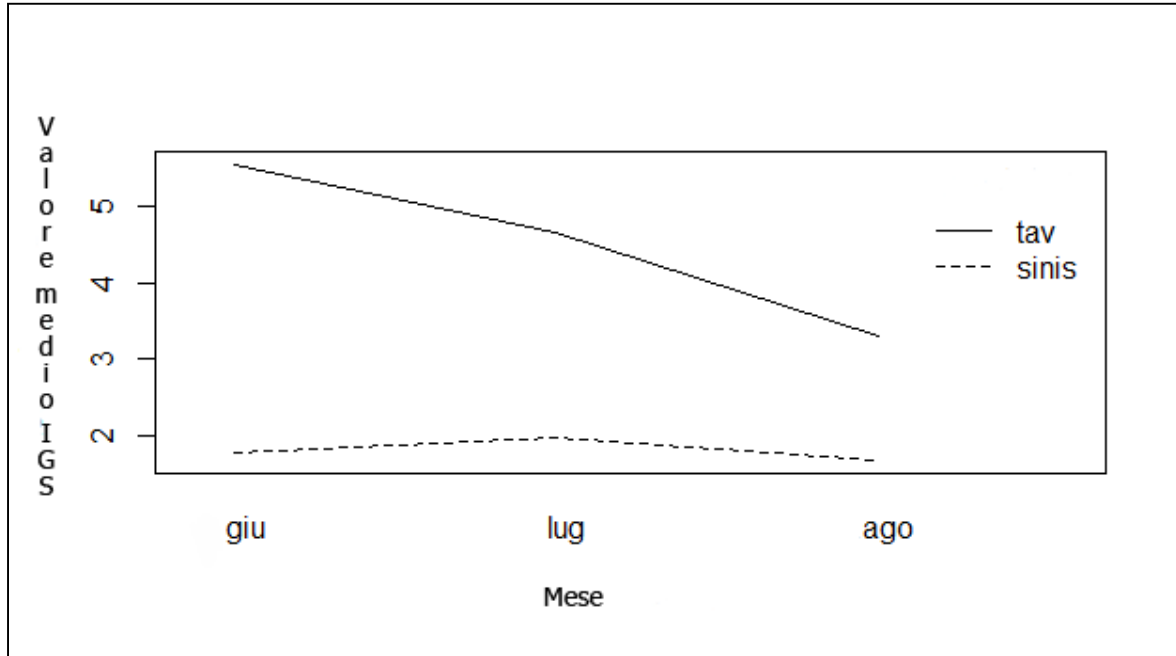


Fig. 19: Interaction plot a livello regionale lungo i tre mesi di campionamento

Tab 8: Valori medi dell'IGS \pm ES per Su Pallosu e Tavolara (Giugno, Luglio, Agosto)

| Su Pallosu | Tavolara |
|-----------------|-----------------|
| 1.82 \pm 0.01 | 4.50 \pm 0.07 |

Queste due differenze sono inoltre evidenziate graficamente nel *box-plot* (fig. 20) dove i valori dell'indice gonadico sono stati rappresentati per tutte le stazioni di campionamento nei tre mesi. In questo grafico si vede che le medie più alte dell'indice si riscontrano per entrambe le stazioni del sito A di Tavolara durante il mese di Giugno (Stazione A1: 6.12; Stazione A2: 5.80). Tuttavia le stazioni 1 e 2 di Tavolara non risultano essere significativamente diverse tra di loro, tanto meno sono state riscontrate differenze significative tra il sito A e B nella medesima località (riscontrato con il Tukey test). Per Su Pallosu non si riscontrano evidenti differenze a livello di sito e di stazioni, solo i valori medi delle stazioni del sito A scendono leggermente durante il mese di Agosto anche se senza significatività.

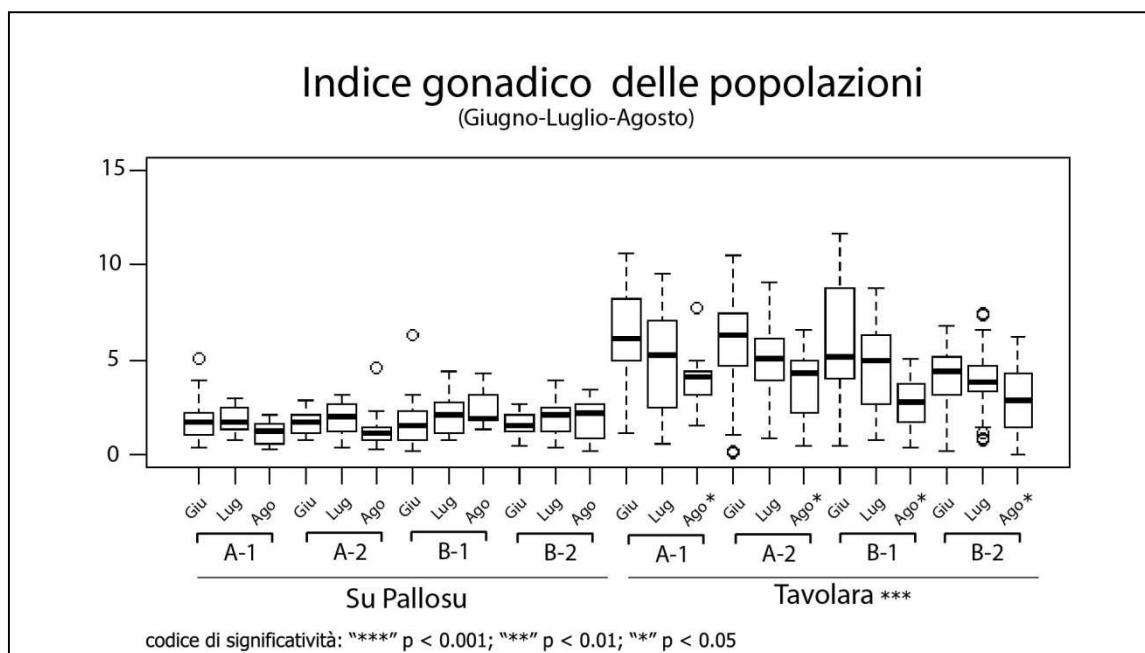


Fig.20: Box - plot dell'andamento dell'indice gonadosomatico delle popolazioni in esame

3.2 - Analisi istologiche e riconoscimento degli stadi di maturità

Il riconoscimento degli stadi di maturità è stato condotto seguendo la descrizione redatta da Byrne (1990). L'osservazione, avvenuta al microscopio ottico, ha permesso sia di confermare il sesso dei 48 campioni, sia di riconoscere lo stadio che rappresenta l'avanzamento nel ciclo riproduttivo. Sono stati scelti come rappresentativi del periodo di campionamento i mesi di Giugno e Agosto, in quanto mostravano valori medi di IGS diversi tra loro, probabilmente dovuto al fatto che *P. lividus* si trovava in due fasi del ciclo riproduttivo differenti.

In totale, sia per il sesso femminile che per quello maschile, sono stati riscontrati tre stadi di maturità: *recovery* (1), *partly spawned* (5) e *spent* (6).

La gonade femminile nello stadio 1 ha un aspetto vacuolato dato dalla proliferazione dei fagociti nutritivi (fig. 20a). Gli acini sono pieni, talvolta con pochi spazi vuoti dovuti al rilascio precedente dei gameti maturi e alla tardiva riformazione della matrice (fig. 20b); si possono osservare uova mature relitte che non sono ancora state fagocitate, e globuli violetti, basofili, che rappresentano uova fagocitate (fig. 20b). Lungo i bordi acinali si assiste alla formazione dei primi oociti (basofili) (fig 20).

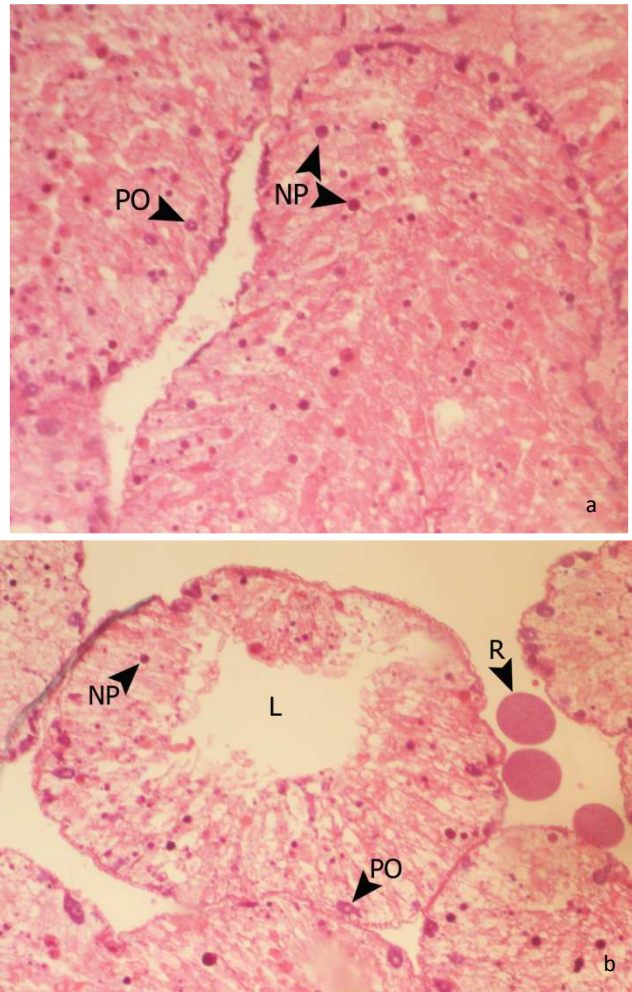


Fig. 20: Gonade femminile nello stadio di recovery; a), b) ingrandimento 100x. Legenda: PO – oociti primari; NP - fagociti nutritivi; R – uova relitte; L - lume dell'acino

La gonade maschile nello stadio 1 è ricca di materiale eosinofilo, fagociti nutritivi in ricostituzione (fig. 21). Gli acini possono talora presentare degli spazi vuoti (fig. 21b). Sono presenti spermatozoi residui che vengono fagocitati (fig. 21b). I primi spermatociti iniziano a formarsi lungo i bordi acinali (fig. 21).

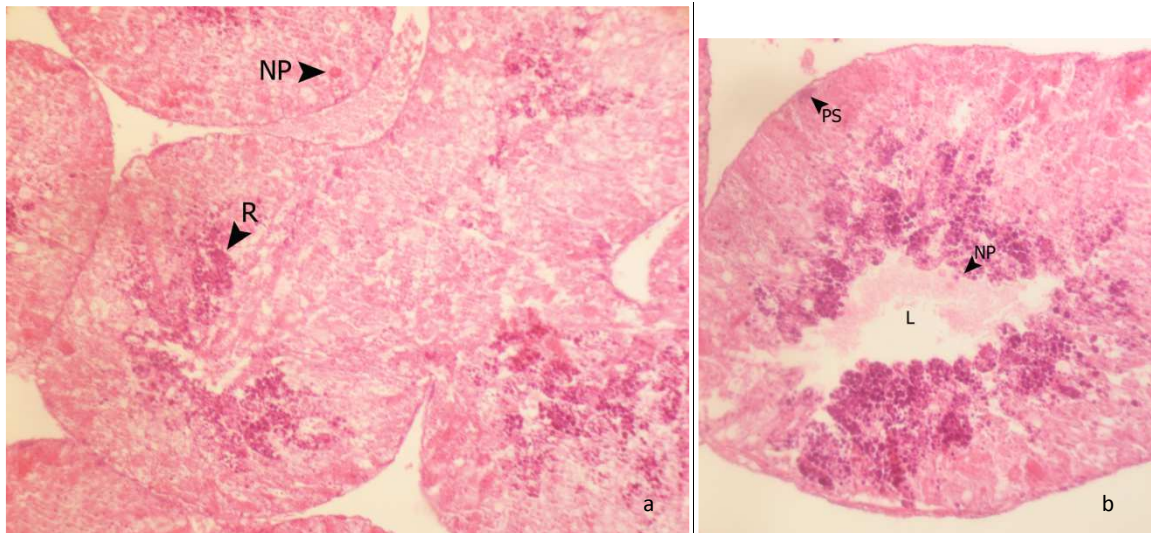


Fig. 21: Gonade maschile nello stadio di recovery; a) ingrandimento 100x; b) ingrandimento 200x. Legenda: NP – fagociti nutritivi; R – spermatozoi relitti; PS – spermatociti primari; L – lume dell’acino

L’ovario nello stadio 5 presenta uova mature (particolare in fig. 22b) al centro degli acini e nel gonodotto; tuttavia le uova presentano spazi vuoti tra di loro dovuti all’emissione parziale dei gameti (fig. 22a). Sono presenti oociti vitellogenici sparsi nella matrice e lungo i bordi acinali (fig. 22a).

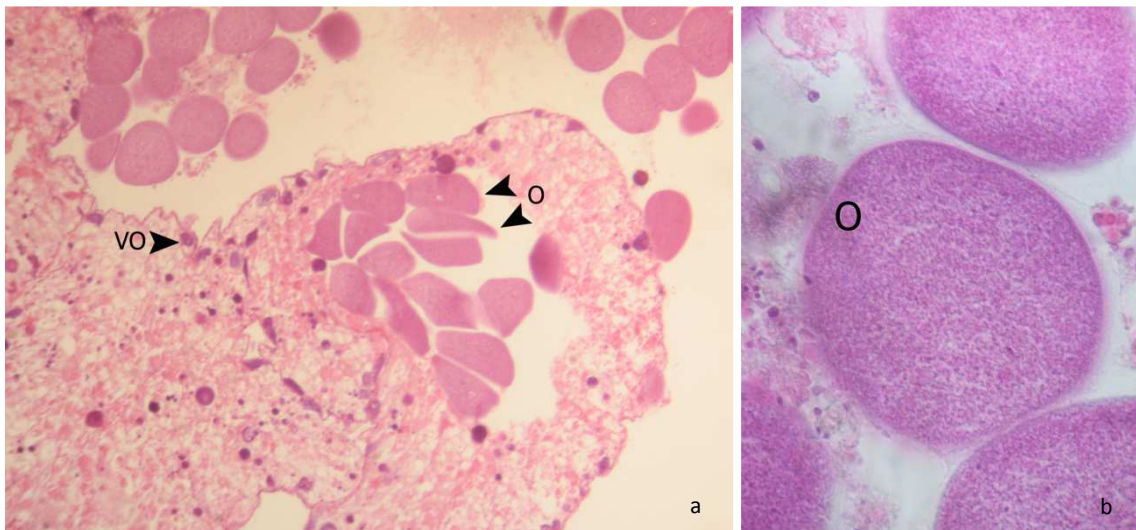


Fig. 22: Gonade femmine nello stadio di partly spawned; a) ingrandimento 100x; b) ingrandimento 1000x. Legenda: VO – uova vitellogeniche; O - uova

Il testicolo nello stadio 5 presenta ammassi ben visibili di spermatozoi maturi, nel lume degli acini e nel gonodotto, con evidenti spazi vuoti presenti a testimoniare la parziale emissione dei gameti (fig. 23 a-b).

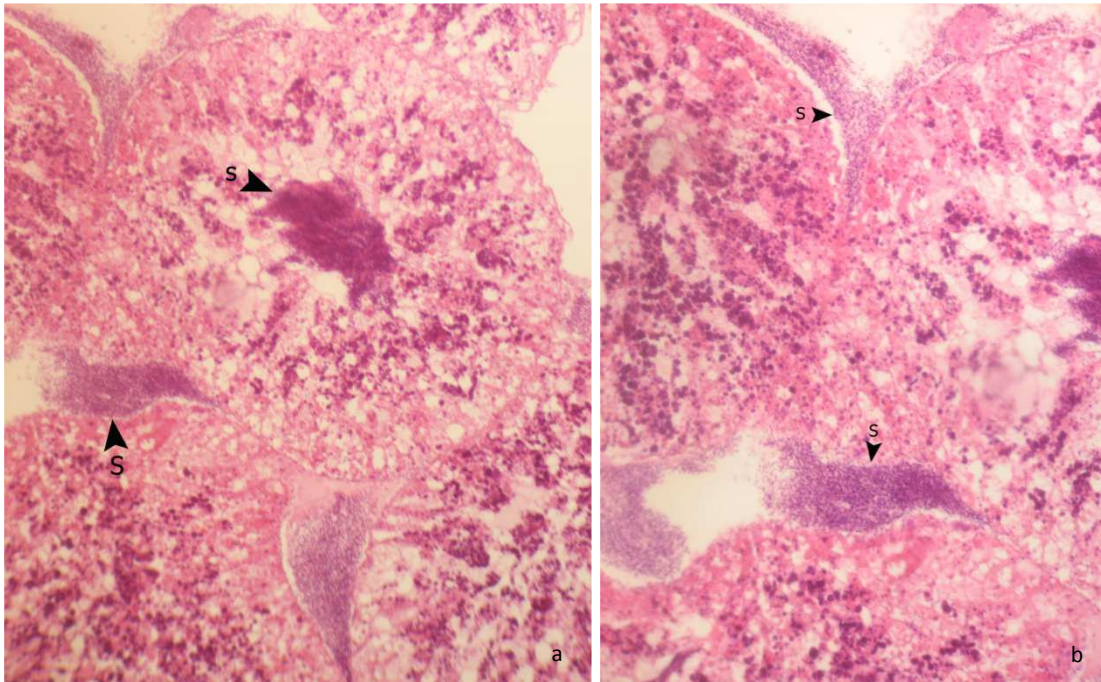


Fig. 23: Gonade maschile nello stadio di partly spawned; a) ingrandimento 100x; b) ingrandimento 200x. Legenda: S - spermatozoi

La gonade femminile nello stadio 6 presenta acini “svuotati” all’interno, con uova relitte in lisi (fig. 24a) o già fagocitate (globuli viola, basofili) (fig. 25 b-c). Possono essere presenti oociti di vario tipo che ancora non sono stati fagocitati (fig. 26a). I fagociti iniziano a prendere possesso delle aree prima occupate dalle uova mature.

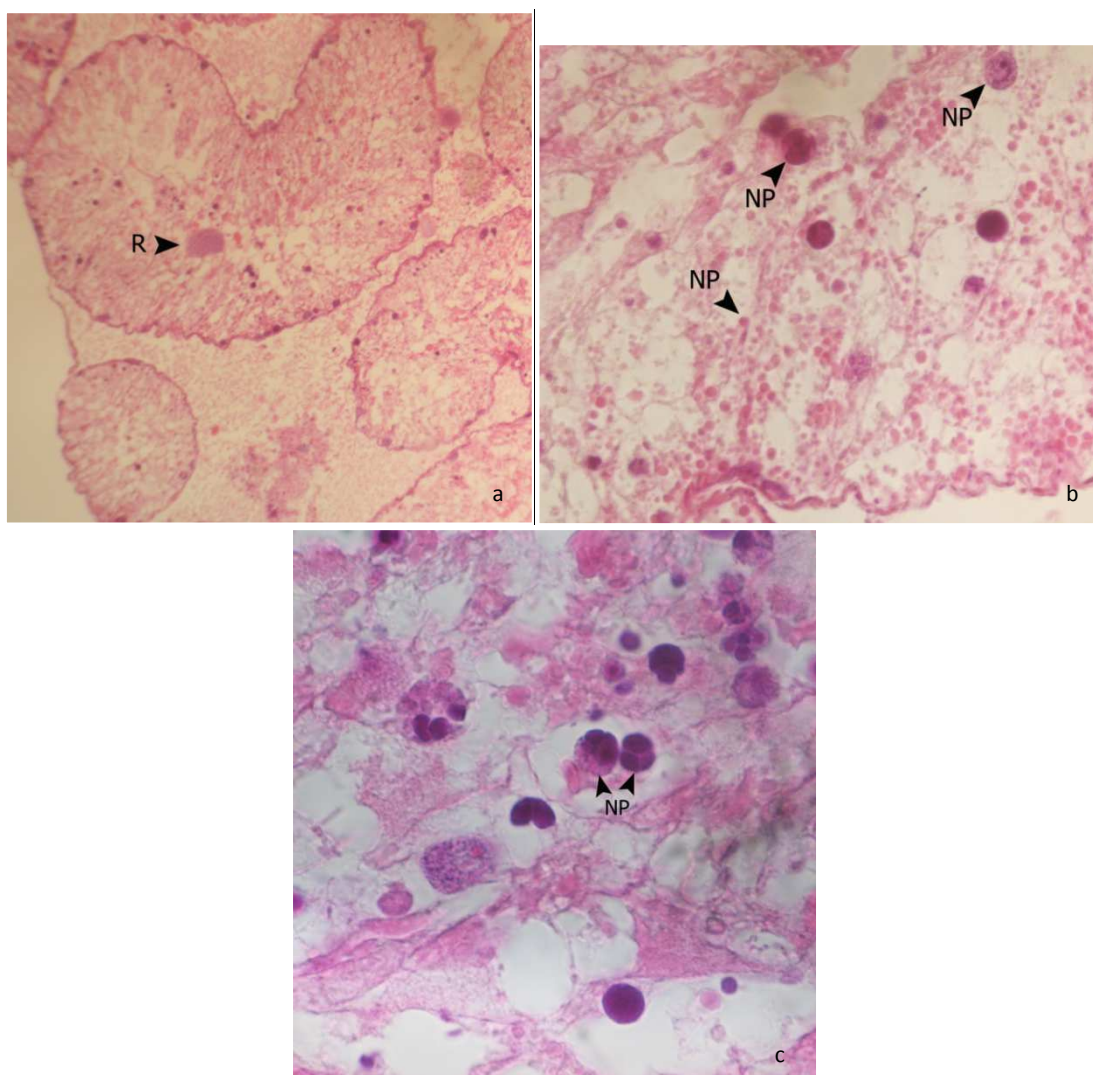


Fig. 24: Gonade femminile nello stadio di spent; a) ingrandimento 100x; b) ingrandimento 400x; c) ingrandimento 1000x. Legenda: R - uova relitte; NP – fagociti nutritivi

La gonade maschile nello stadio 6 mostra acini con pareti sottili e lume vuoto (fig. 25a), o al massimo con piccoli ammassi di spermatozoi maturi non emessi 8 (fig. 25a; particolare in fig. 25c), con una trama inconsistente di fagociti, che risultano in rigenerazione in periferia (fig. 25b). Sono diffusi spermatozoi in via di fagocitosi (fig. 25b).

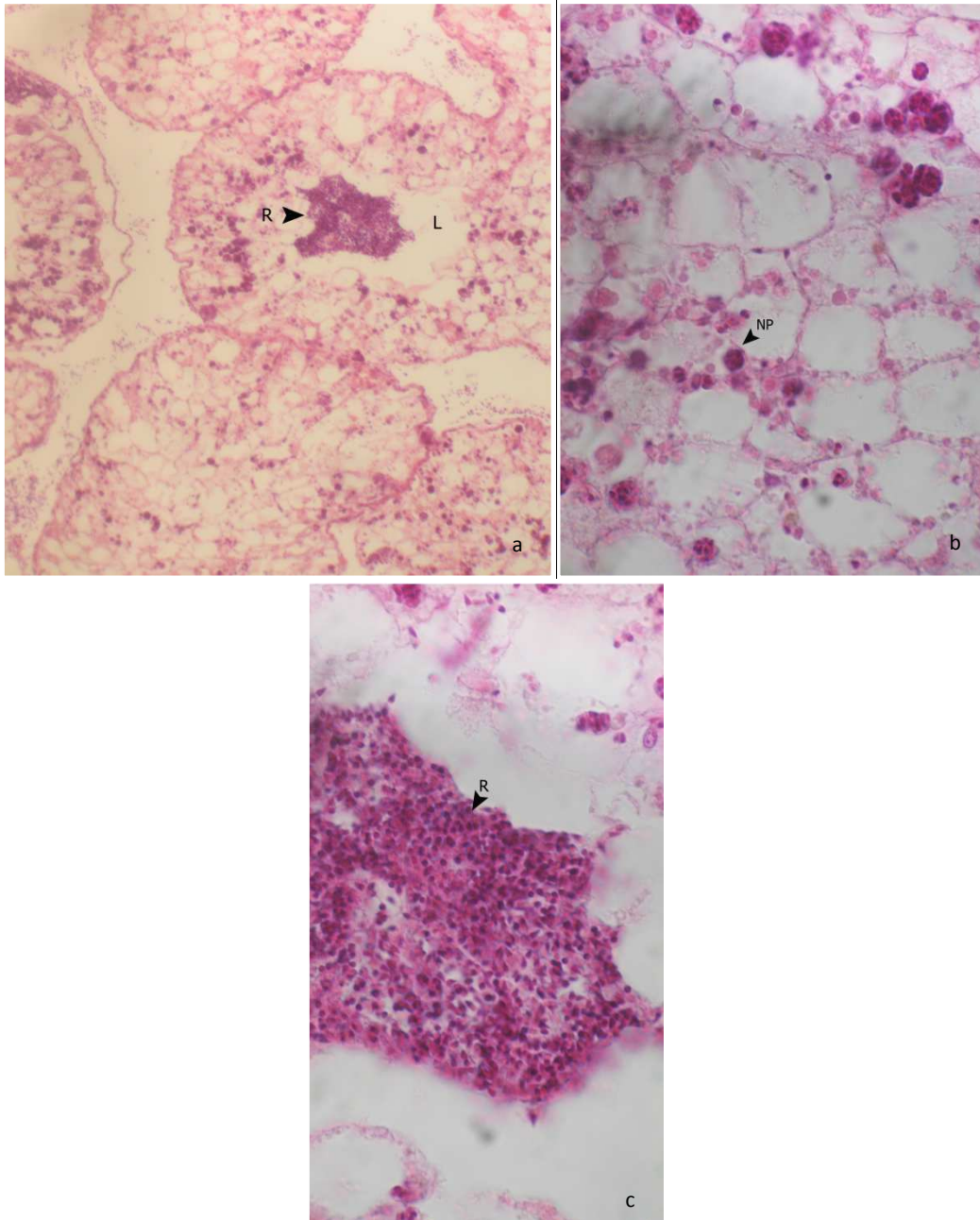


Fig. 25: Gonade maschile nello stadio di spent; a) ingrandimento 200x; b), c) ingrandimento 1000x. Legenda: L – lume dell'acino; R – spermatozoi relitti; NP – fagociti nutritivi

E' stata quindi realizzata un'analisi di frequenza degli stadi; i grafici a torta realizzati con Excel rappresentano le frequenze divise per località (Tavolara e Su Pallosu) per i due mesi. A Tavolara, nel mese di Giugno, il 92% degli organismi è alla fine del ciclo riproduttivo (stadio 5: *partly spawned*; stadio 6: *spent*) e solo l'8% degli individui aveva già ricominciato il ciclo riproduttivo (stadio 1: *recovery*) (fig. 26a). Ad Agosto, invece, la maggior parte degli individui di Tavolara si trovavano allo stadio 1 (67%), e solo un terzo circa era nella fase di spegnimento e svuotamento gonadico (stadio 6) (fig. 26b).

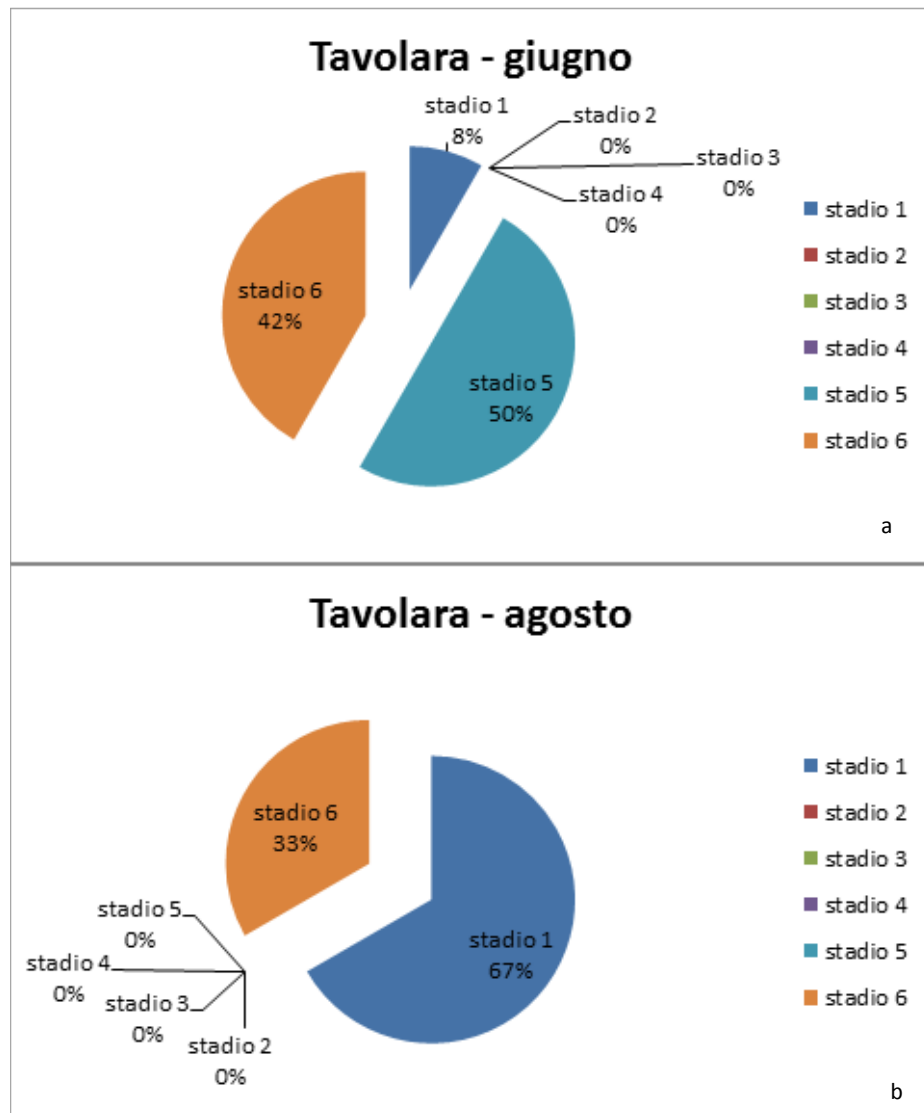


Fig. 26: stadi di maturità di *P. lividus* riscontrati a Tavolara nel mese di Giugno (a) e Agosto (b)

A Su Pallosu, nel mese di Giugno, non si sono osservati individui in fase di *spawning*, il 67% degli organismi esaminati era nello stadio di maturità 6, la restante parte nello stadio 1 (fig. 26a). Ad Agosto, le percentuali si ribaltano, con il 75% degli individui nella fase iniziale del ciclo riproduttivo (stadio 1) e solo il 25% al termine della stagione riproduttiva (fig. 26b).

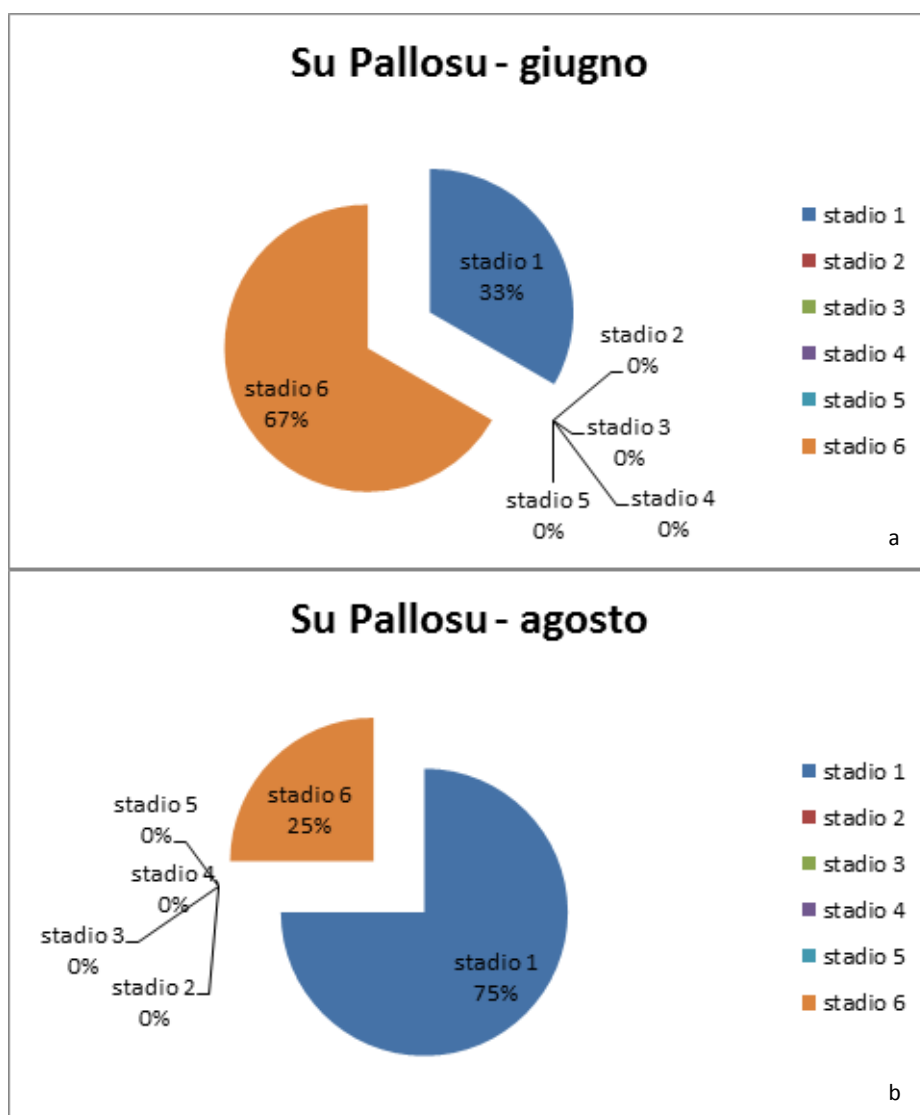


Fig. 27: stadi di maturità di *P. lividus* riscontrati a Su Pallosu nel mese di Giugno (a) e Agosto (b)

3.3 - Frequenza, intensità e direzione dei venti e andamento della temperatura nelle due località di prelievo

Sulla base dei dati meteorologici delle due località di prelievo, Olbia e Oristano, si sono costruiti i grafici relativi ai venti dominanti. Questi sono stati realizzati plottando la direzione secondo i gradi della rosa dei venti. La scala cromatica evidenzia l'intensità in nodi degli eventi mentre la lunghezza dei coni indica la frequenza mensile con cui i venti spirano.

Nella costa Orientale (Olbia) si evince come la componente eolica più importante nel periodo di campionamento sia quella proveniente da Nord - Est (45°) (fig. 28) con eventi ripartiti secondo la tabella 9. Tuttavia durante questo periodo gli eventi più importanti sono stati registrati con provenienza da Sud - Ovest (225°) con intensità intorno ai 20 nodi e una frequenza di poco più del 20%.

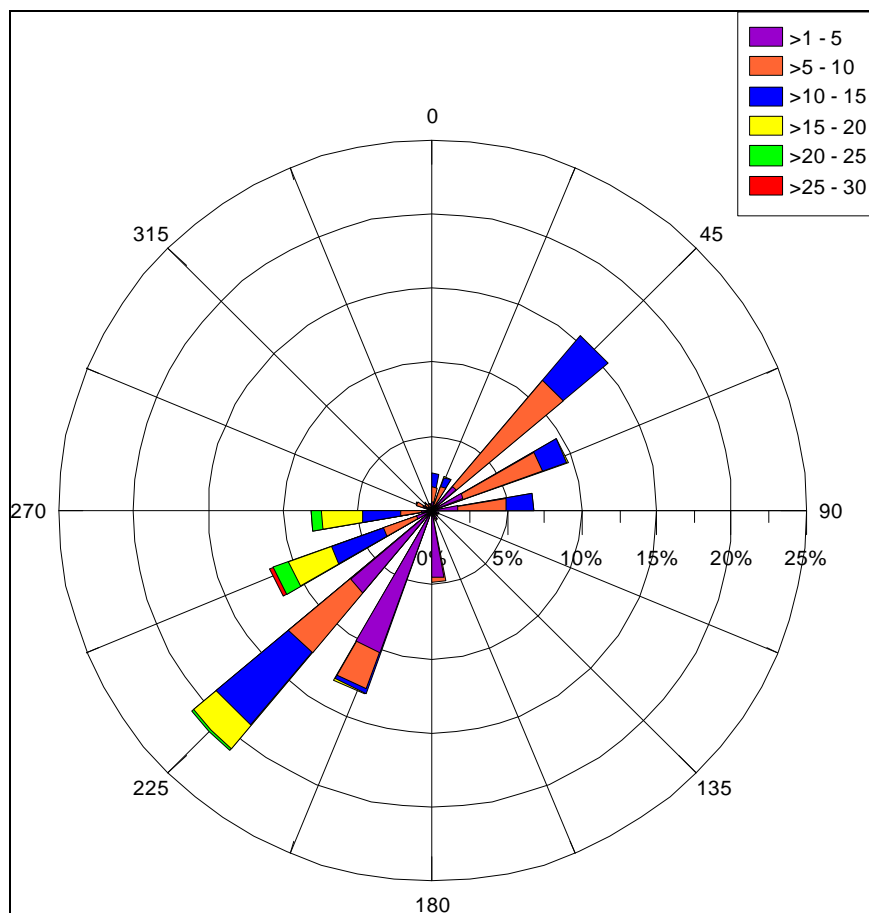


Fig. 28: Carta dei venti di Olbia

Tab. 9: percentuali di frequenza dell'intensità dei venti di Olbia

| Intensità in nodi | Frequenza mensile in percentuale |
|-------------------|----------------------------------|
| 5 -10 | 12 % |
| 10 - 15 | 16 % |

Per quanto riguarda la costa Occidentale (Oristano), i venti dominanti presentano una direzione preponderante da Nord – Ovest (315°) con un'intensità che va da 1 a 15 nodi (tab. 10 e fig. 29).

Tab. 10: percentuali di frequenza dell'intensità dei venti di Oristano

| Intensità in nodi | Frequenza mensile in percentuale |
|-------------------|----------------------------------|
| 1 – 5 | 6 % |
| 5 -10 | 14 % |
| 10 – 15 | 15 % |

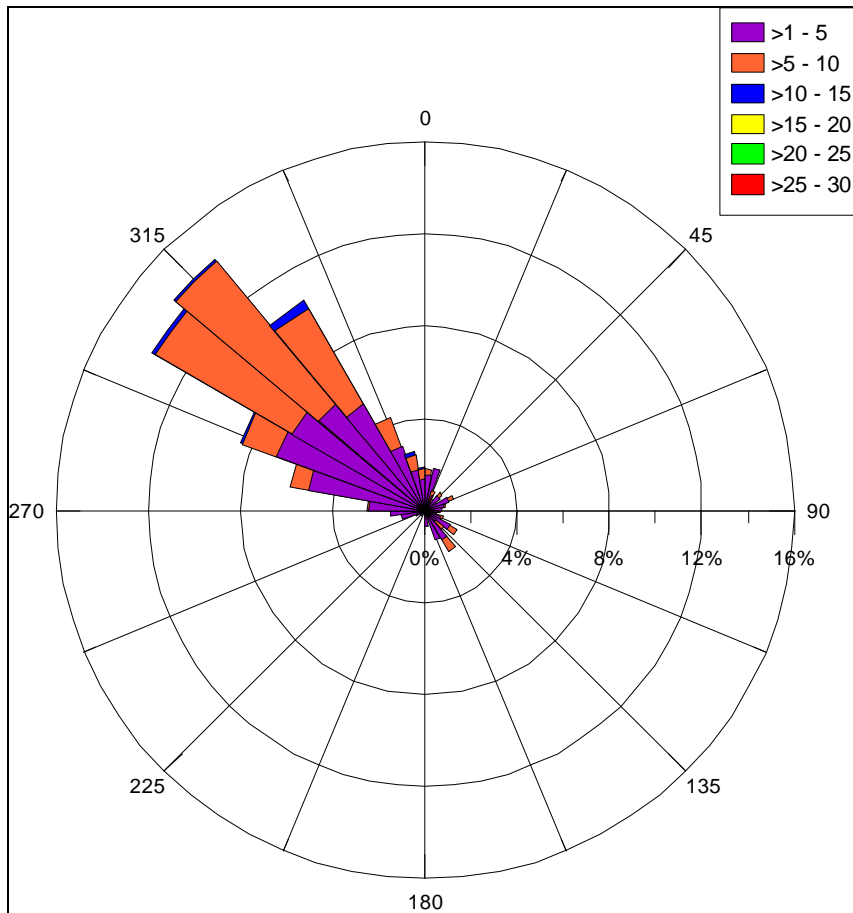


Fig. 29: Carta dei venti di Oristano

I dati della temperatura sono stati registrati per ogni mese di campionamento e sono riportati nella tabella 11, questi si riferiscono a entrambe le località di prelievo perché a Tavolara e Su Pallosu si sono rilevati gli stessi valori di temperatura.

Tab. 11: Valori delle temperature registrate nelle due località (Tavolara e Su Pallosu) nei 3 mesi di campionamento

| Temperatura (°C) | |
|------------------|------|
| Giugno | 18°C |
| Luglio | 21°C |
| Agosto | 26°C |

Dalla tabella è facilmente visibile un discreto innalzamento della temperatura soprattutto fra Giugno e Agosto, dove si registra infatti un aumento di circa 8 °C.

3.4 - Andamento dell'IGS relazionato alla copertura macroalgale bentonica dei siti di prelievo

I dati della copertura macroalgale sono stati elaborati con il programma Seascope e trasformati in dati percentuali; successivamente, sono stati rappresentati nell'istogramma (fig.30) raggruppati per categorie di appetibilità A, B, C, D ed E (Boudouresque e Verlaque, 2007).

Per l'analisi della varianza tra località il test non parametrico GLM, scelto perché i dati non seguivano una distribuzione normale, ha evidenziato che le categorie B ed E differiscono in modo altamente significativo tra località (valori di $p = 0.0025$ e $p = 0.00929$ rispettivamente), mentre A è quasi significativo (tab. 12).

Tab. 12: significatività emersa dal test GLM

| Categoria di appetibilità | Errore Standard | z - value | p-value |
|---------------------------|-----------------|-----------|-------------|
| A | 0.18634 | -1.901 | 0.0573 ° |
| B | 0.5388 | -3.024 | 0.0025 *** |
| D | 6965.801 | 0.000 | 1.000 |
| E | 0.1803 | 2.601 | 0.00929 *** |

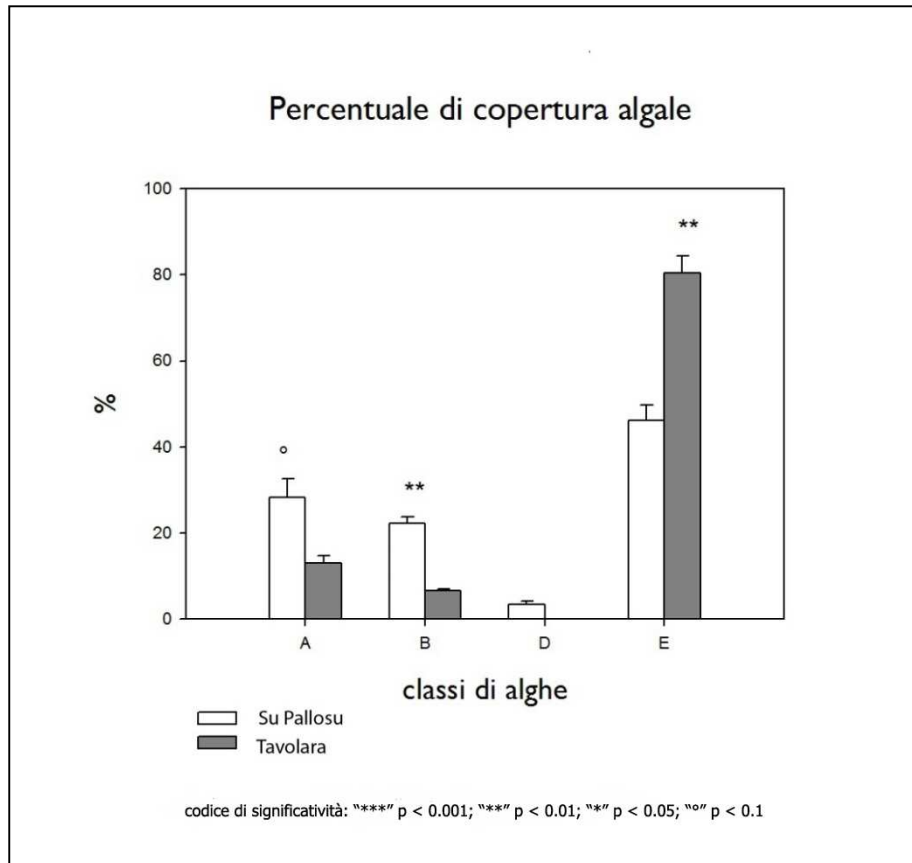


Fig. 30: Istogramma rappresentativo le coperture percentuali delle varie classi a livello regionale. Le specie vegetali sono suddivise secondo la categoria di appetibilità: A – *Cystoseira* spp., *P. pavonica*; B – *C. linum*, *C. rupestris*; D – *P. oceanica*, *C. lomation*, *L. viscida*; E – Rock, Sand, Turf

Le stazioni di campionamento sono state caratterizzate utilizzando un'analisi dei componenti principali (*Redundancy Analysis* - RDA) in relazione alla copertura algale e all'andamento IGS di tutte le stazioni incluse quelle dell'habitat *Posidonia* introdotte solo per il mese di Agosto (fig. 31).

Nell'analisi multivariata la componente principale RDA1 spiega l'87% della distribuzione dei punti mentre RDA2 il 12%.

Da questa analisi esplorativa si evince innanzitutto che le stazioni si caratterizzano lungo l'asse RDA1 sulla base della copertura delle categorie di appetibilità A e B, inoltre l'indice IGS cresce in direzione opposta e lungo l'asse RDA2 a seconda della classe di taglia (taglia media positiva, taglia grande negativa).

Le stazioni di campionamento di Tavolara si estendono lungo l'asse RDA2 nel quadrante negativo dove si trova il vettore E, in direzione contraria alle categorie di appetibilità A e B. Al contrario, le stazioni di Su Pallosu si raggruppano in direzione opposta a quelle di Tavolara e in stretta correlazione con l'andamento dei vettori A e B. Per ultimo, tre su quattro stazioni di

campionamento nell'habitat di *Posidonia* (Tavolara B1, Su Pallosu A1 e A2) si estendono lungo il secondo asse RDA2 e in stretta correlazione con il vettore D.

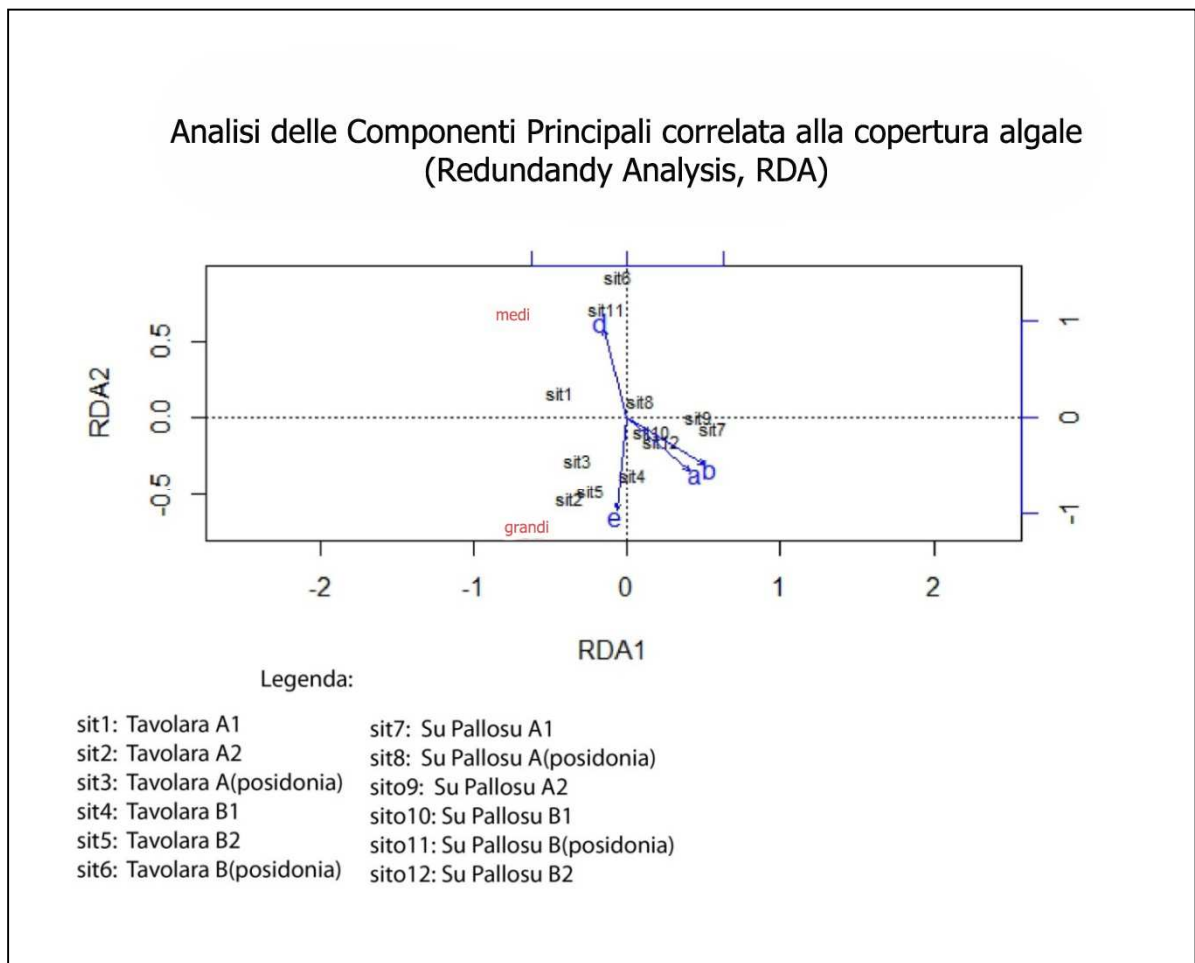


Fig. 31: RDA dei valori IGS relazionati alla copertura

3.5 - Andamento dell'IGS su roccia e in praterie di *P. oceanica*

L'ultima analisi statistica effettuata ha voluto fare un confronto degli indici IGS degli individui di *P. lividus* per taglia prelevati nei due principali habitat, quello di *P. oceanica* e di roccia.

In questa analisi della varianza è stato introdotto, oltre al fattore "habitat", il fattore "taglia" in quanto le indagini sono state eseguite su 10 esemplari di ricci per località appartenenti alla taglia grande (*Test diameter* esclusi gli aculei > 50 mm) e alla taglia media (*Test diameter* esclusi gli aculei compreso fra 40 e 50 mm).

Per questa analisi si è realizzata una regressione lineare (*Linear Model* – LM) con variabile dipendente i valori IGS e come variabili indipendenti i fattori "località" "taglia" e "habitat".

I risultati evidenziano differenze altamente significative per i fattori "taglia", "località" e per i fattori incrociati "taglia" con "habitat", "taglia" con "località" e "località" con "habitat"

(appendice 3). Vista l'elevata significatività del fattore "taglia" e di tutti i fattori incrociati con questo, si è deciso di mantenere la taglia come fattore fisso e ripetere l'analisi della varianza per osservare le differenze tra habitat e località (appendice 3).

I risultati di Su Pallosu si assiste a una situazione diversa, la taglia media ha mostrato una significatività sempre il fattore "habitat" (4.64E-06) (tab. 15), ma il Tukey test è risultato maggiormente significativo per i valori di IGS in *Posidonia* (3.069) che su roccia (1.189) (fig. 32a e tab. 16).

Tab. 15: Significatività emersa dall'ANOVA 2-way di Su Pallosu

| | Gradi di libertà | Somma dei quadrati | Media dei quadrati | F – value | P -value |
|---------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------|
| Habitat | 1 | 18.8034 | 18.8034 | 41.4674 | 4.64E-06 *** |
| Sito | 1 | 0.6135 | 0.6135 | 1.3530 | 0.2599 |
| Habitat:Sito | 1 | 0.1210 | 0.1210 | 0.2667 | 0.6118 |
| Residua | 23 | 15.4632 | 0.6723 | | |

Tab. 16: Significatività dei valori IGS dei ricci di entrambe le taglie a Su Pallosu in seguito all'applicazione del Tukey test

| | <i>Posidonia</i> | Roccia | |
|----------------------|------------------|--------|-----|
| Taglia Grande | 2.543 | 2.205 | |
| Taglia Media | 3.069 | 1.189 | *** |

Al contrario a Tavolara per la taglia adulta mostrano una differenza altamente significativa dei valori IGS rispetto al fattore "habitat" ($p = 0.0009259$; vedi tab. 13). Il Tukey test evidenzia che i valori sono maggiori nell'habitat roccioso che non in *Posidonia* (4.855 e 3.214 rispettivamente; fig. 32b e tab. 14).

Tab. 13: Significatività emersa dall'ANOVA 2-way di Tavolara

| | Gradi di libertà | Somma dei quadrati | Media dei quadrati | F – value | P -value |
|---------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|---------------|
| Sito | 1 | 6.689 | 6.6890 | 7.5271 | 0.0115734 * |
| Habitat | 1 | 12.824 | 12.8241 | 14.4309 | 0.0009259 *** |
| Sito:Habitat | 1 | 4.5040 | 4.5040 | 5.0683 | 0.0342223 * |
| Residua | 23 | 20.439 | 0.8887 | | |

Tab. 14: Significatività dei valori IGS dei ricci di entrambe le taglie a Tavolara in seguito all'applicazione del Tukey test

| | <i>Posidonia</i> | | <i>Roccia</i> |
|----------------------|------------------|-----|---------------|
| Taglia Grande | 3.214 | *** | 4.855 |
| Taglia Media | 2.925 | | 2.511 |

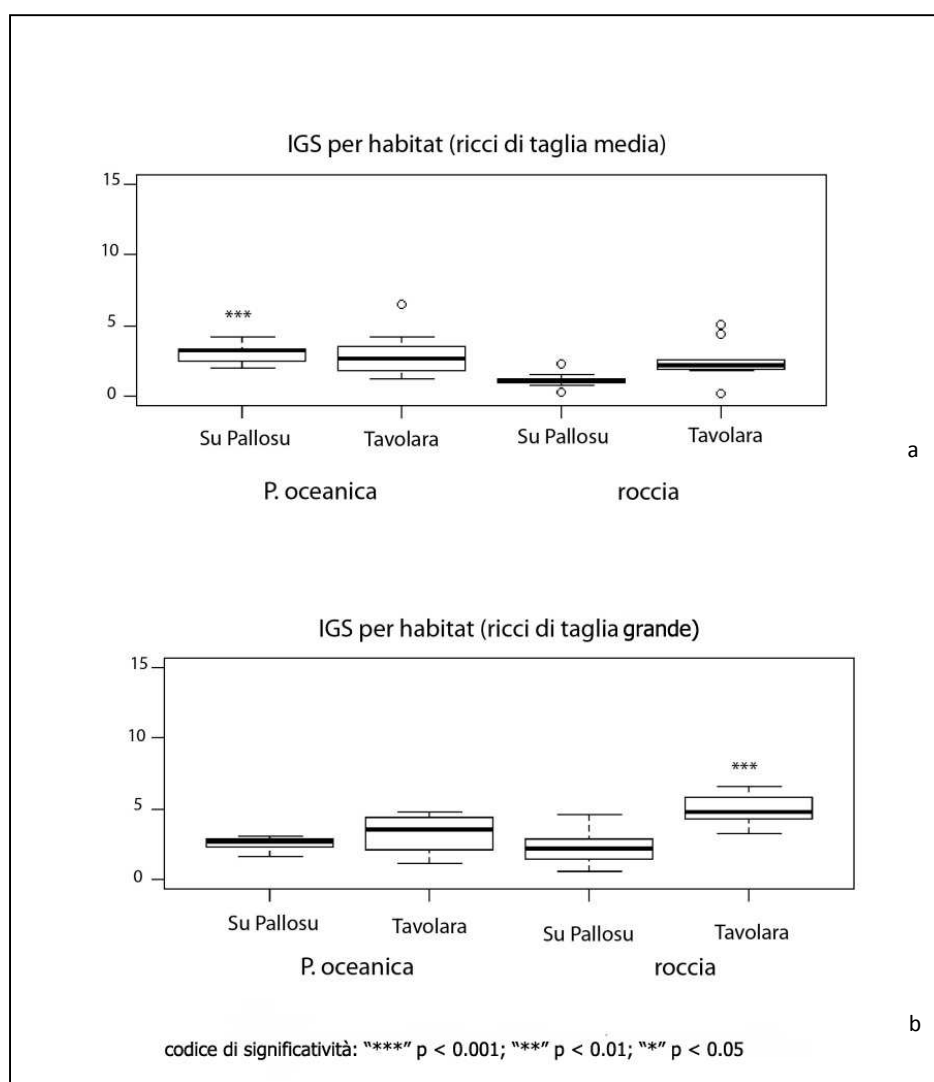


Fig. 32: Andamento dell'IGS della taglia media (a) e taglia grande (b) in relazione agli habitat *Posidonia* e *Roccia*

4. Discussione

I risultati dei valori IGS dimostrano che esistono differenze significative su scala regionale e tra alcuni mesi di campionamento, ma non a scala locale (siti e stazioni). Nello specifico a Tavolara l'IGS risulta significativamente più elevato che a Su Pallosu nonostante segua un trend decrescente. In Agosto, infatti, i valori di Tavolara si avvicinano maggiormente a quelli di Su Pallosu, dove invece si mantengono abbastanza stabili per tutto il periodo di campionamento.

Lo studio dell'andamento dell'IGS è stato supportato dall'analisi istologica, permettendo così di verificare le condizioni di maturità delle gonadi e quindi lo stadio del ciclo riproduttivo degli individui campionati. Per questo motivo le analisi dell'andamento dell'indice gonadosomatico, supportate dalle analisi istologiche delle gonadi, forniscono un quadro completo del ciclo riproduttivo di *P. lividus* (Byrne, 1990).

Grazie alle analisi istologiche si è confermato che le popolazioni si trovavano nelle fasi finali del loro ciclo riproduttivo (stadio 5: *partly spawned*; stadio 6: *spent*) o in quelle iniziali di uno nuovo (stadio 1: *recovery*), ed è stata messa in evidenza una leggera desincronizzazione tra gli stadi di maturità. A Tavolara nel mese di Giugno la metà delle gonadi analizzate indicano che gli individui si trovavano in uno stadio avanzato di maturità, con presenza di gameti maturi, anche se non abbondanti, in ovari e testicoli. Questo è un sintomo di un fenomeno di *spawning* già avviato; a riprova di ciò, l'IGS medio registrato in questo mese a Tavolara è sufficientemente elevato ma comunque non come nel periodo di *prespawning* in cui la specie può raggiungere valori anche ben superiori a 10 (Crapp e Willis, 1975; Byrne 1990, Sanchez – Sánchez España *et al.*, 2004).

Al contrario a Su Pallosu le gonadi sono tutte già in fase di spegnimento o addirittura di rinnovo (stadio 5: *partly spawned*; stadio 6: *spent*). Nel mese di Agosto, invece la maggior parte dei campioni di entrambe le località sono in fase di rinnovo (stadio 1: *recovery*).

Dai risultati delle analisi dell'IGS e da quelle istologiche possiamo quindi affermare che l'emissione principale per entrambe le popolazioni sia avvenuta in tarda primavera, prima del campionamento di Giugno (Fenaux, 1968; Byrne, 1990; Haya de la Sierra, 1990; Pedrotti, 1993; Catoira, 1995; Lozano *et al.*, 1995; Fernández e Boudouresque, 1997; Guettaf, 1997; Spirlet *et al.*, 1998; Sánchez-España *et al.*, 2004; Bayed *et al.*, 2005; Barbaglio *et al.*, 2007; Sellem e Guillou, 2007). Tuttavia a Tavolara la differenza riscontrata tra i valori IGS di Giugno - Luglio e quelli di Agosto lasciano pensare che in questa località la deposizione dei gameti si sia protratta maggiormente nel tempo rispetto a Su Pallosu dove le gonadi sono sempre state trovate vuote.

Esistono vari fattori da cui può dipendere l'emissione di gameti in una popolazione di *P. lividus*, per esempio l'idrodinamismo, la temperatura dell'acqua o la disponibilità trofica. Nel nostro caso di studio l'elevato idrodinamismo potrebbe giocare un ruolo chiave sul ciclo riproduttivo della popolazione di Su Pallosu, mentre l'aumento di temperatura potrebbe aver determinato un'ultima fase di emissione estiva a Tavolara.

Infatti l'analisi della frequenza dei venti dimostra che Su Pallosu, diversamente da Tavolara, è una località estremamente esposta al moto ondoso.

Il moto ondoso si genera già quando un vento spira con intensità da 4 nodi in su e, dall'analisi dei grafici, si nota che la costa Ovest nell'arco dei tre mesi è sempre stata battuta da eventi di Maestrale (Nord - Ovest) con intensità e frequenza sufficienti a generare un pronunciato moto ondoso (intensità da 1 a 5 nodi con una frequenza del 6%; intensità dai 5 ai 10 nodi con una frequenza del 14%, intensità da 10 a 15 nodi con una frequenza del 15%). Al contrario, nella costa Est, per tutto il periodo di studio, l'unico vento in grado di generare un importante moto ondoso è stato il Grecale (Nord - Est) che però ha spirato con una frequenza mensile molto più bassa.

Le forze idrodinamiche essendo uno dei fattori di stress che affliggono *P. lividus*, influenzano direttamente il ciclo riproduttivo, soprattutto nel momento di *spawning*. (Lozano *et al.*, 1995; Guettaf *et al.*, 2000; Sánchez-España *et al.*, 2004; Sellem e Guillou, 2007; Gianguzza *et al.*, 2012). È ragionevole quindi supporre che la popolazione di Su Pallosu ha sofferto una condizione di stress per idrodinamismo e che ha indotto a un'emissione anticipata rispetto alla popolazione di Tavolara. Questa ipotesi spiegherebbe perché nel mese di Giugno i valori IGS di Su Pallosu siano più bassi e le gonadi analizzate siano già tutte nella fase di spegnimento o di rinnovo (stadio 6: *spent*; stadio 1: *recovery*), a differenza di Tavolara, dove i valori IGS sono molto più alti e la metà delle gonadi campionate si trovano ancora nella fase di *spawning*.

A Tavolara invece i valori degli indici gonadosomatici e lo stadio di maturità delle gonadi campionate nei mesi estivi potrebbero essere dipesi da altri fattori, quali per esempio l'aumento di otto gradi della temperatura dell'acqua tra Giugno e Agosto.

L'aumento di temperatura dovuto al cambio di stagione può determinare l'emissione dei gameti (Lozano *et al.*, 1995; Fabbrocini e D'Adamo, 2004, Shpigel *et al.*, 2004) e, con ogni probabilità, questo fattore è stato una delle cause principali di emissione avvenuta a Tavolara prima dei campionamenti. Tuttavia, le condizioni favorevoli per l'assenza di moto ondoso e l'aumento di temperatura di ben otto gradi registrato tra Giugno e Agosto, potrebbe aver determinato la significativa diminuzione del valore IGS del mese di Agosto rispetto a quelli di Luglio e Giugno.

Tuttavia anche la disponibilità alimentare è un fattore chiave che potrebbe influenzare il ciclo gametogenico nelle gonadi (Regis, 1979; Fenaux, 1968; Lozano *et al.*, 1995; Guettaf, 2000). Per questo motivo è stata effettuata anche un'analisi sulla relazione del ciclo di riproduzione con la disponibilità alimentare e con i diversi habitat che i ricci popolano. Ma, poiché non si sono condotte analisi del contenuto stomacale, si può solo approssimare l'alimentazione degli organismi con le specie vegetali che ricoprono i fondali delle due località studiate. I gruppi di alghe classificati secondo l'indice Boudouresque e Verlaque (2007), in relazione al loro grado di appetibilità, influenzano la velocità con cui si sviluppano le gonadi e, di conseguenza, contribuiscono a determinare lo stadio del ciclo riproduttivo in cui si trovano gli individui.

L'analisi della copertura algale evidenzia che i substrati rocciosi sia di Tavolara che di Su Pallosu si caratterizzano principalmente per la presenza di alghe *turf* e quindi di categoria E. Le percentuali dei gruppi di alghe più appetibili (categoria A e B) a Tavolara si trovano in quantità più bassa che a Su Pallosu.

Tuttavia i valori dell'indice gonadosomatico sono mediamente più elevati a Tavolara, il che indicherebbe che la disponibilità alimentare non è un fattore limitante per lo sviluppo gonadico in questo contesto.

Inoltre, la minor incidenza del moto ondoso su Tavolara favorirebbe gli individui grandi a spingersi a pascolare indisturbati le alghe che ricoprono i substrati rocciosi degli spazi più esposti.

Al contrario, a Su Pallosu la disponibilità alimentare di alghe A e B è stimata più alta nonostante i valori degli indici IGS siano più bassi. L'elevato moto ondoso che caratterizza la zona sembra giocare un ruolo di primo piano sul ciclo di riproduzione e potrebbe influire anche sui regimi di pascolo della popolazione. Per ripararsi dalle frequenti mareggiate, non solo i ricci più vulnerabili di taglia media ma anche i ricci di taglia grande si devono proteggere per la maggior parte del tempo in anfratti e buchi tra le rocce (osservazioni dirette durante il campionamento; Lawrence, 2013). In questo modo gli individui accedono per minor tempo e con maggior difficoltà alle risorse alimentare più lontane dai loro rifugi.

Questa ipotesi giustificherebbe non solo le differenze di IGS in relazione alla stima delle alghe appetibili riscontrate nelle località, ma anche i risultati del confronto dei valori IGS trovati per i ricci che vivono in habitat di *P. oceanica* con quelli che popolano il substrato roccioso. A Su Pallosu i ricci di taglia media campionati nelle praterie di *P. oceanica* hanno un IGS significativamente più alto rispetto a quello campionati su roccia.

I ricci di taglia media sono quelli più esposti ai fattori di stress come per esempio il moto ondoso o la predazione (Pages *et al.*, 2012).

A Su Pallosu i ricci di taglia media che si trovano in praterie continue di *Posidonia* potrebbero trovarsi in una situazione di stress più bassa che non quelli che vivono su roccia (Guidetti, 2000; Farina *et al.* 2009). Se così fosse si potrebbe ipotizzare che i ricci in *Posidonia* potrebbero accrescere le gonadi più velocemente che non quelli su roccia, alimentandosi degli epifiti presenti sulla foglie di questa pianta (Tomas *et al.* 2005; Boudouresque e Verlaque 2007).

Viceversa a Tavolara sono i ricci di taglia grande che vivono su roccia ad avere valori IGS più elevati di quelli che vivono nelle praterie.

I ricci adulti di taglia grande hanno ormai raggiunto delle dimensioni tali da non correre più il rischio di essere predati (Sala e Zabala, 1996) e, la zona di Tavolara è più protetta dal moto ondoso che quella di Su Pallosu.

Inoltre anche altri possibili fattori che modificano la distribuzione di taglia della popolazione nei diversi habitat, come per esempio quelli di natura antropica (la pesca) sono mitigati nell'area marina protetta.

Tutte queste condizioni fanno sì che la distribuzione dei ricci nel paesaggio dipenda basicamente solo da un unico fattore: la disponibilità alimentare. L'assenza di pericoli indurrebbe gli adulti di taglia grande ad insediarsi nelle zone con alta disponibilità trofica, come per esempio i substrati rocciosi coperti da alghe A e B.

In questa condizione così favorevole gli adulti di taglia grande accrescerebbero le loro gonadi più in fretta di quelli che si alimenterebbero di epifiti in *P. oceanica*.

5. Conclusioni

L'indice gonadosomatico si è rivelato, assieme all'analisi istologica delle gonadi, un ottimo strumento per la stima del ciclo riproduttivo del riccio di mare, e ha evidenziato nei 3 mesi campionamento, una possibile desincronizzazione dei cicli riproduttivi delle due popolazioni prese in esame.

Questa differenza a scala regionale sembra essere una conseguenza delle diverse condizioni di idrodinamismo che caratterizzano le due località di studio.

A Tavolara l'idrodinamismo non sembra aver giocato un ruolo così importante come a Su Pallosu, dove invece sembra essere stato il fattore limitante.

Tuttavia a Tavolara neanche la percentuale di ricoprimento algale è limitante alla crescita gonadosomatica, visto che le differenze di ricoprimento algale ritrovate sono inverse alle differenze dei valori IGS stimati nella località.

A livello locale le gonadi della popolazione di Tavolara sono significativamente più piccole durante il mese di Agosto, ciò potrebbe essere imputato all'importante incremento di temperatura registrato durante questo periodo in assenza di un elevato moto ondoso.

In definitiva si può supporre che la popolazione di *P. lividus* di Tavolara goda di una protezione aggiuntiva derivata dall'effetto dell'AMP di Tavolara – Punta Coda Cavallo. Qui infatti i ricci non sono soggetti a stress di natura antropica, quali la pesca; questo è anche confermato dalle maggiori dimensioni degli organismi (*Test diameter*) che sono state registrate durante i campionamenti. È possibile quindi che l'assenza di un elevato sforzo di pesca a Tavolara possa aver permesso la crescita indisturbata degli esemplari di *P. lividus*. Sapendo inoltre che questo echinoderma è un importante pascolatore (Benedetti-Cecchi *et al.*, 1998; Sala *et al.*, 1998; Barnes *et al.*, 2002), la più bassa percentuale di macroalghe bentoniche a Tavolara rispetto a Su Pallosu, potrebbe attribuirsi ad un'attività di *grazing* degli adulti di taglia grande anche in zone aperte soggette ad attività di predazione ma non forte moto ondoso.

Al contrario, la popolazione di Su Pallosu sembra essere soggetta a stress sia dovuto a fattori ambientali, come il frequente moto ondoso, che a fattori di natura antropica come la pesca.

In queste condizioni anche i ricci di taglia grande potrebbero essere limitati nelle azioni di pascolo ad aree limitrofe ai loro rifugi.

6. Bibliografia

- Allain J.Y. (1975). Structure des populations de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea) soumises à la pêche sur les côtes Nord de Bretagne. *Rev Trav Pêches Marit*, **39**(2): 171 – 212.
- AA.VV. (2011). Caratterizzazione geologica, sedimentologica e morfologica dell'area marina e del litorale antistante il SIC ITB032228 Is Arenas. Pp. 48.
- Azzolina J.F. (1988). Contribution à l'étude de la dynamique des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lmck.). Croissance, recrutement, mortalité, migrations, Thèse Doct, Univ Aix-Marseille 2.
- Azzolina J.F., Willsie A. (1987). Abondance des juvéniles de *Paracentrotus lividus* au sein de l'herbier à *Posidonia oceanica*. In: Boudouresque C. F. (ed.) *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, GIS Posidonie, Marseilles, 159 – 167.
- Bacallado J.J., Moreno E., Pérez Ruzafa A. (1985). Echinodermata (Canary Island) – provisional checklist. In: Keegan B. F., O'Connor B. D. (eds) *Echinodermata*. A. A. Balkema, Rotterdam, 149 – 151.
- Barbaglio A., Sugni M., Di Benedetto C., Bonasoro F., Schnell S., Lavado R., Porte C., Candia Carnevali D.M. (2007). Gametogenesis correlated with steroid during the gonadal cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). *Comp Biochem Physiol*, **Part A 147**: 466 – 474.
- Barnes D.K.A., Verling D.K.A., Crook A., Davidson I., O'Mahoney M. (2002). Local populations disappearance follows (20 yr after) cycle collapse in a pivotal ecological species. *Mar Ecol Progr Ser*, **226**: 311 – 313.
- Bayed A., Quiniou F., Benrha A., Guillou M. (2005). The *Paracentrotus lividus* populations from the northern Moroccan Atlantic coast: growth, reproduction and health condition. *J Mar Biol Ass UK*, **85**: 999 – 1007.
- Beddingfield S.D., McClintock (1998). Differential survivorship, reproduction, growth and nutrient allocation in the regular echinoid *Lytechinus variegatus* (Lamarck) fed natural diets. *J Exp Mar Biol Ecol*, **226**: 195 – 215.
- Benedetti-Cecchi L., Cinelli F. (1995). Habitat heterogeneity, sea urchin grazing and distribution of algae in littoral rock pools on the west coast of Italy (Western Mediterranean). *Mar Ecol Prog Ser*, **126**: 203 – 212.
- Böttger S.A., Walker C.W., Unuma T. (2004). Care and maintenance of adult echinoderms. *Methods Cell Biol*, **74**: 17 - 38.
- Boudouresque C.F., Verlaque M. (2001). Ecology of *Paracentrotus lividus*. *Dev Aquac Fish Sci*, **32**: 177 - 216.

- Boudouresque C.F., Verlaque M. (2007). Ecology of *Paracentrotus lividus*. *Dev Aquac Fish Sci*, **37**: 243 - 285.
- Boudouresque C.F. Rodríguez – Prieto C., Arrighi F. (1993). Place de *Caulerpa prolifera* (Chlorophyta) dans les préférences alimentaires de l'oursin *Paracentrotus lividus*. *Trav Sci Parc Nat Rég Rés Nat Corse*, **41**: 41 - 51.
- Byrne M. (1990). Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the West coast of Ireland. *Mar Biol*, **104**: 275 – 289.
- Byrne M., Andrew N.L., Worthington D.G. (1998). Reproduction in the diadematoïd sea urchin *Centrostephanus rodgersii* in contrasting habitats along the coast of New South Wales, Australia. *Mar Biol*, **132**: 305 – 318.
- Catoira J.L. (1995). Spatial and temporal evolution of the gonad index of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in Galicia, Spain. In: *Echinoderm Research 1995: Proceedings of the Fourth European Echinoderms Colloquium*, London, United Kingdom, 10-13 April 1995 (p. 295), CRC Press.
- Chatlynne L.G. (1969). A histochemical study of oogenesis in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Biol Bull*, **136**: 167 - 184.
- Cherbonnier G. (1956). Les Echinodermes de Tunisie. *Bull Stat Océanogr Salammbô*, **53**, 1 – 23.
- Chiantore M., Cattaneo-Vietti R., Elia L., Guidetti M., Antonini M. (2002). Reproduction and condition of the scallop *Adamussium colbecki* (Smith 1902), the sea-urchin *Stereochinus neumayeri* (Meissner 1900) and the sea-star *Odontaster validus* (Koehler 1911) at Terra Nova Bay (Ross Sea): different strategies related to inter-annual variations in food availability. *Polar Biol*, **25**(4): 251 - 255.
- Cook E.J., Bell M.V., Black K.D., Maeve S.K. (2000). Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutritional implications. *J Exp Mar Biol Ecol*, **255**: 261 – 274.
- Crapp G.B., Willis M.E. (1975). Age determination in the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck), with notes on the reproductive cycle. *J Exp Mar Biol Ecol*, **20**: 157 – 178.
- Cuomo V., Vanzanella F., Fresi E., Mazzella L., Scipione M.B. (1982). Microflora delle fanerogame marine dell'isola d'Ischia: *Posidonia oceanica* (L.) Delile e *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. *Boll Mus Ist Biol Univ Genova Suppl*, **50**: 162 – 166.
- Delmas P., Régis M.B. (1986). Données préliminaires sur le contenu digestif de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck) soumis à l'influence d'effluents domestiques. *Mar Environ Res*, **20**: 197 – 220.

- Dumont C.P., Himmelman J.H., Russell M.P. (2006). Daily movement of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in different subtidal habitats in eastern Canada. *Mar Ecol Progr Ser*, **317**: 87.
- Ebling F.J., Hawkins A.D., Kitching J.A., Muntz L., Pratt W.M. (1966). The ecology of Lough Ine. XVI. Predation and diurnal migration in *Paracentrotus* community. *J Anim Ecol*, **35**: 559 – 566.
- Fabbrocini A., D'Adamo R. (2010). Gamete maturation and gonad growth in fed and starved sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). *J Shellfish Res*, **29**(4): 1051 - 1059.
- Facheris C. (2004). Studio della popolazione e degli habitat preferenziali del riccio di mare *Paracentrotus lividus* nell'Area Marina Protetta Penisola del Sinis – Isola di Mal di Ventre (Sardegna Occidentale) finalizzato alla regolamentazione dell'attività di pesca. Tesi di Laurea presso Università degli Studi di Venezia, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche, Naturali.
- Farina S., Tomas F., Prado P., Romero J., Alcoverro, T. (2009). Seagrass meadow structure alters interactions between the sea urchin *Paracentrotus lividus* and its predators. *Mar Ecol Progr Ser*, **377**:131 - 137.
- Fenaux L. (1968). Maturation des gonads et cycle saisonnier des larves chez *A. lixula*, *P.lividus* et *P. microtuberculatus* (Echinides) à Villafranche-sur-Mer. *Vie Milieu*, **19** (A1): 1 - 52
- Fernandez C. (1989). Contribution à l'élaboration des bases scientifiques de l'aquaculture de l'oursin *Paracentrotus lividus*. *Mém Maîtrise Sci Techn*, Univ Corse.
- Fernandez C. (1990). Recherches préliminaires à la mise en place d'un pilote d'aquaculture de l'oursin *Paracentrotus lividus* dans un étang corse. *Dipl Etudes approve Océanol*, Univ Aix – Marseille 2.
- Fernandez C. (1996). Croissance et nutrition de *Paracentrotus lividus* dans le cadre d'un projet aquacole avec alimentation artificielle. Thèse Doct Océanol, Univ Corse.
- Fernandez C., Boudouresque C.F. (2000). Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food. *Mar Ecol Progr Ser*, **204**: 131 - 141.
- Fernandez C., Caltagirone A. (1994). Growth rate of adult sea urchins, *Paracentrotus lividus* in a lagoon environment: the effect of different types. In: David B., Guille A., Féral J.P., Roux M. (eds), *Echinoderms through time*, A. A. Balkema, Rotterdam, 655 – 660.
- Frantzis A., Grèmare A. (1992). Ingestion, absorption and growth rates of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different macrophytes. *Mar Ecol Progr Ser*, **95**: 169 – 183.

- Fuji A. (1960). Studies on the biology of the sea urchin: I. Superficial and histological gonadal changes in gametogenic process of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedius*. *Bull Fac Fish Hokkaido Univ*, **11**(1): 1 – 14.
- Fuji A. (1960). Study on the biology of the sea urchin: II. Size at first maturity and sexuality of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedius*. *Bull Fac Fish Hokkaido Univ*, **11**(2): 43 – 48.
- Fuji A. (1960). Study on the biology of the sea urchin: III. Reproductive cycle of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedius*, in Southern Hokkaido. *Bull Fac Fish Hokkaido Univ*, **11**(2): 49 – 57.
- Gage J.D., Tyler P.A., Nichols D. (1986). Reproduction and growth of *Echinus acutus* var. *norvegicus* Düben & Koren and *E. elegans* Düben & Koren on the continental slope off Scotland. *J Exp Mar Biol Ecol*, **101**: 61 – 83.
- Gago J., Range P., Luis O.J. (2003). Growth, reproductive biology and habitat selection of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the coastal waters of Cascais, Portugal. *Echinoderm research*, 269 - 276.
- Gamble J.C. (1966 – 1967). Ecological studies on *Paracentrotus lividus* (Lmk.). In: *Underwater Association Report*. TGW Industrial & Research Promotion, Carshalton, England, 85 – 88.
- Garmendia J.M., Menchaca I., Belzunce M.J., Franco J., Revilla M. (2010). Seasonal variability in gonad development in the sea urchin (*Paracentrotus lividus*) on the Basque coast (Southeastern Bay of Biscay). *Mar Poll Bull*, 259 – 266.
- Garrido C.L., Barber, B.J. (2001). Effects of temperature and food ration on gonad growth and oogenesis of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar Biol*, **138**(3): 447 - 456.
- Giaccone G. (1971). Contributo allo studio dei popolamenti algali del basso Tirreno. *Ann Univ Ferrara Bot*, **4**(2): 17 – 43.
- Gianguzza P., Chiantore M., Bonaviri C., Cattaneo-Vietti R., Vielmini I., Riggio, S. (2006). The effects of recreational *Paracentrotus lividus* fishing on distribution patterns of sea urchins at Ustica Island MPA (Western Mediterranean, Italy). *Fish Res*, **81**(1): 37 - 44.
- Gianguzza P., Bonaviri C., Prato E., Fanelli G., Chiantore M., Privitera D., Luzzu F., Agnetta D. (2012). Hydrodynamism and its influence on the reproductive condition of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Mar Environ Res*, **85**: 29 - 33.
- Giese A.C. (1959). Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. *Annu Rev Physiol*, **21**(1): 547 - 576.

- Gonor J.J. (1973). Reproductive cycles in Oregon populations of the Echinoid, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). I. annual gonad growth and ovarian gametogenic cycles. *J Exp Mar Biol Ecol*, **12**: 45 - 64.
- González-Irusta J.M. (2009). Contribución al conocimiento del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en el mar Cantábrico: ciclo gonadal y dinámica de poblaciones. Tesis doctoral, Universidad de Cantabria, Spain.
- González-Irusta, J.M., Goñi de Cerio F., Canteras, J.C. (2009). Reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Cantabrian Sea. Environmental effects. *J Mar Biol Ass UK*.
- Gros C. (1978). Le genre *Cystoseira* sur la cote des Alberes. Repartition, ecologie, morphogenese. These Doct 3_ cycle, Univ Paris 6.
- Guettaf M. (1997). Contribution à l'étude de la variabilité du cycle reproductif (indice gonadique et histologie des gonads) chez *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) en Méditerranée sud-occidentale (Algérie). Thèse Doct, Univ Aix-Marseille 2.
- Guettaf M., San Martín G.A. (1995). Etude de la variabilité de l'indice gonadique de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinidae) en Méditerranée nord-occidentale. *Vie Milieu*, **45** (2): 129 – 137.
- Guettaf M., San Martin G.A., Francour P. (2000). Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in the southwestern Mediterranean. *J Mar Biol Ass UK*, **80**(05): 899 - 907.
- Guidetti P. (2000). Differences among fish assemblages associated with nearshore *Posidonia oceanica* seagrass bed, rocky – algae reefs and unvegetated sand habitats in the Adriatic Sea. *Est Coast Shelf Sci*, **50** (4), April 2000, 515 – 529.
- Guidetti M., Chiantore M., Zichichi F., Elia L., Mangialajo L., Mori M., Cattaneo-Vietti R. (2003). Variability in density and reproductive condition in the sea urchin *Paracentrotus lividus* Lamarck. In R. Casagrandi, & P. Meliá (Eds.), *Atti del XIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Ecologia* (Como, 8-10 Settembre 2003), Aracne, Roma.
- Guidetti P. (2004). Consumers of sea urchins, *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula*, in shallow Mediterranean rocky reefs. *Helgol Mar Res*, **58**(2): 110 - 116.
- Guillou M., Lumingas L.J.L. (1999). Variation in the reproductive strategy of the sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Echinodermata: Echinoidea) related to food availability. *J Mar Biol Ass UK*, **79**(1): 131 - 136.
- Jacquin A., Donval A., Guillou J., Leyzour S., Deslander e., Guillou M. (2006). The reproductive response of the sea urchins *Paracentrotus lividus* (G.) and *Psammechinus miliaris* (L.) to an hyperproteinated macrophytic diet. *J Exp Mar Biol Ecol*, **339**(1): 43 – 54.

- James P.J., Philip H., Martin J.U. (2007). The effects of season, temperature and initial gonad condition on roe enhancement of the sea urchin *Evechinus chloroticus*. *Aquaculture*, **270**(1): 115 - 131.
- Katzmann W. (1974). Regression for Braunalgenbestände im Mittelmeer. *Naturwiss Rundsch*, **27**: 480 – 481
- Kelly M.S. (2000). The reproductive cycle of the sea urchin *Psammechinus miliaris* (Echinodermata: Echinoidea) in a Scottish sea loach. *Mar Biol Ass UK*, **80**: 909 – 919.
- Kelly M.S. (2001). Environmental parameters controlling gametogenesis in the echinoid *Psammechinus miliaris*. *J Exp Mar Biol Ecol*, **266**: 67 – 80.
- Kelly M.S., Brodie C., McKenzie J. D. (1998). Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Psammechinus miliaris* (Gmelin) maintained in polyculture with the atlantic salmon. *J Shell Res*, **17**(5): 1557 – 1562.
- Kempf M. (1962). Recherches d'écologie compare sur *Paracentrotus lividus* (Lmk.) et *Arbacia lixula* (L.). *Rec Trav Stat Mar Endoume*, **25**(39): 47 – 116.
- Kitching J.A. and Ebling F.J. (1967). Ecological studies at Lough Ine. *Adv Ecol Res*, **4**: 197 – 291.
- Kitching J.A. and Thain V.M. (1983). The ecological impact of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in Lough Ine, Ireland. *Phil Trans Roy Soc London B*, **300**: 513 - 552.
- Knoepffler – Pèguy M., Maggiore F., Boudouresque C.F., Dance C. (1987). Compte Rendu d'une experience sur les preferenda alimentaires de *Paracentrotus lividus* (Echinoidea) à Banyuls-sur-Mer. In: Boudouresque C. F. (ed.) *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, GIS Posidonie, Marseilles, 59 – 64.
- Kovitou M. (1991). Feeding preferenda of the sea-urchin *Paracentrotus lividus* (in Greek, English abstract). *Res Dipl Univ Thessaloniki*.
- Lasker R., Giese A.C. (1954). Nutrition of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Biol Bull*, **106**(3): 328 - 340.
- Lawrence J.M., (2013). Ed. *Sea Urchins: Biology and Ecology*. **38**, Academic Press.
- Lawrence J.M., Lawrence A.L., Holland N.D. (1965). Annual cycle in the size of the gut of the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). *Nature*, **205**: 1238 - 1239.
- Lawrence J., Fenaux L., Corre M.C., Lawrence A. (1992). The effect of quantity and quality of prepared diets on production in *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). In: *Echinoderm Research 1991: Proceedings of the Third European Conference on Echinoderms*, Lecce, Italy, 9-12 September 1991, **1**: 107, CRC Press.
- Le Gall P., Bucaille D., Grassin J.B. (1990). Influence de la temperature sur la croissance de deux oursins comestibles, *Paracentrotus lividus* et *Psammechinus miliaris*. In: De Ridder

- C., Dubois P., Lahaye M. C., Jangoux M. (eds), *Echinoderm research*, A. A. Balkema, Rotterdam, 183 - 188.
- Leahy P.S., Hough-Evans B.R., Britten R.J., Davidson E. H. (1981). Synchrony of oogenesis in laboratory-maintained and wild populations of the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). *J Exp Zool*, **215**(1): 7 - 22.
 - Lòpez S., Turon X., Montero E., Palacín C., Duarte C.M., Tarjuelo I. (1998). Larval abundance, recruitment and early mortality in *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). Interannual variability and plankton-benthos coupling. *Mar Ecol Progr Ser*, **172**: 239 – 251.
 - Lozano J., Galera J., Lòpez S., Turon X., Palacín C., Morera G. (1995). Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar Ecol Progr Ser*, **122**: 179 – 191.
 - Luis O., Delgado F., Gago J. (2005). Year-round captive spawning performance of the sea urchin *Paracentrotus lividus*: relevance for the use of its larvae as live feed. *Aquat Living Resour*, **18**: 45 – 54.
 - MacCord F.S., Ventura C.R.R. (2004). Reproductive cycle of the endemic cassiduloid *Cassidulus mitis* (Echinoidea: Cassiduloidea) on the Brazilian coast. *Mar Biol*, **145**: 603 – 612.
 - Martínez I., García F.J., Sánchez A.I., Daza J.L., del Castillo F. (2003). Biometric parameters and reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in three habitats of southern Spain. In: Féral J.P., David B. (eds) *Echinoderm research* (2001), A. A. Balkema, Lisse, 281 - 287.
 - Mazzella L., Buia M.C., Gambi M.C., Lorenti M., Russo G.F., Scipione M.B., Zupo V. (1992). Plant – animal trophic relationships in the *Posidonia oceanica* ecosystem of the Mediterranean: a review. In: John D.M., Hawkins S.J., Price J.H. (eds) *Plant-animal interactions in the marine benthos*, Oxford Science, Oxford, 165 – 187.
 - Meidel S.K., Scheibling R.E. (1998). Annual reproductive cycle of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*, in differing habitats in Nova Scotia, Canada. *Mar Biol*, **131**: 461 – 478.
 - Míguez L.J., Catoira J.L. (1990). Ourizo de mar: un marisco en alza. Consellería de Pesca, La Coruña.
 - Minor M.A., Scheibling R.E. (1997). Effects of food ration and feeding regime on growth and reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar Biol*, **129**: 159 – 167.
 - Mortensen T. (1927). Handbook of the echinoderms of the British Isles. University Press, Oxford.
 - Mortensen T. (1943). A monograph of Echinoidea, III.3 Camarodonta. II. Echinidae, Strongylocentrotidae, Parasaleniididae, Echinometridae. CA Reitzel, Copenhagen.

- Muthiga N.A., Jaccarini V. (2005). Effects of seasonality and population density on the reproduction of the Indo-Pacific echinoid *Echinometra mathaei* in Kenyan coral reef lagoons. *Mar Biol*, **146**: 445 – 453.
- Murillo-Navarro R., Jiménez-Guirado D. (2012). Relationships between algal food and gut and gonad conditions in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lam.). *Medit Mar Sc*, **13**(2): 227 - 238.
- Navone A., Trainito E. (2008). Tavolara, nature at work...working in nature. Sassari, Carlo Delfino editore.
- Nèdèlec H. (1982). Ethologie alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans le baie de Galeria (Corse) et son impact sur les peuplements phytobenthiques. Thèse Doct 3° cycle, Univ Aix – Marseille 2.
- Nicotra A., Serafino A. (1988). Ultrastructural observations on the interstitial cells of the testis of *Paracentrotus lividus*. *Int J Invertebr Repr Dev*, **13**(3): 239 - 249.
- Niell F.X., Pastor R. (1973). Relaciones tróficas de *Paracentrotus lividus* (Lmk) en la zona litoral. *Invest Pesq (Spain)*, **37**: 1-7.
- Odile F., Boudouresque C.F., Knoeppffler – Pèguy M. (1988). Etude expérimentale des preferenda alimentaires de *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). In: Règis M. B. (ed.) *Actes du 6° Séminaire international sur les Echinodermes*, Ile des Embiez (Var – France), **85**.
- Okada Y., Iwata K.S., Yanagihara M. (1984). Synchronized rhythmic contractions among five gonadal lobes in the shedding sea urchin: coordinative function of the aboral nerve. *Biol Bull*, **166**: 228 – 236.
- Okada Y., Iwata K.S. (1985). A substance inhibiting rhythmic contraction of gonad in the shedding sea urchin. *Zool Sci*, **2**: 805 – 808.
- Pearse J.S., Cameron R.A. (1991). Echinodermata: Echinoidea.
- Pearse J.S., Pearse V.B., Davis K.K. (1986). Photoperiod regulation of gametogenesis and growth in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *J Exp Zool*, **237**: 107 – 118.
- Pedrotti M.L. (1993). Spatial and temporal distribution and recruitment of echinoderm larvae in the Ligurian Sea. *Mar Ecol Progr Ser*, **86**: 217 – 227.
- Philip J.J. (2006). The effects of wave and feeding disturbance on roe enhancement of the sea urchin *Evechinus chloroticus* held sea-cages. *Aquaculture*, **252**: 361 – 371.
- Prado P., Tomas F., Pinna S., Farina S., Roca G., Ceccherelli G., Romero J., Alcoverro T. (2012). Habitat and scale shape the demographic fate of the keystone sea urchin *Paracentrotus lividus* in Mediterranean macrophyte communities. *PLoS ONE* **7**(4): e35170.
- Pastor R. (1971). Distribución del erizo de mar, *Paracentrotus lividus* (Lmk), en la Ría de Vigo. *Publ Técn Dir Gen Pesca Marít, Spain*, **9**: 255 – 270.

- Radenac G., Fichet D., Miramand P. (2001). Bioaccumulation and toxicity of four dissolved metals in *Paracentrotus lividus* sea-urchin embryo. *Mar Environ Res*, **51**: 151 – 166.
- Régis M.B. (1978). Croissance de deux échinoides du golfe de Marseille (*Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* L.). aspects écologiques de la microstructure du squelette et de l'évolution des indices physiologiques. Thèse Doct Sci, Univ Aix – Marseille 3.
- Régis M.B. (1979). Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux échinoides (*Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* L.) du golfe de Marseille. *Théthys* **9**(2): 167 – 181.
- Rico V. (1989). Contribution à l'étude des préférences alimentaires et du comportement moteur de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus*. *Dipl Etudes Approf Océanogr*, Univ Aix – Marseille 2.
- Sala E., Zabala M. (1996). Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in the NW Mediterranean. *Mar Ecol Prog Ser*, **140**: 71 – 81.
- Sala E., Boudouresque C.F., Harmelin-Vivien M. (1998a). Fishing, trophic cascades, and the structure of algal assemblages: evaluation of an old but untested paradigm. *Oikos* **82**: 425 – 439.
- Sala E., Ribes M., Hereu B., Zabala M., Alva V., Coma R., Garrabou J. (1998b). Temporal variability in abundance of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* in the Northwestern Mediterranean: comparison between a marine reserve and an unprotected area. *Mar Ecol Progr Ser*, **168**: 135 – 145.
- Sánchez-España A.I., Martínez-Pita I., García F.J. (2004). Gonadal growth and reproduction in the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) from southern Spain. *Hydrobiologia*, **519**: 61 – 72.
- Sakairi K., Yamamoto M., Ohtsu K., Yoshida M. (1989). Environmental control of gonadal maturation in laboratory-reared sea urchins, *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Zool Sci*, **6**: 721 – 730.
- San Martín G.A. (1987). Comportement alimentaire de *Paracentrotus lividus* (Lmk) (Echinodermata: Echinidae) dans l'étang de Thau (Hérault, France). In: Boudouresque C.F. (ed.) *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, GIS Posidonie, Marseille, 37 – 57.
- San Martín G.A. (1995). Contribution à la gestion des stocks d'oursins: étude des populations et transplantations de *Paracentrotus lividus* à Marseille (France, Méditerranée) et production de *Loxechinus albus* à Chiloe (Chili, Pacifique). Thèse Doct, Univ Aix-Marseille 2.

- Sellem F., Guillou M. (2007). Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea) in two contrasting habitats of Northern Tunisia (Southeast Mediterranean), *J Mar Biol Ass UK*, **87**(3): 736 - 767.
- Shahri M.N., Khazaei H.Z., Karamzadeh S., Naseri F., Esteki A.A., Rameshi H. (2008). Reproductive cycle of the sea urchin *Echinometra mathaei* (Echinodermatidea: Echinoidea) in Bostaneh, Persian gulf, Iran. *J Biol Sci* **8** (7): 1138 – 1148.
- Shpigel M., McBride S., Marciano S., Lupatsch I. (2004). The effect of photoperiod and temperature on the reproduction of European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, **232**: 343 – 355.
- Shpigel M., McBride S.C., Marciano S., Ron S., Ben-Amotz A. (2005). Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, **245**(1): 101 - 109.
- Soualili D., Guillou M. (2009). Variation in the reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in three differently polluted locations near Algiers (Algeria). *Mar Biodiv Rec* 2, e100 DOI: 10.1017/S175526720900092X.
- Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M. (1998). Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of the maturity index. *Invertebr Reprod Dev*, **34**(1): 69 - 81.
- Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M. (2000). Optimization of gonad growth by manipulation of temperature and photoperiod in cultivated sea urchins, *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata). *Aquaculture*, **185**: 85 – 99.
- Starr M., Himmelman J.H., Therriault J.C. (1993). Environmental control of green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, spawning in the St. Lawrence Estuary. *Can J Fish Aquat Sci*, **50**(5): 894 - 901.
- Tenuzzo B.A. , Zaccarelli N. & Dini L. (2012). The reproductive cycle of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) in the Ionian Sea. *Ita J Zool*, **79**(2): 200 - 211.
- Teixidó N., Albajes-Eizagirre A., Bolbo D., Le Hir E., Demestre M., Garrabou J., Guigues L., Gili J.M., Piera J., Prelot T., Soria-Frisch A. (2011). Hierarchical Segmentation based software for Cover Classification Analyses of Seabed Images (Seascape). *Mar Ecol Prog Ser*, **431**: 45 - 53.
- Tomas F., Turon X., Romero J. (2005). Effects of herbivores on a *Posidonia oceanica* seagrass meadow: importance of epiphytes. *Mar Ecol Progr Ser*, **287**: 115 - 125.
- Tomšić S., Conides A., Dupčić R., Glamuzina B. (2010). Growth, size class frequency and reproduction of purple sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in Bistrina Bay (Adriatic Sea, Croatia). *Acta Adriat*, **51**(1): 67 – 77.

- Tortonese E. (1965). Fauna d'Italia, Echinodermata. Edizioni Calderini, Bologna.
- Traer K. (1980). The consumption of *Posidonia oceanica* Delile by Echinoidea at the Isle of Ischia. In: Jangoux M. (ed.) *Echinoderms: present and past*, A.A. Balkema, Rotterdam, 241 – 244.
- Traer K. (1984). Ernährung und Energetik regulärer Seeigel in Beständen des Mediterranen Seegrases *Posidonia oceanica*. Thesis Doct, Univ Wien.
- Turon X., Giribet G., Lòpez S., Palacín C. (1995). Growth and population structure of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar Ecol Progr Ser*, **122**: 193 – 204.
- Unuma T., Suzuki T., Kurokawa T., Yamamoto T., Akiyama T. (1998). A protein identical to the yolk protein is stored in the testis in male red sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. *Biol Bull*, **194**: 92 – 97.
- Unuma T., Exton P. A., Balkema A. A. (2002). Gonadal growth and its relationship to aquaculture in sea urchins. The sea urchin: from basic biology to aquaculture. Swets & Zeitlinger, Lisse, 115 - 127.
- Unuma T., Yamamoto T., Akiyama T., Shiraishi M., Ohta H. (2003). Quantitative changes in yolk protein and other components in the ovary and testis of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. *J Exp Biol*, **206**: 365 – 372.
- Vaschenko M.A., Zhadan P.M., Latypova E.V. (2001). Long-term changes in the state of gonads in sea urchins *Strongylocentrotus intermedius* from Amur Bay, the sea of Japan”, *Russ J Ecol*, **32(5)**, 358 – 364. Translated from Ekologiya No. **5**, 388 - 395.
- Verlaque M. (1984). Biologie des juveniles de l'oursin herbivore *Paracentrotus lividus* (Lamarck), sélectivité du broutage et impact de l'espèce sur les communautés algales de substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France). *Bot Mar*, **27(9)**: 401 – 424.
- Verlaque M. (1987a). Relations entre *Paracentrotus lividus* (Lamarck) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale”, In: Boudouresque C. F. (ed.) *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, GIS Posidonie, Marseilles, 5 – 36.
- Verlaque M. (1987b). Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin en Méditerranée occidentale. Etude structural et dynamique du phytobenthos et analyse des relations faune-flore. Thèse Doct, Univ Aix-Marseille.
- Verlaque M. and Nèdèlec H. (1983a). Note préliminaire sur les relations biotiques *Paracentrotus lividus* (Lmk.) et herbier de posidonies. *Rapp PV Réun Commiss Int Explor Sci Mer Médit*, **28(3)**: 157 – 158.
- Verlaque M. and Nèdèlec H. (1983b). Biologie de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) sur substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France): alimentation des adultes. *Vie Milieu*, **33(3 – 4)**: 191 - 201.

- Verling E., Crook A., Barnes D. (2002). Covering behaviour in *Paracentrotus lividus*: is light important?. *Mar Biol*, **140**(2): 391 - 396.
- Visconti G., Agnetta D., Gianguzza P., Musmeci M.T., Piscopo L., Riggio S. (2008). Ciclo riproduttivo e gametogenesi di *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) nell'AMP Isola di Ustica. S. It. E. – Società Italiana di Ecologia, XVIII Congresso Nazionale, Parma 1-3 settembre 2008.
- Walker M.M. (1982). Reproductive periodicity in *Evechinus chloroticus* in the Hauraki Gulf. New Zealand. *J Mar Freshwater Res*, **16**(1): 19 - 25.
- Walker C.W., Lesser, M. P. (1998). Manipulation of food and photoperiod promotes out-of-season gametogenesis in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*: implications for aquaculture. *Mar Biol*, **132**(4): 663 - 676.
- Walker C.W., Harrington L. M., Lesser M. P. & Fagerberg W. R. (2005). Nutritive phagocyte incubation chambers provide a structural and nutritive microenvironment for germ cells of *Strongylocentrotus droebachiensis*, the green sea urchin. *Biol Bull*, **209**(1): 31 - 48.
- Walker C.W., Unuma T., Lesser M. P. (2007). Gametogenesis and reproduction of sea urchins. *Dev Aquac Fish Sci*, **37**:11 - 33.
- Wallace D.B., Hammer H.S., Watts S.A., Lawrence J.M., Lawrence A.L. (2000). The effects of dietary protein on growth of juvenile sea urchins. Sea Urchin Workshop.
- Williamson J.E., Steinberg P.D. (2002). Reproductive cycle of the sea urchin *Holopneustes purpurascens* (Temnopleuridae: Echinodermata). *Mar Biol*, **140**: 519 – 532.
- Yamamoto M., Ishine M., Yoshida M. (1988). Gonadal maturation independent of photic conditions in laboratory-reared sea urchins, *Pseucentrotus depressus* and *Hemicentrotus plucherrimus*. *Zool Sci*, **5**: 978 – 988.
- Zavodnik D. (1980). Distribution of Echinodermata in the north Adriatic insular region. *Acta Adriat*, **21**(2): 437 – 468.

Appendice 1

ASSESSORADU DE S'AGRICOLTURA E REFORMA AGRO-PASTORALE

ASSESSORATO DELL'AGRICOLTURA E RIFORMA AGRO-PASTORALE

L'Assessore

DECRETO N. 1525/DecA/102 DEL 25 ottobre 2012

Oggetto: Calendario della pesca del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) per la stagione 2012/2013.

VISTO lo Statuto Speciale della Sardegna e, in particolare gli articoli 3, 6 e 57;

VISTE le norme di attuazione dello Statuto e, in particolare, il DPR 24 novembre 1965 n. 1627 e il D. Lgs 6 febbraio 2004 n. 70;

VISTA la Legge regionale 7 gennaio 1977 n. 1, art. 14, sull'organizzazione amministrativa della Regione sarda e sulle competenze della Giunta, della Presidenza e degli Assessorati regionali;

VISTA la Legge regionale del 7 marzo 1956 n. 37, recante disposizioni relative all'esercizio delle funzioni in materia di pesca;

VISTA la Legge Regionale n. 31 del 13 novembre 1998 e successive modifiche ed integrazioni, recante "Disciplina del personale regionale e dell'organizzazione degli uffici della Regione";

VISTE le disposizioni di cui al comma 18 dell'art. 15 della L. R. 29/05/2007 n. 2 Disposizioni per la formazione del bilancio annuale e pluriennale della Regione (Legge finanziaria 2007) - pubblicata nel B.U. Sardegna 31 maggio 2007, n. 18, suppl. ord. n. 2 - in base alle quali sono state attribuite all'Assessorato regionale dell'Agricoltura e Riforma Agro-pastorale le funzioni in materia di pesca, acquacoltura e molluschicoltura, ivi compresa la ricerca, la tutela, la valorizzazione, la qualità dei prodotti ittici e l'educazione alimentare, di cui all'articolo 14, comma primo, lettera d), della legge regionale n. 1 del 1977 e le competenze relative agli interventi di valorizzazione produttiva delle lagune, stagni e laghi salsi della Sardegna;

VISTO il Decreto del Presidente della Regione n. 91 del 8.8.2011 prot. n. 18361, avente ad oggetto "Nomina degli Assessori componenti la Giunta Regionale e del Vice Presidente e, in particolare, le disposizione dell'articolo 1 in base al quale è stato nominato, tra i componenti della Giunta regionale, il signor Oscar Salvatore Giuseppe Cherchi, nato a Sassari il 26 maggio 1965, in qualità di Assessore dell'Agricoltura e Riforma Agro-Pastorale della Regione;

VISTO il Decreto del Presidente della Regione n. 94 del 13 luglio 2012, con cui si definisce la nuova articolazione dei servizi della direzione generale dell'Assessorato dell'Agricoltura e riforma agro-pastorale;

VISTO il Decreto dell'Assessore dell'Agricoltura e riforma agro-pastorale n. 1481/DecA/190 del 15 ottobre 2012, concernente l'individuazione delle articolazioni organizzative dei Servizi della Direzione Generale dell'Assessorato;

VISTO il Decreto legislativo 9 gennaio 2012, n. 4 concernente misure per il riassetto della normativa in materia di pesca e acquacoltura, a norma dell'articolo 28 della legge 4 giugno 2010, n. 96 (Pubblicato nella Gazz. Uff. 1 febbraio 2012, n. 26).

VISTO il Regolamento per l'esecuzione della Legge n. 963/1965, approvato con DPR n. 1639 del 2 ottobre 1968 e, in particolare, gli articoli 128, 128-bis, 129 e 130;

VISTO il Decreto del Presidente della Repubblica (DPR) n. 816 del 26 aprile del 1977 "Norme regolamentari relative all'applicazione della L. 8 dicembre 1961, numero 1658, con la quale è stata autorizzata l'adesione alla convenzione sul mare territoriale e la zona contigua, adottata a Ginevra il 29 aprile 1958, ed è stata data esecuzione alla medesima";

VISTO il D. Lgs. n. 154 del 26 maggio 2004 "Modernizzazione del settore pesca e dell'acquacoltura" e, in particolare il comma 4 dell'articolo 12;

VISTO il D. Lgs. 26 maggio 2004 n. 153 in materia di pesca marittima;

VISTO il Reg. (CE) n. 2371/2002 del 20 dicembre 2002 relativo alla conservazione e allo sfruttamento sostenibile delle risorse della pesca nell'ambito della politica comune della pesca;

VISTI il Regolamento (CE) n. 852/2004, il Regolamento (CE) n. 853/2004, il Regolamento (CE) n. 854/2004 e il D. Lgs n. 193/2007 relativi al rispetto dei requisiti generali e speciali in materia d'igiene dei prodotti raccolti e/o allevati, per l'immissione sul mercato, ai fini del consumo umano, di molluschi bivalvi vivi (mitili, vongole, ostriche, ecc.), echinodermi (ricci di mare), tunicati (ascidie) e gasteropodi marini vivi (patelle, murici, lumache di mare, ecc.) provenienti da zone di produzione classificate;

VISTO il Regolamento (CE) n. 1967/2006 del Consiglio del 21 dicembre 2006 relativo alle misure di gestione per lo sfruttamento sostenibile delle risorse della pesca nel Mar Mediterraneo e recante modifica del regolamento (CEE) n. 2847/93 e che abroga il regolamento (CE) n. 1626/94;

VISTO il Regolamento (CE) n. 1224/2009 del Consiglio del 20 novembre 2009 che istituisce un regime di controllo comunitario per garantire il rispetto delle norme della politica comune della pesca, che modifica i regolamenti (CE) n. 847/96, (CE) n. 2371/2002, (CE) n. 811/2004, (CE) n. 768/2005, (CE) n. 2115/2005, (CE) n. 2166/2005, (CE) n. 388/2006, (CE) n. 509/2007, (CE) n. 676/2007, (CE) n. 1098/2007, (CE) n. 1300/2008, (CE) n. 1342/2008 e che abroga i regolamenti (CEE) n. 2847/93, (CE) n. 1627/94 e (CE) n. 1966/2006;

VISTO il Regolamento di esecuzione (UE) n. 404/2011 della Commissione dell'8 aprile 2011 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 1224/2009 del Consiglio che istituisce un regime di controllo comunitario per garantire il rispetto delle norme della politica comune della pesca;

VISTO il Decreto ministeriale del 10 novembre 2011 finalizzato a dare attuazione alle disposizioni di cui al Titolo V del Reg. (CE) 1224/2009 ed al Titolo IV del Reg. (UE) 404/2011

inerenti gli adempimenti connessi agli obblighi di tracciabilità e di registrazione, nonché, gli adempimenti previsti a carico degli operatori responsabili dell'acquisto, della vendita, del magazzinaggio o del trasporto di partite di prodotti della pesca;

VISTO Il Decreto del Direttore Generale della pesca marittima e dell'acquacoltura del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali del 28 dicembre 2011 e ss.mm.ii. relativo alle procedure e le modalità attuative degli obblighi previsti dal DM 10.11.2011 (art. 4, comma 2 e art. 5, comma 2) al fine di assicurarne la rintracciabilità dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura;

VISTO Il Decreto del Direttore Generale della pesca marittima e dell'acquacoltura del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali n. 174 del 29.05.2012 concernente modifiche e integrazioni al sopracitato Decreto direttoriale n. 155 del 28 dicembre 2011;

VISTA la Determinazione del Direttore del Servizio pesca del 31 ottobre 2008, n. 21573/797 che ha specificamente classificato zone di classe A, ai fini della raccolta dei ricci di mare (*Paracentrotus lividus*), tutte le acque marino-costiere della Sardegna ad esclusione delle aree portuali e delle zone dove sono presenti fonti di contaminazione quali foci dei fiumi, scarichi di altri corsi d'acqua, scarichi industriali, scarichi di fogne urbane, entro un raggio di 500 metri dalla foce o dal punto di immissione dello scarico;

VISTA la Legge regionale 14 aprile 2006 n. 3, concernente disposizioni in materia di pesca e, in particolare, l'art. 6 che prevede interventi per la protezione e la gestione delle risorse acquatiche;

VISTO il Decreto n. 2524/DecA/102 del 07/10/2009 "disciplina della pesca professionale subacquea nel mare territoriale prospiciente la Regione Sardegna";

VISTO il Decreto n. 2764/DecA/118 del 29.10.2009 "modifiche e integrazioni Decreto n. 2524/DecA/102 del 07/10/2009 "disciplina della pesca professionale subacquea nel mare territoriale prospiciente la Regione Sardegna";

VISTO il Decreto n. 1940/DecA/68 del 28 ottobre 2011 recante "calendario della pesca del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) per la stagione 2011/2012";

VISTA la Determinazione n. 22741/Det/1082 del 30/11/2009 del Direttore pro-tempore del Servizio Pesca avente ad oggetto "Decreto dell'Assessore dell'Agricoltura e riforma agropastorale n. 2763/DecA/117 del 29/10/2009 "calendario per la pesca del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) per la stagione 2009/2010 – predisposizione scheda di prelievo e relativa cartografia";

VISTO il Decreto n. 346/DecA/10 del 04.02.2010 "Disciplina della pesca subacquea nel mare territoriale della Sardegna. Modifica art. 7 del Decreto n. 2524/DecA/102 del 07/10/2009 "disciplina della pesca professionale subacquea nel mare territoriale prospiciente la Regione Sardegna". Estensione del numero massimo di autorizzazioni a 189. Riapertura dei termini di presentazione delle domande per il rilascio dell'autorizzazione all'esercizio della pesca subacquea professionale nell'AMP "Penisola del Sinis - Isola di

Mal di Ventre" (Decreto n. 3053/DecA/139 del 3/12/2009);

RITENUTO nelle more dell'ottenimento del parere del Comitato Tecnico Consultivo Regionale per la Pesca (di cui alla L.R. 5 luglio 1963, n. 14, così come ricostituito con il Decreto del Presidente n. 156 del 23.11.2010), da richiedere tramite attivazione della procedura scritta, di dover emanare la disciplina di regolamentazione della pesca del riccio di mare per la stagione 2012/2013

DECRETA

ART. 1 1. La pesca del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) è consentita:

a) ai pescatori marittimi professionali iscritti nel registro dei pescatori marittimi esclusivamente dall'imbarcazione anche con l'ausilio dello "specchio" o batiscopio, mediante asta tradizionale ("cannuga") o con il coppo;

b) ai pescatori professionali subacquei, in possesso di autorizzazione per la pesca subacquea professionale, in apnea o con l'uso di apparecchi ausiliari per la respirazione esclusivamente a mano o con l'ausilio di qualsiasi strumento corto atto a staccare il riccio dal substrato;

c) ai soggetti che esercitano la pesca sportiva o ricreativa, in apnea - senza l'uso di apparecchi ausiliari per la respirazione - con gli stessi attrezzi consentiti per i pescatori subacquei professionali o dall'imbarcazione con gli stessi attrezzi consentiti per i pescatori marittimi professionali.

ART. 2 1. È vietata la raccolta del riccio di mare mediante attrezzi trainati con imbarcazione o anche a mano mediante mezzi meccanici (strumenti in ferro), ivi compresi i rastrelli.

ART. 3 1. La taglia minima di cattura è di 50 mm esclusi gli aculei. Ogni esemplare di taglia inferiore prelevato in qualsiasi circostanza, da qualunque tipologia di imbarcazione e da qualsiasi categoria autorizzata alla pesca, anche non appartenente a quella dei pescatori professionali, deve essere immediatamente rigettato in mare.

2. È vietata la detenzione, il trasporto e la commercializzazione di esemplari di taglia inferiore a quella prescritta nel presente articolo.

ART. 4 1. Il pescatore professionale subacqueo, se accompagnato da assistente a bordo dell'imbarcazione, può raccogliere giornalmente esemplari per 6 ceste (dimensioni: altezza 35 cm, lunghezza 60 cm, larghezza 50 cm) equivalenti, per due unità lavorative, a circa 3000 esemplari. Se il pescatore professionista non è accompagnato da un assistente può raccogliere giornalmente esemplari per 3 ceste pari a circa 1500 ricci.

2. Il pescatore marittimo professionale è tenuto a rispettare gli stessi quantitativi massimi prelevabili previsti per il pescatore subacqueo professionale, di cui al comma 1.

3. Il pescatore sportivo o ricreativo può raccogliere esemplari per consumo personale ed esclusivamente durante il periodo consentito dal calendario. Il numero massimo è di 50 ricci al giorno.

ART. 5 1. Le prescrizioni di cui al presente decreto devono essere osservate anche all'interno delle Aree Marine Protette, delle aree SIC e delle ZPS, fermo restando il rispetto delle ulteriori limitazioni contenute nei relativi regolamenti e/o piani di gestione.

ART. 6 1. Nell'esercizio dell'attività di prelievo del riccio di mare, i pescatori subacquei professionali e quelli marittimi professionali sono tenuti all'osservanza delle vigenti disposizioni di legge ed amministrative in materia igienico-sanitaria sulla detenzione, la conservazione, la commercializzazione e la somministrazione al pubblico dei prodotti della pesca secondo quanto previsto dalla disciplina comunitaria, nazionale e regionale in materia.

2. Nello svolgimento dell'attività di prelievo del riccio di mare i pescatori subacquei professionali e quelli marittimi professionali assicurano il rispetto dell'applicazione del CCNL di riferimento e delle leggi sociali e di sicurezza sul lavoro.

ART. 7 1. La pesca del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) per la stagione 2012/2013 è consentita dal 1 novembre 2012 al 4 maggio 2013.

2. Non sono consentite deroghe alla data di chiusura del periodo di pesca di cui al comma 1.

3. La detenzione, il trasporto e la commercializzazione degli esemplari di riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) di cui al precedente comma 1 e dei relativi prodotti derivati freschi è consentita sino alla data del 6 maggio 2013, fatta salva la data di scadenza del singolo prodotto fresco e/o derivato.

ART. 8 1. Al pescatore subacqueo professionale e marittimo professionale che svolga l'attività di pesca del riccio di mare è fatto obbligo di compilare giornalmente e tenere a disposizione degli organi di vigilanza la scheda di prelievo di cui alla Determinazione del Direttore del Servizio Pesca n. 22741/Det/1082 del 30/11/2009 con l'indicazione della giornata di attività, della zona di pesca e del quantitativo prelevato e di trasmetterla entro 48 ore dalla data di chiusura di ciascun mese solare al Servizio dell'Amministrazione regionale competente in materia di pesca (Servizio pesca e acquacoltura dell'Assessorato dell'agricoltura e riforma agro-pastorale) via fax (al seguente numero 0706062516) e via posta elettronica (al seguente indirizzo email: agr.pesca@regione.sardegna.it) . Tale adempimento integra le ulteriori disposizioni di legge vigenti.

ART. 9 1. L'inosservanza delle disposizioni contenute nel presente decreto comporta l'applicazione delle sanzioni previste dalla normativa vigente.

2. Le Autorità di Polizia vigilano affinché siano osservate le disposizioni contenute nel presente decreto.

ART.10 1. L'Amministrazione regionale, in coordinamento con le altre Autorità pubbliche preposte al controllo, svolge compiti di controllo, amministrativo e in loco, al fine di assicurare che siano rispettate le disposizioni del presente Decreto.

Il presente Decreto è reso disponibile nel sito internet www.regione.sardegna.it e pubblicato nel Bollettino Ufficiale della Regione Autonoma della Sardegna (BURAS).

Avverso il presente provvedimento è proponibile ricorso gerarchico alla Giunta regionale ai sensi dell'articolo 41 dello Statuto o ricorso giurisdizionale al Tribunale Amministrativo

Regionale nel termine di 60 giorni decorrente dalla comunicazione del decreto o dalla sua effettiva conoscenza.

L'Assessore

Oscar Cherchi

Appendice 2

Scala Beaufort della forza del vento

| Valore Scala Beaufort | Termine descrittivo | Velocità media del vento | | | Effetti sulla terra | Altezza media delle onde (m) | Effetti sul mare |
|-----------------------|---------------------|--------------------------|-----------|---------|---|------------------------------|--|
| | | nodi (KT) | m/s | Km/h | | | |
| 0 | Calma | < 1 | 0-0.2 | <1 | Calma; il fumo sale verticalmente. | - | Il mare è uno specchio. |
| 1 | Bava di vento | 1-3 | 0.3-1.5 | 1-5 | La direzione del vento è segnalata dal movimento del fumo, ma non dalle maniche a vento. | 0.1 | Leggere increspature dell'acqua. |
| 2 | Brezza leggera | 4-6 | 1.6-3.3 | 6-11 | Si sente il vento sul viso e le foglie frusciano; le maniche a vento si muovono. | 0.2 | Onde piccole, ma evidenti. |
| 3 | Brezza tesa | 7-10 | 3.4-5.4 | 12-19 | Le foglie e i ramoscelli più piccoli sono in costante movimento; il vento fa sventolare bandiere di piccole dimensioni. | 0.6 | Piccole onde, creste che cominciano a infrangersi. |
| 4 | Vento moderato | 11-16 | 5.5-7.9 | 20-28 | Si sollevano polvere e pezzi di carta; si muovono i rami piccoli degli alberi. | 1 | Piccole onde, che diventano più lunghe. |
| 5 | Vento teso | 17-21 | 8-10.7 | 29-38 | Gli arbusti con foglie iniziano a ondeggiare; le acque interne s'increspano. | 2 | Onde moderate allungate, con possibilità di spruzzi. |
| 6 | Vento fresco | 22-27 | 10.8-13.8 | 39-49 | Si muovono anche i rami grossi; gli ombrelli si usano con difficoltà. | 3 | Si formano marosi con creste di schiuma bianca. |
| 7 | Vento forte | 28-33 | 13.9-17.1 | 50-61 | Gli alberi iniziano a ondeggiare; si cammina con difficoltà contro vento. | 4 | Le onde s'ingrossano, la schiuma comincia a "sfilacciarsi" in scie. |
| 8 | Burrasca moderata | 34-40 | 17.2-20.7 | 62-74 | Si staccano rami dagli alberi; generalmente è impossibile camminare contro vento. | 5.5 | Marosi di altezza media; le creste si rompono e formano spruzzi vorticosi. |
| 9 | Burrasca forte | 41-47 | 20.8-24.4 | 75-88 | Possono verificarsi leggeri danni strutturali agli edifici (caduta di tegole o di coperchi dei camini). | 7 | Grosse ondate, con dense scie di schiuma e spruzzi, riducono la visibilità. |
| 10 | Burrasca fortissima | 48-55 | 24.5-28.4 | 89-102 | (Raro nell'entroterra) Alberi sradicati e considerevoli danni agli abitati. | 9 | Enormi ondate, con lunghe creste a pennacchio; il mare ha un aspetto biancastro. |
| 11 | Fortunale | 56-63 | 28.5-32.6 | 103-117 | (Rarissimo nell'entroterra) Vasti danni strutturali. | 11.5 | Onde enormi che possono nascondere navi di media stazza; il mare è coperto da banchi di schiuma e la visibilità è ridotta. |
| 12 | Uragano | >63 | >32.7 | >118 | Danni ingenti ed estesi alle strutture. | 14 | Onde altissime; schiuma e spruzzi riducono molto la visibilità e il mare è tutto bianco. |

Appendice 3

Linear Model

Tavolara

Call:
lm(formula = tavolara\$P_gonadi ~ tavolara\$P_umido)

Residuals:
Min 1Q Median 3Q Max
-3.5072 -0.8352 -0.1583 0.5283 5.6016

Coefficients:
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -1.070008 0.229439 -4.664 5.6e-06 ***
tavolara\$P_umido 0.068476 0.003199 21.402 < 2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.421 on 205 degrees of freedom
(36 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared: 0.6908, Adjusted R-squared: 0.6893
F-statistic: 458.1 on 1 and 205 DF, p-value: < 2.2e-16

Sinis

Call:
lm(formula = sinis\$P_gonadi ~ sinis\$P_umido)

Residuals:
Min 1Q Median 3Q Max
-1.12318 -0.32626 -0.05896 0.22725 1.84526

Coefficients:
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -0.49086 0.10229 -4.799 2.92e-06 ***
sinis\$P_umido 0.02998 0.00181 16.567 < 2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.4949 on 223 degrees of freedom
(35 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared: 0.5517, Adjusted R-squared: 0.5497
F-statistic: 274.5 on 1 and 223 DF, p-value: < 2.2e-16

Anova-1way

Giugno

Analysis of Variance Table

Response: igs
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
loc:site:stazione 4 445.74 111.435 22.459 3.462e-14 ***
Residuals 133 659.90 4.962

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test

HSD Test for igs

Mean Square Error: 4.165144

loc, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|-------|----------|-----------|----|------|-------|
| sinis | 1.684091 | 0.1156721 | 66 | 0.19 | 6.30 |
| tav | 5.543611 | 0.3235979 | 72 | 0.10 | 11.66 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 130

Critical Value of Studentized Range: 2.797852

Harmonic Mean of Cell Sizes 68.86957

Honestly Significant Difference: 0.6880597

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|-------|-------|
| a | tav | 5.544 |
| b | sinis | 1.684 |

Luglio

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------------|-----|--------|---------|---------|---------------|
| loc:site:stazione | 4 | 222.95 | 55.737 | 16.991 | 3.021e-11 *** |
| Residuals | 131 | 429.73 | 3.280 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1**Tukey test**

HSD Test for igs

Mean Square Error: 2.988948

loc, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|-------|----------|-----------|----|------|------|
| sinis | 1.913857 | 0.1060023 | 70 | 0.38 | 4.37 |
| tav | 4.653333 | 0.2829526 | 66 | 0.55 | 9.51 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 132

Critical Value of Studentized Range: 2.797454

Harmonic Mean of Cell Sizes 67.94118

Honestly Significant Difference: 0.5867534

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|-------|-------|
| a | tav | 4.653 |
| b | sinis | 1.914 |

Agosto

Analysis of Variance Table

Appendice 3

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------------|-----|--------|---------|---------|---------------|
| loc:site:stazione | 4 | 101.97 | 25.4915 | 12.715 | 7.024e-09 *** |
| Residuals | 143 | 286.68 | 2.0048 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test

HSD Test for igs

Mean Square Error: 2.020978

loc, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|-------|----------|-----------|----|------|------|
| sinis | 1.855217 | 0.1425724 | 69 | 0.25 | 5.11 |
| tav | 3.308481 | 0.1870034 | 79 | 0.07 | 7.71 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 140

Critical Value of Studentized Range: 2.795976

Harmonic Mean of Cell Sizes 73.66216

Honestly Significant Difference: 0.4631184

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|-------|-------|
| a | tav | 3.308 |
| b | sinis | 1.855 |

Fattore incrociato mese * località

ANOVA 2ways

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|------------------------|-----|--------|---------|---------|--------------|
| mese | 2 | 105.2 | 52.58 | 15.78 | 2.51e-07 *** |
| loc:site:stazione | 4 | 689.1 | 172.28 | 51.70 | < 2e-16 *** |
| mese:loc:site:stazione | 8 | 78.6 | 9.83 | 2.95 | 0.00323 ** |
| Residuals | 407 | 1356.2 | 3.33 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = igs ~ mese * loc:(site:(stazione)), data = gentab4)

\$mese

| | diff | lwr | upr | p adj |
|-------------|------------|------------|-------------|-----------|
| b.lug-a.giu | -0.4698551 | -0.9617547 | 0.02204451 | 0.0647378 |
| c.ago-a.giu | -1.2012064 | -1.6829576 | -0.71945525 | 0.0000000 |
| c.ago-b.lug | -0.7313514 | -1.2149321 | -0.24777058 | 0.0012164 |

\$`loc:site:stazione`

| | diff | lwr | upr | p adj |
|---------------------|-------------|------------|-----------|-----------|
| tav:A:x-sinis:A:x | 3.239355118 | 2.1949177 | 4.2837925 | 0.0000000 |
| sinis:B:x-sinis:A:x | 0.301486067 | -0.7377180 | 1.3406901 | 0.9873724 |

| | | | | |
|---------------------|--------------|------------|------------|-----------|
| tav:B:x-sinis:A:x | 3.007515536 | 1.9782581 | 4.0367730 | 0.0000000 |
| sinis:A:y-sinis:A:x | 0.024095276 | -1.0313767 | 1.0795672 | 1.0000000 |
| tav:A:y-sinis:A:x | 3.242689035 | 2.2034850 | 4.2818931 | 0.0000000 |
| sinis:B:y-sinis:A:x | 0.208184338 | -0.8163426 | 1.2327113 | 0.9986137 |
| tav:B:y-sinis:A:x | 1.883664073 | 0.8956891 | 2.8716391 | 0.0000004 |
| sinis:B:x-tav:A:x | -2.937869051 | -3.9873138 | -1.8884243 | 0.0000000 |
| tav:B:x-tav:A:x | -0.231839582 | -1.2714357 | 0.8077566 | 0.9974873 |
| sinis:A:y-tav:A:x | -3.215259841 | -4.2808162 | -2.1497035 | 0.0000000 |
| tav:A:y-tav:A:x | 0.003333917 | -1.0461109 | 1.0527787 | 1.0000000 |
| sinis:B:y-tav:A:x | -3.031170779 | -4.0660836 | -1.9962579 | 0.0000000 |
| tav:B:y-tav:A:x | -1.355691045 | -2.3544322 | -0.3569499 | 0.0011134 |
| tav:B:x-sinis:B:x | 2.706029469 | 1.6716911 | 3.7403678 | 0.0000000 |
| sinis:A:y-sinis:B:x | -0.277390791 | -1.3378180 | 0.7830365 | 0.9932176 |
| tav:A:y-sinis:B:x | 2.941202968 | 1.8969664 | 3.9854395 | 0.0000000 |
| sinis:B:y-sinis:B:x | -0.093301729 | -1.1229329 | 0.9363294 | 0.9999939 |
| tav:B:y-sinis:B:x | 1.582178006 | 0.5889109 | 2.5754451 | 0.0000474 |
| sinis:A:y-tav:B:x | -2.983420259 | -4.0341019 | -1.9327387 | 0.0000000 |
| tav:A:y-tav:B:x | 0.235173499 | -0.7991649 | 1.2695119 | 0.9971602 |
| sinis:B:y-tav:B:x | -2.799331197 | -3.8189224 | -1.7797400 | 0.0000000 |
| tav:B:y-tav:B:x | -1.123851463 | -2.1067072 | -0.1409957 | 0.0126971 |
| tav:A:y-sinis:A:y | 3.218593758 | 2.1581665 | 4.2790210 | 0.0000000 |
| sinis:B:y-sinis:A:y | 0.184089062 | -0.8619589 | 1.2301370 | 0.9994569 |
| tav:B:y-sinis:A:y | 1.859568796 | 0.8492938 | 2.8698438 | 0.0000011 |
| sinis:B:y-tav:A:y | -3.034504697 | -4.0641358 | -2.0048735 | 0.0000000 |
| tav:B:y-tav:A:y | -1.359024962 | -2.3522921 | -0.3657579 | 0.0009731 |
| tav:B:y-sinis:B:y | 1.675479734 | 0.6975790 | 2.6533805 | 0.0000079 |

| \$ mese:loc:site:stazione` | | diff | lwr | upr |
|-----------------------------------|--------------|--------------|-------------|-----------|
| p adj | | | | |
| b.lug: sinis:A:x-a.giu: sinis:A:x | -0.182941176 | -2.357326475 | 1.991444122 | 1.0000000 |
| c.ago: sinis:A:x-a.giu: sinis:A:x | -0.899509804 | -3.043482622 | 1.244463014 | 0.9978311 |
| a.giu: tav:A:x-a.giu: sinis:A:x | 4.069411765 | 1.895026466 | 6.243797063 | 0.0000000 |
| b.lug: tav:A:x-a.giu: sinis:A:x | 2.768823529 | 0.560724820 | 4.976922238 | 0.0014179 |
| c.ago: tav:A:x-a.giu: sinis:A:x | 1.791764706 | -0.382620593 | 3.966150004 | 0.2879073 |
| a.giu: sinis:B:x-a.giu: sinis:A:x | -0.316439628 | -2.432830868 | 1.799951611 | 1.0000000 |
| b.lug: sinis:B:x-a.giu: sinis:A:x | 0.017647059 | -2.156738240 | 2.192032357 | 1.0000000 |
| c.ago: sinis:B:x-a.giu: sinis:A:x | 0.346156863 | -1.899538617 | 2.591852343 | 1.0000000 |
| a.giu: tav:B:x-a.giu: sinis:A:x | 4.045014006 | 1.976761038 | 6.113266973 | 0.0000000 |
| b.lug: tav:B:x-a.giu: sinis:A:x | 2.847573529 | 0.639474820 | 5.055672238 | 0.0007943 |
| c.ago: tav:B:x-a.giu: sinis:A:x | 0.791323529 | -1.416775180 | 2.999422238 | 0.9998084 |
| a.giu: sinis:A:y-a.giu: sinis:A:x | -0.315176471 | -2.560871950 | 1.930519009 | 1.0000000 |
| b.lug: sinis:A:y-a.giu: sinis:A:x | -0.028676471 | -2.236775180 | 2.179422238 | 1.0000000 |
| c.ago: sinis:A:y-a.giu: sinis:A:x | -0.710588235 | -2.884973534 | 1.463797063 | 0.9999596 |
| a.giu: tav:A:y-a.giu: sinis:A:x | 3.743034056 | 1.626642816 | 5.859425295 | 0.0000001 |
| b.lug: tav:A:y-a.giu: sinis:A:x | 2.974448529 | 0.766349820 | 5.182547238 | 0.0003012 |
| c.ago: tav:A:y-a.giu: sinis:A:x | 1.877573529 | -0.330525180 | 4.085672238 | 0.2319570 |
| a.giu: sinis:B:y-a.giu: sinis:A:x | -0.419843137 | -2.665538617 | 1.825852343 | 1.0000000 |
| b.lug: sinis:B:y-a.giu: sinis:A:x | -0.067676471 | -2.158933286 | 2.023580345 | 1.0000000 |

Appendice 3

c. ago: sinis: B: y-a. giu: sinis: A: x -0.138018576 -2.254409815 1.978372663
 1.0000000
 a. giu: tav: B: y-a. giu: sinis: A: x 1.747490196 -0.498205284 3.993185676
 0.4024816
 b. lug: tav: B: y-a. giu: sinis: A: x 1.904934641 -0.239038177 4.048907458
 0.1644364
 c. ago: tav: B: y-a. giu: sinis: A: x 0.872156863 -1.052307206 2.796620931
 0.9937202
 c. ago: sinis: A: x-b. lug: sinis: A: x -0.716568627 -2.860541445 1.427404190
 0.9999405
 a. giu: tav: A: x-b. lug: sinis: A: x 4.252352941 2.077967643 6.426738240
 0.0000000
 b. lug: tav: A: x-b. lug: sinis: A: x 2.951764706 0.743665997 5.159863415
 0.0003594
 c. ago: tav: A: x-b. lug: sinis: A: x 1.974705882 -0.199679416 4.149091181
 0.1359307
 a. giu: sinis: B: x-b. lug: sinis: A: x -0.133498452 -2.249889691 1.982892787
 1.0000000
 b. lug: sinis: B: x-b. lug: sinis: A: x 0.200588235 -1.973797063 2.374973534
 1.0000000
 c. ago: sinis: B: x-b. lug: sinis: A: x 0.529098039 -1.716597441 2.774793519
 0.9999999
 a. giu: tav: B: x-b. lug: sinis: A: x 4.227955182 2.159702214 6.296208150
 0.0000000
 b. lug: tav: B: x-b. lug: sinis: A: x 3.030514706 0.822415997 5.238613415
 0.0001936
 c. ago: tav: B: x-b. lug: sinis: A: x 0.974264706 -1.233834003 3.182363415
 0.9956140
 a. giu: sinis: A: y-b. lug: sinis: A: x -0.132235294 -2.377930774 2.113460186
 1.0000000
 b. lug: sinis: A: y-b. lug: sinis: A: x 0.154264706 -2.053834003 2.362363415
 1.0000000
 c. ago: sinis: A: y-b. lug: sinis: A: x -0.527647059 -2.702032357 1.646738240
 0.9999998
 a. giu: tav: A: y-b. lug: sinis: A: x 3.925975232 1.809583993 6.042366472
 0.0000000
 b. lug: tav: A: y-b. lug: sinis: A: x 3.157389706 0.949290997 5.365488415
 0.0000691
 c. ago: tav: A: y-b. lug: sinis: A: x 2.060514706 -0.147584003 4.268613415
 0.1053833
 a. giu: sinis: B: y-b. lug: sinis: A: x -0.236901961 -2.482597441 2.008793519
 1.0000000
 b. lug: sinis: B: y-b. lug: sinis: A: x 0.115264706 -1.975992110 2.206521522
 1.0000000
 c. ago: sinis: B: y-b. lug: sinis: A: x 0.044922601 -2.071468639 2.161313840
 1.0000000
 a. giu: tav: B: y-b. lug: sinis: A: x 1.930431373 -0.315264107 4.176126852
 0.2140020
 b. lug: tav: B: y-b. lug: sinis: A: x 2.087875817 -0.056097001 4.231848635
 0.0676788
 c. ago: tav: B: y-b. lug: sinis: A: x 1.055098039 -0.869366029 2.979562108
 0.9425311
 a. giu: tav: A: x-c. ago: sinis: A: x 4.968921569 2.824948751 7.112894386
 0.0000000
 b. lug: tav: A: x-c. ago: sinis: A: x 3.668333333 1.490176332 5.846490335
 0.0000005
 c. ago: tav: A: x-c. ago: sinis: A: x 2.691274510 0.547301692 4.835247327
 0.0013879
 a. giu: sinis: B: x-c. ago: sinis: A: x 0.583070175 -1.502062888 2.668203239
 0.9999976
 b. lug: sinis: B: x-c. ago: sinis: A: x 0.917156863 -1.226815955 3.061129680
 0.9971416
 c. ago: sinis: B: x-c. ago: sinis: A: x 1.245666667 -0.970595097 3.461928430
 0.9267917
 a. giu: tav: B: x-c. ago: sinis: A: x 4.944523810 2.908267845 6.980779774
 0.0000000
 b. lug: tav: B: x-c. ago: sinis: A: x 3.747083333 1.568926332 5.925240335
 0.0000002

| | | | |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| c. ago:tav:B:x-c. ago:sinis:A:x | 1.690833333 | -0.487323668 | 3.868990335 |
| 0.4075728 | | | |
| a. giu:sinis:A:y-c. ago:sinis:A:x | 0.584333333 | -1.631928430 | 2.800595097 |
| 0.9999992 | | | |
| b. lug:sinis:A:y-c. ago:sinis:A:x | 0.870833333 | -1.307323668 | 3.048990335 |
| 0.9989316 | | | |
| c. ago:sinis:A:y-c. ago:sinis:A:x | 0.188921569 | -1.955051249 | 2.332894386 |
| 1.0000000 | | | |
| a. giu:tav:A:y-c. ago:sinis:A:x | 4.642543860 | 2.557410796 | 6.727676923 |
| 0.0000000 | | | |
| b. lug:tav:A:y-c. ago:sinis:A:x | 3.873958333 | 1.695801332 | 6.052115335 |
| 0.0000001 | | | |
| c. ago:tav:A:y-c. ago:sinis:A:x | 2.777083333 | 0.598926332 | 4.955240335 |
| 0.0010096 | | | |
| a. giu:sinis:B:y-c. ago:sinis:A:x | 0.479666667 | -1.736595097 | 2.695928430 |
| 1.0000000 | | | |
| b. lug:sinis:B:y-c. ago:sinis:A:x | 0.831833333 | -1.227783885 | 2.891450552 |
| 0.9987568 | | | |
| c. ago:sinis:B:y-c. ago:sinis:A:x | 0.761491228 | -1.323641836 | 2.846624292 |
| 0.9997396 | | | |
| a. giu:tav:B:y-c. ago:sinis:A:x | 2.647000000 | 0.430738237 | 4.863261763 |
| 0.0035868 | | | |
| b. lug:tav:B:y-c. ago:sinis:A:x | 2.804444444 | 0.691321765 | 4.917567124 |
| 0.0004235 | | | |
| c. ago:tav:B:y-c. ago:sinis:A:x | 1.771666667 | -0.118367716 | 3.661701049 |
| 0.1008248 | | | |
| b. lug:tav:A:x-a. giu:tav:A:x | -1.300588235 | -3.508686944 | 0.907510474 |
| 0.8880435 | | | |
| c. ago:tav:A:x-a. giu:tav:A:x | -2.277647059 | -4.452032357 | -0.103261760 |
| 0.0279050 | | | |
| a. giu:sinis:B:x-a. giu:tav:A:x | -4.385851393 | -6.502242632 | -2.269460154 |
| 0.0000000 | | | |
| b. lug:sinis:B:x-a. giu:tav:A:x | -4.051764706 | -6.226150004 | -1.877379407 |
| 0.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:B:x-a. giu:tav:A:x | -3.723254902 | -5.968950382 | -1.477559422 |
| 0.0000008 | | | |
| a. giu:tav:B:x-a. giu:tav:A:x | -0.024397759 | -2.092650727 | 2.043855209 |
| 1.0000000 | | | |
| b. lug:tav:B:x-a. giu:tav:A:x | -1.221838235 | -3.429936944 | 0.986260474 |
| 0.9370389 | | | |
| c. ago:tav:B:x-a. giu:tav:A:x | -3.278088235 | -5.486186944 | -1.069989526 |
| 0.0000250 | | | |
| a. giu:sinis:A:y-a. giu:tav:A:x | -4.384588235 | -6.630283715 | -2.138892755 |
| 0.0000000 | | | |
| b. lug:sinis:A:y-a. giu:tav:A:x | -4.098088235 | -6.306186944 | -1.889989526 |
| 0.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:A:y-a. giu:tav:A:x | -4.780000000 | -6.954385299 | -2.605614701 |
| 0.0000000 | | | |
| a. giu:tav:A:y-a. giu:tav:A:x | -0.326377709 | -2.442768948 | 1.790013530 |
| 1.0000000 | | | |
| b. lug:tav:A:y-a. giu:tav:A:x | -1.094963235 | -3.303061944 | 1.113135474 |
| 0.9806868 | | | |
| c. ago:tav:A:y-a. giu:tav:A:x | -2.191838235 | -4.399936944 | 0.016260474 |
| 0.0545219 | | | |
| a. giu:sinis:B:y-a. giu:tav:A:x | -4.489254902 | -6.734950382 | -2.243559422 |
| 0.0000000 | | | |
| b. lug:sinis:B:y-a. giu:tav:A:x | -4.137088235 | -6.228345051 | -2.045831420 |
| 0.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:B:y-a. giu:tav:A:x | -4.207430341 | -6.323821580 | -2.091039101 |
| 0.0000000 | | | |
| a. giu:tav:B:y-a. giu:tav:A:x | -2.321921569 | -4.567617049 | -0.076226089 |
| 0.0330980 | | | |
| b. lug:tav:B:y-a. giu:tav:A:x | -2.164477124 | -4.308449942 | -0.020504307 |
| 0.0446122 | | | |
| c. ago:tav:B:y-a. giu:tav:A:x | -3.197254902 | -5.121718970 | -1.272790833 |
| 0.0000007 | | | |
| c. ago:tav:A:x-b. lug:tav:A:x | -0.977058824 | -3.185157533 | 1.231039885 |
| 0.9954399 | | | |

Appendice 3

| | | | |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| a.giu:sinis:B:x-b.lug:tav:A:x | -3.085263158 | -5.236276956 | -0.934249360 |
| 0.0000637 | | | |
| b.lug:sinis:B:x-b.lug:tav:A:x | -2.751176471 | -4.959275180 | -0.543077762 |
| 0.0016106 | | | |
| c.ago:sinis:B:x-b.lug:tav:A:x | -2.422666667 | -4.701020605 | -0.144312728 |
| 0.0227574 | | | |
| a.giu:tav:B:x-b.lug:tav:A:x | 1.276190476 | -0.827477468 | 3.379858421 |
| 0.8567527 | | | |
| b.lug:tav:B:x-b.lug:tav:A:x | 0.078750000 | -2.162555064 | 2.320055064 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:tav:B:x-b.lug:tav:A:x | -1.977500000 | -4.218805064 | 0.263805064 |
| 0.1743031 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-b.lug:tav:A:x | -3.084000000 | -5.362353939 | -0.805646061 |
| 0.0002690 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-b.lug:tav:A:x | -2.797500000 | -5.038805064 | -0.556194936 |
| 0.0015550 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-b.lug:tav:A:x | -3.479411765 | -5.687510474 | -1.271313056 |
| 0.0000043 | | | |
| a.giu:tav:A:y-b.lug:tav:A:x | 0.974210526 | -1.176803272 | 3.125224324 |
| 0.9937725 | | | |
| b.lug:tav:A:y-b.lug:tav:A:x | 0.205625000 | -2.035680064 | 2.446930064 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:tav:A:y-b.lug:tav:A:x | -0.891250000 | -3.132555064 | 1.350055064 |
| 0.9990151 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-b.lug:tav:A:x | -3.188666667 | -5.467020605 | -0.910312728 |
| 0.0001197 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-b.lug:tav:A:x | -2.836500000 | -4.962788680 | -0.710211320 |
| 0.0003768 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-b.lug:tav:A:x | -2.906842105 | -5.057855903 | -0.755828307 |
| 0.0002795 | | | |
| a.giu:tav:B:y-b.lug:tav:A:x | -1.021333333 | -3.299687272 | 1.257020605 |
| 0.9945676 | | | |
| b.lug:tav:B:y-b.lug:tav:A:x | -0.863888889 | -3.042045891 | 1.314268113 |
| 0.9990530 | | | |
| c.ago:tav:B:y-b.lug:tav:A:x | -1.896666667 | -3.859142255 | 0.065808921 |
| 0.0735196 | | | |
| a.giu:sinis:B:x-c.ago:tav:A:x | -2.108204334 | -4.224595574 | 0.008186905 |
| 0.0523335 | | | |
| b.lug:sinis:B:x-c.ago:tav:A:x | -1.774117647 | -3.948502946 | 0.400267652 |
| 0.3066977 | | | |
| c.ago:sinis:B:x-c.ago:tav:A:x | -1.445607843 | -3.691303323 | 0.800087637 |
| 0.7764090 | | | |
| a.giu:tav:B:x-c.ago:tav:A:x | 2.253249300 | 0.184996332 | 4.321502267 |
| 0.0161091 | | | |
| b.lug:tav:B:x-c.ago:tav:A:x | 1.055808824 | -1.152289885 | 3.263907533 |
| 0.9875430 | | | |
| c.ago:tav:B:x-c.ago:tav:A:x | -1.000441176 | -3.208539885 | 1.207657533 |
| 0.9937415 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-c.ago:tav:A:x | -2.106941176 | -4.352636656 | 0.138754303 |
| 0.0999341 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-c.ago:tav:A:x | -1.820441176 | -4.028539885 | 0.387657533 |
| 0.2869865 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-c.ago:tav:A:x | -2.502352941 | -4.676738240 | -0.327967643 |
| 0.0068325 | | | |
| a.giu:tav:A:y-c.ago:tav:A:x | 1.951269350 | -0.165121889 | 4.067660589 |
| 0.1182958 | | | |
| b.lug:tav:A:y-c.ago:tav:A:x | 1.182683824 | -1.025414885 | 3.390782533 |
| 0.9546771 | | | |
| c.ago:tav:A:y-c.ago:tav:A:x | 0.085808824 | -2.122289885 | 2.293907533 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-c.ago:tav:A:x | -2.211607843 | -4.457303323 | 0.034087637 |
| 0.0596991 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-c.ago:tav:A:x | -1.859441176 | -3.950697992 | 0.231815639 |
| 0.1634384 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-c.ago:tav:A:x | -1.929783282 | -4.046174521 | 0.186607958 |
| 0.1310709 | | | |
| a.giu:tav:B:y-c.ago:tav:A:x | -0.044274510 | -2.289969990 | 2.201420970 |
| 1.0000000 | | | |

| | | | |
|---------------------------------|--------------|--------------|-------------|
| b.lug:tav:B:y-c.ago:tav:A:x | 0.113169935 | -2.030802883 | 2.257142752 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:tav:B:y-c.ago:tav:A:x | -0.919607843 | -2.844071912 | 1.004856225 |
| 0.9876397 | | | |
| b.lug:sinis:B:x-a.giu:sinis:B:x | 0.334086687 | -1.782304552 | 2.450477927 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:x-a.giu:sinis:B:x | 0.662596491 | -1.526994484 | 2.852187467 |
| 0.9999897 | | | |
| a.giu:tav:B:x-a.giu:sinis:B:x | 4.361453634 | 2.354258878 | 6.368648390 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:tav:B:x-a.giu:sinis:B:x | 3.164013158 | 1.012999360 | 5.315026956 |
| 0.0000323 | | | |
| c.ago:tav:B:x-a.giu:sinis:B:x | 1.107763158 | -1.043250640 | 3.258776956 |
| 0.9702643 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-a.giu:sinis:B:x | 0.001263158 | -2.188327818 | 2.190854133 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-a.giu:sinis:B:x | 0.287763158 | -1.863250640 | 2.438776956 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-a.giu:sinis:B:x | -0.394148607 | -2.510539846 | 1.722242632 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:A:y-a.giu:sinis:B:x | 4.059473684 | 2.002711100 | 6.116236269 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:tav:A:y-a.giu:sinis:B:x | 3.290888158 | 1.139874360 | 5.441901956 |
| 0.0000105 | | | |
| c.ago:tav:A:y-a.giu:sinis:B:x | 2.194013158 | 0.042999360 | 4.345026956 |
| 0.0393188 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-a.giu:sinis:B:x | -0.103403509 | -2.292994484 | 2.086187467 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-a.giu:sinis:B:x | 0.248763158 | -1.782127169 | 2.279653485 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-a.giu:sinis:B:x | 0.178421053 | -1.878341532 | 2.235183637 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-a.giu:sinis:B:x | 2.063929825 | -0.125661151 | 4.253520800 |
| 0.0953782 | | | |
| b.lug:tav:B:y-a.giu:sinis:B:x | 2.221374269 | 0.136241205 | 4.306507333 |
| 0.0221727 | | | |
| c.ago:tav:B:y-a.giu:sinis:B:x | 1.188596491 | -0.670091864 | 3.047284847 |
| 0.7865277 | | | |
| c.ago:sinis:B:x-b.lug:sinis:B:x | 0.328509804 | -1.917185676 | 2.574205284 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:x-b.lug:sinis:B:x | 4.027366947 | 1.959113979 | 6.095619914 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:tav:B:x-b.lug:sinis:B:x | 2.829926471 | 0.621827762 | 5.038025180 |
| 0.0009058 | | | |
| c.ago:tav:B:x-b.lug:sinis:B:x | 0.773676471 | -1.434422238 | 2.981775180 |
| 0.9998680 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-b.lug:sinis:B:x | -0.332823529 | -2.578519009 | 1.912871950 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-b.lug:sinis:B:x | -0.046323529 | -2.254422238 | 2.161775180 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-b.lug:sinis:B:x | -0.728235294 | -2.902620593 | 1.446150004 |
| 0.9999384 | | | |
| a.giu:tav:A:y-b.lug:sinis:B:x | 3.725386997 | 1.608995758 | 5.841778236 |
| 0.0000001 | | | |
| b.lug:tav:A:y-b.lug:sinis:B:x | 2.956801471 | 0.748702762 | 5.164900180 |
| 0.0003456 | | | |
| c.ago:tav:A:y-b.lug:sinis:B:x | 1.859926471 | -0.348172238 | 4.068025180 |
| 0.2481624 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-b.lug:sinis:B:x | -0.437490196 | -2.683185676 | 1.808205284 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-b.lug:sinis:B:x | -0.085323529 | -2.176580345 | 2.005933286 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-b.lug:sinis:B:x | -0.155665635 | -2.272056874 | 1.960725605 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-b.lug:sinis:B:x | 1.729843137 | -0.515852343 | 3.975538617 |
| 0.4238918 | | | |
| b.lug:tav:B:y-b.lug:sinis:B:x | 1.887287582 | -0.256685236 | 4.031260399 |
| 0.1776091 | | | |

Appendice 3

| | | | |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| c. ago:tav:B:y-b.lug:sinis:B:x | 0.854509804 | -1.069954265 | 2.778973872 |
| 0.9952208 | | | |
| a.giu:tav:B:x-c. ago:sinis:B:x | 3.698857143 | 1.555759595 | 5.841954691 |
| 0.0000002 | | | |
| b.lug:tav:B:x-c. ago:sinis:B:x | 2.501416667 | 0.223062728 | 4.779770605 |
| 0.0143665 | | | |
| c. ago:tav:B:x-c. ago:sinis:B:x | 0.445166667 | -1.833187272 | 2.723520605 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-c. ago:sinis:B:x | -0.661333333 | -2.976143250 | 1.653476583 |
| 0.9999964 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-c. ago:sinis:B:x | -0.374833333 | -2.653187272 | 1.903520605 |
| 1.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:A:y-c. ago:sinis:B:x | -1.056745098 | -3.302440578 | 1.188950382 |
| 0.9897966 | | | |
| a.giu:tav:A:y-c. ago:sinis:B:x | 3.396877193 | 1.207286218 | 5.586468168 |
| 0.0000069 | | | |
| b.lug:tav:A:y-c. ago:sinis:B:x | 2.628291667 | 0.349937728 | 4.906645605 |
| 0.0065646 | | | |
| c. ago:tav:A:y-c. ago:sinis:B:x | 1.531416667 | -0.746937272 | 3.809770605 |
| 0.7034895 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-c. ago:sinis:B:x | -0.766000000 | -3.080809917 | 1.548809917 |
| 0.9999499 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-c. ago:sinis:B:x | -0.413833333 | -2.579139739 | 1.751473073 |
| 1.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:B:y-c. ago:sinis:B:x | -0.484175439 | -2.673766414 | 1.705415537 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-c. ago:sinis:B:x | 1.401333333 | -0.913476583 | 3.716143250 |
| 0.8591666 | | | |
| b.lug:tav:B:y-c. ago:sinis:B:x | 1.558777778 | -0.657483986 | 3.775039541 |
| 0.6161011 | | | |
| c. ago:tav:B:y-c. ago:sinis:B:x | 0.526000000 | -1.478684193 | 2.530684193 |
| 0.9999993 | | | |
| b.lug:tav:B:x-a.giu:tav:B:x | -1.197440476 | -3.301108421 | 0.906227468 |
| 0.9175551 | | | |
| c. ago:tav:B:x-a.giu:tav:B:x | -3.253690476 | -5.357358421 | -1.150022532 |
| 0.0000076 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-a.giu:tav:B:x | -4.360190476 | -6.503288024 | -2.217092928 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-a.giu:tav:B:x | -4.073690476 | -6.177358421 | -1.970022532 |
| 0.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:A:y-a.giu:tav:B:x | -4.755602241 | -6.823855209 | -2.687349273 |
| 0.0000000 | | | |
| a.giu:tav:A:y-a.giu:tav:B:x | -0.301979950 | -2.309174706 | 1.705214806 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:tav:A:y-a.giu:tav:B:x | -1.070565476 | -3.174233421 | 1.033102468 |
| 0.9739709 | | | |
| c. ago:tav:A:y-a.giu:tav:B:x | -2.167440476 | -4.271108421 | -0.063772532 |
| 0.0346261 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-a.giu:tav:B:x | -4.464857143 | -6.607954691 | -2.321759595 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-a.giu:tav:B:x | -4.112690476 | -6.093365609 | -2.132015343 |
| 0.0000000 | | | |
| c. ago:sinis:B:y-a.giu:tav:B:x | -4.183032581 | -6.190227338 | -2.175837825 |
| 0.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-a.giu:tav:B:x | -2.297523810 | -4.440621357 | -0.154426262 |
| 0.0203045 | | | |
| b.lug:tav:B:y-a.giu:tav:B:x | -2.140079365 | -4.176335330 | -0.103823400 |
| 0.0266877 | | | |
| c. ago:tav:B:y-a.giu:tav:B:x | -3.172857143 | -4.976542499 | -1.369171787 |
| 0.0000001 | | | |
| c. ago:tav:B:x-b.lug:tav:B:x | -2.056250000 | -4.297555064 | 0.185055064 |
| 0.1238887 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-b.lug:tav:B:x | -3.162750000 | -5.441103939 | -0.884396061 |
| 0.0001466 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-b.lug:tav:B:x | -2.876250000 | -5.117555064 | -0.634944936 |
| 0.0008812 | | | |
| c. ago:sinis:A:y-b.lug:tav:B:x | -3.558161765 | -5.766260474 | -1.350063056 |
| 0.0000021 | | | |

| | | | |
|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| a.giu:tav:A:y-b.lug:tav:B:x | 0.895460526 | -1.255553272 | 3.046474324 |
| 0.9980614 | | | |
| b.lug:tav:A:y-b.lug:tav:B:x | 0.126875000 | -2.114430064 | 2.368180064 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:tav:A:y-b.lug:tav:B:x | -0.970000000 | -3.211305064 | 1.271305064 |
| 0.9966372 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-b.lug:tav:B:x | -3.267416667 | -5.545770605 | -0.989062728 |
| 0.0000640 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-b.lug:tav:B:x | -2.915250000 | -5.041538680 | -0.788961320 |
| 0.0001984 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-b.lug:tav:B:x | -2.985592105 | -5.136605903 | -0.834578307 |
| 0.0001471 | | | |
| a.giu:tav:B:y-b.lug:tav:B:x | -1.100083333 | -3.378437272 | 1.178270605 |
| 0.9859594 | | | |
| b.lug:tav:B:y-b.lug:tav:B:x | -0.942638889 | -3.120795891 | 1.235518113 |
| 0.9966388 | | | |
| c.ago:tav:B:y-b.lug:tav:B:x | -1.975416667 | -3.937892255 | -0.012941079 |
| 0.0462285 | | | |
| a.giu:sinis:A:y-c.ago:tav:B:x | -1.106500000 | -3.384853939 | 1.171853939 |
| 0.9849326 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-c.ago:tav:B:x | -0.820000000 | -3.061305064 | 1.421305064 |
| 0.9997319 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-c.ago:tav:B:x | -1.501911765 | -3.710010474 | 0.706186944 |
| 0.6815724 | | | |
| a.giu:tav:A:y-c.ago:tav:B:x | 2.951710526 | 0.800696728 | 5.102724324 |
| 0.0001943 | | | |
| b.lug:tav:A:y-c.ago:tav:B:x | 2.183125000 | -0.058180064 | 4.424430064 |
| 0.0675206 | | | |
| c.ago:tav:A:y-c.ago:tav:B:x | 1.086250000 | -1.155055064 | 3.327555064 |
| 0.9853065 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-c.ago:tav:B:x | -1.211166667 | -3.489520605 | 1.067187272 |
| 0.9581055 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-c.ago:tav:B:x | -0.859000000 | -2.985288680 | 1.267288680 |
| 0.9987516 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-c.ago:tav:B:x | -0.929342105 | -3.080355903 | 1.221671693 |
| 0.9967158 | | | |
| a.giu:tav:B:y-c.ago:tav:B:x | 0.956166667 | -1.322187272 | 3.234520605 |
| 0.9978221 | | | |
| b.lug:tav:B:y-c.ago:tav:B:x | 1.113611111 | -1.064545891 | 3.291768113 |
| 0.9725807 | | | |
| c.ago:tav:B:y-c.ago:tav:B:x | 0.080833333 | -1.881642255 | 2.043308921 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:A:y-a.giu:sinis:A:y | 0.286500000 | -1.991853939 | 2.564853939 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-a.giu:sinis:A:y | -0.395411765 | -2.641107245 | 1.850283715 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:A:y-a.giu:sinis:A:y | 4.058210526 | 1.868619551 | 6.247801502 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:tav:A:y-a.giu:sinis:A:y | 3.289625000 | 1.011271061 | 5.567978939 |
| 0.0000535 | | | |
| c.ago:tav:A:y-a.giu:sinis:A:y | 2.192750000 | -0.085603939 | 4.471103939 |
| 0.0768961 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-a.giu:sinis:A:y | -0.104666667 | -2.419476583 | 2.210143250 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-a.giu:sinis:A:y | 0.247500000 | -1.917806406 | 2.412806406 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-a.giu:sinis:A:y | 0.177157895 | -2.012433081 | 2.366748870 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-a.giu:sinis:A:y | 2.062666667 | -0.252143250 | 4.377476583 |
| 0.1604800 | | | |
| b.lug:tav:B:y-a.giu:sinis:A:y | 2.220111111 | 0.003849348 | 4.436372875 |
| 0.0489818 | | | |
| c.ago:tav:B:y-a.giu:sinis:A:y | 1.187333333 | -0.817350859 | 3.192017526 |
| 0.8825960 | | | |
| c.ago:sinis:A:y-b.lug:sinis:A:y | -0.681911765 | -2.890010474 | 1.526186944 |
| 0.9999851 | | | |
| a.giu:tav:A:y-b.lug:sinis:A:y | 3.771710526 | 1.620696728 | 5.922724324 |
| 0.0000001 | | | |

Appendice 3

| | | | |
|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| b.lug:tav:A:y-b.lug:sinis:A:y | 3.003125000 | 0.761819936 | 5.244430064 |
| 0.0003407 | | | |
| c.ago:tav:A:y-b.lug:sinis:A:y | 1.906250000 | -0.335055064 | 4.147555064 |
| 0.2315673 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-b.lug:sinis:A:y | -0.391166667 | -2.669520605 | 1.887187272 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-b.lug:sinis:A:y | -0.039000000 | -2.165288680 | 2.087288680 |
| 1.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-b.lug:sinis:A:y | -0.109342105 | -2.260355903 | 2.041671693 |
| 1.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-b.lug:sinis:A:y | 1.776166667 | -0.502187272 | 4.054520605 |
| 0.3986267 | | | |
| b.lug:tav:B:y-b.lug:sinis:A:y | 1.933611111 | -0.244545891 | 4.111768113 |
| 0.1656510 | | | |
| c.ago:tav:B:y-b.lug:sinis:A:y | 0.900833333 | -1.061642255 | 2.863308921 |
| 0.9925745 | | | |
| a.giu:tav:A:y-c.ago:sinis:A:y | 4.453622291 | 2.337231052 | 6.570013530 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:tav:A:y-c.ago:sinis:A:y | 3.685036765 | 1.476938056 | 5.893135474 |
| 0.0000006 | | | |
| c.ago:tav:A:y-c.ago:sinis:A:y | 2.588161765 | 0.380063056 | 4.796260474 |
| 0.0050032 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-c.ago:sinis:A:y | 0.290745098 | -1.954950382 | 2.536440578 |
| 1.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-c.ago:sinis:A:y | 0.642911765 | -1.448345051 | 2.734168580 |
| 0.9999863 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-c.ago:sinis:A:y | 0.572569659 | -1.543821580 | 2.688960899 |
| 0.9999987 | | | |
| a.giu:tav:B:y-c.ago:sinis:A:y | 2.458078431 | 0.212382951 | 4.703773911 |
| 0.0150313 | | | |
| b.lug:tav:B:y-c.ago:sinis:A:y | 2.615522876 | 0.471550058 | 4.759495693 |
| 0.0024231 | | | |
| c.ago:tav:B:y-c.ago:sinis:A:y | 1.582745098 | -0.341718970 | 3.507209167 |
| 0.2915536 | | | |
| b.lug:tav:A:y-a.giu:tav:A:y | -0.768585526 | -2.919599324 | 1.382428272 |
| 0.9998175 | | | |
| c.ago:tav:A:y-a.giu:tav:A:y | -1.865460526 | -4.016474324 | 0.285553272 |
| 0.1999983 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-a.giu:tav:A:y | -4.162877193 | -6.352468168 | -1.973286218 |
| 0.0000000 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-a.giu:tav:A:y | -3.810710526 | -5.841600853 | -1.779820199 |
| 0.0000000 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-a.giu:tav:A:y | -3.881052632 | -5.937815216 | -1.824290047 |
| 0.0000000 | | | |
| a.giu:tav:B:y-a.giu:tav:A:y | -1.995543860 | -4.185134835 | 0.194047116 |
| 0.1316608 | | | |
| b.lug:tav:B:y-a.giu:tav:A:y | -1.838099415 | -3.923232479 | 0.247033649 |
| 0.1755600 | | | |
| c.ago:tav:B:y-a.giu:tav:A:y | -2.870877193 | -4.729565548 | -1.012188838 |
| 0.0000079 | | | |
| c.ago:tav:A:y-b.lug:tav:A:y | -1.096875000 | -3.338180064 | 1.144430064 |
| 0.9834794 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-b.lug:tav:A:y | -3.394291667 | -5.672645605 | -1.115937728 |
| 0.0000226 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-b.lug:tav:A:y | -3.042125000 | -5.168413680 | -0.915836320 |
| 0.0000681 | | | |
| c.ago:sinis:B:y-b.lug:tav:A:y | -3.112467105 | -5.263480903 | -0.961453307 |
| 0.0000505 | | | |
| a.giu:tav:B:y-b.lug:tav:A:y | -1.226958333 | -3.505312272 | 1.051395605 |
| 0.9520597 | | | |
| b.lug:tav:B:y-b.lug:tav:A:y | -1.069513889 | -3.247670891 | 1.108643113 |
| 0.9828122 | | | |
| c.ago:tav:B:y-b.lug:tav:A:y | -2.102291667 | -4.064767255 | -0.139816079 |
| 0.0205228 | | | |
| a.giu:sinis:B:y-c.ago:tav:A:y | -2.297416667 | -4.575770605 | -0.019062728 |
| 0.0452576 | | | |
| b.lug:sinis:B:y-c.ago:tav:A:y | -1.945250000 | -4.071538680 | 0.181038680 |
| 0.1271509 | | | |


```

c. ago: sinis: B: y - c. ago: tav: A: y -2.015592105 -4.166605903 0.135421693
0.1011761
a. giu: tav: B: y - c. ago: tav: A: y -0.1300833333 -2.408437272 2.148270605
1.0000000
b. lug: tav: B: y - c. ago: tav: A: y 0.027361111 -2.150795891 2.205518113
1.0000000
c. ago: tav: B: y - c. ago: tav: A: y -1.005416667 -2.967892255 0.957058921
0.9719391
b. lug: sinis: B: y - a. giu: sinis: B: y 0.352166667 -1.813139739 2.517473073
1.0000000
c. ago: sinis: B: y - a. giu: sinis: B: y 0.281824561 -1.907766414 2.471415537
1.0000000
a. giu: tav: B: y - a. giu: sinis: B: y 2.167333333 -0.147476583 4.482143250
0.1019816
b. lug: tav: B: y - a. giu: sinis: B: y 2.324777778 0.108516014 4.541039541
0.0273862
c. ago: tav: B: y - a. giu: sinis: B: y 1.292000000 -0.712684193 3.296684193
0.7745573
c. ago: sinis: B: y - b. lug: sinis: B: y -0.070342105 -2.101232432 1.960548222
1.0000000
a. giu: tav: B: y - b. lug: sinis: B: y 1.815166667 -0.350139739 3.980473073
0.2565941
b. lug: tav: B: y - b. lug: sinis: B: y 1.972611111 -0.087006107 4.032228329
0.0809608
c. ago: tav: B: y - b. lug: sinis: B: y 0.939833333 -0.890184588 2.769851255
0.9711693
a. giu: tav: B: y - c. ago: sinis: B: y 1.885508772 -0.304082203 4.075099747
0.2111801
b. lug: tav: B: y - c. ago: sinis: B: y 2.042953216 -0.042179847 4.128086280
0.0632620
c. ago: tav: B: y - c. ago: sinis: B: y 1.010175439 -0.848512917 2.868863794
0.9473572
b. lug: tav: B: y - a. giu: tav: B: y 0.157444444 -2.058817319 2.373706208
1.0000000
c. ago: tav: B: y - a. giu: tav: B: y -0.875333333 -2.880017526 1.129350859
0.9961977
c. ago: tav: B: y - b. lug: tav: B: y -1.032777778 -2.922812160 0.857256605
0.9444118

```

General Linear Model

Algae A

```

Call:
glm(formula = percent ~ loc * site, family = poisson, data = algaeA)

```

```

Deviance Residuals:
[1] 0 0 0 0

```

Coefficients:

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|-------------------|----------|------------|---------|------------|
| (Intercept) | 3.36038 | 0.18634 | 18.034 | <2e-16 *** |
| loctavolara | -0.59406 | 0.31243 | -1.901 | 0.0573 . |
| siteb | -0.03534 | 0.26588 | -0.133 | 0.8943 |
| loctavolara:siteb | -0.42940 | 0.48341 | -0.888 | 0.3744 |

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

```

```

Null deviance: 1.3092e+01 on 3 degrees of freedom
Residual deviance: -5.1337e-15 on 0 degrees of freedom
AIC: Inf

```

```

Number of Fisher Scoring iterations: 3

```

Appendice 3

Algae B

Call:
glm(formula = percent ~ loc * site, family = poisson, data = algaeB)

Deviance Residuals:
[1] 0 0 0 0

Coefficients:

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|-------------------|----------|------------|---------|------------|
| (Intercept) | 3.0450 | 0.2182 | 13.957 | <2e-16 *** |
| loctavolara | -1.6291 | 0.5388 | -3.024 | 0.0025 ** |
| siteb | 0.1035 | 0.3009 | 0.344 | 0.7309 |
| loctavolara:siteb | 0.6912 | 0.6655 | 1.039 | 0.2990 |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 1.9756e+01 on 3 degrees of freedom
Residual deviance: 5.6843e-15 on 0 degrees of freedom
AIC: Inf

Number of Fisher Scoring iterations: 3

Algae D

Call:
glm(formula = percent ~ loc * site, family = poisson, data = algaeD)

Deviance Residuals:
[1] 0 0 0 0

Coefficients:

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|-------------------|----------|------------|---------|----------|
| (Intercept) | -2.303 | 3.162 | -0.728 | 0.467 |
| loctavolara | -21.000 | 69653.801 | 0.000 | 1.000 |
| siteb | 4.188 | 3.186 | 1.314 | 0.189 |
| loctavolara:siteb | -4.188 | 98505.350 | 0.000 | 1.000 |

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 1.7509e+01 on 3 degrees of freedom
Residual deviance: 3.0330e-10 on 0 degrees of freedom
AIC: Inf

Number of Fisher Scoring iterations: 21

Algae E

Call:
glm(formula = percent ~ loc * site, family = poisson, data = algaeE)

Deviance Residuals:
[1] 0 0 0 0

Coefficients:

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|-------------------|----------|------------|---------|-------------|
| (Intercept) | 3.9126 | 0.1414 | 27.675 | < 2e-16 *** |
| loctavolara | 0.4689 | 0.1803 | 2.601 | 0.00929 ** |
| siteb | -0.1685 | 0.2089 | -0.807 | 0.41980 |
| loctavolara:siteb | 0.1799 | 0.2618 | 0.687 | 0.49200 |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 1.9445e+01 on 3 degrees of freedom
Residual deviance: 6.9500e-16 on 0 degrees of freedom
AIC: Inf

Number of Fisher Scoring iterations: 2

RDA (lgs per taglia + %algae)

Call:
rda(X = matrix1, Y = matrix2, scale = T)

Partitioning of correlations:

| | Inertia | Proportion |
|---------------|---------|------------|
| Total | 2.0000 | 1.0000 |
| Constrained | 1.5929 | 0.7964 |
| Unconstrained | 0.4071 | 0.2036 |

Eigenvalues, and their contribution to the correlations

Importance of components:

| | RDA1 | RDA2 | PC1 | PC2 |
|-----------------------|--------|---------|--------|---------|
| Eigenvalue | 1.3951 | 0.19774 | 0.2576 | 0.14948 |
| Proportion Explained | 0.6976 | 0.09887 | 0.1288 | 0.07474 |
| Cumulative Proportion | 0.6976 | 0.79644 | 0.9253 | 1.00000 |

Accumulated constrained eigenvalues

Importance of components:

| | RDA1 | RDA2 |
|-----------------------|--------|--------|
| Eigenvalue | 1.3951 | 0.1977 |
| Proportion Explained | 0.8759 | 0.1241 |
| Cumulative Proportion | 0.8759 | 1.0000 |

Scaling 2 for species and site scores

* Species are scaled proportional to eigenvalues
* Sites are unscaled: weighted dispersion equal on all dimensions
* General scaling constant of scores: 2.165737

Species scores

| | RDA1 | RDA2 | PC1 | PC2 |
|--------|--------|---------|---------|--------|
| adulti | -1.224 | -0.5012 | 0.7624 | 0.1152 |
| medi | -1.331 | 0.4610 | -0.1513 | 0.5808 |

Site scores (weighted sums of species scores)

| | RDA1 | RDA2 | PC1 | PC2 |
|-------|----------|----------|----------|---------|
| sit1 | -0.94303 | 0.36506 | -0.47638 | 0.6400 |
| sit2 | -0.79853 | -1.14296 | 0.47638 | -0.6400 |
| sit3 | -0.68892 | -0.58573 | 1.59847 | 0.3686 |
| sit4 | 0.07203 | -0.79474 | -0.43848 | -0.6873 |
| sit5 | -0.50834 | -1.02689 | 0.43848 | 0.6873 |
| sit6 | -0.12667 | 2.00073 | -1.01734 | 0.4514 |
| sit7 | 1.21860 | -0.13077 | -0.06270 | -0.3029 |
| sit8 | 0.18421 | 0.25123 | -0.08561 | -1.4073 |
| sit9 | 1.02126 | 0.02132 | 0.06270 | 0.3029 |
| sit10 | 0.36479 | -0.18992 | 0.02440 | 0.1974 |
| sit11 | -0.28143 | 1.55379 | -0.49553 | 0.5873 |
| sit12 | 0.48603 | -0.32111 | -0.02440 | -0.1974 |

Site constraints (linear combinations of constraining variables)

| | RDA1 | RDA2 | PC1 | PC2 |
|--|------|------|-----|-----|
|--|------|------|-----|-----|

Appendice 3

| | | | | |
|-------|---------|----------|----------|---------|
| con1 | -0.8708 | -0.38895 | -0.47638 | 0.6400 |
| con2 | -0.8708 | -0.38895 | 0.47638 | -0.6400 |
| con3 | -0.2282 | 0.80500 | 1.59847 | 0.3686 |
| con4 | -0.2182 | -0.91081 | -0.43848 | -0.6873 |
| con5 | -0.2182 | -0.91081 | 0.43848 | 0.6873 |
| con6 | -0.2282 | 0.80500 | -1.01734 | 0.4514 |
| con7 | 1.1199 | -0.05472 | -0.06270 | -0.3029 |
| con8 | -0.2282 | 0.80500 | -0.08561 | -1.4073 |
| con9 | 1.1199 | -0.05472 | 0.06270 | 0.3029 |
| con10 | 0.4254 | -0.25552 | 0.02440 | 0.1974 |
| con11 | -0.2282 | 0.80500 | -0.49553 | 0.5873 |
| con12 | 0.4254 | -0.25552 | -0.02440 | -0.1974 |

Biplot scores for constraining variables

| | RDA1 | RDA2 | PC1 | PC2 |
|---|---------|---------|-----|-----|
| a | 0.6394 | -0.5464 | 0 | 0 |
| b | 0.7888 | -0.4807 | 0 | 0 |
| d | -0.2454 | 0.9151 | 0 | 0 |
| e | -0.1075 | -0.9549 | 0 | 0 |

Analisi IGS di agosto

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|-------------------------|----|--------|---------|---------|-----------|-----|
| taglia | 1 | 16.992 | 16.9917 | 16.5850 | 0.0001077 | *** |
| habitat | 1 | 1.338 | 1.3377 | 1.3057 | 0.2565468 | |
| loc:site | 3 | 54.361 | 18.1204 | 17.6867 | 6.378e-09 | *** |
| taglia:habitat | 1 | 16.840 | 16.8401 | 16.4370 | 0.0001149 | *** |
| loc:site:taglia | 3 | 22.751 | 7.5838 | 7.4023 | 0.0001919 | *** |
| loc:site:habitat | 3 | 15.763 | 5.2542 | 5.1285 | 0.0026806 | ** |
| loc:site:taglia:habitat | 3 | 4.474 | 1.4914 | 1.4557 | 0.2328261 | |
| Residuals | 81 | 82.986 | 1.0245 | | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

TAVOLARA-ADULTI Anova 2-way (habitat-site)

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|--------------|----|--------|---------|---------|-----------|-----|
| site | 1 | 6.689 | 6.6890 | 7.5271 | 0.0115734 | * |
| habitat | 1 | 12.824 | 12.8241 | 14.4309 | 0.0009259 | *** |
| site:habitat | 1 | 4.504 | 4.5040 | 5.0683 | 0.0342223 | * |
| Residuals | 23 | 20.439 | 0.8887 | | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test (habitat)

HSD Test for igs

Mean Square Error: 1.039299

habitat, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|------|----------|-----------|----|------|------|
| posi | 3.214286 | 0.5413513 | 7 | 1.2 | 4.8 |
| rock | 4.855000 | 0.2187855 | 20 | 3.3 | 6.6 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 24

Critical Value of Studentized Range: 2.918793

Harmonic Mean of Cell Sizes 10.37037

Honestly Significant Difference: 0.9240094

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|------|-------|
| a | rock | 4.855 |
| b | posi | 3.214 |

TAVOLARA MEDI Anova 2-way (habitat-site)

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|--------------|----|--------|---------|---------|--------|
| site | 1 | 0.003 | 0.00293 | 0.0013 | 0.9719 |
| habitat | 1 | 0.912 | 0.91230 | 0.3985 | 0.5363 |
| site:habitat | 1 | 0.555 | 0.55537 | 0.2426 | 0.6287 |
| Residuals | 17 | 38.922 | 2.28952 | | |

Tukey test (habitat)

HSD Test for igs

Mean Square Error: 2.193175

habitat, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|------|----------|-----------|----|------|------|
| posi | 2.925000 | 0.4147151 | 12 | 1.3 | 6.5 |
| rock | 2.511111 | 0.4831737 | 9 | 0.2 | 5.1 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 18

Critical Value of Studentized Range: 2.971152

Harmonic Mean of Cell Sizes 10.28571

Honestly Significant Difference: 1.371969

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|------|-------|
| a | posi | 2.925 |
| a | rock | 2.511 |

SINIS ADULTI Anova 2-way(habitat-site)

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|--------------|----|---------|---------|---------|------------|
| habitat | 1 | 0.5919 | 0.5919 | 0.8804 | 0.35785 |
| site | 1 | 5.3235 | 5.3235 | 7.9182 | 0.00985 ** |
| habitat:site | 1 | 0.7800 | 0.7800 | 1.1602 | 0.29260 |
| Residuals | 23 | 15.4632 | 0.6723 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test (habitat)

HSD Test for igs

Mean Square Error: 0.6723116

habitat, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|------|----------|-----------|----|------|------|
| posi | 2.542857 | 0.1888022 | 7 | 1.6 | 3.1 |
| rock | 2.205000 | 0.2298140 | 20 | 0.6 | 4.6 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 23

Critical Value of Studentized Range: 2.925523

Harmonic Mean of Cell Sizes 10.37037

Honestly Significant Difference: 0.7448893

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|------|-------|
| a | posi | 2.543 |
| a | rock | 2.205 |

SINIS MEDI anova 2-way (site-habitat)

Analysis of Variance Table

Response: igs

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | |
|--------------|----|---------|---------|---------|----------|-----|
| habitat | 1 | 18.8034 | 18.8034 | 41.4674 | 4.64e-06 | *** |
| site | 1 | 0.6135 | 0.6135 | 1.3530 | 0.2599 | |
| habitat:site | 1 | 0.1210 | 0.1210 | 0.2667 | 0.6118 | |
| Residuals | 18 | 8.1621 | 0.4535 | | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey test (habitat)

HSD Test for igs

Mean Square Error: 0.4534511

habitat, means

| | igs | std.err | r | Min. | Max. |
|------|----------|-----------|----|------|------|
| posi | 3.069231 | 0.2051843 | 13 | 2.0 | 4.2 |
| rock | 1.188889 | 0.1798490 | 9 | 0.3 | 2.3 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 18

Critical Value of Studentized Range: 2.971152

Harmonic Mean of Cell Sizes 10.63636

Honestly Significant Difference: 0.6134703

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|------|-------|
| a | posi | 3.069 |
| b | rock | 1.189 |

Ringraziamenti

Alla fine di questo faticoso ciclo mi rendo conto che nel mio percorso di studi sono passate moltissime persone, alcune semplicemente di passaggio, altre decisamente di meno.

Non ci sono abbastanza parole per poter descrivere il vero ringraziamento che provo verso di esse.

La prime persone che vanno ringraziate sono i miei genitori, papà Davide e mamma Giuliana, grazie davvero per avermi permesso di perseguire nei miei obiettivi, grazie per avermi dato la possibilità di svolgere questo periodo all'”estero”. Grazie al mio papà per essersi aperto con me, e grazie a mia mamma per avermi sostenuto nei momenti peggiori.

Seconda, ma non per importanza, grazie alla persona a cui dedico questa tesi, mia sorella. Grazie a Bianca Maria perché mi ha sempre protetta, mi ha spinto ad aver più fiducia in me e nelle mie capacità. Grazie per essere stata il mio punto di riferimento.

Grazie alla Prof.ssa Colangelo (la Colli) per aver portato tanto pazienza e per essere riuscita a dedicarmi parte del suo tempo.

Ringrazio in tutto e per tutto la Fondazione IMC e il suo staff, grazie soprattutto a Barbara e Simone per aver portato così tanta pazienza e aver avuto così tanta disponibilità nei miei confronti, grazie per essere stati i miei correlatori (uno tirato dentro all'ultimo da me) e per tutto il tempo che mi avete dedicato.

Grazie a Dario, che è stato più di un collega. Grazie perché mi ha sempre tirato su di morale e quando è stato il momento ha usato le parole giuste con me, buone o cattive che fossero.

Grazie a Gianni per essere stato così disponibile, per essere stato sempre al gioco e per le belle parole che mi ha regalato quando è stato il momento di partire.

Grazie a tutto lo staff, Paolo Mossone, Maura Baroli, Rosalba, Ivan, Alessio & A. Assunta e il Signor Ettore per avermi fatto sentire “una di loro”. Per me è stato importante.

Grazie a Stefano per essersi rivelato come realmente è, per avermi fatto crescere l'ambizione e per tutta, e dico tutta, la gentilezza che ha mostrato.

Grazie a Simeone per l'allegria e i borbottii, per i commenti critici ai risultati e per l'aiuto nella costruzione nei grafici dei venti.

Grazie a Giò Quattrocchi per la sua gentilezza e soprattutto per non avermi mai messa da parte, grazie davvero.

Oltre all'esperienza formativa, in questi mesi ho conosciuto persone splendide, persone che hanno reso questa esperienza sarda molto importante e difficilmente dimenticabile.

Grazie alla Castagna per essere stata la prima che ho conosciuto, per aver dato inizio al gioco e per essere stata la mia porta verso gli altri, grazie anche per i suoi insulti.

Grazie a Mery e al suo sorriso, grazie per tutte le parole che mi ha rivolto.

Grazie a Lio “Allegrotti” per le parole sincere.

Grazie a Vero per la sua ingenuità che è stata fonte di molte risate e per non essersi mai offesa.

Grazie a Roby, e qui le parole non bastano. Grazie per essere stata una grande scoperta, una persona che non si è fermata alla differenza di età e che è stata partecipe di tutti i miei alti e bassi.

Grazie all'Antico Cafè e all'Ichnusa.

Grazie alla mia family, Alessia, Marcolino e Saretta, perché ci sono sempre stati, mi hanno sempre spronata. Grazie per essere stati la compagnia ravennate nelle sere più tristi, e per essere stati la compagnia giusta per le pazzie.

Grazie a Valeria e Rosa, perché non ci siamo fatte fermare dal cambio di corso, e mi hanno dimostrato che l'amicizia non è qualcosa di passaggio, a volte è qualcosa che resta.

Grazie alla Vale e alla Paola, per essere LE amiche, anche se mi fanno arrabbiare e se io faccio arrabbiare loro. Grazie per la loro continua e silenziosa presenza.

Grazie alla Nene, all'Anna, alla Silvia, alla Chiara e alla Cecia, per questi anni passati assieme, sempre qui a dimostrare che se le strade si dividono ciò non vuole che ci si perde di vista.

Grazie a Elisa per esserci sempre stata, col buono e il cattivo tempo. Grazie per l'enorme pazienza che ha mostrato e per avermi fatto ragionare usando la testa, grazie per i consigli e per tutta la forza che mi ha donato. Grazie anche e soprattutto per il fantastico titolo della tesi che aveva inventato.

A tutti voi, davvero, grazie di cuore.