



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Magistrale

Biologia Marina

**ECOLOGIA TROFICA DELLA RAZZA STELLATA (*RAJA ASTERIAS*,
DELAROCHE, 1809) IN ADRIATICO CENTRALE, ATTRAVERSO
L'ANALISI DI CONTENUTI STOMACALI ED ISOTOPI STABILI DI
AZOTO E CARBONIO**

**TROPHIC ECOLOGY OF THE MEDITERRANEAN STARRY RAY (*RAJA*
ASTERIAS, DELAROCHE, 1809) IN THE CENTRAL ADRIATIC SEA,
THROUGH STOMACH CONTENTS AND STABLE ISOTOPE
ANALYSES OF NITROGEN AND CARBON**

Tesi di Laurea Magistrale di:

Ilaria Martino

Ilaria Martino

Relatore

Chiar.ma Prof.ssa
Emanuela Fanelli

Emanuela Fanelli

Correlatore

Alessandro Lucchetti

Alessandro Lucchetti

Sessione Straordinaria supplementare

Anno Accademico 2019/2020

Indice

| | |
|---|-----------|
| 1. Introduzione..... | 1 |
| 1.1 Distribuzione | 1 |
| 1.2 Collocazione tassonomica..... | 3 |
| 1.3 Morfologia..... | 4 |
| 1.4 Riproduzione | 12 |
| 1.5 Accrescimento..... | 16 |
| 1.6 Ecologia..... | 20 |
| 1.7 Ecologia trofica | 22 |
| 1.8 Altri batoidei | 26 |
| 1.8.1 <i>Raja clavata</i> | 26 |
| 1.8.2 <i>Raja miraletus</i> | 27 |
| 1.8.3 <i>Torpedo marmorata</i> | 28 |
| 1.8.4 <i>Pteromylaeus bovinus</i> | 29 |
| 1.9 L'analisi degli isotopi stabili di azoto e carbonio per lo studio delle reti trofiche | 31 |
| 1.10 Scopo della tesi | 34 |
| 2. Materiali e metodi | 35 |
| 2.1 Area di studio | 35 |
| 2.2 La struttura delle comunità demersali e la pesca | 37 |
| 2.3 Gestione delle risorse | 49 |
| 2.4 Campionamento | 51 |
| 2.5 Analisi dei campioni | 56 |
| 2.6 Stima degli indici biologici | 62 |
| 2.7 Analisi dei contenuti stomacali | 63 |
| 2.8 Analisi degli isotopi stabili di azoto e carbonio..... | 65 |
| 2.9 Analisi delle vertebre | 68 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 2.10 | Analisi statistiche | 75 |
| 2.10.1 | Analisi univariate degli indici biologici e di fullness | 75 |
| 2.10.2 | Analisi multivariate della dieta di <i>R. asterias</i> | 75 |
| 2.10.3 | Analisi dei risultati ottenuti dall'analisi isotopica | 77 |
| 3. | Risultati | 79 |
| 3.1 | Caratteristiche biologiche di <i>Raja asterias</i> | 79 |
| 3.2 | Composizione della dieta di <i>Raja asterias</i> | 85 |
| 4. | Discussione | 98 |
| 4.1 | Approccio sperimentale alla lettura degli annuli delle vertebre dei batoidei e implicazione per la conservazione | 98 |
| 4.2 | Cambiamenti stagionali nella condizione biologica della specie | 99 |
| 4.3 | Composizione della dieta | 100 |
| 4.4 | Variazioni stagionali nella dieta | 101 |
| 4.5 | Cambiamento nella composizione isotopica con la taglia e la stagione | 102 |
| 4.6 | Posizione dei batoidei nelle reti trofiche bentoniche | 104 |
| 5. | Conclusioni..... | 104 |
| 6. | Bibliografia | 106 |
| 7. | Sitografia | 117 |
| 8. | Annex 1 | 118 |

1. Introduzione

1.1 Distribuzione

I Condroitti sono una classe di pesci cartilaginei che comprende 1170 specie distribuite in tutti i mari del mondo, con 60 specie d'acqua dolce. All'interno dei Condroitti si distinguono due diverse sottoclassi, gli Elasmobranchi e gli Holocephali, di cui fanno parte le chimere. Gli Elasmobranchi comprendono 1154 specie e sono divisi in due superordini: Batoidea e Selachimorpha. Il superordine Batoidea racchiude 4 ordini, tra cui l'ordine Rajiformes, al cui interno troviamo la famiglia Rajidae. Recenti analisi filogenetiche hanno mostrato come l'ordine dei Rajiformes derivi da un gruppo di squaloidei che si sono adattati alla vita bentonica (Stiassny et al., 1996; Serena et al., 2010).

La famiglia Rajidae ha un'alta diversità di specie (>250 specie) e si trova in tutto il mondo in acque marine, da habitat bentonici poco profondi a regioni abissali (Mceachran e Miyake, 1990; Valsecchi et al., 2005).

Il Mar Mediterraneo è considerato un hot-spot per la biodiversità degli elasmobranchi (Bradai et al., 2012; Dulvy et al., 2014; Colloca et al., 2017), ne ospita 87 specie: 49 appartenenti agli squaloidea e 38 ai batoidea.

Per quanto riguarda la famiglia Rajidae nel Mar Mediterraneo sono presenti 4

generi e 16 probabili specie valide, di cui tre specie endemiche: *Leucoraja melitensis*, *Raja polystigma* e *Raja asterias* (Serena et al., 2010). Secondo Meléndez et al. (2017), cinque specie di batoidei potrebbero essere invece considerate endemiche del bacino: oltre alle tre menzionate sopra anche la razza ruvida (*Raja radula*) e il diavolo di mare (*Mobula mobular*).

Raja asterias (Delaroche, 1809) abita il Mar Mediterraneo, con probabile esclusione del Mar Nero (Fischer et al. 1987; Relini et al. 2000; Serena, 2006; Barone et al., 2007; Serena et al., 2010; Ferrà et al., 2016), e le aree vicine dell'Atlantico occidentale (Fischer et al., 1973; Serena, 2005; Barone et al., 2007; Tai et al., 2010; Serena et al., 2010; Ferrà et al., 2016). È stata registrata lungo la costa atlantica del nord del Marocco e nel sud del Portogallo (Whitehead et al. 1984; Serena et al., 2005) (**Fig. 1.1**).

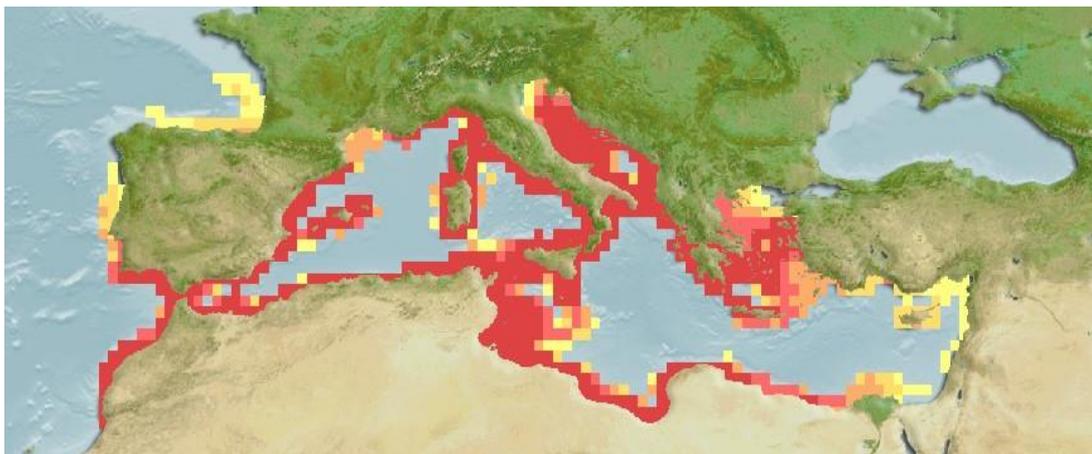


Figura 1.1 Distribuzione di *Raja asterias* (www.fishbase.in)

È una specie di medie dimensioni, diffusa in tutto il bacino mediterraneo ma meno comune nella parte orientale. In precedenza, la specie era registrata solo nella parte meridionale dell'Adriatico (Jardas, 1984; Sviben et al., 2019); oggi la sua distribuzione comprende l'intero Mare Adriatico, in particolare la parte occidentale (Jardas et al., 2008; Sviben et al., 2019).

R. asterias sembra essere presente in due forme geograficamente e geneticamente distinte nel Mediterraneo centrale, una adriatica e una tirrenica/ligure, senza alcuna evidenza di flusso genico tra i due stock (Valsecchi et al., 2005). Questa specie abita acque costiere (fino a circa 100 m di profondità; Stehmann e Bürkel, 1984; Valsecchi et al., 2005), ed è possibile che la discontinuità della piattaforma continentale impedisca a *R. asterias* di disperdersi su lunghe distanze, migliorando così la formazione di stock differenziati. La sequenza relativamente alta tra i due aplotipi, ciascuno caratteristico di uno dei due stock, suggerirebbe un isolamento a lungo termine tra i due stock (Valsecchi et al., 2005).

1.2 Collocazione tassonomica

La specie *Raja asterias* (Delaroche, 1809) (Figura), ha il seguente inquadramento tassonomico:

Regno: Animalia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Infraphylum: Gnathostomata

Superclasse: Pisces

Classe: Chondrichthyes

Sottoclasse: Elasmobranchii

Superordine: Batoidea

Ordine: Rajiformes

Famiglia: Rajidae

Genere: *Raja*

Specie: *R. asterias*

1.3 Morfologia

La struttura scheletrica delle razze prevede tre porzioni distinte: la regione cefalica, la regione toracica e la regione caudale (**Fig. 1.2**). La prima regione comprende le strutture vitali del neurocranio e della cartilagine rostrale di importanza tassonomica come, ad esempio, la cartilagine di Meckel. Gli archi branchiali e il cinto pettorale sono allocati nella regione toracica. Il cinto

pelvico rimane a cavallo tra la seconda e la terza regione caudale (Serena et al., 2010).

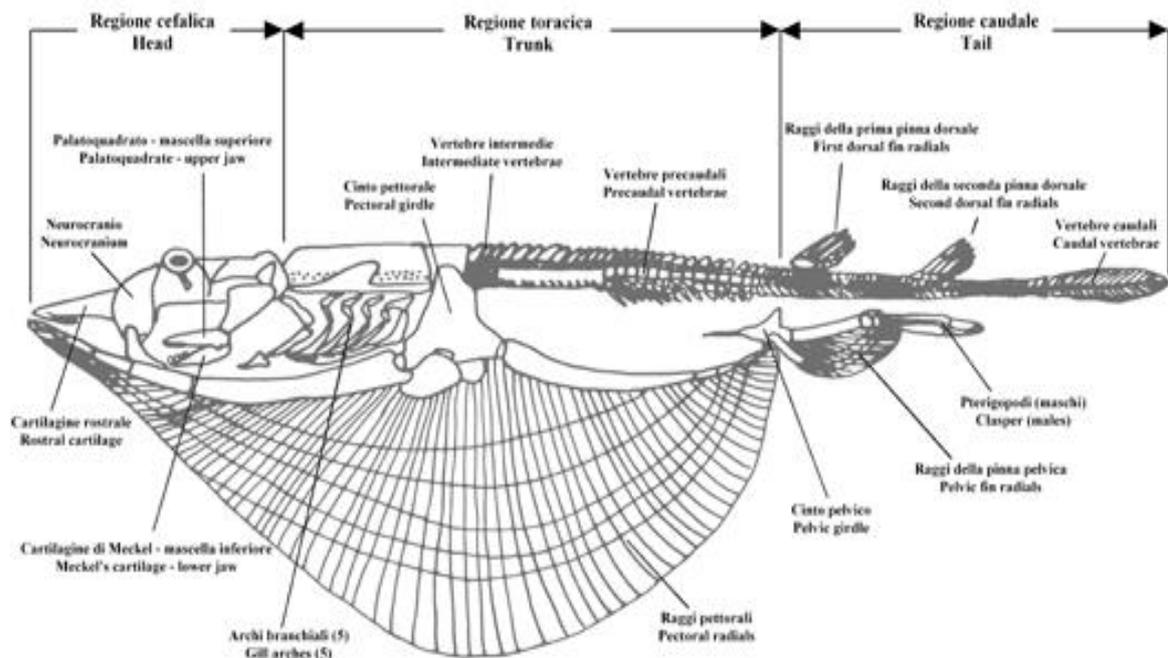


Figura 1.2 Schema generale di un batoideo (Da Hamlett, 1999, modificato da Serena et al., 2010)

Tutte le razze presentano un corpo depresso dorso-ventralmente differenziabile in un disco più largo che lungo che termina con un rostro e una coda allungata. Sul lato dorsale sono presenti gli occhi e gli spiracoli, sul lato ventrale sono presenti 5 paia di branchie, la bocca e le narici (**Fig. 1.3**).

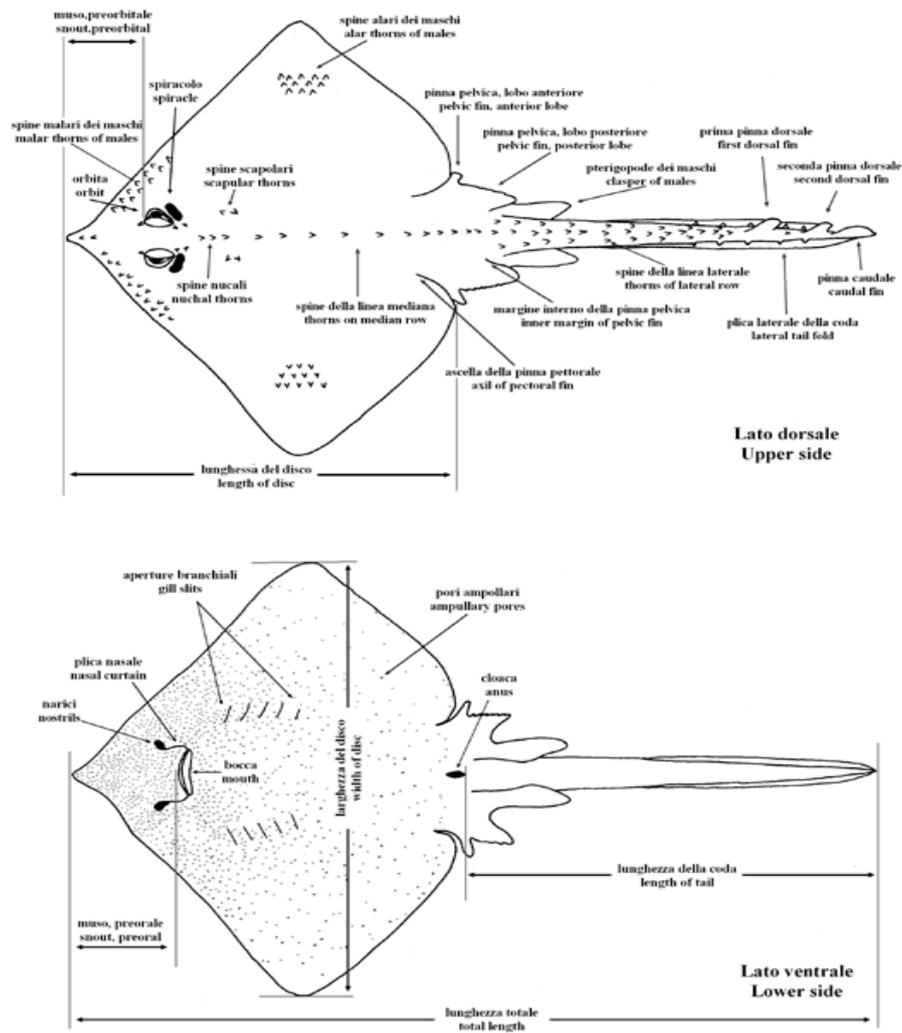


Figura 1.3 Schema del lato dorsale e del lato ventrale di una razza (Serena et al., 2010)

Le razze nuotano grazie alle ampie pinne pettorali che si muovono dall'alto verso il basso. La pinna anale è assente. Nei maschi dalle pinne ventrali bilobate si sviluppano due pterigopodi, gli organi sessuali esterni. La superficie dorsale può essere ricoperta da spinule, che costituiscono una sorta di zigrino, o da spine; alcune volte sono presenti grosse spine molto robuste che possono disporsi anche sul lato ventrale (**Fig. 1.4**).



Figura 1.4 Spina sul dorso di *R. clavata*

La presenza di queste spine sul corpo varia in funzione dell'accrescimento, dell'età e della maturità sessuale. La colorazione è molto diversa anche all'interno della stessa specie e i disegni sul dorso possono essere altrettanto vari. Il lato ventrale è solitamente chiaro nelle specie costiere, mentre può essere scuro nelle specie che vivono in zona di scarpata o nel batiale. *R. asterias* ha il dorso bruno-giallastro, ruvido e caratterizzato da piccoli e numerosi punti neri che a gruppi sembrano formare delle piccole stelle, da cui in nome della specie. Il ventre è bianco e liscio. Negli adulti di *R. asterias* è presente sul dorso dal rostro alla prima dorsale una fila mediana di piccole spine (circa 60) (Serena et al., 2010) (**Figg. 1.5 e 1.6**).



Figure 1.5 e 1.6 Esemplare maschile di *Raja asterias*, lato dorsale e ventrale

Le dimensioni delle razze possono essere molto ridotte, come nel genere *Finestraja* (20-30 cm TL), oppure relativamente grandi fino a circa 200 cm LT (*Dipturus*, *Rostroraja*, ecc.), *R. asterias* cresce fino a circa 80 cm di lunghezza totale (LT) (Serena et al., 2010). È frequente un errore nella determinazione della specie per via dello sviluppo tardivo delle caratteristiche utili a questo fine, traducibile con una maggiore difficoltà riguardo ai giovanili. Nel caso di *R. asterias* le specie più simili e con cui è facile venga confusa sono: *R. brachiura* Lafont, 1873; *R. montagui* Fowler, 1910; *R. polystigma* Regan, 1923.

La bocca delle razze è caratterizzata da più file di denti, ciascuna costituita dal dente in posizione funzionale, posto sul margine della mascella, e dai denti che lo sostituiranno (Kemp in Hamlett, 1999; Serena et al., 2010). *Raja asterias* ha 36 denti per mascella. Frequentemente i denti delle razze sono di forma diversa nei due sessi: negli individui maschili sono in genere più appuntiti, nelle femmine hanno la forma di una placca (**Figg. 1.7 e 1.8**).



Figure 1.7 e 1.8 Mascelle maschili e femminili di *Raja asterias* (Serena et al., 2010)

Questa differenza non sembra collegata all'alimentazione bensì ai morsi di corteggiamento dei maschi verso le femmine, che con denti più affilati riescono a trattenerle meglio, facilitando l'inserimento dello pterigopodio nella cloaca per la fecondazione interna.

Il canale alimentare di tutti gli elasmobranchi può essere suddiviso in quattro parti funzionalmente differenti: porzione orobranchiale (bocca e faringe); canale alimentare anteriore (esofago e stomaco); medio (duodeno e intestino spirale); posteriore (retto e cloaca) (Serena et al., 2010) (**Fig. 1.9**).

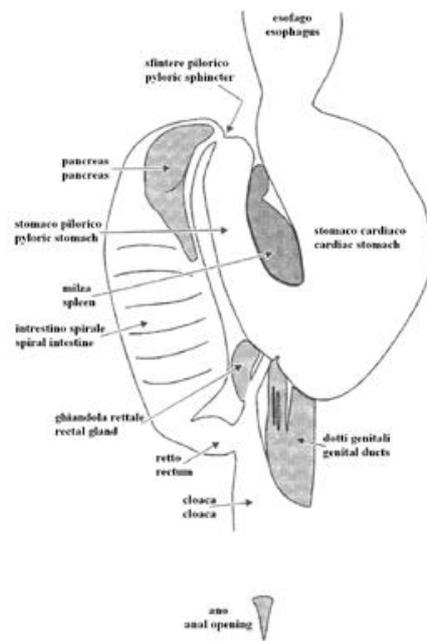


Figura 1.9 Disegno rappresentativo dell'apparato digerente di razza (da Hamlett 1999, modificato da Serena et al., 2010).

Il cibo dalla bocca giunge nello stomaco che è a forma di J e svolge funzione di immagazzinamento e digestione iniziale. La parte successiva, l'intestino, è estremamente corto in relazione agli altri vertebrati. Ciò avviene a causa della presenza di una plica disposta a spirale (valvola spirale) che compie numerosi giri all'interno di una singola sezione dell'intestino (Serena et al., 2010). Nelle razze, la valvola spirale è a forma di coni o imbuto interconnessi e diretti anteriormente (Serena et al., 2010). (**Fig. 1.10**).

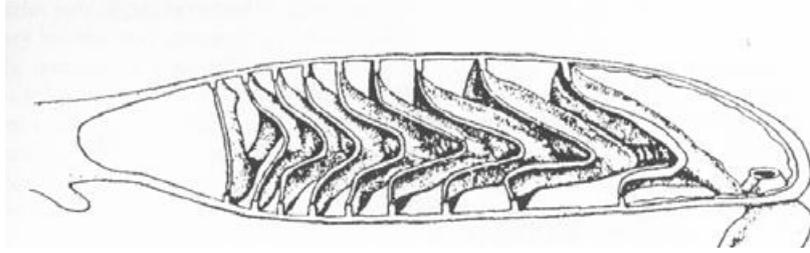


Figura 1.10 Esempio di valvola spirale delle razze (Serena et al., 2010)

Le pliche hanno la funzione di ritardare il passaggio dei cibi in via di digestione e di aumentare la superficie di assorbimento dell'intestino (Holmgren e Nilsson in Hamlett, 1999). Questo particolare apparato digestivo, differente da quello presente nei pesci ossei, potrebbe comportare un aumento dell'efficienza di assorbimento di nutrienti ed energia e diminuire i tassi di consumo (Wetherbee et al., 2004). Sebbene bassi tassi di consumo di cibo possano fornire vantaggi evolutivi per le popolazioni di elasmobranchi, i bassi tassi di crescita e di riproduzione associati, sono caratteristiche che contribuiscono alla vulnerabilità alla pesca eccessiva della maggior parte delle popolazioni di elasmobranchi (Wetherbee et al., 2004). La valvola a spirale, risparmiando spazio a livello della cavità toracica, permette alle specie che ne sono dotate di avere un fegato più grande (essenziale per l'assetto idrostatico nelle specie prive di vescica natatoria come gli elasmobranchi) e permettere lo sviluppo di embrioni di grandi dimensioni (Moss, 1984). Il tasso di digestione delle prede nello stomaco può variare a seconda delle dimensioni e del tipo di preda, e quindi gli elementi che vengono digeriti lentamente possono essere sovra

rappresentati nello stomaco esaminato (Wetherbee et al., 2004). Pasti più grandi generalmente richiedono più tempo per essere digeriti ed evacuati (Sims et al., 1996; Bush and Holland, 2002; Wetherbee et al., 2004). In generale, sembra che prede piccole, più friabili e facilmente digeribili siano evacuate più rapidamente rispetto a prede più grandi con rapporti superficie-volume più bassi (Medved, 1985; Schurdak e Gruber, 1989; Cortés e Gruber, 1992; Nelson e Ross, 1995; Wetherbee et al., 2004). Sebbene la ricerca per le razze sia estremamente scarsa, lo svuotamento dello stomaco degli elasmobranchi richiede molto più tempo rispetto a quello dei teleostei. Con pochissime eccezioni, ci vuole un minimo di uno a, più frequentemente, diversi giorni per evacuare completamente un pasto dallo stomaco degli elasmobranchi, motivo per il quale è frequente trovare almeno qualche resto all'interno degli stomaci (Wetherbee et al., 2004).

1.4 Riproduzione

Le razze sono gonocoriche e presentano un complesso comportamento di corteggiamento e accoppiamento. La riproduzione prevede una fecondazione interna: durante la copula il maschio introduce uno dei due pterigopodi nella cloaca della femmina. Le razze sono specie ovipare, le uova sono protette da un guscio corneo prodotto dalla ghiandola nidamentale, tipica degli

elasmobranchi. La morfologia della capsula ovarica varia in base alla specie ma in generale è rettangolare, presenta quattro appendici cave, per permettere la respirazione dell'embrione, disposte agli angoli; è ricoperta da una sostanza gelatinosa e dotata di molti filamenti che ne permettono l'adesione al fondale marino (**Figg. 1.11 e 1.12**).

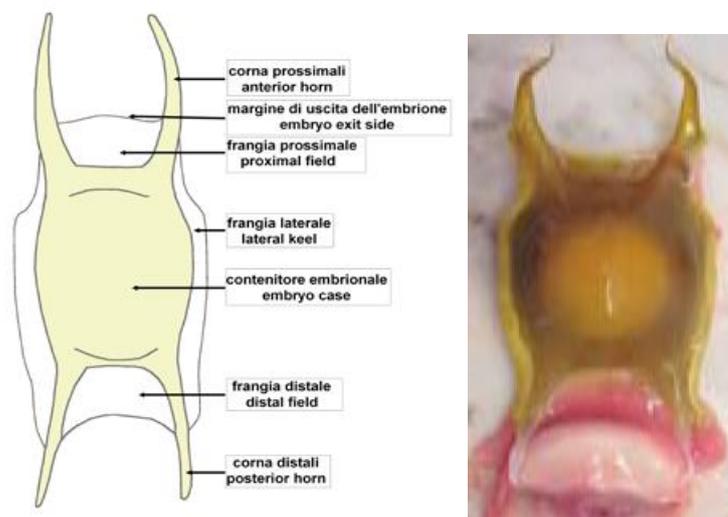


Figure 1.11 e 1.12 Schema generico di una capsula ovarica di razza e capsula ovarica di *R. asterias* (Serena et al., 2010)

Sono deposte a gruppi in luoghi riparati e spesso vengono semi sepolte nel sedimento. La modalità riproduttiva evolutasi nella famiglia Rajidae può essere definita come oviparità lecitotrofica singola, in cui l'intero sviluppo embrionale è supportato unicamente dal vitello e la deposizione prevede che venga deposto un uovo per volta da ciascun ovidotto, avvolto in una capsula rigida. Questa modalità si è evoluta negli elasmobranchi di piccole dimensioni; i batoidei

sono, infatti, caratterizzati dall'aver una forma del disco che limita lo spazio celomico e la capacità uterina, quindi avrebbero una fecondità limitata nel caso in cui fossero vivipari. Nelle razze la deposizione può essere annuale o semestrale. In generale la produzione di uova avviene durante tutto l'anno, sebbene in alcuni momenti la percentuale di femmine mature è maggiore (Serena et al., 2010). Per la determinazione dello stadio di maturità è essenziale tenere in conto aspetti differenti in base ai sessi. Nelle femmine è necessario osservare lo stadio di sviluppo degli oociti, dell'ovario, degli ovidotti e della ghiandola dell'ovidotto e nei maschi lo stadio di sviluppo dei testicoli, dei dotti deferenti, la consistenza degli pterigopodi e dello scheletro. In genere ci si attiene a scale di maturità standard, come quella della **tabella 1.1**.

Tabella 1.1 Scala di maturità sessuale utilizzata per le razze mediterranee (da Relini et al., 2008; Serena et al., 2010)

| SEX | GONAD ASPECT | MATURATION STATE | STAGE |
|-----|---|-------------------------|-------|
| F | Ovary is barely discernible with small isodiametric eggs. Distal part of oviducts is thick-walled and whitish. The nidamental glands are less evident. | IMMATURE / VIRGIN | 1 |
| M | Claspers are small and flaccid and do not reach the posterior edge of the pelvic fins. Sperm ducts not differentiated. Testis small and narrow. | | |
| F | Whitish and/or few yellow maturing eggs are visible in the ovary. The distal part of oviducts (uterus) is well developed but empty. The nidamental glands are small. | MATURING | 2 |
| M | Claspers are larger, but skeleton still flexible. They extend to the posterior edge of the pelvic fins. Sperm ducts well developed eventually beginning to meander. | | |
| F | Ovaries contain yellow eggs (large yolk eggs). The nidamental glands are enlarged and oviducts are distended. | MATURE | 3a |
| M | Claspers extends well beyond the posterior edge of the pelvic fin and their internal structure is generally hard and ossified. Testis greatly enlarged. Sperm ducts meandering over almost their entire length. | | |
| F | Ovary walls transparent. Oocytes of different sizes, white or yellow. Nidamental glands large. Egg-cases more or less formed in the oviducts (Extruding Stage). | MATURE/EXTRUDING-ACTIVE | 3b |
| M | Claspers longer than tips of posterior pelvic fin lobes, skeleton hardened with axial cartilages hardened and pointed. Sperm ducts largely. Sperm flowing on pressure from cloacae (Active Stage). | | |
| F | Ovary walls transparent. Oocytes of different sizes, white or yellow. Oviducts appear much enlarged, collapsed and empty. The nidamental glands diameter are reducing. | RESTING | 4 |
| M | Claspers longer than tips of posterior pelvic fin lobes, skeleton hardened with axial cartilages still hardened. Sperm ducts empty and flaccid. | | |
| | | Adult specimens | |

Raja asterias si accoppia in primavera. Il ciclo vitale è mostrato in **Figura 1.13**. La taglia di prima maturità è di circa 56 cm per le femmine e 52 cm per i maschi. Le capsule ovigere sono lunghe 6-7 cm e larghe 3 cm e vengono deposte principalmente in estate ed autunno a 30- 40 m di profondità. Lo sviluppo embrionale dura 5-6 mesi, quindi la schiusa avviene tra marzo e luglio (Serena et al., 2010). Risultati analoghi per quanto riguarda il periodo di deposizione delle uova per le coste tunisine sono stati osservati da Capapé (1977). Secondo

Romanelli et al. (2007), la produzione media stimata di uova nel Mar Tirreno è di circa 40-60 capsule due volte l'anno.

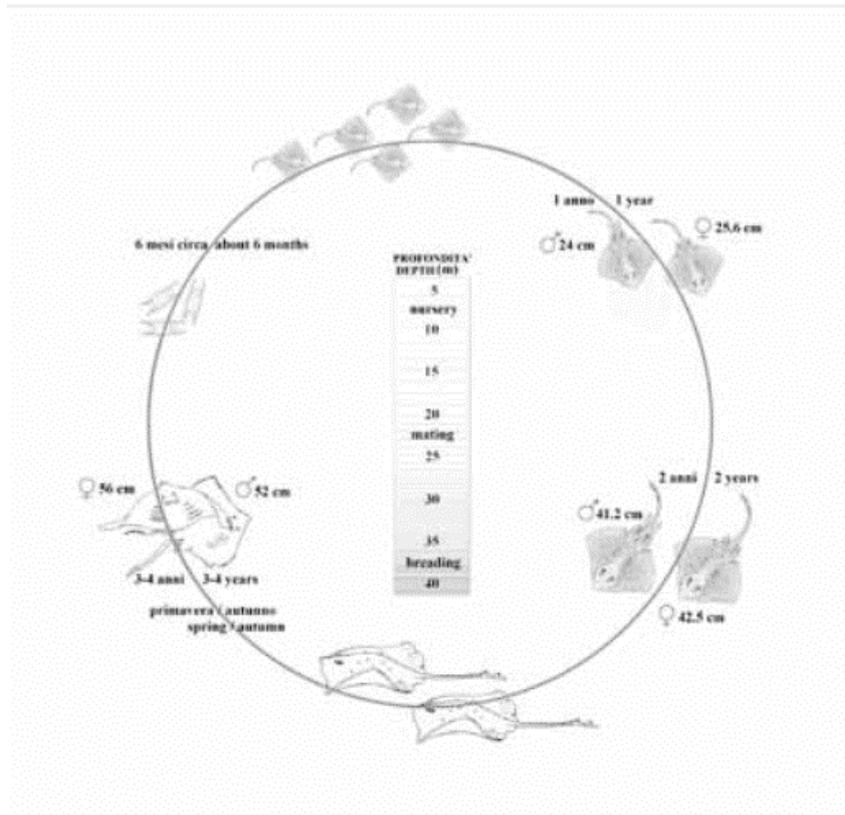


Figura 1.13 Ciclo vitale di *Raja asterias* (M. Barone e F. Serena) (Serena et al., 2010)

1.5 Accrescimento

Le informazioni riguardanti il ciclo vitale delle specie impattate direttamente o meno dalla pesca sono necessarie per lo sviluppo di eventuali piani di gestione e di conservazione di queste specie. In quest'ottica una determinazione quanto più accurata dell'età degli organismi è fondamentale. Una determinazione imprecisa dell'età può portare al contrario ad un'errata stima delle dinamiche

di popolazione e condurre così a seri errori gestionali culminanti nel sovrasfruttamento dello stock (Hoenig and Gruber, 1990; Hoff & Musick, 1990; Musick, 1999; Campana, 2001; Bellodi, 2015).

Per i pesci ossei a questo scopo vengono analizzati gli otoliti, gli ossicini dell'orecchio, e in misura minore le scaglie, con la conta delle bande di accrescimento presenti. I pesci cartilaginei non hanno otoliti, per la stima della loro età si è valutato un insieme di strutture molte diverse fra loro, come: le spine delle pinne dorsali (Ketchen, 1975; Sion et al., 2002; Irvine et al., 2006), le spine delle pinne caudali (Gallagher et al., 2006; Serra-Pereira et al., 2008) e gli archi neurali (McFarlane, et al., 2002). Le strutture più utilizzate sono però le vertebre, talvolta utilizzate interamente (MacNeil & Campana, 2002) ma più frequentemente sezionate (e.g. Fahy et al., 1991; Gallagher et al., 2005; Licandeo et al., 2006; Yigin & Ismen, 2010; Duman & Başusta, 2013, Fisher et al., 2013; Porcu et al., 2015; Bellodi, 2015).

Le vertebre dei pesci cartilaginei sono costituite da caratteristici anelli che testimoniano la crescita dell'individuo (**Fig. 1.14**).

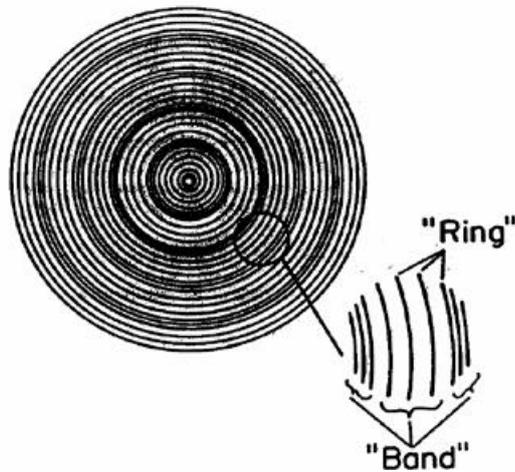


Figura 1.14 Schema di una sezione trasversale di un centro vertebrale di elasmobranco che mostra una “banda” costituita da diversi “anelli” (da Cailliet *et al.*, 1983) (Serena *et al.*, 2010).

Molti studi intrapresi sugli anelli di crescita nelle vertebre hanno rivelato che la loro formazione è determinata da fenomeni stagionali (La Marca, 1966; Serena *et al.*, 2010). L’insieme dei diversi anelli di accrescimento presenti nel corpo vertebrale forma delle caratteristiche “bande” e all’alternarsi di una banda ialina e di una opaca si attribuisce un significato annuale, consentendo di “leggere” l’età dell’individuo. Le bande possono essere opache e ialine, spesso definite anche bande scure e bande chiare. Tuttavia, quest’ultima definizione non è completamente appropriata, poiché la banda opaca (scura) appare chiara se osservata con luce riflessa, mentre appare effettivamente scura se osservata con luce trasmessa. Allo stesso modo la banda ialina (chiara) appare scura se osservata con luce riflessa, mentre appare chiara solo se osservata con luce trasmessa (Serena *et al.*, 2010). La banda ialina si forma

durante i periodi di condizioni sfavorevoli (basse temperature, minore disponibilità di cibo, ecc.) per la crescita dell'individuo; al contrario la banda opaca si forma nei periodi di condizioni favorevoli, durante i quali la crescita è più veloce (Panfili et al., 2002; Serena et al., 2010). Nelle specie di acque temperate la banda ialina corrisponderebbe al periodo invernale, durante il quale le basse temperature e la scarsità di nutrimento sfavorirebbero la crescita. La banda opaca, invece, corrisponderebbe al periodo estivo, quando il metabolismo è più accelerato (Serena et al., 2010). Tuttavia, sulle vertebre si possono formare anche zone che non hanno una periodicità definita e che si possono classificare in due tipologie fondamentali: a) zone discontinue (non complete come traccia) ed irregolari e b) zone continue e molto marcate. Entrambe si definiscono come false zone o checks, ma i primi sono depositi in corrispondenza di eventi inusuali corrispondenti a periodi di stress come la carenza di cibo o basse temperature, mentre le seconde riflettono momenti critici del percorso ontologico (per es. la schiusa o la riproduzione) (anelli di spawning) (Meekan et al., 1999; Landa e Pineiro, 2000; Serena et al., 2010), durante il periodo prenatale, o nei cambi nutrizionali (Abdel- Aziz, 1992). Nel corpo vertebrale si distinguono spesso anche falsi anelli che possono essere molto numerosi e difficili da riconoscere, creando difficoltà nella lettura degli anelli annuali di crescita che in certi casi fornisce un risultato poco attendibile.

Uno studio effettuato su *R. asterias* mostra l'alternanza di una banda opaca ed una ialina nella sezione longitudinale della vertebra, costituite essenzialmente da cartilagine mineralizzata (fosfato di calcio). Attraverso la microscopia a scansione entrambe le bande hanno mostrato lacune condrocitiche; ampie e multiple nel caso delle ialine e piccole e singole per le opache (Serena et al., 2010).

1.6 Ecologia

Le razze e gli squali costituiscono una componente chiave dell'ecosistema bentonico marino per il loro ruolo nel mantenimento della struttura e del funzionamento delle reti alimentari (Libralato et al. 2006, Baum & Worm 2009; Barría et., 2015; Colloca et al., 2017). Le loro caratteristiche da specie K, come la longevità, la crescita lenta, la bassa fecondità e il tardivo raggiungimento della maturità sessuale, li rendono molto sensibili a cambiamenti dell'ecosistema, allo sfruttamento della pesca e il degrado dell'habitat, ed il ripristino di popolazioni sovrasfruttate è abbastanza difficile (Stevens et al., 2000; Myers & Worm 2003; Ferretti et al., 2010; Tserpes et al., 2013; Dulvy et al. 2014; Barría et al., 2015). Per tali ragioni, squali e razze possono essere

considerati buoni indicatori della salute degli ecosistemi (Stevens et al. 2000, Baum & Worm 2009; Barría et al., 2015).

L'elevata diversità delle strategie alimentari rende l'ecologia degli elasmobranchi particolarmente complessa da comprendere (Cortes, 1999; Yemiskén et al., 2018). La diminuzione della popolazione di elasmobranchi top-predator, responsabili dei controlli top-down delle reti trofiche, può modificare a cascata (cascade-effect) drasticamente le comunità marine e gli ecosistemi, determinando, ad esempio, l'aumento delle loro prede (Baum & Worm 2009, Barría et al., 2015).

Nello studio di Navarro et al., (2013), che ha avuto come focus razze e squali del Mar Catalano, le razze hanno mostrato una posizione trofica leggermente superiore rispetto agli squali demersali. Tale risultato è in linea con quanto osservato nel Mare del Nord e nel Mare Adriatico Centrale, dove il gruppo di razze demersali mostrava un livello trofico di 4,16 e quello degli squali demersali era di 4,09 (Coll et al. 2007, Navarro et al., 2013).

Tutte le razze presenti in Mediterraneo hanno abitudini bentoniche, sono presenti sia specie di acque costiere che profonde, essendo state osservate fino a 3000 m di profondità (Last e Stevens, 2009, Serena et al., 2010). Gli individui di maggiori dimensioni sembrano preferire acque più profonde rispetto agli stadi giovanili delle stesse specie.

Raja asterias vive in acque costiere su fondali fangosi o sabbiosi e, anche se può essere avvistata da 2 a 200 m, è presente soprattutto a profondità comprese tra 20 e 50 m (Navarro et al., 2013; Fatimetou et al., 2016; Ferrà et al., 2016). In seguito all'accoppiamento, nei mesi primaverili, si sposta a profondità di circa 25 m (Serena et al., 2010).

1.7 Ecologia trofica

Le razze sono dei mesopredatori, essendo prede potenziali di grandi predatori da un lato e predando organismi bentonici, soprattutto invertebrati dall'altro, collegando in tal modo i diversi compartimenti della rete trofica marina (Ebert e Bizzarro 2007; Heithaus et al. 2008; Baum e Worm 2009; Matich et al. 2011; Barría et al., 2015). Tuttavia, in merito all'ecologia trofica, le differenze legate al sesso, allo stadio di maturità e alle stagioni e l'impatto che le razze possono avere sulle comunità marine sono ancora poco conosciute, specialmente nel Mar Mediterraneo, dove solo pochi studi documentano il loro comportamento alimentare (ad es. Stergiou e Karpouzi 2001; Mulas et al., 2011; Navarro et al., 2013).

Le razze hanno solitamente una dieta generalista, questa è una strategia vincente quando le risorse sono condivise in un ambiente ristretto, le specie così adattano e modificano il loro comportamento alimentare per coesistere

nella stessa area (Lowe et al. 1996, Heithaus 2001, Motta & Wilga 2001, Dean et al. 2007; Barría et al., 2015). In questo modo, le razze possono nutrirsi di diversi gruppi di prede e ridurre la concorrenza per le risorse alimentari disponibili (Carrassón & Cartes 2002, Heupel et al. 2007; Navarro et al. 2014; Barría et al., 2015). I predatori generalisti hanno la capacità di sfruttare una più ampia gamma di risorse trofiche, di solito concentrandosi sulle prede più abbondanti o facili da catturare all'interno del loro habitat di foraggiamento (Mceachran et al. 1976; Futuyma e Moreno 1988; Krebs e Davies 1993; Navarro et al., 2013).

La dieta delle razze è caratterizzata fundamentalmente da organismi bentonici sebbene in alcuni casi, in particolare con l'aumento di taglia, la dieta includa anche organismi tipici della colonna d'acqua, a dimostrazione del fatto che questi animali nuotino anche a diversi metri dal fondo (Serena et al., 2010), ed è indice di uno shift ontogenetico. Cambiamenti ontogenetici nella dieta sono collegati generalmente con maggiori esigenze metaboliche degli individui più grandi o alla ripartizione delle risorse o possono indicare un'evoluzione generale delle capacità predatorie durante la crescita (Werner and Gilliam. 1984; Follesa et al., 2010; Valls et al., 2011). Cuoco et al., (2005) indica a 38-40 cm la dimensione alla quale le razze iniziano ad alimentarsi principalmente di pesci ossei (Romanelli et al., 2007). Il valore del livello trofico aumenta

durante la crescita, mantenendo bassi livelli di competizione intraspecifica e migliorando il tasso di sopravvivenza dei giovanili. Generalmente il livello trofico è più alto nelle specie che preferiscono prede pelagiche. Non sono state viste differenze nei modelli di alimentazione tra i sessi, caratterizzati da un alto valore di sovrapposizione di nicchia (Barría et al., 2015). Come affermato anche da Cuoco et al. (2005) e Vannucci et al. (2006) per le razze, il dimorfismo sessuale dell'apparato boccale ha solo funzioni riproduttive. Sulla piattaforma continentale, la sovrapposizione della dieta risulta biologicamente significativa tra tutte le specie di batoidei. La mancanza di significative differenze alimentari tra le razze di piattaforma di dimensioni paragonabili suggerisce che la competizione tra risorse specifiche non sia intensa (Bizzarro et al., 2007; Valls et al., 2011). Valori elevati di sovrapposizione della dieta non implicano necessariamente concorrenza, tranne quando le risorse sono scarse (Macpherson, 1977; Cartes, 1998; Valls et al., 2011). La coesistenza tra specie con abitudini trofiche simili e una ristretta ampiezza di nicchia potrebbe essere dovuta all'abbondanza di risorse alimentari (Collwell e Futuyma, 1971; Valls et al., 2011). L'analisi delle sovrapposizioni di nicchia sottolinea una maggiore competizione interspecifica tra gli esemplari che vivono in ambienti profondi. Questi ambienti sono infatti caratterizzati da condizioni oligotrofiche che possono portare allo sfruttamento intensivo di un numero limitato di prede,

massimizzando la sovrapposizione tra diete (Mulas et al., 2011; Barría et al., 2015). Alcuni studi indicano inoltre differenze nella dieta in relazione alla località ed alla stagione, mentre differenze nella dieta legate al sesso delle razze Mediterranee, non sono risultate significative (Romanelli et al., 2007; Navarro et al., 2013; Sviben et al., 2019). Differenze tra i sessi si sono osservate in specie di razza con marcato dimorfismo sessuale nelle dimensioni come meccanismo per ridurre la competizione intraspecifica per il cibo tra maschi e femmine (Feduccia e Slaughter 1974; Wearmouth e Sims 2008; Navarro et al., 2013). Il livello trofico di *Raja asterias* (vicino a TL=4) indica che è un predatore importante della rete alimentare (Stergiou e Karpouzi 2001). Secondo Sviben et al. (2019), *R. asterias* in nord Adriatico si nutre principalmente di specie che abitano fondali fangosi e sabbiosi, come *Ethusa mascarone* (Gusso et al., 2001), *Liocarcinus depurator* (Rufino et al., 2005) e *Gobius niger* (Boban et al., 2013), osservazioni che sono in accordo con le preferenze dell'habitat della specie in esame (Heithaus, 2004). Il numero di specie di prede relativamente grandi indica che *R. asterias* è un predatore opportunista (Wetherbee & Cortés, 2004). Probabilmente gli individui immaturi presentano una frequenza di alimentazione maggiore rispetto a quelli maturi (Lucifora et al. 2005; Navarro et al., 2013). La dieta simile esibita dagli esemplari maschili e femminili può essere spiegata con il fatto che entrambi i sessi mostrano taglie

simili (ad es. San Martin et al. 2006; Scenna et al. 2006; Barbini et al. 2010). Navarro et al., (2013) ha osservato come negli stomaci di esemplari di taglia maggiore di *R. asterias* fossero presenti granchi interi e spesso di grandi dimensioni, mentre in quelli di individui di piccole dimensioni fossero presenti granchi più piccoli. Tuttavia, non è chiaro se la presenza di questi granchi nella dieta di *R. asterias* rifletta una selezione attiva di prede o piuttosto sia dovuto alla naturale abbondanza di queste prede. Probabilmente *R. asterias* combina il rilevamento visivo e sensoriale per rilevare la preda (Navarro et al., 2013). La visione acuta conferisce la capacità di rilevare prede mobili (Kuchnow e Martin 1972; Gruber 1977; Navarro et al., 2013). Inoltre, è possibile che scopra e catturi i crostacei usando l'elettroreiezione o l'udito (Krasnikova 1976; Myberg 2001; Navarro et al., 2013).

1.8 Altri batoidei

1.8.1 Raja clavata

Raja clavata è presente nel Mar Mediterraneo, nel Mar Nero occidentale e nell'Oceano Atlantico. È una specie bentonica, si può trovare da 20 metri a 700 metri. Nel Mar Adriatico questa specie raggiunge una dimensione massima di 76 cm di larghezza del disco e 105 cm di lunghezza totale (LT) (Šantić et al., 2012). Ha un corpo trapezoidale a macchie gialle e nere, con una coda lunga e spinosa. Presenta spine robuste sia dorsalmente che ventralmente (**Fig. 1.15**).

Si nutre prevalentemente di decapodi e pesci ossei. *Raja clavata* è tra i principali predatori nell'ambiente marino (Ellis et al., 1996) e può regolare popolazioni di pesci e invertebrati di livelli trofici inferiori (Šantić et al., 2012).



Figura 1.15 Esemplare femminile di *R. clavata* in laboratorio

1.8.2 Raja miraletus

Raja miraletus è una specie demersale, distribuita dai 17 ai 462 metri e più comunemente dai 50 ai 150 metri. Si trova nel Mar Mediterraneo e in Atlantico lungo le coste occidentali dell’Africa, su fondi mobili e duri. Il disco è marrone-ocra o marrone-rossiccio, con macchie piccole e scure. Il dorso si presenta spinoso solo nei giovanili, è invece liscio negli adulti (**Fig. 1.16**). La coda è spinosa e sul lato dorsale del disco sono presenti due ocelli formati da tre anelli di colore diverso, il più interno blu, il medio blu scuro e il più esterno giallo-

arancio. Si nutre principalmente di crostacei decapodi (Follesa et al., 2008). Viene pescata comunemente come by-catch dalla pesca a strascico. La sua biomassa in Mediterraneo è stabile (Serena et al., 2005).



Figura 1.16 Esempio di *R. miraletus* in laboratorio

1.8.3 Torpedo marmorata

A differenza delle razze, la torpedine *Torpedo marmorata* (Risso, 1810) appartiene all'ordine dei Torpediniformes, famiglia Torpedinidae. Questa specie è presente nell'intero Mar Mediterraneo, nell'Oceano Atlantico e risulta assente nel Mar Nero. È una specie bentonica e notturna, diffusa su fondi mobili e duri da 10 a 200 metri di profondità sulla piattaforma continentale (Serena, 2005). Il corpo ha una forma circolare con una coda corta e una colorazione a macchie bianche e scure (**Figg. 1.17 e 1.18**). È una specie vivipara aplacentata

e si riproduce una volta all'anno partorendo fino a 13 embrioni alla volta. La sua dieta è costituita principalmente da pesci che cattura attivamente attraverso scariche elettriche fino a 80 volt prodotte da appositi organi (Barría et al., 2015). È una specie vulnerabile secondo la Lista Rossa dell'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) e viene pescata come by-catch dalla pesca a strascico (Serena, 2005).



Figure 1.17 e 1.18 Esemplare di *T. marmorata* di sesso maschile vista dorsale e ventrale

1.8.4 Pteromylaeus bovinus

La specie *Pteromylaeus bovinus* (Geoffroy St. Hilaire, 1817) appartiene all'ordine dei Myliobatiformes, famiglia dei Myliobatidae. *Pteromylaeus*

bovinus è una specie diffusa nel Mar Mediterraneo e nell'Oceano Atlantico orientale, è assente nel Mar Nero. È una specie semi pelagica ed è possibile trovarla fino a 100 metri di profondità in acque temperate e tropicali, costiere e oceaniche. Presenta un dorso scuro con 7 o 8 bande orizzontali negli individui giovanili, il ventre è bianco (**Fig. 1.19**). Si nutre di crostacei e molluschi. È una specie ovovivipara. Nel Mar Adriatico veniva tradizionalmente pescata con i tramagli, mentre i giovanili sono catturati come by-catch dalla pesca a strascico (Serena, 2005). Nel Mediterraneo è classificata come in “pericolo critico” nella Lista Rossa della IUCN.



Figura 1.19 Esempio di *Pteromylaeus bovinus*

1.9 L'analisi degli isotopi stabili di azoto e carbonio per lo studio delle reti trofiche

L'ecologia trofica degli organismi marini è stata tradizionalmente studiata attraverso l'analisi dei contenuti stomacali (Hyslop 1980, Cortés 1999; Barría et al., 2015). Per gli elasmobranchi i risultati di questo metodo possono essere sfalsati dall'alto tasso di frequenza di stomaci vuoti e dal fatto che per molte specie le parti di prede recuperate dagli stomaci siano quelle più difficili da digerire. Inoltre, l'analisi del contenuto stomacale richiede un gran numero di stomaci per ottenere dati certi sulle abitudini alimentari. Per le specie rare, minacciate e protette ottenere un buon numero di campioni sarebbe complicato e costituirebbe un ulteriore impatto sulle specie. Negli ultimi 40 anni, l'analisi degli isotopi stabili dell'azoto e del carbonio è stata utilizzata come strumento complementare all'analisi dei contenuti stomacali per studiare l'ecologia trofica degli organismi marini (Estrada et al. 2006, Hussey et al. 2010, Shiffman et al. 2012, Navarro et al. 2014; Barría et al., 2015). Gli isotopi stabili utilizzati sono il carbonio e l'azoto, rispettivamente $\delta^{13}\text{C}$ ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e $\delta^{15}\text{N}$ ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) (Kling et al., 1992; France, 1995; Vander Zanden et al., 1999). Questo approccio si basa sul fatto che i valori $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ vengono trasferiti dalle fonti alimentari ai consumatori in modo prevedibile (Shiffman et al. 2012). Il $\delta^{13}\text{C}$ viene utilizzato per determinare l'origine della materia organica assimilata, se pelagica o

bentonica, marina o terrestre. Il $\delta^{13}\text{C}$ è arricchito di circa 0-1 ‰ ad ogni livello trofico (De Niro ed Epstein, 1978; Fry and Sherr, 1984; Wada et al., 1991; Michener e Schell, 1994; McCutchan et al., 2003). Il $\delta^{15}\text{N}$ viene utilizzato per determinare il livello trofico di una specie e mostra un arricchimento di circa 3-4 ‰ ad ogni livello trofico (Minagawa e Wada, 1984; Owens, 1987; Vander Zanden e Rasmussen, 2001; Post, 2002). I predatori carnivori mostreranno i valori più alti di $\delta^{15}\text{N}$ e gli erbivori i più bassi (**Fig. 1.20**).

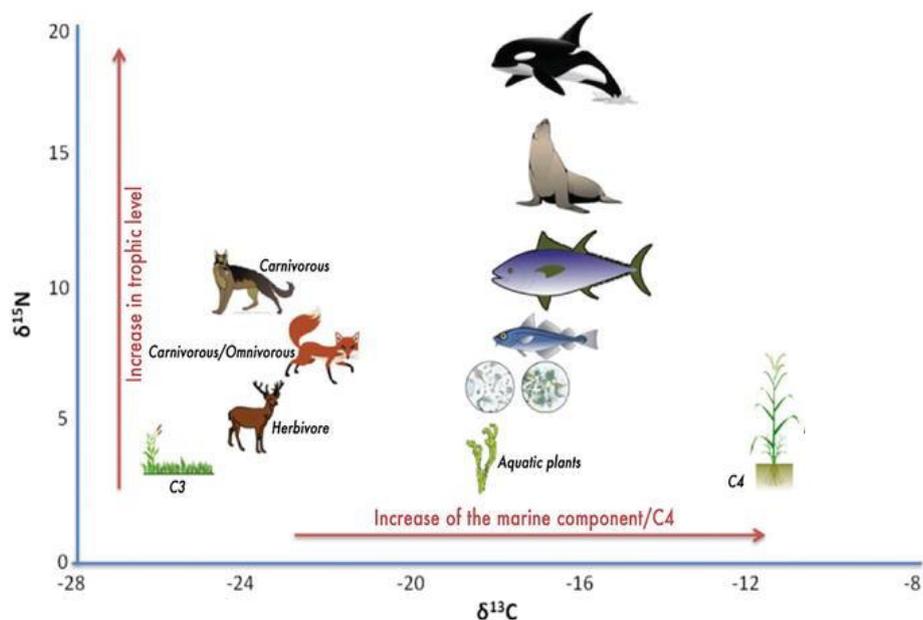


Figura 1.20 Rappresentazione della distribuzione dei valori di $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ nelle reti trofiche terrestri e marine (Berto et al., 2018)

Tieszen et al. (1983) in primo luogo hanno affermato che l'incorporazione isotopica varia tra i tessuti e hanno suggerito che tessuti più metabolicamente

attivi avrebbero un tasso di rotazione più veloce rispetto ai tessuti meno metabolicamente attivi (Hussey et al., 2012). Più recentemente, prove sperimentali suggeriscono che il tasso di turn-over delle proteine influenza direttamente l'incorporazione isotopica in diversi tessuti (Carleton & Martínez del Rio, 2005; Hussey et al., 2012). Per gli elasmobranchi, i tessuti molli utilizzati per questo tipo di analisi, comprendono muscoli, sangue intero, globuli rossi, plasma e fegato (Hussey et al., 2012). Considerando i tassi di crescita lenti della maggior parte degli elasmobranchi rispetto ai teleostei (Garcia et al., 2008), il tessuto muscolare è visto come una misura integrata a lungo termine delle abitudini alimentari e dell'ambiente in cui gli elasmobranchi vivono, ed è uno dei tessuti più comunemente utilizzati. Inoltre, il tessuto muscolare può essere campionato da più individui di diverse dimensioni, sesso o maturità per fornire una visione integrata dell'ecologia trofica di una specie nell'arco della sua vita (Papastamatiou et al., 2010; Abrantes & Barnett, 2011; Borrell et al., 2011b; Hussey et al., 2011a, 2012).

La combinazione di analisi dei contenuti stomacali e degli isotopi stabili di azoto e carbonio è utile per una migliore comprensione dell'ecologia trofica degli organismi marini (Shiffman et al., 2012; Calvo et al., 2020).

1.10 Scopo della tesi

Lo scopo di questa tesi è quello di ottenere informazioni sull'ecologia trofica di alcune specie di batoidei, in particolare *Raja asterias*, nel Mar Adriatico. Queste informazioni sono state ottenute dalle analisi dei contenuti stomacali e dalle analisi degli isotopi stabili di carbonio e azoto, $\delta^{13}\text{C}$ ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e $\delta^{15}\text{N}$ ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), su campioni di muscolo. I Batoidei sono colpiti duramente dalla pesca, dalla distruzione del loro habitat, dall'eutrofizzazione e dai cambiamenti climatici. In particolare, il Mar Adriatico è un'area molto impattata dalla pesca e negli ultimi anni ha visto uno shift nelle popolazioni di *R. clavata* e *R. asterias*, con la prima che fino ad alcuni anni fa era dominante ed adesso è quasi scomparsa dalle catture ad opera dei pescatori (Gambardella, 2021). Questa informazione rende ancora più necessario uno studio approfondito sullo stato e sulle caratteristiche di queste specie.

Inoltre, è stato effettuato uno studio per la determinazione dell'età di queste specie, necessaria per l'attuazione dei piani di gestione e conservazione (Bellodi, 2015). A questo scopo si è utilizzata la conta delle bande delle vertebre. I pesci cartilaginei non sono infatti dotati di otoliti, utilizzati per la determinazione dell'età nei pesci ossei.

2. Materiali e metodi

2.1 Area di studio

Il Mar Adriatico si estende per 135.000 km² nel Mar Mediterraneo centrale. È un bacino lungo circa 800 km che separa l'Italia dall'Est Europa. Confina con sei paesi: Italia, Slovenia, Croazia, Bosnia-Erzegovina, Montenegro e Albania e con il Mar Ionio a sud-est. È diviso in Alto, Medio e Basso Adriatico. La sua profondità media è 252,5 m mentre la profondità massima è 1233 m. Il 73% ha una profondità inferiore ai 200 m. L'Alto Adriatico è la sezione meno profonda, con una media di 35 m, il Basso Adriatico la più profonda, con la profondità massima di 1233 m (**Fig. 2.1**).

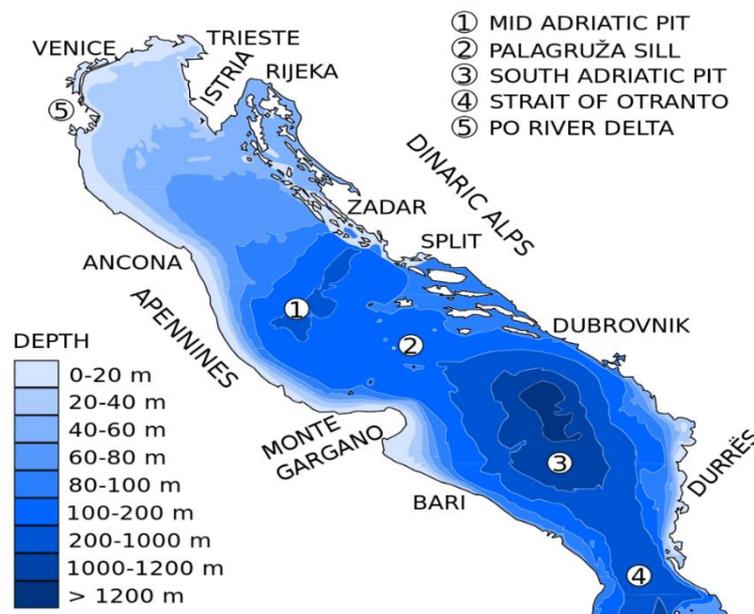


Figura 2.1. Batimetria del Mar Adriatico e indicazioni delle principali depressioni (fonte wikipedia)

La circolazione in Adriatico è ciclonica con movimento antiorario, la corrente d'acqua si sposta lungo la costa orientale del bacino verso nord e successivamente si sposta verso sud lungo il versante italiano.

L'Alto e Medio Adriatico sono caratterizzati da un'ampia piattaforma continentale con fondi mobili, principalmente sabbia o fango. La sedimentologia del bacino è determinata dagli apporti fluviali, in particolare dal fiume Po, e dalla circolazione delle acque.

La salinità dell'Adriatico si aggira sulle 38-39 psu. Aumenta con la profondità e diminuisce nell'Alto Adriatico per l'apporto d'acqua dolce dai fiumi Po e Adige. La temperatura varia da un massimo di 24°C a un minimo di 9°C.

Il Medio Adriatico è caratterizzato dalla Fossa di Pomo/Jabuka, con profondità di 250 m circa, nota per la grande presenza di specie di interesse commerciale come *M. merluccius* e *N. norvegicus*. Quest'area è una zona di pesca soggetta a restrizioni per la Commissione generale per la pesca nel Mediterraneo (GFCM).

Il Mar Mediterraneo è l'area FAO 37, con le subaree del Mediterraneo occidentale (37.1), Centrale (37.2) e Orientale (37.3). Il Mar Adriatico corrisponde alla divisione 37.2.1 della FAO e comprende 2 GSA (sottozone

geografiche determinate dal GFCM): la 17 per il Nord Adriatico e la 18 per il Sud Adriatico (**Fig. 2.2**).

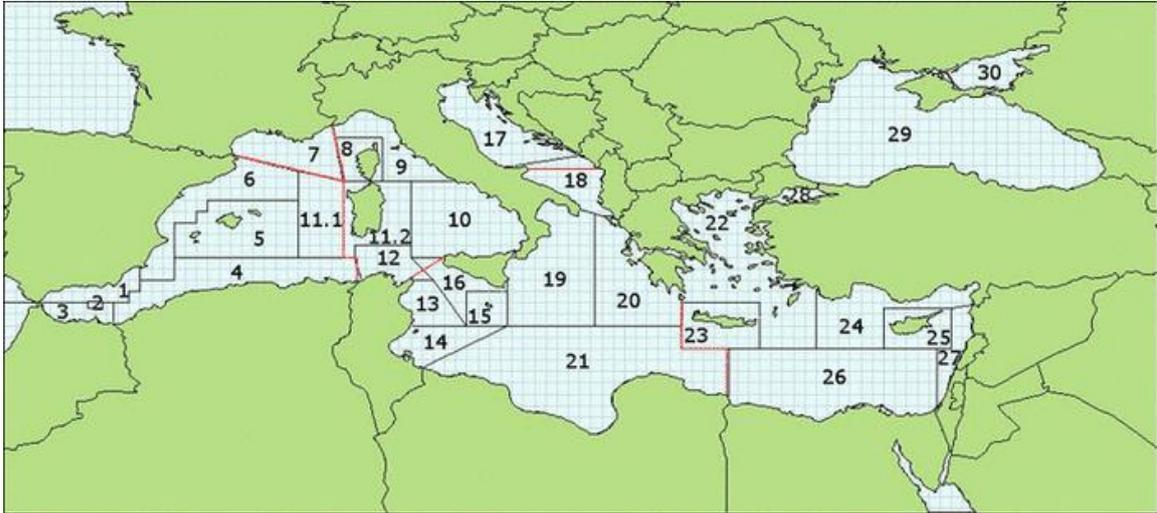


Figura 2.2 Suddivisione in GSA del Mediterraneo secondo il GFCM (fonte FAO)

2.2 La struttura delle comunità demersali e la pesca

Il Mar Mediterraneo è un hot spot di biodiversità per gli elasmobranchi rappresentati da circa 86 specie; tuttavia, secondo le valutazioni della IUCN, il 50% delle razze (16 di 32 specie) e il 54% degli squali (22 di 41 specie) nel Mediterraneo sono ad alto rischio di estinzione (Dulvy et al. 2016). Un secolo di pesca a strascico ha portato alla perdita di 16 delle 31 specie di elasmobranchi nel mar Tirreno, di 6 delle 33 specie nel mare Adriatico e della metà delle specie di elasmobranchi registrati durante le battute di pesca a strascico nel Golfo del Leone (dal 1950) (Danovaro, 2019). Inoltre, per alcune specie di elasmobranchi, le informazioni disponibili sono molto scarse e il 30%

di queste sono state definite "data deficient" (mancanza di informazioni sufficienti) (Lauria et al., 2015). Nel Mar Mediterraneo, la maggior parte delle specie di pesci cartilaginei sono demersali e grandi quantità di esse (oltre 10.000 tonnellate/anno) sono catturati accidentalmente da pescherecci a strascico (Abella et al., 2002). I pesci cartilaginei rappresentano attualmente una cattura accessoria nel Mar Mediterraneo, anche se alcune specie hanno un importante ruolo commerciale (Castro et al., 1999; ICCAT, 2001, Dell'Apa et al., 2012). A livello globale, vi sono sempre più prove del fatto che gli elasmobranchi siano più colpiti dei pesci ossei dallo sfruttamento della pesca (Stevens et al., 2000; Valls et al., 2011). L'analisi delle serie di dati a lungo termine disponibili in diverse zone del Mar Mediterraneo ha rivelato una riduzione del numero di specie e dell'abbondanza di elasmobranchi, la maggior parte della piattaforma continentale, che sembra essere principalmente correlata alla pesca con reti da traino (Jukić-Peladić et al., 2001; Massutí & Moranta, 2003; Dell'Apa et al., 2012; Ferrà et al., 2016). Attualmente, la pressione di pesca sulle specie di elasmobranchi è in aumento a causa dell'alto valore commerciale della loro carne, pinne, fegati, e branchie (Fowler et al. 2002, Clarke et al. 2006, Lack e Sant 2009; Follesa et al., 2019). La maggior parte delle catture di elasmobranchi sono non regolamentate e spesso sono erroneamente identificate, non registrate o rigettate in mare, con conseguente

mancanza di informazioni sugli sbarchi specie-specifici (Iglésias et al. 2010, Bornatowski et al. 2013, Cariani et al. 2017; Follesa et al., 2019). Ci sono studi che indicano come le razze siano fortemente influenzate dalla pesca nel Mar Mediterraneo (Aldebert, 1997; Bradai et al., 2018; Biton-Porsmoguer & Lloret, 2020). Sebbene i pescherecci che operano con attrezzi da traino rappresentino solo circa il 10% della flotta mediterranea, le loro catture costituiscono circa il 50% degli sbarchi degli elasmobranchi (Bradai et al., 2018; Biton-Porsmoguer & Lloret, 2020). Già nel 1974, Holden (1974?) aveva messo in evidenza le caratteristiche specifiche degli elasmobranchi. L'autore ha concluso che *"da quando i giovani di qualsiasi specie di elasmobranchi hanno raggiunto una dimensione commercialmente sfruttabile, il numero di femmine nella popolazione è sufficiente solo per fornire un reclutamento costante e che qualsiasi sfruttamento prolungato della parte femminile dello stock ridurrà notevolmente la sua abbondanza"*. Questa conclusione è stata verificata nel Golfo del Leone e in altre aree. È da tenere in conto però che aree non accessibili alle reti da traino (fondali rocciosi, canyon, ecc.) possono fungere da siti naturali di conservazione per specie rare, come dimostrato dalle catture occasionali di alcuni individui con attrezzi di piccole dimensioni (Aldebert et al., 1997). La pesca intensiva a strascico riduce la complessità degli habitat bentonici, danneggiando l'epiflora e l'epifauna e riducendo la disponibilità di

habitat adatti per predatori e prede (Stevens et al., 2005; Damalas et al., 2011).

La pesca a strascico ripetuta può anche spostare la composizione delle specie marine verso piccole specie opportunistiche (basso livello trofico), riducendo l'abbondanza di specie che sono di solito ad un alto livello trofico, come i condroitti (NRC, 2002; Damalas et al., 2011).

Il Mare Adriatico rappresenta una delle aree più produttive del Mar Mediterraneo. È un sottobacino fortemente sfruttato (Barausse et al., 2009; 2014) le cui comunità marine sono sottoposte ad ingenti pressioni antropiche (ad es. input nutrienti) e dai fattori ambientali (Barausse et al., 2011; Barausse et al., 2014). La distribuzione delle specie al suo interno varia notevolmente: la maggior parte è distribuita in aree ristrette, pur migrando stagionalmente (Jardas et al., 2008). L'ampia piattaforma continentale dell'Adriatico e le zone di pesca accessibili hanno permesso lo sviluppo di grandi attività di pesca per molluschi e pesci di fondale. Eppure, la pesca si è sviluppata in modo non uniforme tra i versanti occidentale e orientale del bacino. Mentre le acque italiane erano esposte a pressioni di sfruttamento estremamente elevate da parte delle flotte di pesca ad alta capacità, i settori dell'ex Jugoslavia hanno sostenuto uno sfruttamento della pesca molto più leggero fino a poco tempo fa (Ferretti et al., 2013). Negli ultimi decenni sono stati documentati diversi cambiamenti nella struttura delle comunità demersali, a causa principalmente dell'impatto

della pesca, che ha determinato una diminuzione della biomassa soprattutto delle specie ad alto interesse commerciale (Coll, et al., 2009). La pesca con reti a strascico è un'attività ben sviluppata dall'inizio del XX secolo lungo l'intero bacino adriatico e le risorse demersali sono sfruttate principalmente dalle flotte italiane, croate, slovene e albanesi (Jukic-Peladic et al., 2001). Purtroppo, mancano i dati antichi sulle statistiche degli sbarchi e le uniche informazioni affidabili sulle risorse demersali provengono da indagini sperimentali sulle reti da traino (finanziate dai governi nazionali e transnazionali). Negli anni 1948-49 sono state effettuate due indagini sulle reti da traino: l'“Adriatic” e l'“Hvar”. Successivamente, negli anni '80, il governo italiano ha sostenuto progetti di ricerca sulla valutazione delle risorse demersali nei mari italiani (compreso il mare Adriatico) (Relini e Piccinetti, 1996; Jukic-Peladic et al., 2001). Infine, dal 1996 la Comunità europea ha finanziato un progetto di ricerca internazionale (denominato "MedITS") per il monitoraggio della pesca a strascico demersale in un'ampia area del Mediterraneo (Bertrand et al., 1997; Jukic-Peladic et al., 2001). In generale, è stata rilevata una diminuzione dell'importanza degli elasmobranchi. Confrontando i sondaggi di “Hvar” e “MedITS” per l'Adriatico è emerso che gli elasmobranchi sono diminuiti del 94,5% in 57 anni, dal 1948-49 al 2004-05 (Ferretti et al., 2013) (**Fig. 2.3**).

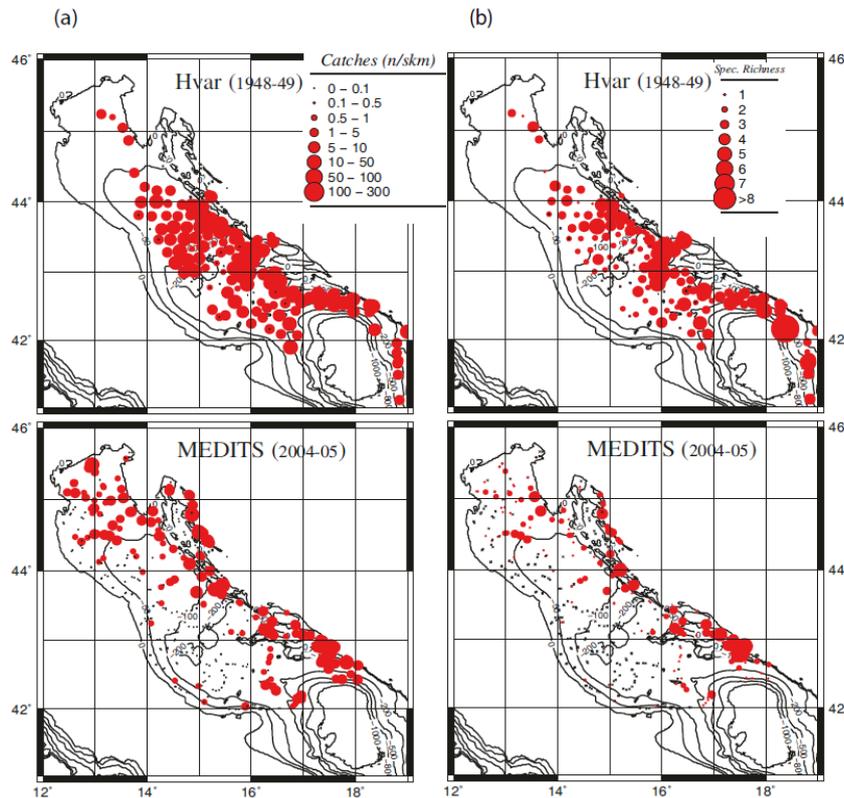


Figura 2.3 Comparazione spaziale delle catture tra le indagini Hvar e MedITS. (a) CPUE non standardizzate e (b) ricchezza di specie. Le croci nere indicano i traini senza elasmobranchi (Ferretti et al., 2013)

Gli squali sono diminuiti più delle razze (295,6% vs. 287,7%). In particolare, *Raja clavata*, la razza più abbondante negli anni '40, ha registrato il calo più ripido (Ferretti et al., 2013). Il cambiamento principale è stata la diminuzione della diversità e della presenza di elasmobranchi, con la scomparsa di alcune specie nell'indagine del 1998; la stessa diminuzione è stata segnalata anche per altre aree mediterranee (Aldebert, 1997; Jukic-Peladic et al., 2001) e a livello mondiale (Bertrand et al., 1997; Relini et al., 1999, 2000; Dell'Apa et al., 2012).

Questo declino nell'Adriatico è confermato dalla banca dati FAO-FISHSTAT, soprattutto per quando riguarda gli sbarcati delle razze dagli anni Novanta (Ferrà et al., 2016).

Nel nord Adriatico, studi scientifici hanno evidenziato una diminuzione di molte specie, di cui 11 sono scomparse quasi completamente (Ferretti et al., 2013; Barausse et al., 2014). Questo è indice di un forte impoverimento strutturale in termini di diversità della comunità demersale negli ultimi decenni (Follesa et al., 2019). Dal 1945 al 2012, gli sbarchi totali di elasmobranchi a Chioggia sono diminuiti continuamente (**Fig. 2.4**).

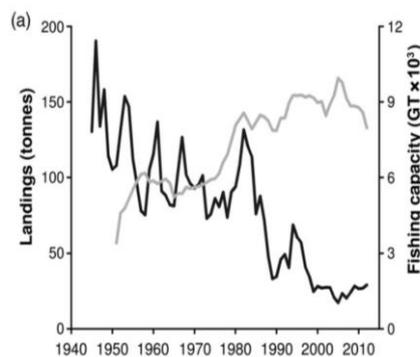


Figura 2.4 Serie cronologica annuale della pesca a Chioggia. Totale degli sbarchi di elasmobranchi al mercato ittico di Chioggia, 1945-2012 (linea nera, asse y), e capacità di pesca (GT 103) della flotta peschereccia di Chioggia, 1951-2012 (linea grigia, asse x) (Barausse et al., 2014)

Le razze hanno subito la riduzione più drammatica, sia negli sbarcati che nelle CPUE. Gli sbarchi tra il 2008 e il 2012 hanno rappresentato solo il 2,4% del

loro valore nel periodo 1945-1949 (Barausse et al., 2014). Le CPUE degli elasmobranchi sono diminuite dell'89% negli ultimi 62 anni, analogamente al calo del 94% ottenuto confrontando le indagini scientifiche condotte con le reti a strascico nel 1948 e nel 2005 nel Mare Adriatico (Ferretti et al., 2013). A Chioggia, i pescatori hanno confermato che la diminuzione degli elasmobranchi sbarcati riflette una riduzione delle catture, piuttosto che un aumento della sottostima o una diminuzione della domanda di mercato, che non sono supportate (C. Mazzoldi, interviste inedite) (Barausse et al., 2014). Tale tendenza negativa è stata tuttavia molto più intensa nella parte italiana dell'Adriatico, dove l'attuale abbondanza di elasmobranchi è inferiore a quella della Adriatico orientale (i.e. Croazia, Ferretti et al., 2008; Colloca et al., 2017). Secondo Barausse et al. (2014), la pesca degli elasmobranchi delle flotte italiane nell'Adriatico settentrionale è diminuito dell'89% negli ultimi 62 anni principalmente come risultato dell'aumento della capacità di pesca (Ferretti et al., 2013; Colloca et al., 2017). L'Adriatico orientale (pescato principalmente dalla Croazia) ha un livello di pressione di pesca molto più basso rispetto al versante occidentale (sfruttato dall'Italia). L'Italia registra circa il doppio della quantità di pescherecci da traino (1541) rispetto alla Croazia (855) con un peschereccio medio che ha circa 2,25 volte la potenza cavalli (199 CV, sd 149) di un analogo croato (88,5 CV) (Ferretti et al., 2013). L'abbondanza di

elasmobranchi in Croazia è quasi un ordine di grandezza superiore rispetto all'Italia, mentre lo sfruttamento da parte della pesca è di un ordine di grandezza superiore nelle acque italiane rispetto a quelle croate (0.005 vs. 0.0003 imbarcazioni per chilometro quadrato) (Ferretti et al., 2013).

Secondo Carbonell et al. (2003) e Ordines et al. (2006), le maglie a forma di diamante da 40 mm hanno una scarsa selettività, in particolare per alcune specie di *Raja*, e non riescono ad impedire la cattura di individui di meno di 35 cm di TL. Infatti, nello studio condotto da Damalas et al. (2011), la rete con maglia a forma di diamante di 40 mm ha catturato individui di *Raja* e *Torpedo* di lunghezza ben inferiore a 20 cm. In generale, una maglia quadrata è più selettiva di una maglia a diamante di dimensioni simili per le specie a forma rotonda (Robertson e Stewart, 1988), ma il contrario si applica alle specie a forma piatta (Millar e Walsh, 1992). Quindi, i diversi tipi di maglie hanno effetti diversi sugli elasmobranchi a seconda della geometria dei loro corpi (Damalas et al., 2011). Questa condizione aumenta drasticamente le catture accidentali di razze.

Uno studio effettuato da Romanelli et al. (2007) ha evidenziato che le razze pescate con rapido e volantina presentavano un'alta moria durante la cala, con soltanto il 10-15% degli esemplari con peso maggiore al mezzo kg ancora vivi al termine della traina. Inoltre, i pochi sopravvissuti mostravano bassi segni di

vitalità. Questo dato contraddice le supposizioni di altri autori (es: Abella e Serena, 2005) sulla sopravvivenza di razze non commerciali pescate con reti trainate per due ore o più (Romanelli et al., 2007). Una specie che mostra resistenza allo strascico è *Raja clavata*, che probabilmente per la sua pelle spinosa, presenta tassi di sopravvivenza superiori alla durata e all'impatto di questo tipo di pesca. Questa scoperta è preoccupante considerata la maglia delle reti scarsamente selettiva per la morfologia delle razze che ne aumenta molto le catture accidentali.

Raja asterias è una cattura comune della pesca a strascico, che incide in particolare sugli adulti (Barone et al., 2007; Fortuna et al., 2010; Ferrà et al., 2016) mentre gli esemplari giovani sono spesso catturati dai tramagli vicino alla costa (Serena, 2005). Lungo le coste nordoccidentali italiane, la specie è bersaglio di una peculiare attività di piccola pesca locale che opera con operante con sfogliare chiamate "Rapidi" (Romanelli et al., 2007). Anche se i pescatori non dichiarano questa razza come bersaglio della pesca indirizzata ai pesci piatti, in particolare *Solea vulgaris*, la pesca di *R. asterias* costituisce una notevole fonte di guadagno (Abella et al., 2005). Secondo Ferrà et al. (2016), gli sbarchi di *R. asterias*, segnalati esclusivamente per l'Italia evidenziano una fluttuazione nel corso degli anni senza dimostrare una chiara tendenza (Ferrà et al., 2016). Secondo Ferretti et al. (2005), le specie vincolate spazialmente

alla profondità hanno una maggiore probabilità di essere sfruttate, simile a quella di specie che hanno caratteristiche biologiche comuni alla maggior parte dei condroitti, come crescita lenta, bassa fecondità, grandi dimensioni del corpo e maturazione tardiva. *Raja asterias* presenta caratteristiche simili (Krstulović-Šifner et al., 2009; Coll et al., 2013; Ferrà et al., 2016) e, anche se alcuni studi su aspetti biologici sono stati condotti in diverse aree del Mediterraneo (Barone et al., 2007; Coll et al., 2013; Navarro et al., 2013; Ferrà et al., 2016), nel mare Adriatico le uniche informazioni disponibili sono fornite da Ungaro et al. (2005) e quindi solo per la parte meridionale del bacino. Lo studio di Ferrà et al., (2016) nella GSA 17 (Nord Adriatico) ha mostrato che l'abbondanza relativa di *R. asterias* è aumentata significativamente negli anni 2010-2014 con i valori più alti registrati a 5-30 m di profondità. Gli autori hanno ipotizzato un collegamento di tale aumento alla risposta di *R. asterias* al cambiamento climatico, come visto per altre specie nel Mar Mediterraneo (Cartes et al., 2009; Albouy et al., 2013). I risultati degli sbarchi dimostrano anche che *R. clavata* è la specie più colpita dalla pesca nel Mediterraneo centrale (Abella e Serena, 2005). È stata anche rilevata una diminuzione dell'abbondanza di *R. clavata* (dalle indagini sulle reti da traino) per il porto di Viareggio e una riduzione della sua distribuzione è stata segnalata nel Golfo del Leone e nel Mare Adriatico (Jukić-Peladić et al., 2001; Massutí e Moranta, 2003; Biton-

Porsmoguer & Lloret, 2020). I dati relativi soprattutto al triennio 2017-2020 dal mercato della pesca di Ancona, Chioggia e San Benedetto del Tronto (**Figg. 2.5, 2.6 e 2.7**) confermano questo shift tra *R. clavata* e *R. asterias* avvenuto dopo il sovrasfruttamento di *R. clavata* durante il 2014-2015 (Gambardella, 2021).

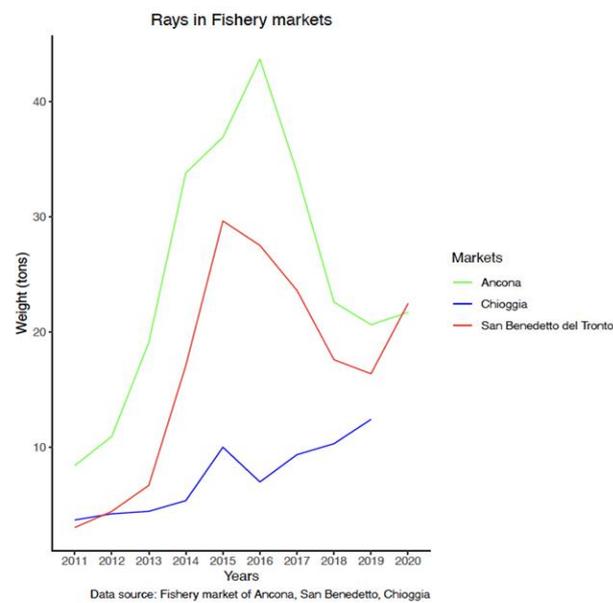


Figura 2.5 Trends relativi alle specie di razze vendute nei mercati ittici di Ancona (in verde), Chioggia (in blu) e San Benedetto (in rosso) (Gambardella, 2021)

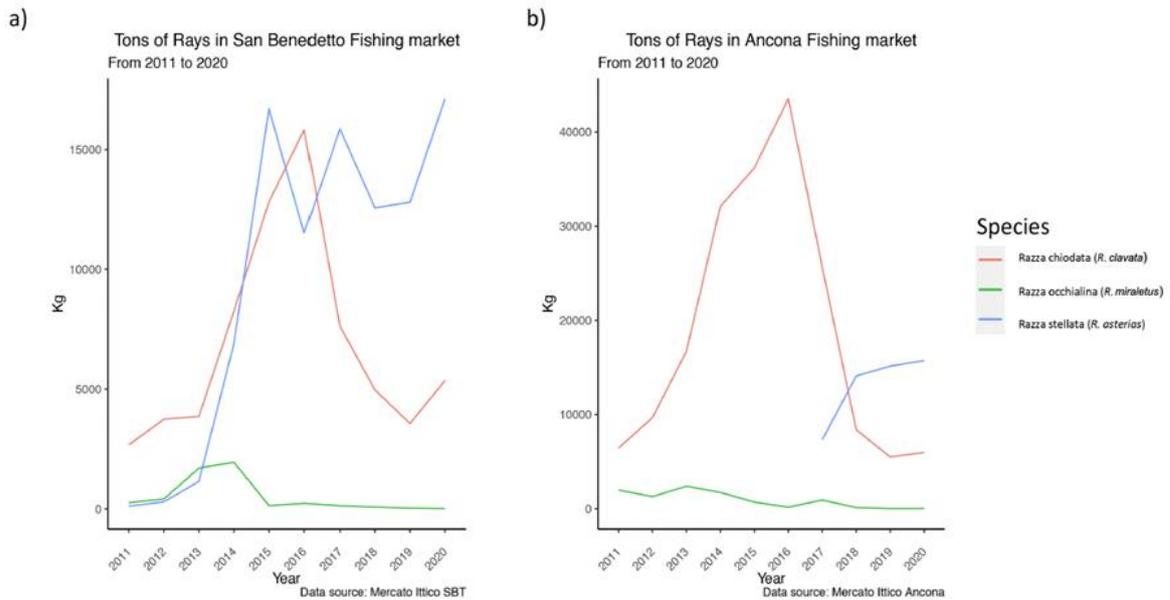


Figure 2.6 e 2.7 Trends su tre specie di razze vendute nei mercati di Ancona e San Benedetto (in rosso *R. clavata*, in blu *R. asterias*) (Gambardella, 2021)

2.3 Gestione delle risorse

Nel Mar Mediterraneo sono attualmente in atto politiche inerenti la gestione e la protezione degli elasmobranchi vulnerabili, come il piano d'azione dell'UE sugli squali (CE, 2009) e la raccomandazione GFCM GFCM/36/2012/3 (FAO-GFCM, 2012) sulla conservazione degli squali e delle razze. Entrambi i regolamenti suggeriscono di ampliare le conoscenze sulle specie di elasmobranchi e il loro ruolo nell'ecosistema (Ferrà et al., 2016). A partire dal 2010 il GFCM ha adottato misure per ridurre le catture accessorie di squali pelagici, ha vietato le pratiche del *finning* (l'asportazione delle pinne dagli squali mentre sono ancora vivi per poi essere gettati a mare destinati a morire

per soffocamento) e ha anche vietato la cattura e la vendita delle specie di squali e razze elencate nell'allegato II del protocollo della convenzione di Barcellona (FAO, 2016). Tuttavia, non sono state attuate o applicate con successo misure di gestione efficaci contro lo sfruttamento eccessivo di molte specie commerciali (Vasilakopoulos et al. 2014, Osio et al. 2015; Follesa et al., 2019). Date le loro caratteristiche da specie *K*, non è opportuno applicare alle popolazioni di pesci cartilaginei i modelli convenzionali di gestione della pesca, in quanto pensati per i pesci ossei (Fowler e Cavanagh, 2005; Damalas et al., 2011). Le tecniche di gestione e le misure di esecuzione attualmente in vigore sono considerate inadeguate a garantire la sopravvivenza a lungo termine di molte specie e popolazioni (Fowler e Cavanagh, 2005; Damalas et al., 2011). Tuttavia, finora, non sono state imposte limitazioni da parte dei responsabili della pesca per regolamentare la pesca delle razze nel Mar Mediterraneo, ad eccezione di alcune specie rare come *Leucoraja circularis* (Couch, 1838) e *Rostroraja alba* (Lacepède, 1803). Cinque specie del Mar Mediterraneo sono classificate come "quasi minacciate" (NT) dalla IUCN: *L. naevus*, *R. undulata*, *R. brachyura*, *R. clavata* e *R. asterias* (Biton-Porsmoguer & Lloret, 2020).

Nonostante il suo stato di conservazione, attualmente non sono previste misure gestionali per *Raja asterias*. Il Piano di lavoro italiano per la raccolta di dati nei

settori della pesca e dell'acquacoltura (2020-2021) prevede per *Raja asterias* e *Raja clavata* un'attività di campionamento data la rilevanza di queste specie nella composizione delle catture delle GSA 9 e 11.

2.4 Campionamento

Il motopeschereccio (M/P) utilizzato per la pesca dei campioni analizzati è l'“Airone bianco II” della marineria di Ancona (**Fig. 2.8**), le cui caratteristiche sono riportate nella **tabella 2.1**.

Tabella 2.1 Caratteristiche dell'imbarcazione “Airone bianco II”

| | |
|--------------|---|
| Porto | ANCONA |
| GSA | 17 |
| LFT (m) | 24.16 |
| Potenza (Kw) | 333 |
| GT (t) | 91 |
| Attrezzi: | Principale: Strascico da fondo operante da singola imbarcazione Ausiliario: Volante a coppie |



Figura 2.8 IL motopeschereccio “Airone bianco II” nel porto di Ancona (runabc.org)

I campioni di *Raja asterias* sono stati ottenuti tramite due campionamenti: un campionamento mensile finanziato dal CNR di Ancona, da dicembre 2019 ad ottobre 2020, nei “fishing grounds” antistanti la città di Ancona (**Figg. 2.9, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13**). A causa del covid-19 non è stato possibile ottenere i campioni per i mesi di giugno, agosto e novembre 2020. Tramite questo primo campionamento, sono stati ottenuti in totale 170 esemplari di *Raja asterias* e 6 *Raja clavata*, denominate “gruppo 1”.

Campioni aggiuntivi (“gruppo 2”) sono stati ottenuti da cale commerciali realizzate dalle 3 alle 18 miglia nautiche da Ancona, a profondità variabili tra i 12 ai 60 metri su fondali sabbiosi o fangosi (**Fig. 2.14**), per i mesi di luglio, ottobre, novembre e dicembre 2020, per un totale di 64 *Raja asterias*, 1 *Raja miraletus*, 2 *Torpedo marmorata* e 2 *Pteromylaeus bovinus*.

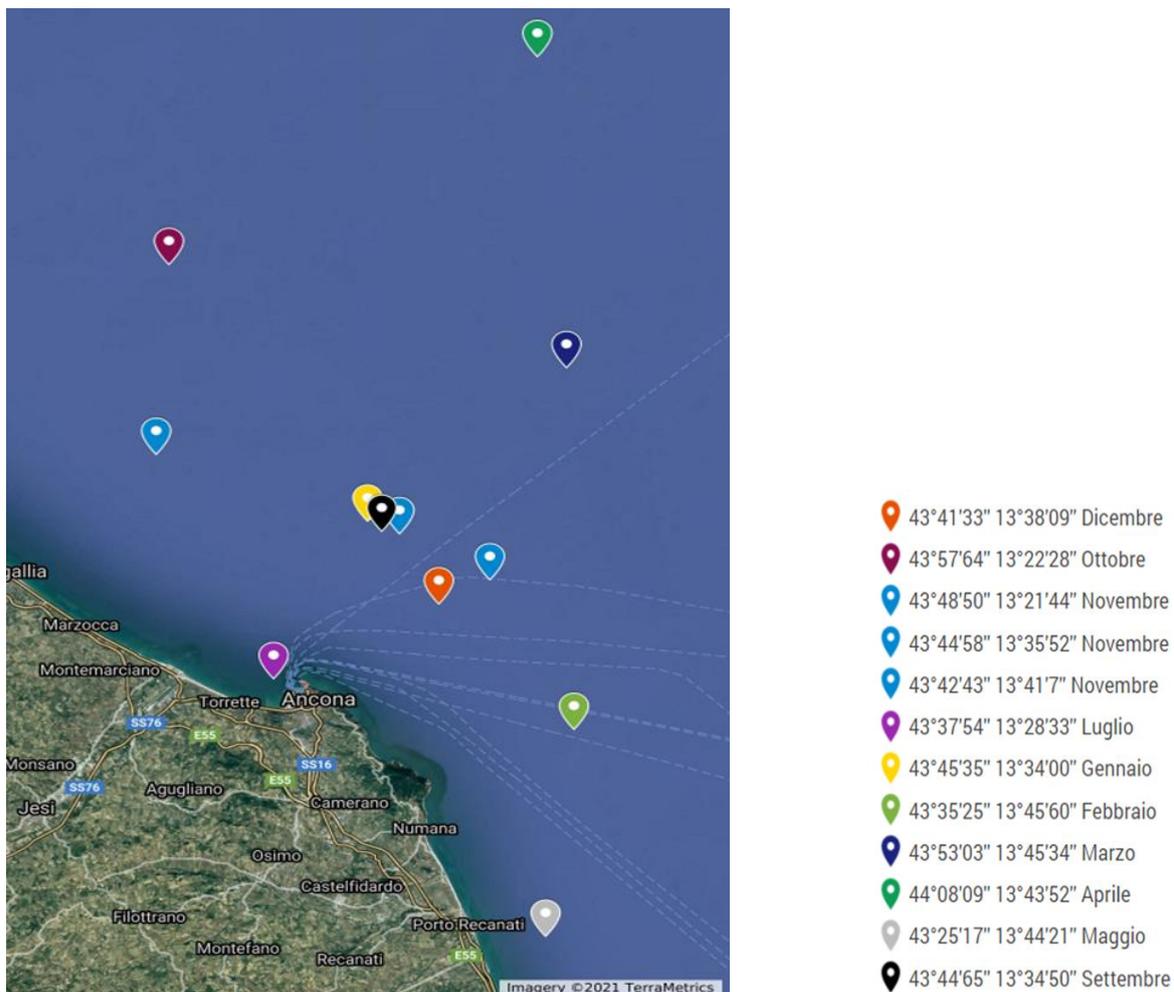
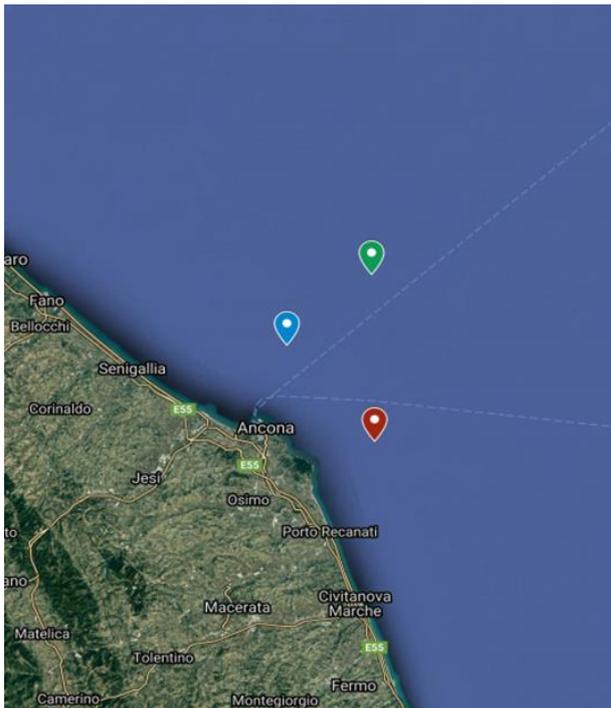
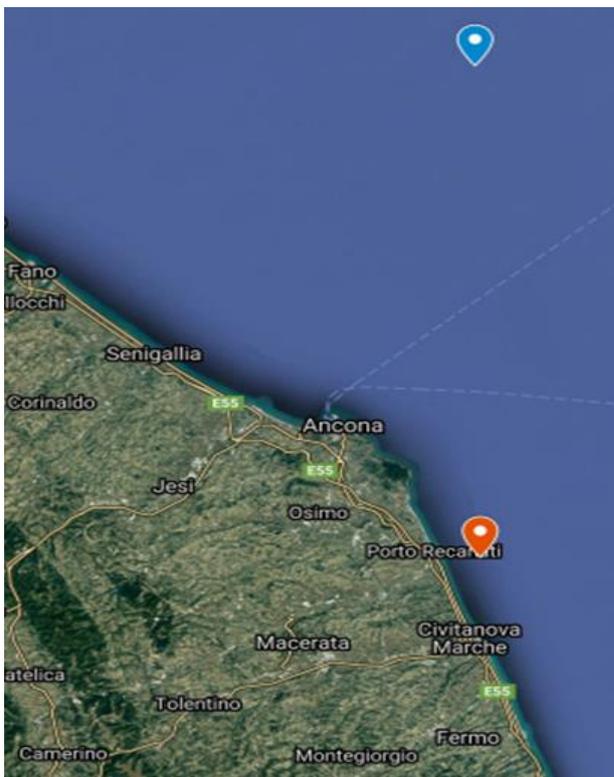


Figura 2.9 Distribuzione punti cale primo campionamento



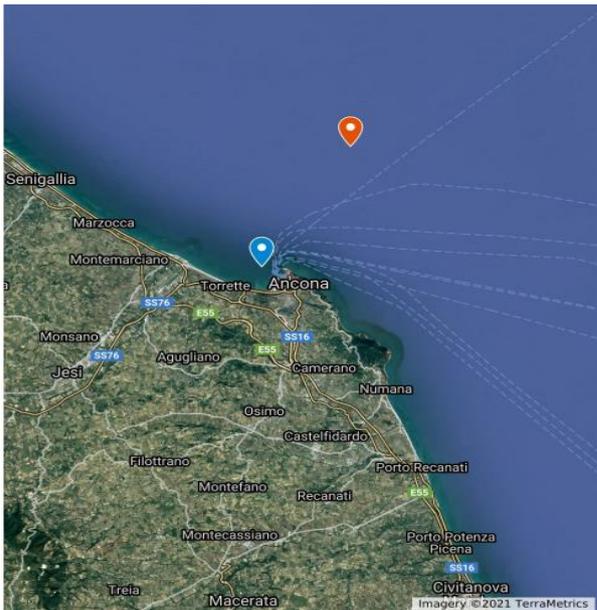
- 📍 43°45'35" 13°34'00" Gennaio
- 📍 43°35'25" 13°45'60" Febbraio
- 📍 43°53'03" 13°45'34" Marzo

Figura 2.10 Distribuzione punti cale primo campionamento: mesi invernali



- 📍 44°08'09" 13°43'52" Aprile
- 📍 43°25'17" 13°44'21" Maggio

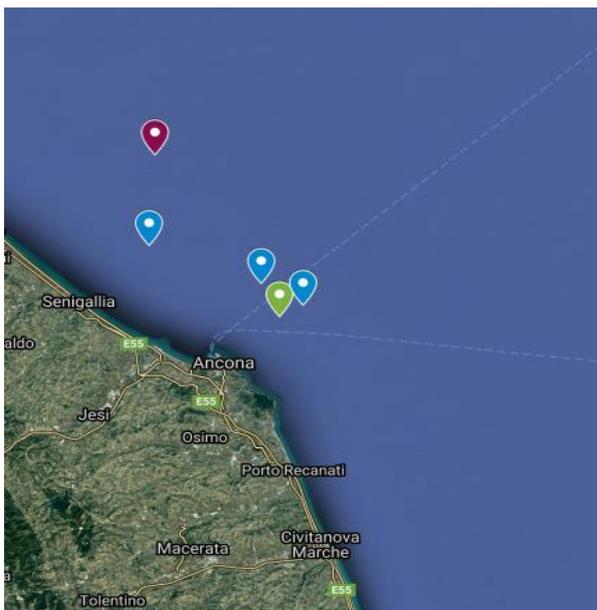
Figura 2.11 Distribuzione punti cale primo campionamento: mesi primaverili



43°44'65" 13°34'50" Settembre

43°37'54" 13°28'33" Luglio

Figura 2.12 Distribuzione punti cale primo campionamento: mesi estivi



43°41'33" 13°38'09" Dicembre

43°57'64" 13°22'28" Ottobre

43°48'50" 13°21'44" Novembre

43°44'58" 13°35'52" Novembre

43°42'43" 13°41'7" Novembre

Figura 2.13 Distribuzione punti cale primo campionamento: mesi autunnali

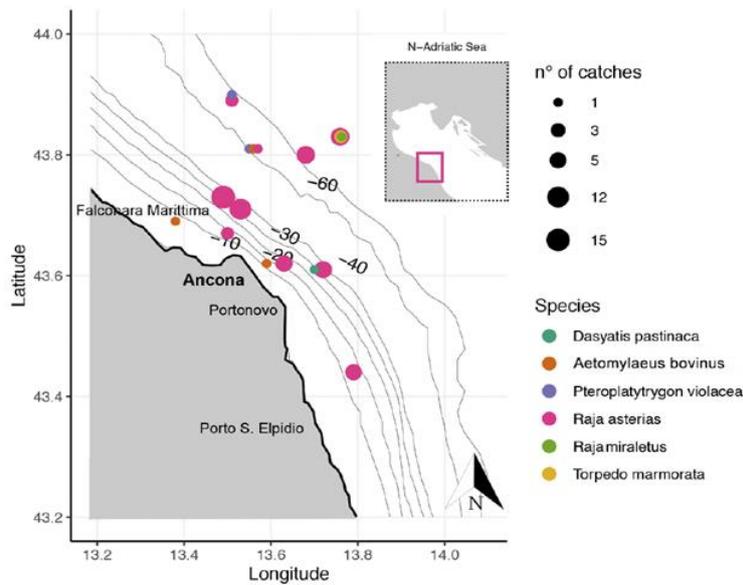


Figura 2.14 Distribuzione punti cale del secondo campionamento (Gambardella, 2021)

2.5 Analisi dei campioni

Tutti i 234 esemplari (113 maschi e 121 femmine) sono stati misurati e pesati, in particolare sono stati registrati i seguenti dati: la lunghezza totale (LT, in cm), la lunghezza del disco (in cm), la larghezza del disco (in cm) misurate con un ittiometro e un metro, la lunghezza degli pterigopodi (in cm) misurata con un calibro e il peso umido (in g) con delle bilance (**Fig. 2.15**).



Figura 2.15 Misurazione della lunghezza totale (LT) con un metro

Dopo questa prima fase sono stati asportati e pesati i seguenti organi: stomaco, intestino, milza, fegato, gonadi (peso umido, in g), questi ultimi due per la successiva stima degli indici biologici (vedi paragrafo 2.6) (**Fig. 2.16**).



Figura 2.16 Prelievo degli organi

Questo passaggio ha permesso di accedere alla colonna vertebrale e di prelevarne con un bisturi affilato una porzione post craniale di minimo 3 centimetri di lunghezza (circa 10 vertebre per individuo) (**Fig. 2.17**).



Figura 2.17 Porzione della colonna vertebrale di *R. asterias*

Successivamente si è stabilito il sesso e lo stadio di maturità secondo la scala descritta nel paragrafo 1.4, tabella 1.1 (**Figg. 2.18, 2.19, 2.20, 2.21 e 2.22**)

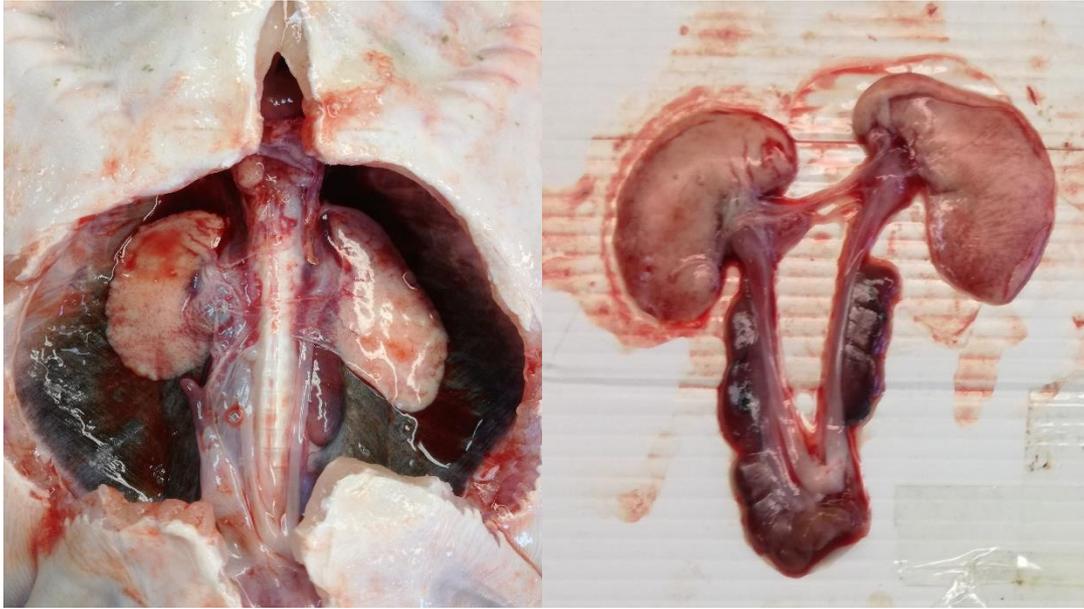


Figure 2.18 e 2.19 Osservazione macroscopica di gonadi femminili di *R. asterias* stadio di maturità 1

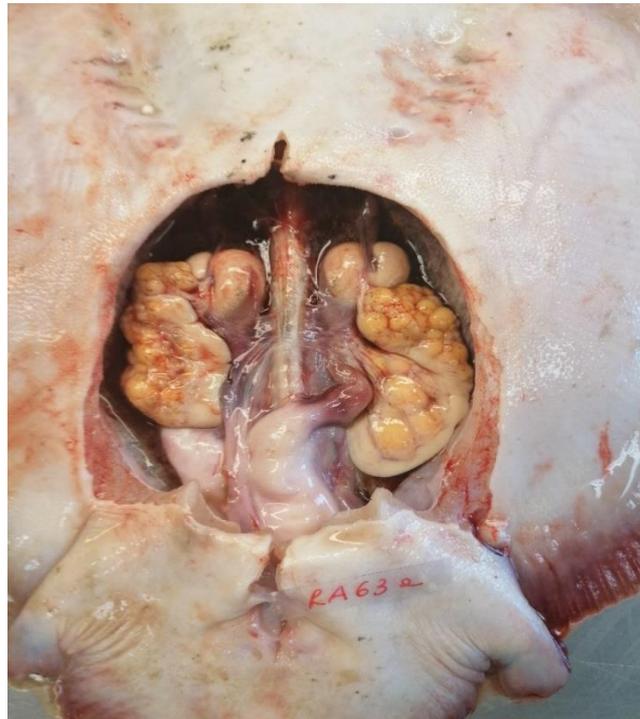


Figura 2.20 Osservazione macroscopica di gonadi femminili di *R. asterias* stadio di maturità 2



Figure 2.21 e 2.22 Osservazione macroscopica di gonadi femminili di *R. asterias* stadio 3a

Dei campioni del “gruppo 1” (**Tab. 2.2**) si è poi analizzato il contenuto stomacale, mentre dai campioni appartenenti al “gruppo 2” (**Tab. 2.3**) sono state prelevate delle porzioni della colonna vertebrale per la successiva determinazione dell’età. Dai campioni di entrambi i gruppi è stata inoltre prelevata una porzione di muscolo per effettuare le successive analisi isotopiche. Tutti i campioni sono stati conservati in camera fredda a -17°C fino al momento del processamento.

Una prima parte dei prelievi è stata effettuata presso il CNR di Ancona, a causa del covid-19 la restante parte e tutte le analisi sono state svolte presso i laboratori del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente dell’Università Politecnica delle Marche.

Tabella 2.2 Numero di campioni del “gruppo 1” divisi per mese e sesso

| Mese | Maschi | Femmine |
|-----------|--------|---------|
| Gennaio | 7 | 9 |
| Febbraio | 8 | 7 |
| Marzo | 16 | 14 |
| Aprile | 1 | 2 |
| Maggio | 9 | 10 |
| Giugno | 0 | 0 |
| Luglio | 5 | 7 |
| Agosto | 0 | 0 |
| Settembre | 9 | 10 |
| Ottobre | 18 | 10 |
| Novembre | 0 | 0 |
| Dicembre | 17 | 11 |

Tabella 2.3 Numero di campioni del “gruppo 2” divisi per mese e sesso

| Mese | Maschi | Femmine |
|----------|--------|---------|
| Luglio | 1 | 3 |
| Ottobre | 4 | 10 |
| Novembre | 18 | 21 |
| Dicembre | 0 | 7 |

2.6 Stima degli indici biologici

L'indice gonadosomatico (%GSI) è uno strumento utilizzato per descrivere lo sviluppo gonadico e ottenere il grado di maturità sessuale di una specie. È uguale al rapporto tra peso delle gonadi e peso totale dell'organismo moltiplicato per 100, secondo la formula:

$$GSI = \frac{\text{Peso gonade}}{\text{Peso totale organismo}} \times 100$$

Viene calcolato per ottenere informazioni sul ciclo riproduttivo di una specie.

L'indice epatosomatico (%HSI) è un indicatore dell'attività metabolica. È uguale al rapporto tra il peso del fegato e il peso totale dell'organismo moltiplicato per 100, secondo la formula:

$$HSI = \frac{\text{Peso fegato}}{\text{Peso totale organismo}} \times 100$$

Questo indice viene calcolato in quanto considerato un proxy dei lipidi immagazzinati da una specie. I due indici possono essere messi a confronto correlando le variazioni nell'alimentazione al ciclo riproduttivo.

2.7 Analisi dei contenuti stomacali

Dopo il prelievo del campione, sono stati pesati lo stomaco intero e la sacca dello stomaco, dopo aver svuotato il contenuto in una capsula Petri. In questo modo, dai due valori di peso, è stato possibile calcolare il valore del peso del contenuto stomacale. Il peso del contenuto stomacale è stato utilizzato per calcolare la *fullness*, considerato un proxy di intensità alimentare, secondo la seguente formula:

$$Fullness = \frac{\text{Peso contenuto stomacale}}{\text{Peso totale organismo}} \times 100$$

Il contenuto stomacale è stato versato in piastre Petri ed è stato osservato tramite uno stereomicroscopio (**Figg. 2.23, 2.24 e 2.25**).



Figura 2.23 Analisi dei contenuti stomacali di *R. asterias* allo stereomicroscopio



Figure 2.24 e 2.25 Stomaco aperto con il contenuto visibile e contenuto stomacale pronto per l'analisi

Si è analizzato il contenuto cercando di classificare gli organismi al più basso livello tassonomico possibile, anche grazie alla ricostruzione dei frammenti e all'utilizzo di vari manuali di classificazione, inclusi otoliti di pesci e becchi di cefalopodi (**Figg. 2.26 e 2.27**). Per ogni stomaco aperto è stata valutata la percentuale di riempimento e lo stato di digestione delle prede, con una scala di valori da 1 (preda poco digerita) a 4 (preda quasi completamente digerita). Ogni preda, quando possibile (poco digerita ed intera) è stata pesata.



Figure 2.26 e 2.27 Otoliti di *Engraulis encrasicolus* e Becco di *Alloteuthis sp*, rinvenuti negli stomaci analizzati, fotografati e osservati al microscopio stereoscopico

2.8 Analisi degli isotopi stabili di azoto e carbonio

Per le analisi isotopiche sono stati selezionati dei campioni in base alla classe di taglia, in media 3 campioni per cm, per le due classi di taglia considerate in

base alla distribuzione di frequenza delle lunghezze, e stagione. Il muscolo prelevato è stato poi posto in stufa a 60°C per 24/48 ore (Fanelli et al., 2011). Una volta seccato è stato ridotto in polvere fine con l'utilizzo di un mortaio e un pestello (Fig. 2.28).

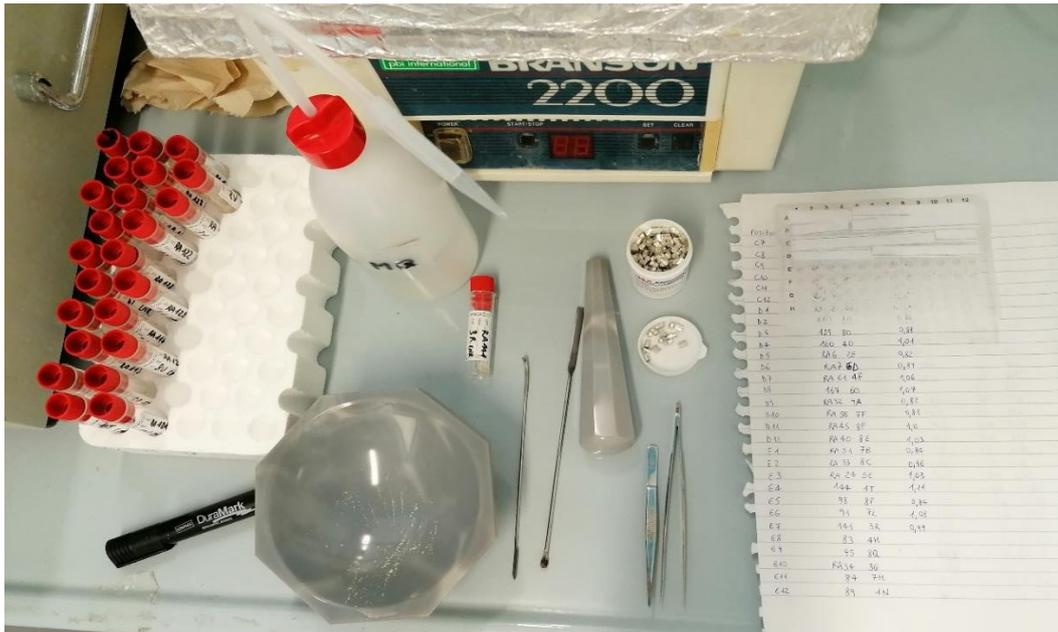


Figura 2.28 Postazione di lavoro con gli strumenti e la rastrelliera numerata

I vari strumenti sono stati puliti prima di ogni uso e tra un campione e un altro con acqua deionizzata. Un microgrammo circa di materiale è stato pesato con una bilancia di precisione (10^{-5} g) e posto in capsule di stagno (Fig. 2.29 e 2.30).



Figure 2.29 e 2.30 Fase di riempimento della capsula di stagno e pesatura nella bilancia a cinque cifre decimali

Queste capsule sono state chiuse con attenzione e riposte in una rastrelliera numerata, conservata a -20°C . I campioni sono poi stati spediti all'Università di Palermo per la successiva analisi con uno spettrometro di massa per isotopi stabili (IRMS, Isotope Ratio-Mass Spectrometer) interfacciato con un analizzatore elementare (EA). Nel laboratorio dell'Università di Palermo le capsule di stagno sono state caricate automaticamente in un analizzatore elementare (Thermo Flash EA 1112) per la determinazione del carbonio totale e dell'azoto totale, e poi analizzate per $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ in uno spettrometro di massa a flusso continuo per le analisi isotopiche (Thermo Delta Plus XP).

Il rapporto degli isotopi stabili è stato espresso, in relazione agli standard internazionali di riferimento (N_2 atmosferico per $\delta^{15}N$ e PeeDee Belemnite per $\delta^{13}C$), come: $\delta^{13}C$ o $\delta^{15}N$: $[(R_{\text{campione}}/R_{\text{standard}}) - 1] * 10^3$

dove $R = {}^{13}C/{}^{12}C$ o ${}^{15}N/{}^{14}N$.

Le analisi hanno permesso di ottenere i valori di $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, le percentuali di carbonio e azoto e il rapporto carbonio/azoto per ogni campione inviato.

È noto che i lipidi presenti nel campione possono alterare i valori di $\delta^{13}C$ (Post *et al.*, 2007), per questo motivo si può scegliere di effettuare l'estrazione dei lipidi per i campioni con un'alta concentrazione lipidica. Questo passaggio può però alterare i valori di $\delta^{15}N$, per questo motivo i valori di $\delta^{13}C$ nei campioni con un rapporto carbonio/azoto superiore a 3, in accordo con Post *et al.*, 2007, sono stati corretti secondo la seguente equazione:

$$\delta^{13}C_{\text{corretto}} = \delta^{13}C_{\text{noncorretto}} - 3.32 + 0.99 C/N_{\text{campione}}$$

2.9 Analisi delle vertebre

Per l'analisi delle vertebre è stata prelevata una sezione della colonna vertebrale di 67 organismi appartenenti al "gruppo 2", 61 individui di *Raja asterias*, 3 di *Pteromylaeus bovinus*, 2 di *Torpedo marmorata* e 1 di *Raja miraletus*.

Al momento del processamento le vertebre asportate sono state scongelate e inserite una porzione alla volta in un becker pieno d'acqua posto su una piastra elettrica. Le vertebre sono state fatte bollire per circa due minuti per permettere la scarnificazione che è stata ultimata con un bisturi affilato (**Fig. 2.31**). Questo passaggio ha però reso la lettura delle bande più complicata ed è sconsigliato.



Figura 2.31 Bollitura delle sezioni di vertebre per la scarnificazione



Figura 2.32 Sezioni di vertebre scarnificate

La restante parte delle vertebre è stata trattata secondo la procedura stabilita da Scacco e Zanardi (dati non pubblicati). La sezione di colonna è stata immersa in una soluzione di NaClO sotto cappa, inizialmente per 60 minuti. Al termine di questa prima immersione si è continuato con cicli di 15 minuti. Per *Raja asterias* il tempo necessario per la rimozione di tutto il tessuto connettivo è oscillato tra 1 ora e 30 minuti e 2 ore circa. *Pteromylaeus bovinus* ha richiesto circa 2 ore e 30 minuti di immersione in NaClO (**Fig. 2.33**).



Figura 2.33 Sezioni di vertebre di *R. asterias* (a sinistra) e di *P. bovinus* (a destra) messe a confronto dopo 1 ora e 30 minuti di immersione in NaClO

Successivamente la sezione di colonna o le singole vertebre già separate in soluzione sono state sciacquate con acqua distillata e lasciate ad asciugare. Per la determinazione dell'età ogni vertebra è stata tagliata sagittalmente con un bisturi ben affilato in modo tale da ricavarne due metà (due emi-clessidre) in cui poter osservare le parti concave interne in cui si dispongono serialmente gli annuli, dal centro vertebrale verso il margine. A questo punto le vertebre sono spesso trattate con coloranti come il Cristal Violetto, l'Alizarina rossa e il Nitrato d'Argento e di Cobalto. In questo studio si è scelto di non trattare le vertebre per non aumentare i tempi e i costi dell'analisi. L'emi-clessidra è stata immersa direttamente in glicerolo ($C_3H_8O_3$) ed osservata con un Dino-Lite

digital microscope (**Fig. 2.34**). Questo procedimento permette di sfruttare la variazione di diffrazione della luce tra aria e glicerolo e tra zone meno calcificate e più calcificate (Scacco Umberto, dati non pubblicati).

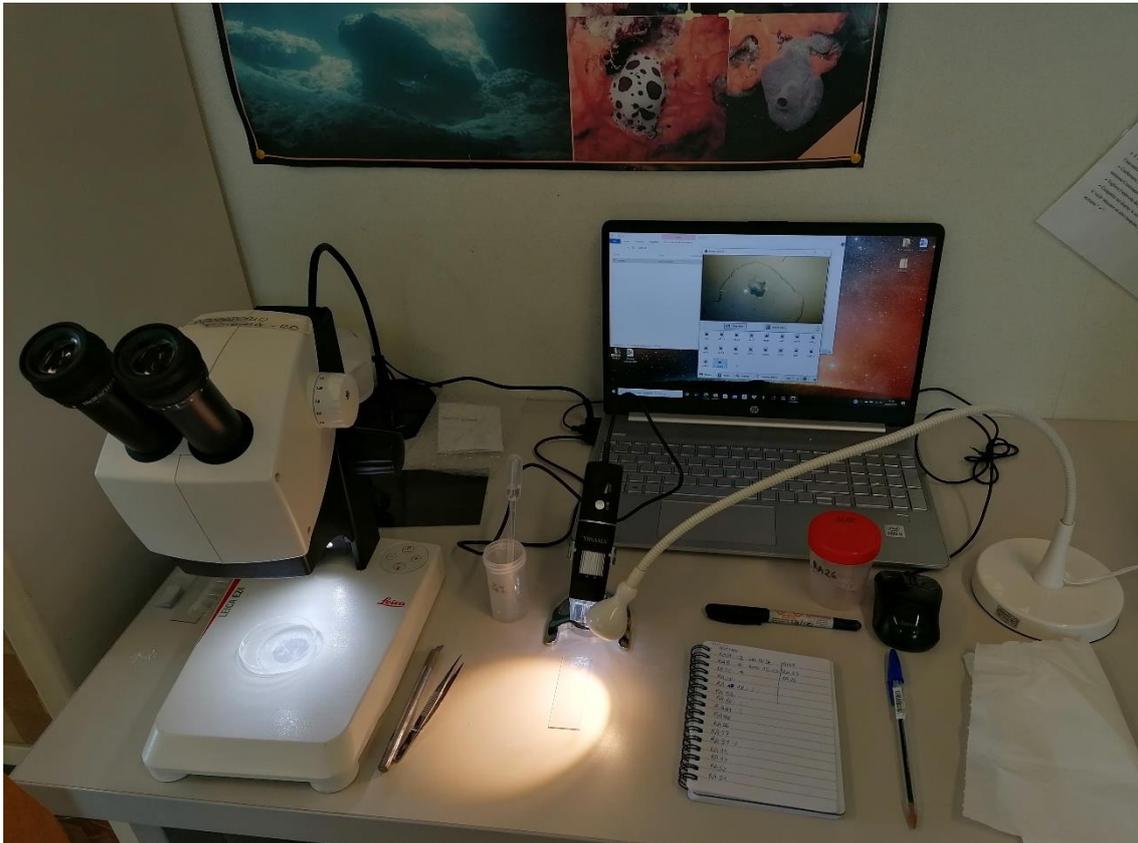


Figura 2.34 Postazione in laboratorio con il Dino-lite microscope

Questo strumento, per quanto valido dal punto di vista dell'illuminazione, non permette uno zoom e una messa a fuoco considerevoli quindi si è ripetuto il processo con l'utilizzo di un microscopio stereoscopico collegato a un tablet, che ha permesso di effettuare delle fotografie ai campioni con uno zoom fino a 30X e di ottenere una valida messa a fuoco (**Fig. 2.35**). Per una migliore visione

della sezione si è posto un disco nero sotto la piastra Petri e si è usata una luce calda lateralmente alla luce del microscopio.



Figura 2.35 Postazione in laboratorio con il microscopio e il tablet usati per le foto alle sezioni vertebrali

Dopo aver scattato varie foto per vertebra queste foto sono state modificate con l'ausilio di un software per l'elaborazione digitale delle immagini, lo GNU Image Manipulation Program (GIMP) creato da S. Kimball e P. Mattis, nella versione 2.10.22.

Ci si è concentrati su una modifica della saturazione, del contrasto, della tonalità, dell'esposizione, dei livelli di colore e delle ombre (**Figg. 2.36 e 2.37**).

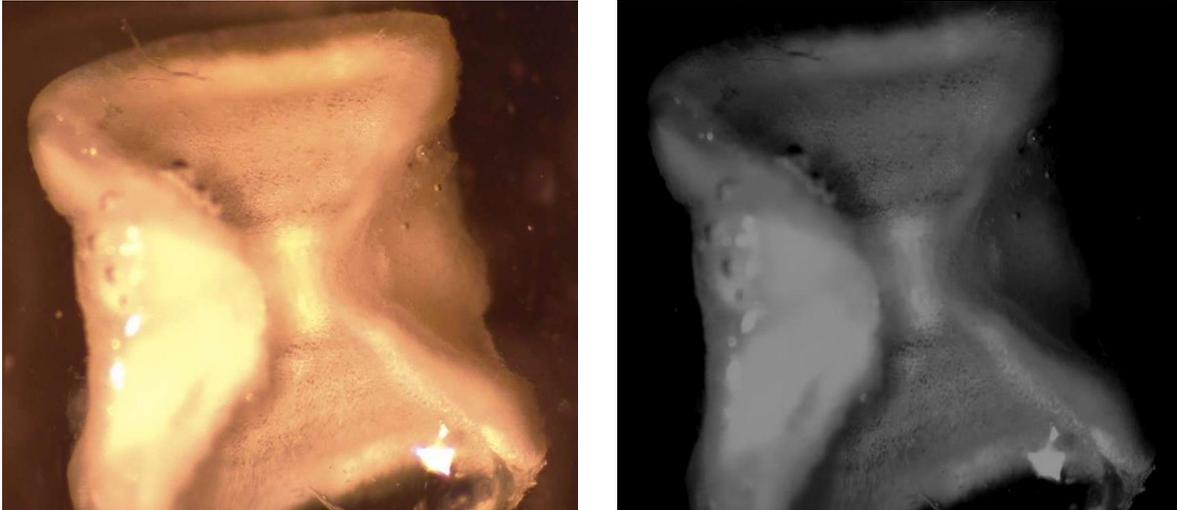


Figure 2.36 e 2.37 Esempio di foto originale e modificata tramite il software GIMP

Successivamente la lettura delle immagini è stata effettuata da 3 osservatori in modo indipendente, senza che avessero informazioni riguardo la taglia e il sesso degli individui. Concluse le letture si è passato alla verifica del dato di convergenza tra esse con il Wilcoxon test, il quale permette un confronto statistico. Le differenze tra le varie coppie di letture non erano significative quindi si è scelta una delle 3 letture per i test statistici successivi.

A questo punto il successivo trattamento statistico prevede la validazione del dato, l'eliminazione di eventuali outliers e successivamente la stima della curva di accrescimento della specie, in accordo all'equazione di Von Bertalanffy (1938). Tuttavia, tale stima esula lo scopo della presente tesi e non verrà di seguito riportata.

2.10 Analisi statistiche

2.10.1 Analisi univariate degli indici biologici e di fullness

I dati relativi alla fullness, al %GSI e all' %HSI dei campioni di entrambi i gruppi sono stati analizzati mediante analisi univariate. L'analisi statistica è stata effettuata attraverso un disegno ortogonale a due fattori: stagione e sesso. Poiché la distribuzione dei dati violava almeno uno degli assunti dell'ANOVA (omogeneità), si è proceduto con l'utilizzo di un test non parametrico (Kruskal-Wallis) e Mann-Whitney test per i confronti a coppie (pairwise comparison). Per il %GSI è stata effettuata un'analisi ad una via, tenendo in considerazione solo il fattore "stagione".

Le analisi univariate sono state svolte con il software PAST 4.04 (Hammer et al., 2001).

2.10.2 Analisi multivariate della dieta di *R. asterias*

Per effettuare le analisi multivariate le prede rare sono state raggruppate nel gruppo tassonomico più alto. Si è eseguita un'analisi nMDS (non metric multidimensional scaling) sulla matrice di *resemblance* ottenuta con la distanza di Bray-Curtis dei dati trasformati logaritmicamente ($\log(x+1)$) delle biomasse delle prede, in accordo al disegno descritto per le analisi univariate, ovvero un disegno a due fattori ortogonali con stagione (fisso, con 4 livelli) e sesso (fisso,

con due livelli). L'ordinamento nMDS permette di ottenere una rappresentazione grafica della similarità della dieta dei campioni nelle stagioni. L'nMDS rappresenta i campioni come punti, maggiore è la distanza tra i punti maggiore è la dissimilarità tra le diete dei campioni (Gorley, 2006). Il coefficiente di Bray-Curtis è stato scelto perché quantifica la somiglianza dei campioni in base ai conteggi di ciascuna variabile (Gorley, 2006).

Successivamente sulla matrice di *resemblance* sopra descritta si è effettuato il test PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance, Anderson et al., 2008), per testare la significatività di eventuali cambiamenti nella dieta in base al sesso e alle stagioni. Il valore di significatività è stato fissato a $P < 0,05$ e i valori di P sono stati ricavati con un modello di permutazione noto come "Permutation of residuals under a reduced model" e con un numero di permutazioni uguale a 9999. Sono stati eseguiti sia il main test sia i confronti a coppie, sui fattori eventualmente risultati significativi dal main test. In seguito, si è eseguita l'Analisi Canonica delle Coordinate Principali (CAP) (Anderson et al., 2008), sul fattore risultante significativo dai risultati della PERMANOVA. Si è poi effettuata l'analisi SIMPER (Similarity Percentage) per determinare le specie che hanno contribuito in misura maggiore alla similarità nella dieta per ogni stagione e alla dissimilarità tra le diverse stagioni, privilegiando il confronto tra stagioni successive. Infine, è stata

calcolata la diversità trofica delle prede, tramite la formula dell'indice di Shannon:

$$H' = - \sum_{j=1}^s p_j \log_e p_j$$

Le differenze nella diversità trofica per sesso e stagione sono state testate attraverso un'analisi PERMANOVA univariata, sulla matrice Euclidea dei dati non trasformati di H'.

Le analisi multivariate e l'analisi univariata sulla diversità sono state condotte tramite il software PRIMER6&PERMANOVA+ (Gorley et al., 2008; Anderson et al., 2008).

2.10.3. Analisi dei risultati ottenuti dall'analisi isotopica

I dati di $\delta^{15}\text{N}$ e il $\delta^{13}\text{C}$ sono stati plottati verso la taglia delle razze e si è calcolato l'indice di correlazione con il relativo valore di p. Analogamente a quanto fatto per i contenuti stomacali si è poi effettuato un test PERMANOVA utilizzando lo stesso disegno statistico descritto sopra. Per tale analisi, poichè gli individui considerati giovanili, con taglia inferiore a 390 mm non erano presenti in tutte le stagioni, sono stati considerati solo gli individui adulti ($TL \geq 390$ mm). Con

lo stesso approccio sono state effettuate analisi univariata sui singoli marcatori isotopici, $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$.

Si è poi calcolata la posizione trofica di *R. asterias*, tramite la seguente formula:

$$\text{TP} = ((\delta^{15}\text{N}_c - \delta^{15}\text{N}_{b1}) / \text{TEF}) + \lambda$$

dove $\delta^{15}\text{N}_c$ è il valore medio del consumatore, $\delta^{15}\text{N}_{b1}$ è il valore medio della baseline di riferimento, che si considera generalmente un consumatore primario, vista la variabilità del segnale isotopico dei produttori primari (Fanelli et al., 2009), TEF è il Trophic Enrichment Factor, ovvero il fattore di arricchimento isotopico nel passaggio da un livello trofico ad un altro, e lambda è il livello trofico della baseline pari a 2 (ovvero quello di un consumatore primario, in questo caso sono stati usati dati non pubblicati riferiti alla specie *Mimachlamys varia* pescata nelle acque di Ancona).

Infine, la rappresentazione grafica della posizione trofica dei giovanili e degli adulti di *Raja asterias*, e degli altri batoidei analizzati (*Raja miraletus*, *Torpedo marmorata*, *Pteromylaeus bovinus*) e delle loro prede potenziali e/o specie megabentoniche abbondanti nell'area, è stata ottenuta tramite un bi-plot con i segnali isotopici di prede e predatori.

3. Risultati

3.1 Caratteristiche biologiche di *Raja asterias*

La distribuzione di frequenza di lunghezza, prendendo in considerazione tutti gli individui, mostra un andamento differente per maschi e femmine (**Fig. 3.1**).

I maschi predominano nelle classi di taglia dai 40 ai 47 cm, con nessun individuo superiore ai 50 cm, mentre le femmine sono distribuite più uniformemente con una predominanza nelle classi di taglia dai 49 cm in su.

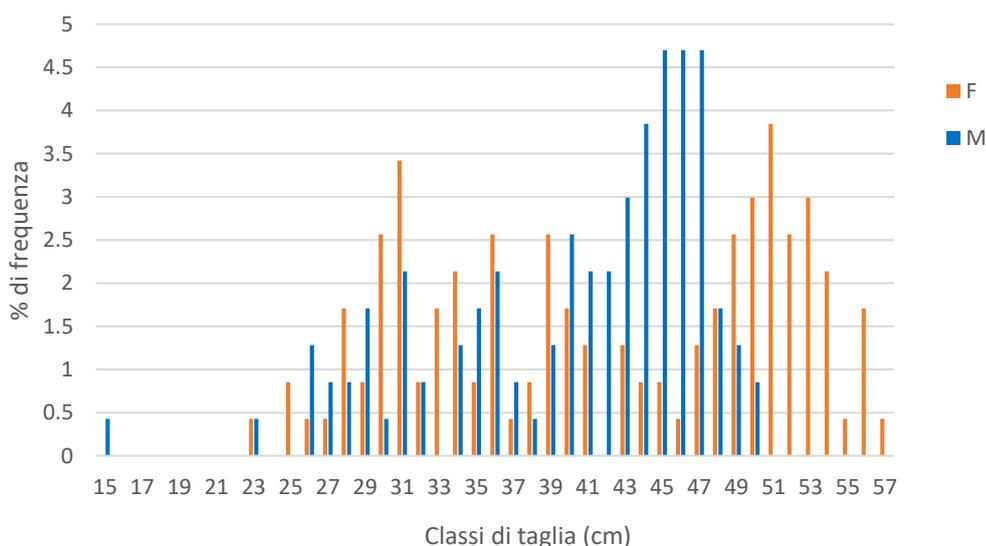


Figura 3.1 Distribuzione di frequenza di taglia per entrambi i sessi

Per le successive analisi sono stati presi in considerazione i fattori sesso, mese e stagione. Il rapporto tra i sessi mostra come la percentuale di femmine sia maggiore sette mesi su dieci, con una maggiore presenza nei mesi di gennaio, aprile e luglio (**Fig. 3.2**). Considerando la stagione, i sessi si equivalgono in

inverno e autunno mentre in primavera ed estate le femmine sono dominanti
(Fig. 3.3).

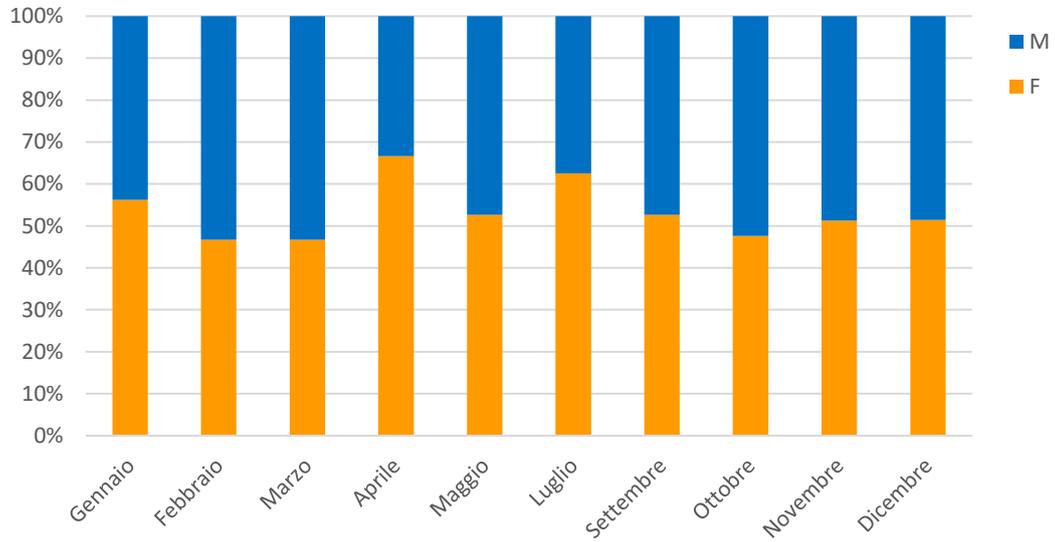


Figura 3.2 Frequenza mensile del numero di maschi e femmine di *Raja asterias*

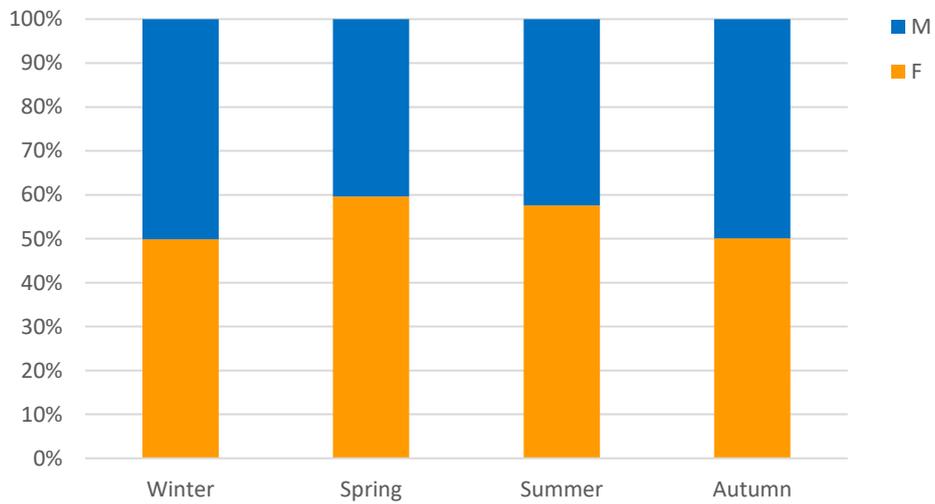


Figura 3.3 Frequenza stagionale del numero di maschi e femmine di *Raja asterias*

L'indice gonadosomatico (%GSI) è stato calcolato per tutti gli individui, per entrambi i sessi, per mese e per stagione (**Fig. 3.4**). Nei maschi l'andamento è abbastanza costante, nelle femmine invece i valori più elevati si riscontrano nei mesi primaverili, con un minimo tra estate e autunno.

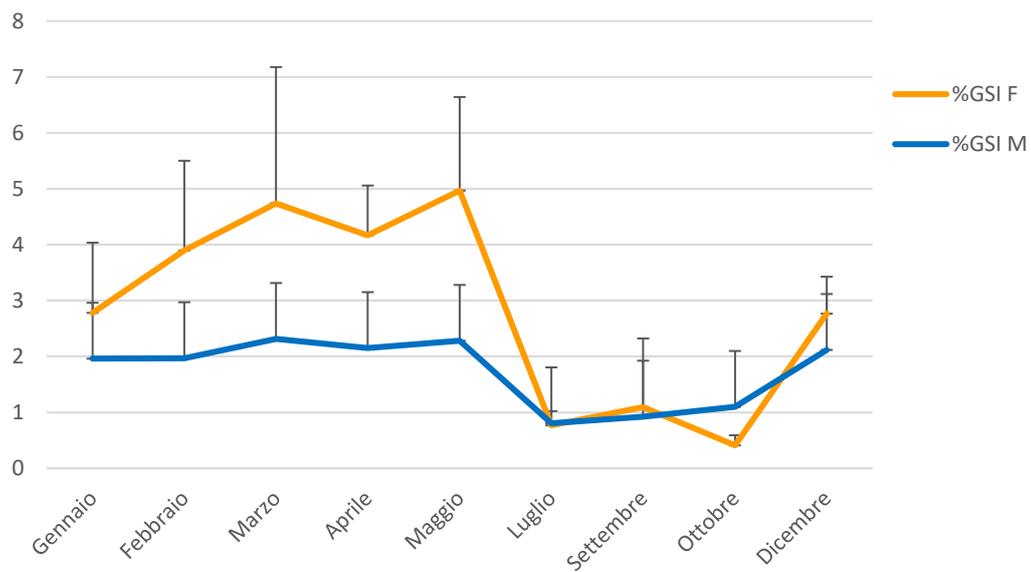


Figura 3.4 Variazione mensile del %GSI (\pm Dev. Standard) nei due sessi

L'analisi univariata mostra differenze significative nell'andamento dell'indice con la stagione (Tab. 3.1.a). In accordo al pairwise test, Il %GSI varia significativamente tra due coppie di stagioni consecutive, primavera ed estate e autunno e inverno (**Tab 3.1b**).

Tabella 3.1 Risultati dell'ANOVA per %GSI delle femmine per la stagione: a) main test,

b) pairwise

| a) | Sum of sqrs | df | Mean square | F | p (same) |
|------------------------|-------------|----|-------------|-------|----------|
| Between groups: | 99,72 | 3 | 33,23 | 10,04 | <0.001 |
| Within groups: | 149,01 | 45 | 3,31 | | |
| Total: | 248,73 | 48 | 2.00E-05 | | |

| b) Groups | t | P(perm) |
|-----------------|------|--------------|
| Win, Spr | 2,16 | 0,43 |
| Spr, Sum | 5,71 | 0,001 |
| Sum, Aut | 0,14 | 0,99 |
| Aut, Win | 5,37 | 0,002 |

L'indice epatosomatico (%HSI) è stato calcolato per tutti gli individui, per entrambi i sessi, per ogni mese e per stagione (**Fig. 3.5**). Nei maschi i valori più elevati si riscontrano nel mese di luglio, nelle femmine invece i valori più bassi si riscontrano nei mesi estivi.

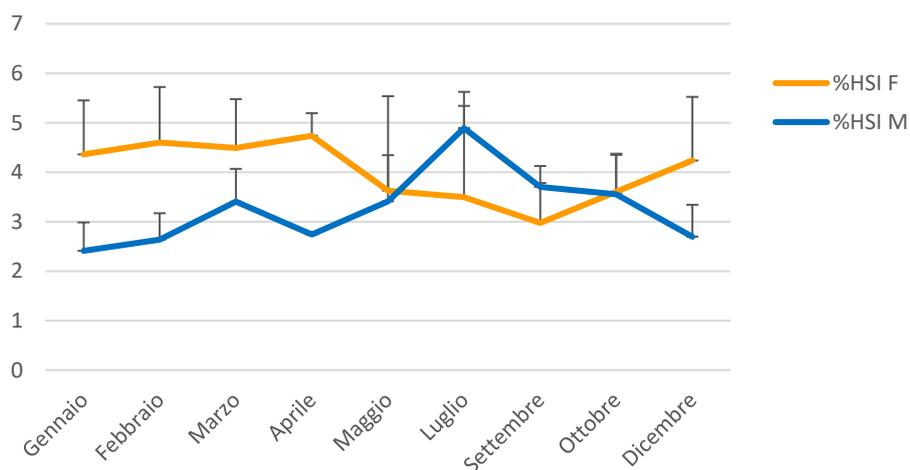


Figura 3.5 Variazione mensile del %HSI (\pm Dev. Standard) nei due sessi

L'analisi univariata mostra differenze significative per il fattore sesso e per l'interazione. Il pairwise per le sole femmine non evidenzia differenze significative tra stagioni (**Tab. 3.2b**), mentre quello per i soli maschi mostra differenze significative nel %HSI tra estate e autunno (**Tab 3.2c**).

Tabella 3.2 Risultati dell'ANOVA per %HSI per sesso e per stagione: a) main test, b) pairwise per le femmine, c) pairwise per i maschi

| a) | Sum of sqrs | df | Mean square | F | p (same) |
|--------------|-------------|-----|-------------|-------|-----------|
| Season: | 2,10 | 3 | 0,70 | 0,65 | 0,5844 |
| Sex: | 20,40 | 1 | 20,37 | 18,94 | 2,415E-05 |
| Interaction: | 31,31 | 3 | 10,44 | 9,70 | 6,492E-06 |
| Within: | 169,98 | 158 | 1,08 | | |
| Total: | 222,25 | 165 | | | |

| b)Groups | t | P(perm) |
|----------|------|---------|
| Win, Spr | 2,80 | 0,36 |
| Spr, Sum | 2,30 | 0,58 |
| Sum, Aut | 3,15 | 0,23 |
| Aut, Win | 2,63 | 0,43 |

| c)Groups | t | P(perm) |
|----------|------|-------------|
| Win, Spr | 1,56 | 0,88 |
| Spr, Sum | 2,66 | 0,42 |
| Sum, Aut | 4,39 | 0,03 |
| Aut, Win | 1,20 | 0,96 |

La fullness è stata calcolata per tutti gli individui, per entrambi i sessi, per ogni mese e per stagione (**Fig. 3.6**). I maschi mostrano i valori più bassi nel mese di aprile, le femmine nel mese di luglio.

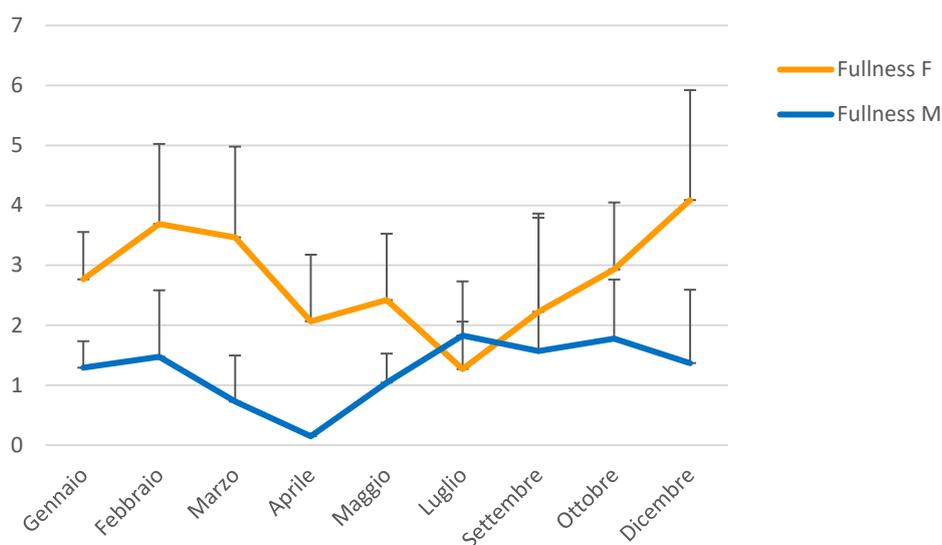


Figura 3.6 Variazione mensile della Fullness (\pm Dev. Standard) nei due sessi

L'analisi univariata mostra differenze significative nell'andamento dell'indice con la stagione (**Tab. 3.3a**). La fullness varia significativamente nelle femmine tra estate e autunno (**Tab 3.3b**). Nessuna variazione significativa si osserva invece nei maschi tra le diverse stagioni (**Tab 3.3c**).

Tabella 3.3 Risultati dell'ANOVA per la fullness per sesso e per stagione: a) main test, b) pairwise per le femmine, c) pairwise per i maschi

| a) | Sum of sqrs | df | Mean square | F | p (same) |
|------------------------|-------------|-----|-------------|-------------------------|----------|
| Between groups: | 7,28 | 3 | 2,43 | 1,10 | 0,35 |
| Within groups: | 281,70 | 128 | 2,20 | Permutation p (n=99999) | |
| Total: | 288,98 | 131 | 0,35 | | |

| b)Groups | t | P(perm) |
|-----------------|------|--------------|
| Win, Spr | 3,23 | 0,21 |
| Spr, Sum | 1,67 | 0,84 |
| Sum, Aut | 5,73 | 0,001 |
| Aut, Win | 0,38 | 0,99 |

| c)Groups | t | P(perm) |
|----------|------|---------|
| Win, Spr | 0,52 | 0,99 |
| Spr, Sum | 2,01 | 0,71 |
| Sum, Aut | 0,26 | 1 |
| Aut, Win | 3,21 | 0,21 |

Unendo in un unico grafico i valori di %GSI e %HSI per le sole femmine e per stagione (**Fig. 3.7**) si può notare come il %GSI abbia un picco in primavera e un crollo in estate. L' %HSI invece è più costante e mostra una diminuzione in estate.

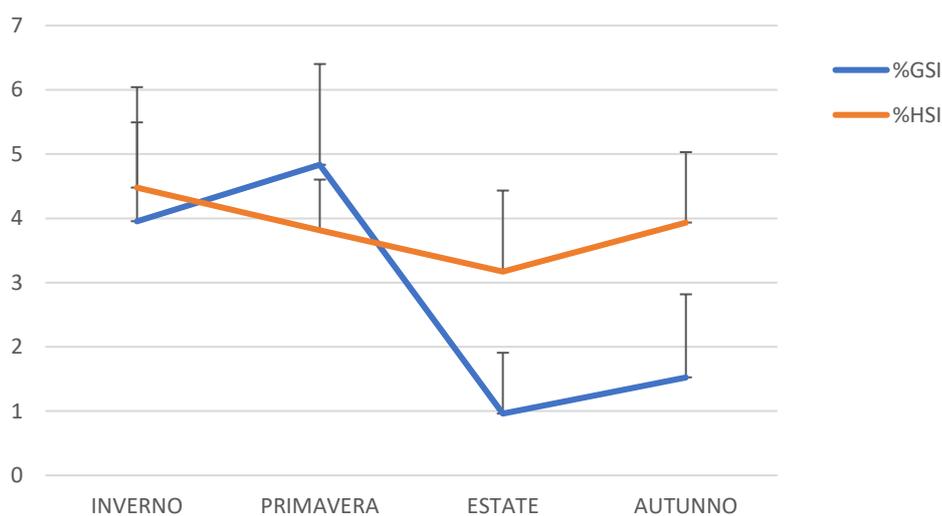


Figura 3.7 Variazione stagionale di %GSI e di %HSI per le femmine

3.2 Composizione della dieta di *Raja asterias*

Sono stati analizzati 159 stomaci pieni di *Raja asterias*. Sono stati identificati 7 taxa (vedi Annex 1). *Raja asterias* nel periodo di campionamento si è

alimentata principalmente di crostacei decapodi del genere *Liocarcinus* e di diversi pesci ossei (**Fig. 3.8**).

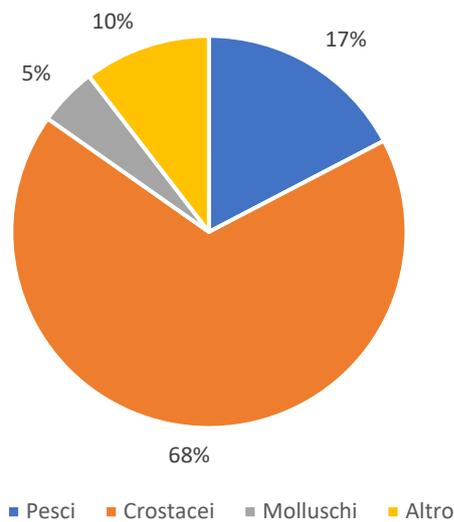


Figura 3.8 Composizione della dieta (in termini di %W) di *R. asterias* durante l'anno

A livello stagionale è visibile come i crostacei rappresentino l'alimento principale della dieta di questa specie durante tutto l'anno, con i valori massimi in autunno. I pesci ossei rappresentano la seconda categoria per importanza e mostrano i valori più alti in inverno e in estate. I molluschi sono poco presenti in tutte le stagioni ma mostrano un piccolo aumento costante dall'inverno all'autunno (**Fig. 3.9**).

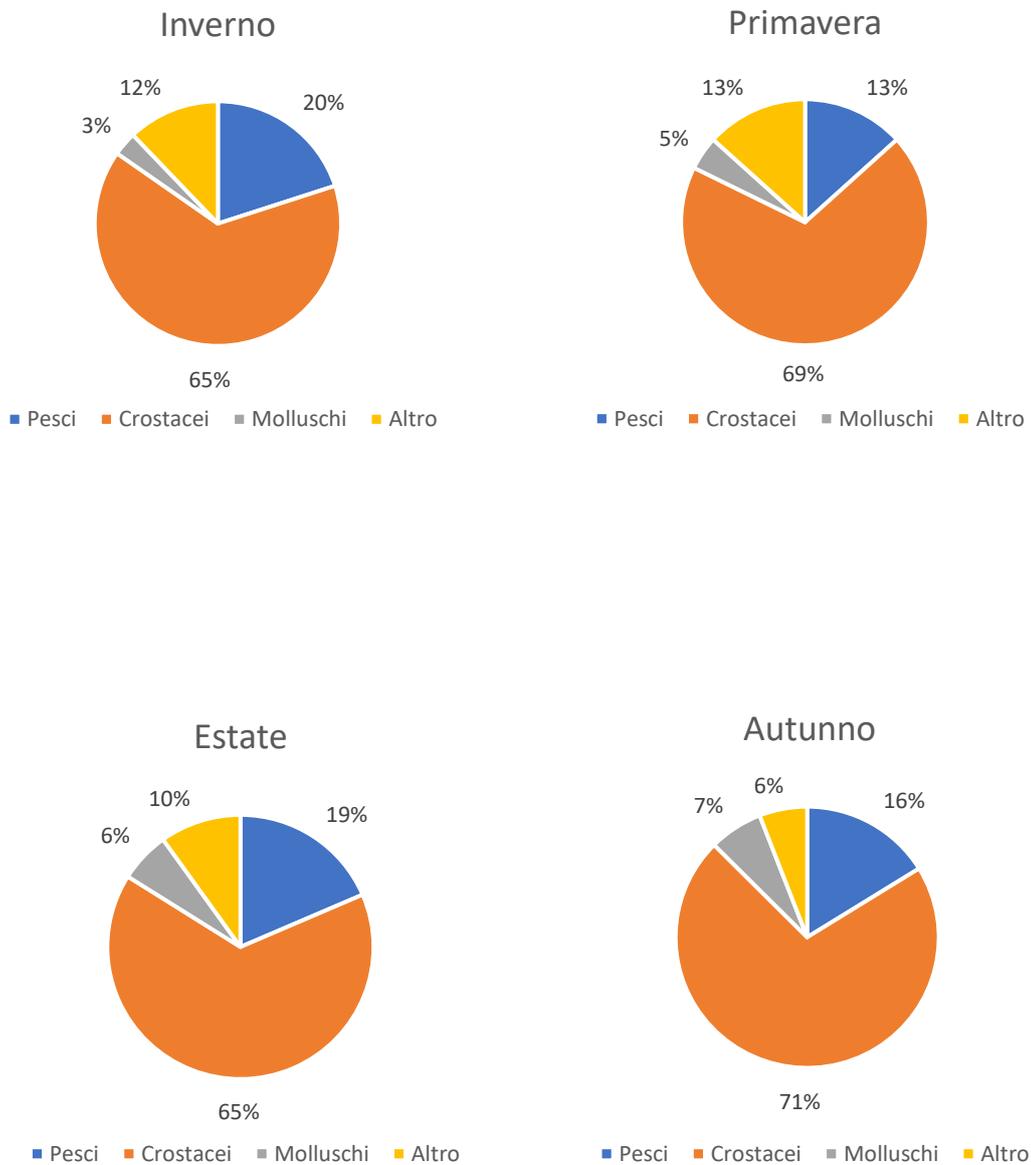


Figura 3.9 Trend stagionale della dieta di *R. asterias* (in termini di %W)

In **figura 3.10** sono presenti alcuni taxa tra quelli rinvenuti con l'analisi dei contenuti stomacali.

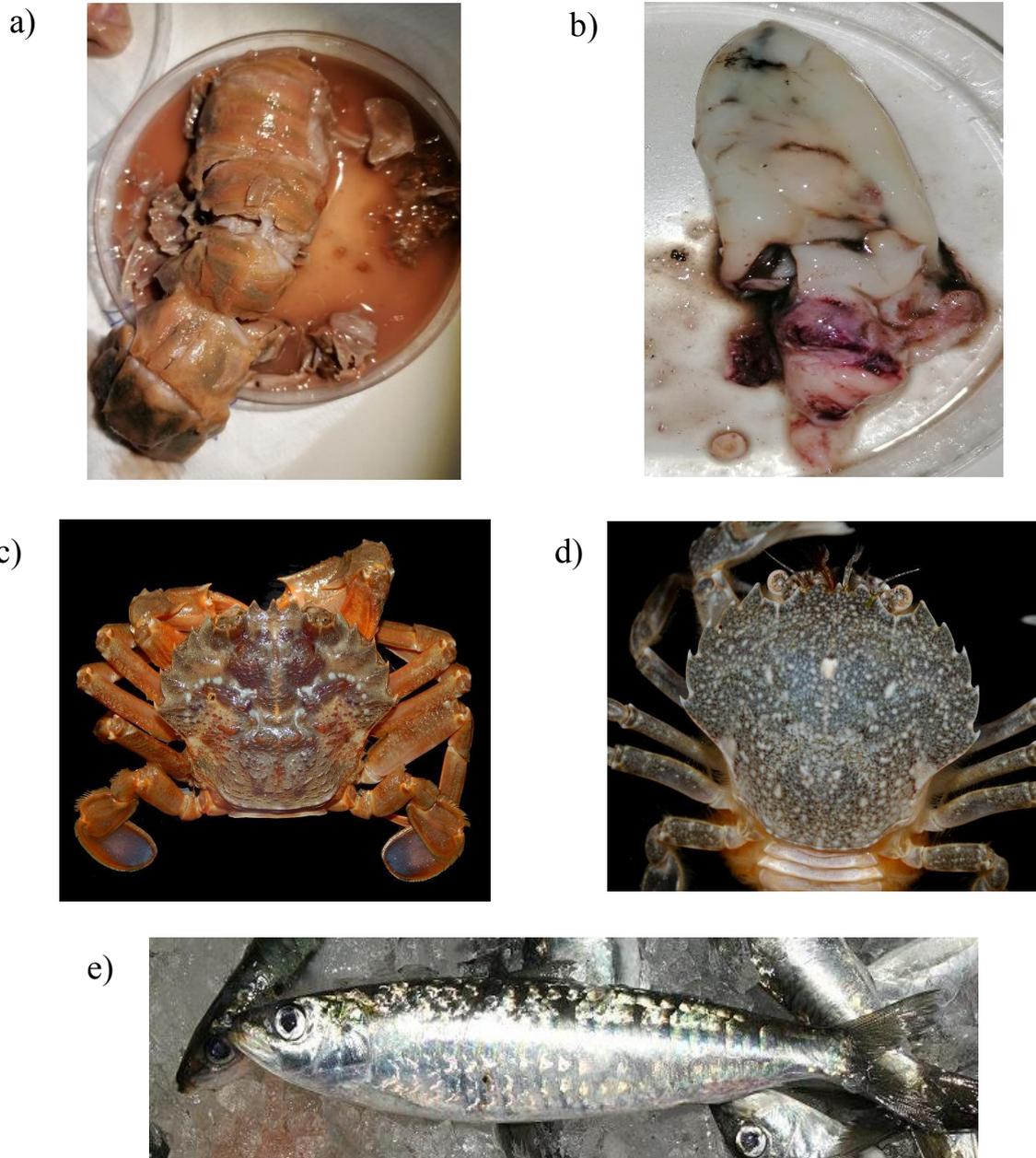


Figura 3.10 Esempi di taxa identificati: a) *Nephrops norvegicus*; b) *Sepia orbignyana*; c) *Liocarcinus depurator*; d) *Liocarcinus vernalis*; e) *Sardina pilchardus* (www.aphotomarine.com)

Il nMDS evidenzia una buona separazione dei campioni sulla base della stagione (**Fig. 3.11**)

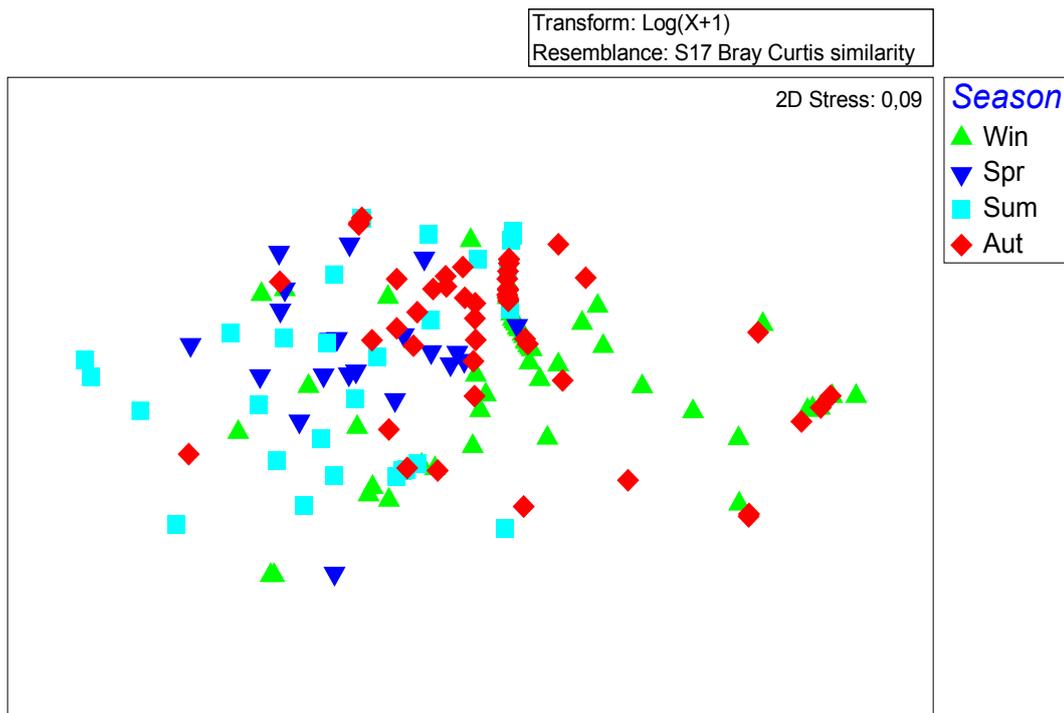


Figura 3.11 Rappresentazione grafica dell'nMDS per stagione

Il test PERMANOVA ha evidenziato differenze significative per tutti i fattori, sesso e stagione (**Tab 3.4a**). Il pairwise sul fattore stagione mostra differenze significative nella dieta dei campioni di inverno e primavera, estate ed autunno e autunno e inverno (**Tab. 3.4b**), mentre il pairwise per il fattore di interazione mostra una differenza significativa nella dieta di maschi e femmine nei mesi invernali e primaverili (**Tab 3.4c**).

Tabella 3.4 a) Risultati del test PERMANOVA sulla matrice multivariata delle biomasse delle prede (%W) per i fattori stagione e sesso; b) Risultati del confronto a coppie per il fattore stagione; c) Risultati del confronto a coppie per il fattore di interazione tra sesso e stagione

| a)Source | df | MS | Pseudo-F | P(perm) |
|-------------------|-----------|-----------|-----------------|----------------|
| Season | 3 | 12438 | 3.69 | 0,0001 |
| Sex | 1 | 21804 | 6.46 | 0,0001 |
| SeasonxSex | 3 | 9858.3 | 2.92 | 0,0001 |
| Residuals | 144 | 3373 | | |
| Total | 151 | | | |

| b)Groups | t | P(perm) |
|-----------------|----------|----------------|
| Win, Spr | 2.25 | 0,0002 |
| Spr, Sum | 1.26 | 0,1168 |
| Sum, Aut | 1.91 | 0,0027 |
| Aut, Win | 1.60 | 0,0204 |

| c) Term 'SeasonxSex' for pairs of levels of factor 'Sex' | | |
|---|----------|----------------|
| Within level 'Win' of factor 'Season' | | |
| Groups | t | P(perm) |
| F, M | 2.86 | 0,0001 |
| Within level 'Spr' of factor 'Season' | | |
| Groups | t | P(perm) |
| F, M | 2.24 | 0,0003 |
| Within level 'Sum' of factor 'Season' | | |
| Groups | t | P(perm) |
| F, M | 1.24 | 0,1385 |
| Within level 'Aut' of factor 'Season' | | |
| Groups | t | P(perm) |
| F, M | 1.26 | 0,1331 |

La CAP sul fattore stagioni mostra in modo più chiaro la separazione sull'asse 1 (CAP1) tra i campioni invernali e autunnali rispetto a quelli primaverili ed estivi (**Fig 3.12**).

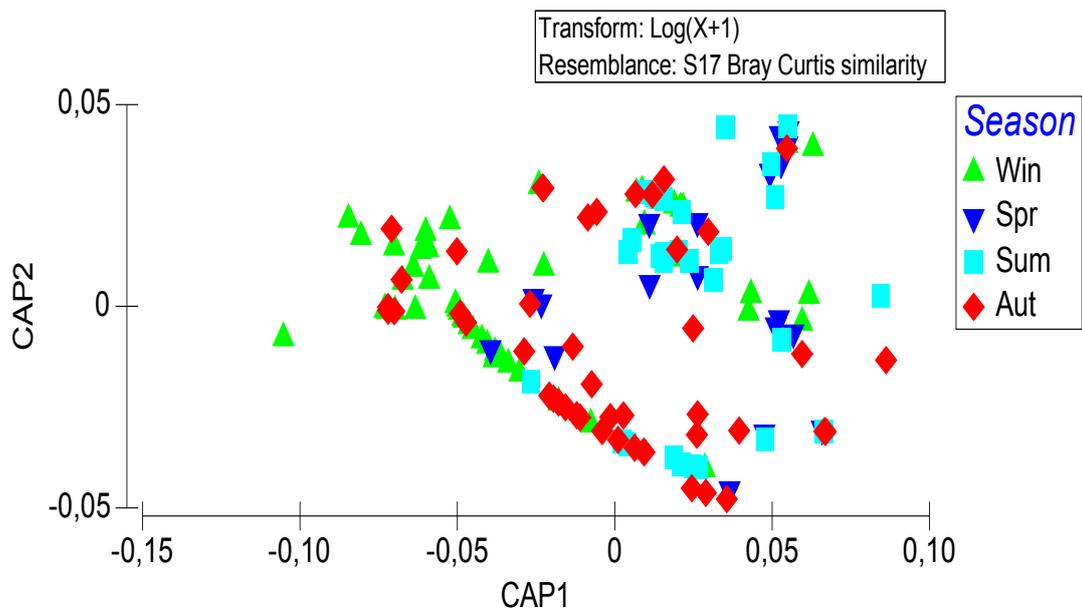


Figura 3.12 Rappresentazione grafica di CAP per stagione

L'analisi SIMPER mostra chiaramente un alto contributo di *Liocarcinus sp.* per tutte le stagioni, con una dominanza in inverno e in autunno, di *Goneplax rhomboides* in primavera ed estate e dei pesci non identificati in primavera (**Tab 3.5**).

Tabella 3.5 Percentuale di similarità tra le prede nelle stagioni. Cut-off per basso contributo al 60%

| Group Win | | Average similarity: 21,83 | | |
|----------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|--------------|
| Taxon | Av.Abund | Av.Sim | Contrib% | Cum.% |
| <i>Liocarcinus sp.</i> | 1,42 | 17,20 | 78,80 | 78,80 |
| Group Spr | | Average similarity: 17,04 | | |
| unidentified fish | 0,47 | 4,92 | 28,84 | 28,84 |
| <i>Liocarcinus sp.</i> | 0,71 | 3,93 | 23,05 | 51,89 |
| <i>Goneplax rhomboides</i> | 0,41 | 3,74 | 21,95 | 73,84 |
| Group Sum | | Average similarity: 11,31 | | |
| <i>Liocarcinus sp.</i> | 0,35 | 4,92 | 43,50 | 43,50 |
| <i>Goneplax rhomboides</i> | 0,33 | 2,97 | 26,24 | 69,74 |
| Group Aut | | Average similarity: 24,92 | | |
| <i>Liocarcinus sp.</i> | 1,10 | 21,12 | 84,74 | 84,74 |

La diversità trofica, calcolata con l'indice di Shannon (H'), è maggiore in primavera e il valore minore è presente in estate (**Fig. 3.13**).

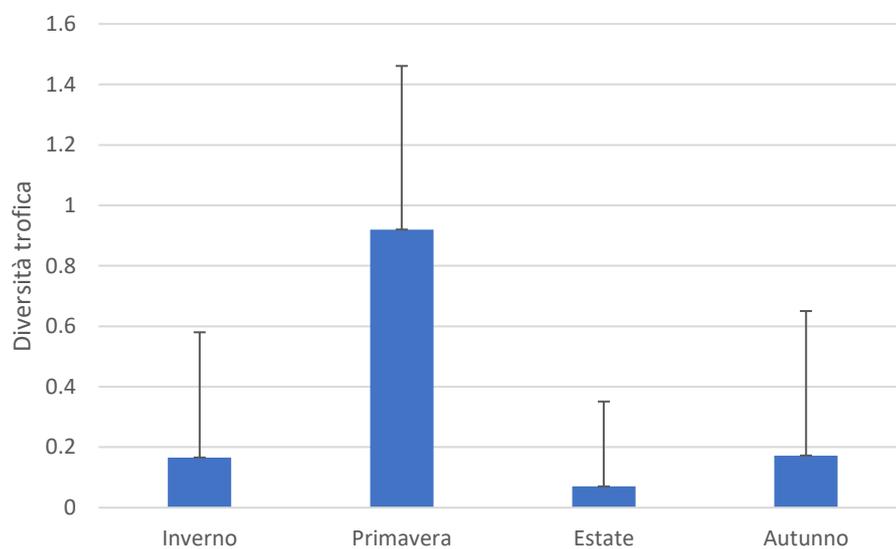


Figura 3.13 Rappresentazione grafica della diversità trofica (\pm Dev. Standard) per le stagioni

La diversità trofica varia in modo significativo solo in relazione alla stagione (Tab. 3.6a). Il pairwise mostra una variazione significativa tra inverno e primavera e tra primavera ed estate (**Tab. 3.6**)

Tabella 3.6 Risultati del test PERMANOVA univariato per l'indice di Shannon (H'): a) main test; b) pairwise test.

| a) Source | df | MS | Pseudo-F | P(perm) |
|------------|-----|------|----------|---------|
| Season | 3 | 0,64 | 4 | 0,01 |
| Sex | 1 | 0,42 | 2 | 0,12 |
| SeasonxSex | 3 | 0,14 | 0.80 | 0,49 |
| Residuals | 144 | 0,17 | | |
| Total | 151 | | | |

| b) Groups | t | P(perm) |
|-----------|------|---------|
| Win, Spr | 3.01 | 0,004 |
| Spr, Sum | 3.08 | 0,01 |
| Sum, Aut | 0.46 | 0,65 |
| Win, Aut | 0.38 | 0,71 |

3.3. Analisi degli isotopi stabili

L'analisi di correlazione tra il $\delta^{15}\text{N}$ e la taglia mostra un aumento significativo dei valori di $\delta^{15}\text{N}$ con la taglia ($R=0.61$, $p<0.001$; **Fig. 3.14**).

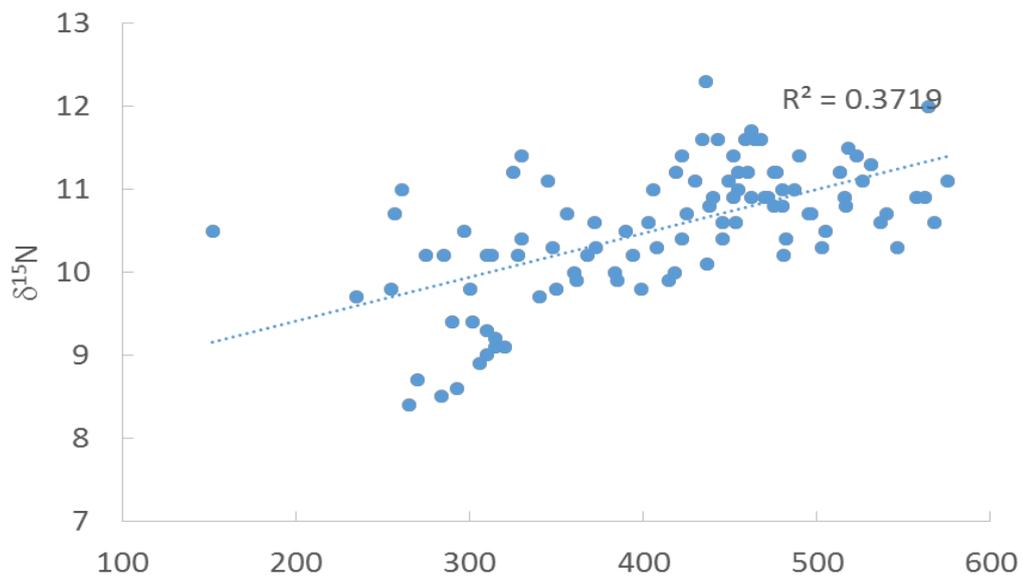


Figura 3.14 Rappresentazione grafica della correlazione tra $\delta^{15}\text{N}$ e taglia dei campioni

La correlazione tra $\delta^{13}\text{C}$ e la taglia non mostra invece un trend significativo e i valori di $\delta^{13}\text{C}$ si mantengono abbastanza costanti nell'intervallo di taglia considerato ($R=0.08$, $P>0.05$; **Fig. 3.15**).

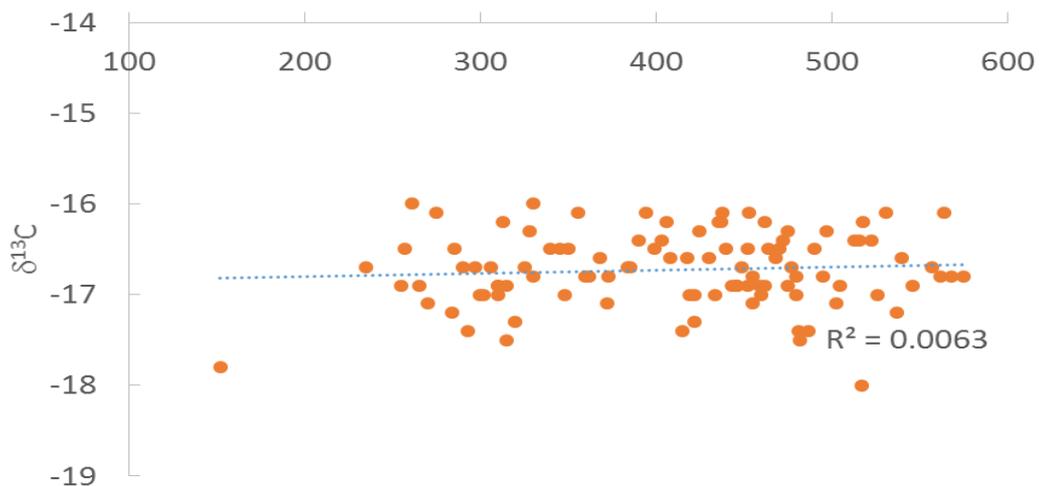


Figura 3.15 Rappresentazione grafica della correlazione tra $\delta^{13}\text{C}$ e taglia dei campioni

Il test PERMANOVA mostra differenze significative per il solo fattore stagione (**Tab. 3.7a**). Il pairwise ha evidenziato variazioni significative tra inverno e primavera e tra autunno e inverno (**Tab. 3.7b**).

Tabella 3.7 Risultati del test PERMANOVA per i fattori sesso e stagione: a) main test; b)

pairwise test

| a) Source | df | MS | Pseudo-F | P(perm) |
|------------|----|------|----------|-------------|
| Season | 3 | 1 | 3 | 0,02 |
| Sex | 1 | 0,65 | 1 | 0,24 |
| SeasonxSex | 3 | 0,31 | 0,69 | 0,66 |
| Residuals | 59 | 0,44 | | |
| Total | 66 | | | |

| b) Groups | t | P(perm) |
|-----------|-------|-------------|
| Win, Spr | 26.33 | 0,01 |
| Spr, Sum | 11.60 | 0,27 |
| Sum, Aut | 0,22 | 0,95 |
| Aut, Win | 21.18 | 0,01 |

L'analisi univariata sui singoli marcatori isotopici ha evidenziato una differenza significativa per il $\delta^{15}\text{N}$ per il fattore stagione (**Tab. 3.8a**). Il pairwise ha evidenziato variazioni significative tra inverno e primavera e autunno e inverno (**Tab 3.8b**). Nessuna differenza significativa è stata invece osservata per i valori di $\delta^{13}\text{C}$ per i fattori testati (**Tab. 3.9**).

Tabella 3.8 Risultati dell'analisi univariata con PERMANOVA per il $\delta^{15}\text{N}$: a) main test; b)

pairwise test

| a) Source | df | MS | Pseudo-F | P(perm) |
|------------|----|------|----------|-------------|
| Season | 3 | 0,80 | 3 | 0,04 |
| Sex | 1 | 0,53 | 2 | 0,16 |
| SeasonxSex | 3 | 0,23 | 0,87838 | 0,45 |
| Residuals | 59 | 0,26 | | |
| Total | 66 | | | |

| b) Groups | t | P(perm) |
|-----------|----------|--------------|
| Win, Spr | 3 | 0,003 |
| Spr, Sum | 7.10E-02 | 0,94 |
| Sum, Aut | 9.60E-02 | 0,92 |
| Aut, Win | 3 | 0,01 |

Tabella 3.9 Risultati del main test dell'analisi univariata con PERMANOVA per il $\delta^{13}\text{C}$

| Source | df | MS | Pseudo-F | P(perm) |
|------------|----|----------|----------|---------|
| Season | 3 | 0,38 | 21.08 | 0,1135 |
| Sex | 1 | 0,12 | 0,67 | 0,4235 |
| SeasonxSex | 3 | 7.25E+02 | 0,40 | 0,7498 |
| Residuals | 59 | 0,18 | | |
| Total | 66 | | | |

Il Bi-plot con i segnali isotopici dei giovanili e degli adulti di *Raja asterias* e di alcune delle sue prede mostra la rete trofica in cui la specie si inserisce e il suo livello trofico (TP giovanili di *R. asterias*= 3.13; TP adulti di *R. asterias*=3.56) (**Fig. 3.16**).

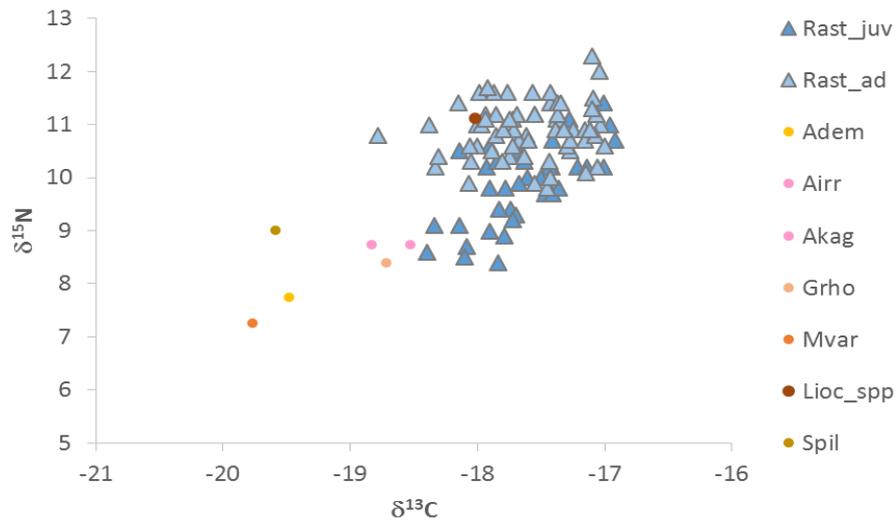


Figura 3.16 Rappresentazione grafica della correlazione tra $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ di *R. asterias* e di alcune delle sue prede

Una seconda rappresentazione è stata ottenuta aggiungendo anche i segnali isotopici degli altri batoidei analizzati dalla stessa area (*Raja miraletus*, *Torpedo marmorata* e *Pteromylaeus bovinus*) (**Fig 3.17**).

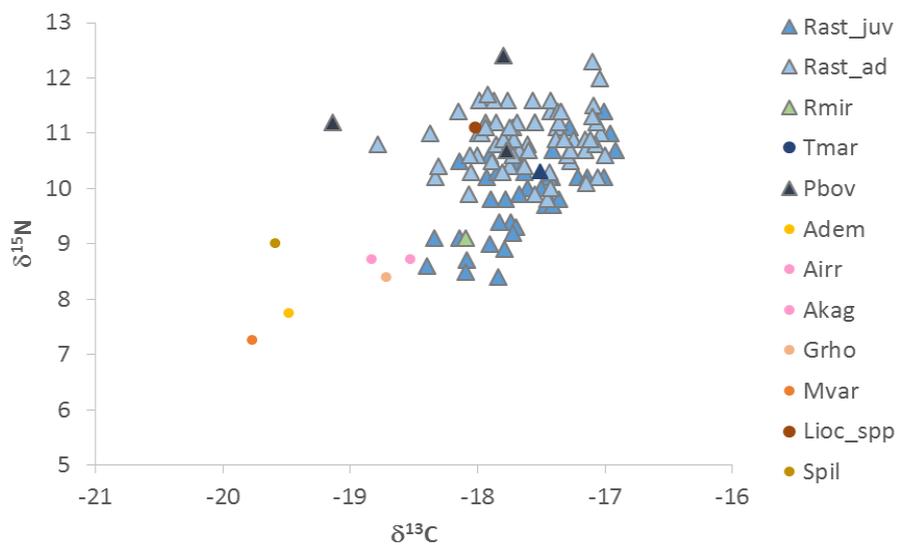


Figura 3.17 Rappresentazione grafica della correlazione tra $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ di *R. asterias*, di alcune delle sue prede e di *Raja miraletus*, *Torpedo marmorata* e *Pteromylaeus bovinus*

4. Discussione

4.1 Approccio sperimentale alla lettura degli annuli delle vertebre dei batoidei e implicazione per la conservazione

Il risultato delle letture delle vertebre di *Raja asterias* ha attribuito in media 4 o 5 anni di età agli esemplari con LT dai 23 ai 32 cm, mentre agli esemplari dai 32 ai 45 cm è stato attribuito un anno in più, 5 o 6 anni di età. Questo risultato, se messo in relazione con le taglie note di prima maturità per le femmine (TL=56 cm) e per i maschi (TL=52 cm), fa ipotizzare che la specie raggiunga la maturità a 6 o 7 anni di età. Questa informazione risulta cruciale in un'ottica di gestione della specie. Contestualizzando la tardiva maturità sessuale alla grande sensibilità verso fattori antropici come il sovrasfruttamento ad opera della pesca, il cambiamento climatico, l'inquinamento, l'eutrofizzazione e la distruzione degli habitat bentonici (GFCM, 2012, Barausse et al., 2013; Ricci et al., 2020) tipica di tutti gli elasmobranchi e in particolare per le specie demersali come *Raja asterias*, risulta evidente che la specie sia sottoposta a più fattori di stress che potrebbero condurre ad una drastica riduzione (e alla progressiva scomparsa locale), come già osservato per altre specie di batoidei.

4.2. Cambiamenti stagionali nella condizione biologica della specie

L'andamento del' %GSI e del %HSI nelle femmine di *Raja asterias* ha evidenziato un aumento dell'%HSI in estate, subito dopo il picco del %GSI in primavera. Questo andamento è coerente con quanto visto in altri studi (Papiol et al., 2014), ed indica che subito dopo la deposizione delle capsule ovigere l'animale si nutra di prede a più alto contenuto lipidico per recuperare le energie spese con la riproduzione e iniziare ad immagazzinare altri lipidi necessari alla riproduzione successiva. Nelle specie ovipare come *Raja asterias*, è stato notato un dimorfismo sessuale per quanto concerne il fegato, che è molto più pesante nelle femmine. Questo aspetto è collegato alla richiesta energetica per la vitellogenesi, la maturazione degli oociti e la gestazione. Infatti, le femmine devono immagazzinare una grande quantità di lipidi nel fegato nella fase pre-vitelloginica del ciclo riproduttivo e la produzione di vitellogenina (da cui deriveranno le proteine del tuorlo dell'uovo) avviene proprio nel fegato (Carrier et al., 2004; Oddone e Velasco, 2006; Ebert e Cowley, 2009). Con la formazione delle uova il fegato diminuisce in peso e volume e questo è compatibile anche con l'effettiva diminuzione dello spazio disponibile nella cavità celomica, occupato dalle capsule ovigere.

4.3 Composizione della dieta

Raja asterias è una specie demersale che vive su fondi fangosi e sabbiosi, in stretta relazione con il fondale (Serena et al., 2010; Navarro et al., 2013; Sviben et al., 2019). La sua capacità di nuoto gli permette allo stesso tempo di sollevarsi dal fondo e predare anche specie pelagiche che si avvicinano al fondale (Orlov, 2003; Fatimetou & Younes, 2016). In accordo a tale comportamento e a diversi studi sull'ecologia trofica di questa specie, effettuati nel Mediterraneo e sulla costa atlantica del Marocco (Capapé and Quignard, 1977; Cuoco et al., 2005; Serena et al., 2005; Romanelli et al., 2007; Coll et al., 2013; Fatimetou, M. K., & Younes, S., 2016; Sviben et al., 2019) i nostri dati confermano che *Raja asterias* si nutre prevalentemente di crostacei e pesci, mentre molluschi e policheti possono essere presenti tra le prede in misura nettamente minore. Il contributo dei policheti in tutti gli studi effettuati è sempre basso o nullo e nel presente lavoro non sono stati rilevati. Tutti gli studi citati evidenziano come i crostacei siano la preda principale della specie e tra i crostacei, i decapodi sono spesso dominanti (Sviben et al., 2019), in accordo con quanto osservato in questo studio. I risultati di questo lavoro confermano lo shift ontogenetico nella dieta tra giovanili e adulti, con una maggior dimensione delle prede e un maggior contributo dei pesci ossei alla dieta negli esemplari di dimensioni maggiori (Romanelli et al., 2007). Tale risultato

suggerisce inoltre che le razze stellate mostrino una maggiore capacità di nuoto da adulti, mentre i giovanili sembrerebbero essere meno in grado di predare pesci caratterizzati da movimenti veloci e si cibino prevalentemente di organismi bentonici dell'infauna ed epifauna.

4.4 Variazioni stagionali nella dieta

Per quanto riguarda la dieta di *R. asterias* tra le diverse stagioni alcuni autori non hanno trovato differenze significative (Navarro et al., 2013), mentre altri hanno evidenziato una lieve differenza nell'importanza delle varie categorie di prede tra le stagioni (Fatimetou & Younes, 2016). Crostacei, pesci ossei, molluschi e policheti sono presenti generalmente durante tutto l'anno. In particolare, crostacei e osteitti rimangono le prede principali in tutte le stagioni (Fatimetou & Younes 2016), ed in particolare il contributo alla dieta dei brachiuri sembrerebbe essere indipendente dalle stagioni (Navarro et al., 2013), come confermato da questo studio. Piccole fluttuazioni nell'importanza dei due gruppi principali, come ad esempio un aumento dei pesci in estate e un aumento dei crostacei in estate e in autunno sono stati osservati in uno studio sulle coste atlantiche del Marocco (Fatimetou M. K., & Younes, S., 2016). Nel presente studio sono state osservate differenze stagionali nel confronto tra individui maschili e femminili tra inverno e primavera e un aumento dell'importanza dei

pesci nella dieta estiva, subito dopo il periodo riproduttivo. Questi due dati sono in accordo con la maggiore esigenza di prede con un profilo nutrizionale migliore per le femmine che devono ristabilire le riserve energetiche (Papiol et al., 2014) dopo la deposizione delle capsule ovigere.

4.5 Cambiamento nella composizione isotopica con la taglia e la stagione

Correlando il $\delta^{15}\text{N}$ con la taglia degli esemplari è stato visto che all'aumentare della taglia *Raja asterias* si nutre di prede appartenenti a livelli trofici superiori in accordo con quanto visto in altri studi per gli elasmobranchi (Kim et al., 2012; Di Lorenzo et al., 2020). La stessa correlazione per il $\delta^{13}\text{C}$ non ha mostrato differenze significative, ad indicare che la specie si nutre sempre di organismi bentonici e probabilmente rimanendo sempre in aree vicine. I risultati delle analisi sugli adulti di *Raja asterias* hanno evidenziato una differenza significativa nei livelli isotopici a livello stagionale, tra inverno e primavera e tra autunno e inverno e nessuna differenza rispetto al sesso. I risultati delle analisi hanno confermato che *Raja asterias* è un mesopredatore (Yemiskén et al., 2017), con un livello trofico di 3.13 per i giovanili e un livello trofico di 3.56 per gli adulti. Questi valori risultano inferiori al valore di 3.91, calcolato per la stessa specie nelle acque spagnole (Navarro et al., 2013).

Mettendo a confronto questi dati con i segnali isotopici di alcune delle prede rinvenute negli stomaci, è stata riscontrata un'anomalia nel caso di *Liocarcinus sp.* Il suo segnale isotopico è simile a quello degli adulti di *Raja asterias*. Questa anomalia potrebbe indicare che gli esemplari di *Liocarcinus sp.* analizzati per il segnale isotopico erano di dimensioni maggiori rispetto a quelli predati da *Raja asterias* o che la presenza di *Liocarcinus sp.* nei contenuti stomacali non sia dovuta ad effettiva predazione ma a net feeding, ovvero all'ingestione casuale di prede nell'arco di tempo in cui l'organismo è ancora vivo nella rete, dopo essere stato catturato.

Confrontando il segnale isotopico di *Raja asterias*, delle sue prede e di altri batoidei come *Raja miraletus*, *Torpedo marmorata* e *Pteromylaeus bovinus* è stato visto che tutte le 4 specie di batoidei sono mesopredatori, con i valori più alti riscontrati per *Pteromylaeus bovinus*. Tali dati sono in accordo con quanto riportato circa l'ecologia trofica di queste specie. Mentre *P. bovinus* si nutre sia di prede bentoniche sia di organismi pelagici, come pesci ossei e cefalopodi (Capapé, 1977), *T. marmorata* si nutre prevalentemente di pesci bentonici (Gül e Demirel, 2020), e *Raja miraletus* si nutre quasi totalmente di crostacei (Follesa et al., 2008).

4.6 Posizione dei batoidei nelle reti trofiche bentoniche

Per il Mar Mediterraneo le specie bentoniche e pelagiche di batoidei hanno un livello trofico medio di 3.43 ± 0.4 (Bezerra et al., 2019). Per i nostri campioni è stato calcolato un livello trofico di 3.78 per *Pteromylaeus bovinus*, di 3.26 per *torpedo marmorata* e di 2.78 per *Raja miraletus*, con una media per i quattro batoidei di 3.35 (± 0.43). I nostri risultati sono dunque coerenti con i valori medi riportati per il Mar Catalano, con l'unica eccezione inerente il valore di *Raja miraletus*. È stata osservata una correlazione positiva tra il livello trofico e la lunghezza totale (TL), con specie di batoidei più grandi che tendono ad avere un livello trofico maggiore (>3.9) e questo spiega il valore sotto la media ottenuto da un solo esemplare di piccole dimensioni. Alcune specie di batoidei occupano livelli trofici simili a quelli di diverse famiglie di squali demersali (Ebert e Bizzarro, 2007).

5. Conclusioni

Il presente lavoro fornisce informazioni sulla dieta, il ruolo nella rete trofica e l'accrescimento di *Raja asterias* nel Mar Adriatico centrale. I risultati dell'analisi dei contenuti stomacali mostrano che la specie si nutre prevalentemente di crostacei e pesci durante tutto l'anno, con una prevalenza

di crostacei decapodi. Sono state evidenziate differenze nella dieta tra individui di sesso opposto e in base alle stagioni. È stato confermato uno shift ontogenetico nella dieta verso prede di livello trofico superiore all'aumentare della taglia.

Le analisi isotopiche hanno permesso di stabilire il livello trofico della razza stellata e la sua posizione nelle reti trofiche bentoniche, confermando il ruolo di mesopredatore, fondamentale nel mantenimento dei livelli superiori tanto quanto dei livelli inferiori dell'ecosistema marino. L'analisi dei centri vertebrali ha inoltre fornito dati sull'accrescimento della specie e ha permesso di ipotizzare l'età di prima maturità sessuale, necessaria per la determinazione di misure di gestione adeguate per la conservazione della specie.

6. Bibliografia

Abella, A. J., & Serena, F. (2005). Comparison of elasmobranch catches from research trawl surveys and commercial landings at port of Viareggio, Italy, in the last decade. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35, 345-356.

ABRUZZO, D. P. R. Linee guida e modalità di gestione della pesca nella zona di tutela biologica della Fossa di Pomo-Adriatico centrale.

Aldebert, Y. (1997). Demersal resources of the Gulf of Lions (NW Mediterranean). Impact of exploitation on fish diversity. *Vie et Milieu/Life & Environment*, 275-284.

Barausse, A., Correale, V., Curkovic, A., Finotto, L., Riginella, E., Visentin, E., & Mazzoldi, C. (2014). The role of fisheries and the environment in driving the decline of elasmobranchs in the northern Adriatic Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 71(7), 1593-1603.

Barría, C., Coll, M., & Navarro, J. (2015). Unravelling the ecological role and trophic relationships of uncommon and threatened elasmobranchs in the western Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 539, 225-240.

Bellodi, A. (2015). Applicazione delle chiavi età lunghezza allo stock assessment per l'identificazione di linee gestionali idonee alla tutela di alcuni rai di mediterranei.

Bezerra, M. F., Lacerda, L. D., & Lai, C. T. (2019). Trace metals and persistent organic pollutants contamination in batoids (Chondrichthyes: Batoidea): A systematic review. *Environmental Pollution*, 248, 684-695.

Biton-Porsmoguer, S., & Lloret, J. (2020). Potential impacts of bottom trawling on species of skates (Rajiformes: Rajidae): the case of the Gulf of Cádiz and the Western Mediterranean. *CYBIUM*, 44(3), 255-263.

Biton-Porsmoguer, S., & Lloret, J. (2020). Potential impacts of bottom trawling on species of skates (Rajiformes: Rajidae): the case of the Gulf of Cádiz and the Western Mediterranean. *CYBIUM*, 44(3), 255-263.

Bradai, M. N., Saidi, B., & Enajjar, S. (2012). Elasmobranchs of the Mediterranean and Black Sea: status, ecology and biology bibliographic analysis. Studies and Reviews-General Fisheries Commission for the Mediterranean, (91).

Campana, S. E. (2014). Age determination of elasmobranchs, with special reference to Mediterranean species: a technical manual. General Fisheries Commission for the Mediterranean. Studies and Reviews, (94), I.

Coll-Calvo, E., Barría, C., Recasens, L., & Navarro, J. (2020). Feeding ecology of a Mediterranean endemic mesopredator living in highly exploited ecosystems. *Marine environmental research*, 157, 104932.

Coll M. [et al.] Food-web changes in the Adriatic Sea over the last three decades [Journal]. - Prog. Ser.: Mar. Ecol., 2009. - Vol. 381. - pp. 17-37.

Coll, M., Navarro, J., & Palomera, I. (2013). Ecological role, fishing impact, and management options for the recovery of a Mediterranean endemic skate by means of food web models. *Biological Conservation*, 157, 108-120.

Coll, M., Steenbeek, J., Sole, J., Palomera, I., & Christensen, V. (2016). Modelling the cumulative spatial–temporal effects of environmental drivers and fishing in a NW Mediterranean marine ecosystem. *Ecological Modelling*, 331, 100-114.

Colloca, F., Enea, M., Ragonese, S., & Di Lorenzo, M. (2017). A century of fishery data documenting the collapse of smooth-hounds (*Mustelus* spp.) in the Mediterranean Sea. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(6), 1145-1155.

Colloca, F., Garofalo, G., Bitetto, I., Facchini, M. T., Grati, F., Martiradonna, A., ... & Spedicato, M. T. (2015). The seascape of demersal fish nursery areas in the North Mediterranean Sea, a first step towards the implementation of spatial planning for trawl fisheries. *PloS one*, 10(3), e0119590.

Consalvo, I., Iraci Sareri, D., Bottaro, M., Tudisco, A., Cantone, G., & Vacchi, M. (2010). Diet composition of juveniles of rough ray *Raja radula*

(Chondrichthyes: Rajidae) from the Ionian Sea. *Italian Journal of Zoology*, 77(4), 438-442.

Damalas, D., & Vassilopoulou, V. (2011). Chondrichthyan by-catch and discards in the demersal trawl fishery of the central Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *Fisheries Research*, 108(1), 142-152.

Danovaro, R. (2019). *Biologia marina: biodiversità e funzionamento degli ecosistemi marini*. UTET università, p. 183-184.

Dell'Apa, A., Kimmel, D. G., & Clò, S. (2012). Trends of fish and elasmobranch landings in Italy: associated management implications. *ICES Journal of Marine Science*, 69(6), 1045-1052.

De Ranieri, S., & Vannucci, S. *Ecologia di alcune specie di rajidae del mar ligure meridionale con particolare riferimento all'alimentazione* (2004).

Di Lorenzo, M., Vizzini, S., Signa, G., Andolina, C., Palo, G. B., Gristina, M., ... & Colloca, F. (2020). Ontogenetic trophic segregation between two threatened smooth-hound sharks in the Central Mediterranean Sea. *Scientific Reports*, 10(1), 1-15.

Ebert, D. A., & Bizzarro, J. J. (2007). Standardized diet compositions and trophic levels of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). In *Biology of Skates* (pp. 115-131). Springer, Dordrecht.

Ebert, D. A., & Cowley, P. D. (2009). Reproduction and embryonic development of the blue stingray, *Dasyatis chrysonota*, in southern African waters. *Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(4), 809.

Enrico, A., Ancona-Italy, C. I., Fabio, F., del Vallo-Italy, C. I. M., Stjepan, J. P., Split-Croatia, F., ... & Teresa, S. M. (2002) Mediterranean stock assessment: current status, problems and perspective.

Espinoza, M., Munroe, S. E., Clarke, T. M., Fisk, A. T., & Wehrtmann, I. S. (2015). Feeding ecology of common demersal elasmobranch species in the Pacific coast of Costa Rica inferred from stable isotope and stomach content analyses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 470, 12-25.

Fanelli, E., Badalamenti, F., D'anna, G., Pipitone, C., Riginella, E., & Azzurro, E. (2011). Food partitioning and diet temporal variation in two coexisting sparids, *Pagellus erythrinus* and *Pagellus acarne*. *Journal of Fish Biology*, 78(3), 869-900.

Fatimetou, M. K., & Younes, S. (2016). Diet of *Raja asterias* (Delaroche, 1809) caught along the Mediterranean part of the Moroccan coast (Northern Morocco). *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 22(2), 182-189.

- Ferrá, C., Fabi, G., Polidori, P., Tasseti, A. N., Leoni, S., Pellini, G., & Scarcella, G. (2016). Raja asterias population assessment in FAO GFCM GSA17 area. *Mediterranean Marine Science*, 17(3), 651-660.
- Ferrari, A., Tinti, F., Maresca, V. B., Velonà, A., Cannas, R., Thasitis, I., ... & Cariani, A. (2018). Natural history and molecular evolution of demersal Mediterranean sharks and skates inferred by comparative phylogeographic and demographic analyses. *PeerJ*, 6, e5560.
- Ferretti, F., Osio, G. C., Jenkins, C. J., Rosenberg, A. A., & Lotze, H. K. (2013). Long-term change in a meso-predator community in response to prolonged and heterogeneous human impact. *Scientific reports*, 3(1), 1-11.
- Follesa, M. C., Marongiu, M. F., Zupa, W., Bellodi, A., Cau, A., Cannas, R., ... & Carbonara, P. (2019). Spatial variability of Chondrichthyes in the northern Mediterranean. *Scientia Marina*, 83(S1), 81-100.
- Follesa, M. C., Mulas, A., Cabiddu, S., Porcu, C., Deiana, A. M., & Cau, A. (2008). Diet and feeding habits of two skate species, Raja brachyura and Raja miraletus (Chondrichthyes, Rajidae) in Sardinian waters (central-western Mediterranean). *Italian Journal of Zoology*, 77(1), 53-60.
- Gambardella, C. (2021) Population assessment and trophic relationships of batoids in the north Adriatic sea.

- Gül, G., & Demirel, N. (2020). Trophic interactions of uncommon batoid species in the Sea of Marmara. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 26(3).
- Haedrich, R. L., & Barnes, S. M. (1997). Changes over time of the size structure in an exploited shelf fish community. *Fisheries Research*, 31(3), 229-239.
- Hussey, N. E., Brush, J., McCarthy, I. D., & Fisk, A. T. (2010). $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ diet–tissue discrimination factors for large sharks under semi-controlled conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 155(4), 445-453.
- Hussey, N. E., MacNeil, M. A., Olin, J. A., McMeans, B. C., Kinney, M. J., Chapman, D. D., & Fisk, A. T. (2012). Stable isotopes and elasmobranchs: tissue types, methods, applications and assumptions. *Journal of Fish Biology*, 80(5), 1449-1484.
- Jardas I. [et al.] Red book of sea fishes of Croatia [Journal]. - Zagreb: Ministarstvo kulture RH, 2008. - p. 396.
- Jukic-Peladic, S., Vrgoc, N., Krstulovic-Sifner, S., Piccinetti, C., Piccinetti-Manfrin, G., Marano, G., & Ungaro, N. (2001). Long-term changes in demersal resources of the Adriatic Sea: comparison between trawl surveys carried out in 1948 and 1998. *Fisheries research*, 53(1), 95-104.

Kim, S. L., Casper, D. R., Galván-Magaña, F., Ochoa-Díaz, R., Hernández-Aguilar, S. B., & Koch, P. L. (2012). Carbon and nitrogen discrimination factors for elasmobranch soft tissues based on a long-term controlled feeding study. *Environmental Biology of Fishes*, 95(1), 37-52.

Lauria, V., Gristina, M., Attrill, M. J., Fiorentino, F., & Garofalo, G. (2015). Predictive habitat suitability models to aid conservation of elasmobranch diversity in the central Mediterranean Sea. *Scientific reports*, 5(1), 1-16.

Maravelias, C. D., Tserpes, G., Pantazi, M., & Peristeraki, P. (2012). Habitat selection and temporal abundance fluctuations of demersal cartilaginous species in the Aegean Sea (eastern Mediterranean). *PloS one*, 7(4), e35474.

Marongiu, M. F., Porcu, C., Bellodi, A., Cannas, R., Cau, A., Cuccu, D., ... & Follesa, M. C. (2017). Temporal dynamics of demersal chondrichthyan species in the central western Mediterranean Sea: The case study in Sardinia Island. *Fisheries Research*, 193, 81-94.

Meléndez, M. J., Báez, J. C., Serna-Quintero, J. M., Camiñas, J. A., Fernández, I. D. L., Real, R., & Macías, D. (2017). Historical and ecological drivers of the spatial pattern of Chondrichthyes species richness in the Mediterranean Sea. *PloS one*, 12(4), e0175699.

Mulas, A., Bellodi, A., Cau, A. L., Gastoni, A., Locci, I., & Follesa, M. C. (2011). Trophic interactions among chondrichthyans in the central-western Mediterranean Sea/interazioni trofiche tra condroitti nel mediterraneo centro-occidentale. *Biologia Marina Mediterranea*, *18*(1), 81.

Navarro, J., Coll, M., Preminger, M., & Palomera, I. (2013). Feeding ecology and trophic position of a Mediterranean endemic ray: consistency between sexes, maturity stages and seasons. *Environmental biology of fishes*, *96*(12), 1315-1328.

Oddone, M. C., & Velasco, G. (2006). Relationship between liver weight, body size and reproductive activity in *Atlantoraja cyclophora* (Elasmobranchii: Rajidae: Arhynchobatinae) in oceanic waters off Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, *1*(1), 12-16.

Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, *83*(3), 703-718.

Principato, E. (2020). Variazioni stagionali nella dieta della sogliola comune (*Solea solea*, Linnaeus 1758) nell' Adriatico centrale.

Ricci, P., Sion, L., Capezzuto, F., Cipriano, G., D'Onghia, G., Libralato, S., ... & Carlucci, R. (2021). Modelling the trophic roles of the demersal

Chondrichthyes in the Northern Ionian Sea (Central Mediterranean Sea). *Ecological Modelling*, 444, 109468.

Romanelli, M., Colasante, A., Scacco, U., Consalvo, I., Finoia, M. G., & Vacchi, M. (2007). Commercial catches, reproduction and feeding habits of *Raja asterias* (Chondrichthyes: Rajidae) in a coastal area of the Tyrrhenian Sea (Italy, Mediterranean). *Acta adriatica*, 48(1), 57.

Šantić, M., Rađa, B., & Pallaoro, A. (2012). Diet and feeding strategy of thornback ray *Raja clavata*. *Journal of fish Biology*, 81(3), 1070-1084.

Serena, F. (2005). Field identification guide to the sharks and rays of the Mediterranean and Black Sea. Food & Agriculture Org..

Serena, F., Abella, A., Baino, R., Carbonara, P., Facchini, M. T., Ferrari, A., ... & Tinti, F. (2014). Preliminary considerations of the status of elasmobranchs in the Italian waters. *Shark International: Durban, South Africa*.

Serena, F., Abella, A. J., Romano elasma, Cannas, R., Carbonara, P., Carlucci, R., Facchini, M. T., Ferrari, A., Follesa, M. C., Gancitano, V., Garibaldi, F., Garofalo, G., Giusto,GB., Lanteri, L., Mancusi, C., Manfredi, C., Mannini, A., Sartor, P., Sbrana, M., Sinacori, G., Sion, L., Tinti, F. (2018). Preliminary considerations of the status of Elasmobranchs in the Italian waters.

- Serena, F., Mancusi, C., & Barone, M. (2010). Field identification guide to the skates (Rajidae) of the Mediterranean Sea. Guidelines for data collection and analysis. *Biologia Marina Mediterranea*, 17(Suppl 2), 204.
- Sviben, S., Trkov, D., MAVRIČ, B., KRUŽIĆ, P., & Lipej, L. (2019). Observations on the diet of the Starry skate, *Raja asterias* Delaroche, 1809 (Elasmobranchii: Rajidae) in the Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 20(3), 577-584.
- Tserpes, G., Maravelias, C. D., Pantazi, M., & Peristeraki, P. (2013). Distribution of relatively rare demersal elasmobranchs in the eastern Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 117, 48-53.
- Valls, M., Quetglas, A., Ordines, F., & Moranta, J. (2011). Feeding ecology of demersal elasmobranchs from the shelf and slope off the Balearic Sea (western Mediterranean). *Scientia Marina*, 75(4), 633-639.
- Valsecchi, E., Vacchi, M., & Di Sciara, G. N. (2005). Characterization of a new molecular marker for investigating skate population genetics: analysis of three Mediterranean skate species (genus *Raja*) of commercial interest as a test case. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35.
- Wetherbee, B. M., Cortés, E., & Bizzarro, J. J. (2004). Food consumption and feeding habits. *Biology of Sharks and their Relatives*, 225-246.

Yemişken, E., Forero, M. G., Megalofonou, P., Eryilmaz, L., & Navarro, J. (2018). Feeding habits of three Batoids in the Levantine Sea (north-eastern Mediterranean Sea) based on stomach content and isotopic data. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 98(1), 89-96.

7. Sitografia

www.aphotomarine.com

www.fao.org

www.fishbase.in

www.isprambiente.gov.it

www.marinespecies.org

www.politicheagricole.it

www.ucl.ac

8. Annex 1

Lista dei taxa trovati nel contenuto stomacale di *Raja asterias* divisi per stagione. I valori sono: peso (%W), abbondanza (%N), frequenza (%F) e indice di abbondanza relativa (%IRI).

| | Inverno | | Primavera | | Estate | | Autunno | |
|---------------------------------|---------|-------|-----------|-------|--------|-------|---------|-------|
| | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI |
| MOLLUSCA | | | | | | | | |
| Bivalvia | | | | | | | | |
| <i>Nucula sp.</i> | <0.01 | <0.01 | 0.04 | 0.08 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Bivalvia | <0.01 | <0.01 | 0.01 | 0.08 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.03 |
| Gastropoda | | | | | | | | |
| <i>Turritella sp.</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.01 | 0.13 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Gastropoda | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.08 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Cephalopoda | | | | | | | | |
| <i>Alloteuthis sp.</i> | 0.74 | 0.51 | 1.01 | 0.50 | <0.01 | <0.01 | 1.15 | 1.04 |
| <i>Sepia orbignyana</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 2.14 | 0.11 |
| Sepiolidae | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Sepiida | 0.89 | 0.04 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.04 | 0.03 |
| Teuthida | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 5.06 | 0.67 | <0.01 | <0.01 |
| Total Mollusca | 1.63 | 0.55 | 1.06 | 0.75 | 5.07 | 0.80 | 3.32 | 1.21 |
| CRUSTACEA | | | | | | | | |
| Decapoda | | | | | | | | |
| <i>Liocarcinus depurator</i> | <0.01 | <0.01 | 26.08 | 23.83 | 16.11 | 10.56 | 8.31 | 6.36 |
| <i>Liocarcinus vernalis</i> | <0.01 | <0.01 | 3.72 | 0.50 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Liocarcinus sp.</i> | 56.17 | 78.98 | 25.34 | 21.97 | 15.91 | 33.06 | 35.65 | 77.33 |
| <i>Goneplax rhomboides</i> | 6.91 | 6.56 | 6.59 | 32.28 | 14.70 | 33.08 | 6.79 | 5.98 |
| <i>Medorippe sp.</i> | 4.73 | 1.54 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 13.51 | 2.39 |
| <i>Alpheus glaber</i> | 0.12 | 0.10 | 0.16 | 0.51 | 0.26 | 0.16 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Parapenaeus longirostris</i> | <0.01 | <0.01 | 4.72 | 2.25 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Squilla mantis</i> | 0.16 | 0.02 | <0.01 | <0.01 | 2.47 | 1.05 | <0.01 | 0.03 |
| <i>Nephros norvegicus</i> | <0.01 | <0.01 | 13.78 | 1.33 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

(continua alla pagina successiva)

Annex 1 (continua)

| | Inverno | | Primavera | | Estate | | Autunno | |
|-------------------------------|---------|-------|-----------|-------|--------|-------|---------|-------|
| | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI |
| <i>Upogebia pusilla</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 3.10 | 0.46 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Pagurus sp.</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.67 | 0.67 | <0.01 | <0.01 |
| Galatheididae | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.08 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Gambero | 0.41 | 0.09 | <0.01 | <0.01 | 0.24 | 0.16 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Gamberetto | 0.33 | 0.12 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.71 | 1.36 |
| Unid. Brachyura | <0.01 | <0.01 | 1.41 | 0.58 | 2.22 | 3.05 | 0.48 | 0.05 |
| Unid. Decapoda Natantia | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.08 | 0.19 | 0.57 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Decapoda | 0.06 | 0.15 | 0.81 | 0.63 | 2.24 | 1.27 | 0.11 | 0.03 |
| Amphipoda | | | | | | | | |
| <i>Leucothoe serraticarpa</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.05 | 0.27 | <0.01 | <0.01 |
| Lophogastrida | | | | | | | | |
| <i>Lophogaster typicus</i> | <0.01 | <0.01 | 0.09 | 0.09 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Crustacea | <0.01 | <0.01 | 0.02 | 0.08 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Total Crustacea | 68.89 | 87.56 | 82.73 | 84.20 | 58.17 | 84.37 | 66.56 | 93.54 |
| VERTEBRATA | | | | | | | | |
| Osteichthyes | | | | | | | | |
| <i>Lesueurigobius sueri</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.72 | 0.32 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Lesueurigobius sp.</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.53 | 0.85 | 0.53 | 0.05 |
| Gobidae | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 5.98 | 1.80 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Solea solea</i> | 0.27 | 0.02 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.33 | 0.04 |
| Soleidae | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.26 | 0.27 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Merluccius merluccius</i> | <0.01 | <0.01 | 0.40 | 0.12 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Spicara smaris</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 7.58 | 3.61 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Cepola macrophthalma</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.95 | 0.34 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Scorpaena notata</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.05 | 0.03 |
| <i>Microchirus variegatus</i> | 0.01 | 0.02 | 1.90 | 0.33 | 0.01 | 0.13 | <0.01 | <0.01 |
| <i>Sardina pilchardus</i> | 18.09 | 10.15 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 9.99 | 2.35 |
| <i>Engraulis encrasicolus</i> | 2.58 | 0.61 | 2.35 | 0.75 | <0.01 | <0.01 | 3.19 | 0.40 |
| <i>Mullus barbatus</i> | 7.89 | 0.80 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 13.45 | 1.15 |
| <i>Lepidotrigla sp.</i> | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 1.80 | 0.32 | <0.01 | <0.01 |
| Callyonimidae | <0.01 | <0.01 | 1.85 | 0.25 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Unid. Osteichthyes | 0.26 | 0.08 | 7.24 | 8.28 | 12.06 | 3.36 | 2.58 | 1.16 |
| Total Osteichthyes | 29.09 | 11.68 | 13.74 | 9.73 | 33.89 | 11.01 | 30.11 | 5.17 |

(continua alla pagina successiva)

Annex 1 (continua)

| | Inverno | | Primavera | | Estate | | Autunno | |
|---------------------|---------|------|-----------|------|--------|------|---------|-------|
| | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI | %W | %IRI |
| Others | | | | | | | | |
| Parassiti | 0.01 | 0.13 | 0.13 | 4.50 | 0.01 | 0.53 | <0.01 | 0.06 |
| Sand | 0.38 | 0.09 | 2.29 | 0.74 | 2.68 | 2.04 | <0.01 | <0.01 |
| Vegetal rests | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.08 | 0.18 | 1.24 | <0.01 | 0.03 |
| Total Others | 0.39 | 0.21 | 2.47 | 5.32 | 2.88 | 3.82 | <0.01 | 0.08 |