



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

Corso di Laurea Magistrale in
BIOLOGIA MARINA

**PROTOCOOPERAZIONE TRA POLIPI DI *AURELIA COERULEA*:
SUCCESSO DI PREDAZIONE E VALUTAZIONE DEI TASSI DI CRESCITA**

**PROTOCOOPERATION BETWEEN *AURELIA COERULEA* POLYPS:
PREDATION SUCCESS AND GROWTH RATES ASSESSMENT**

Candidato
DANIELA SPANO

Relatore Chiar.ma Prof.ssa:
STEFANIA PUCE

Sessione estiva

Anno Accademico 2021/2022

Sommario

1. INTRODUZIONE	4
1.1 Vita di gruppo tra metazoi: formazione di aggregazioni.....	4
1.1.1 Tipi di aggregazione	6
1.1.2 Benefici e costi dell'aggregazione.....	7
1.1.3 Esempi di aggregazioni in ambiente marino.....	9
1.2.2 Cooperazione e competizione	11
1.2.3 Protocooperazione	16
1.3 Organismi coinvolti nello studio.....	22
1.3.1 <i>Aurelia coerulea</i> von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria, Scyphozoa) ...	22
1.3.1.1 Filogenesi e ciclo vitale	23
1.3.1.2 Ecologia e distribuzione	31
1.3.2 <i>Syllis prolifera</i> (Annelida, Polychaeta).....	34
1.3.3 <i>Artemia salina</i> (Arthropoda, Crustacea)	36
1.4 OBIETTIVI	38
2. MATERIALI E METODI.....	41
2.1 Mantenimento degli organismi.....	41
2.1.1 Polipi di <i>Aurelia coerulea</i>	41
2.1.2 <i>Artemia salina</i>	41
2.1.3 <i>Syllis prolifera</i>	42

2.2 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di <i>A. coerulea</i> sottoposti a tre regimi alimentari diversi	43
2.2.1 Preparazione dell'esperimento	44
2.2.2 Esperimento.....	47
2.3 Valutazione del successo di predazione tramite proto cooperazione tra polipi di <i>A. coerulea</i> per la cattura della preda di grandi dimensioni	51
3. RISULTATI.....	58
3.1 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di <i>Aurelia coerulea</i> sottoposti a tre regimi di dieta	58
3.1.1 Dieta “Artemia” – a base di <i>Artemia salina</i>	58
3.1.2 Dieta “Syllis” – a base di <i>Syllis prolifera</i>.....	62
3.1.3 Dieta “Mix” – a base di <i>Artemia salina</i> e <i>Syllis prolifera</i>.....	70
3.1.4 Confronto del tasso di riproduzione, della crescita individuale e del livello di aggregazione dei polipi tra diete.....	75
3.2 Successo di predazione tramite proto cooperazione tra polipi di <i>Aurelia coerulea</i> per la cattura della preda di grosse dimensioni	83
4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	88
4.1 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di <i>Aurelia coerulea</i> sottoposti a tre regimi di dieta differenti.....	88
4.1.2 Conclusioni e prospettive future	98

4.2 Successo di predazione tramite proto cooperazione tra polipi di	
<i>Aurelia coerulea</i> per la cattura della preda di grandi dimensioni	100
5. BIBLIOGRAFIA.....	105

1. INTRODUZIONE

1.1 Vita di gruppo tra metazoi: formazione di aggregazioni

La formazione di aggregazioni di metazoi è un fenomeno che interessa organismi appartenenti a tutti i taxa e classi dimensionali, fino ad animali di grandi dimensioni, come i cetacei marini (Parrish & Edelstein-Keshet 1999). Le aggregazioni possono riguardare anche animali che trascorrono la maggior parte del loro tempo da soli e che, ad un certo punto della loro vita si impegnano in interazioni sociali o si uniscono ad un gruppo, ad esempio, allo scopo di accoppiarsi, durante le cure parentali o quando una grande fonte di cibo attira molti conspecifici (Majolo & Huang, 2018). In diverse specie animali la formazione di gruppi dipende dallo stato fisiologico, che può essere controllato da fattori interni, come la maturazione dei gameti (Claro & Lindeman 2003; Fan et al., 2005) o da fattori esterni, come luce, cibo, fasi lunari e temperatura dell'acqua (Colin, 1992; Parrish & Edelstein-Keshet, 1999, Okuyama & Yamaguchi, 2022). Tuttavia, più comunemente questi fattori sono strettamente combinati: si può citare il caso della cernia striata bianca, *Epinephelus ongus* (Bloch, 1790), che forma aggregazioni riproduttive stagionali (Allee, 1927; Okuyama & Yamaguchi, 2022; Rubio-Rodríguez et al., 2017). Tuttavia, le aggregazioni possono verificarsi in qualsiasi momento dell'anno e non essere solo limitate a fenomeni di accoppiamento, ibernazione o estivazione (Allee, 1931).

Per comprendere meglio la formazione di aggregazioni nel mondo animale è importante capire il motivo che spinge gli individui a formare dei gruppi. Dal momento che la fitness di un animale, cioè la misura del suo contributo genetico trasmesso alla generazione successiva (Aloccock, 2001), dipende dalla capacità di alimentarsi, riprodursi, difendersi o proteggersi da fattori biotici e abiotici dannosi (ad esempio predatori, parassiti e condizioni climatiche avverse) (Whitehouse & Lubin, 2005), secondo gli autori Majolo et al., (2018), tre differenti categorie di pressioni ecologiche determinano l'evoluzione della vita sociale: i) foraggiamento (e accesso ad altre risorse come acqua o riparo), ii) difesa dai predatori e iii) maggiori possibilità di accoppiamento.

- I. Foraggiamento: la formazione di aggregazioni o l'aumento del numero di individui che ne fanno parte consente ai membri del gruppo di accedere e/o difendere efficacemente le risorse trofiche (Packer & Ruttan 1988; Shen et al., 2017);
- II. Difesa dai predatori: animali che vivono in gruppo hanno maggiore probabilità di evitare la predazione;
- III. Accoppiamento: l'aggregazione aumenta la probabilità di trovare un compagno, aumentando la possibilità di trasmettere il proprio genotipo alla generazione successiva.

1.1.1 Tipi di aggregazione

Originariamente, le aggregazioni che si osservano nel mondo animale furono suddivise da Allee (1927) in due differenti categorie, basate sui tipi di contatto tra individui.

- I. Le aggregazioni che implicano contatto fisico hanno necessariamente un carattere transitorio negli organismi mobili, mentre negli animali sessili, come le ascidie o i mitili, possono rappresentare il normale stile di vita; questo tipo di aggregazione trova la sua espressione più completa negli organismi coloniali sessili, in cui molti individui fisicamente connessi tra loro crescono strettamente raggruppati per tutta la loro vita; esempi tra gli cnidari sono gli idroidi del genere *Obelia*, che rappresentano questa forma di crescita (Allee 1927), così come alcune specie di Antozoi (*Astroides calycularis* (Pallas, 1766), *Parazoanthus axinellae* (Schmidt, 1862), *Cladocora caespitosa* (Linnaeus, 1767), *Tubastrea micranthus* (Ehrenberg, 1834), che formano numerose colonie (Müller & Leitz 2002); nei gruppi in cui manca il carattere sociale, le aggregazioni con contatto fisico sono le uniche possibili (Whitehouse & Lubin, 2005; Fitzgerald & Ives, 2017).

Gli organismi appartenenti allo zooplancton gelatinoso come *Lychnorhiza lucerna* Haeckel, 1880 (Scyphozoa), *Iasis zonaria* (Pallas, 1774) (Salpidae), *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 (Ctenophora) e *Aequorea sp.* (Hydrozoa) costituiscono un esempio di aggregazioni in cui

si verifica solo contatto fisico. Questi organismi sono soggetti ad aumenti periodici della densità della popolazione, collegati alla stagionalità e alle variazioni di fattori ambientali. Tali aumenti di numerosità sono definiti “blooms”, o fioriture, caratterizzate da elevate concentrazioni di biomassa che possono occupare aree molto estese (Colombo et al. 2003).

II. Le aggregazioni che non implicano contatto fisico possono essere costanti e normali per alcune specie; e sono particolarmente conosciute negli insetti, come le formiche e le termiti, e nei vertebrati (Allee 1927). Questo tipo di aggregazioni sono talvolta contraddistinte dalla socialità tra gli individui (Whitehouse & Lubin, 2005; Fitzgerald & Ives, 2017).

1.1.2 Benefici e costi dell’aggregazione

Sia nelle aggregazioni sociali che in quelle non sociali possono esserci dei benefici per i membri del gruppo in termini di fitness, come una maggiore vigilanza comunitaria sui predatori (Parrish & Edelstein-Keshet, 1999; Fitzgerald & Ives, 2017). Ad esempio, la presenza di molti organi di rilevamento (principalmente visivi o legati ai meccanocettori) che agiscono in serie per la localizzazione di possibili minacce, rende difficili i tentativi del predatore di avvicinarsi al gruppo senza essere notati (Rubio-Rodríguez et al., 2017).

La diminuzione del rischio di predazione è un altro importante vantaggio e può verificarsi, ad esempio, attraverso l’effetto confusione (incapacità dei predatori di concentrarsi visivamente su di un obiettivo tra molti, Parrish &

Edelstein-Keshet, 1999; Fitzgerald & Ives, 2017). I teleostei, ad esempio, quando si riuniscono in gruppi generano confusione visiva agli occhi del predatore grazie alle diverse tonalità di grigio del loro corpo, in questo modo riescono a fuggire più facilmente evitando di essere catturati (Rubio-Rodríguez et al, 2017).

Oltre a questi benefici, la vita di gruppo ne offre ancora molteplici (Krause et al., 2002):

- I. maggiore sopravvivenza della prole, attraverso le cure parentali e alloparentali (Fitzgerald & Ives, 2017), ovvero la cura della prole da parte di altri individui oltre ai genitori (Wisenden, 1999);
- II. condivisione di informazioni utili per i membri del gruppo (ad esempio circa la posizione del predatore o la presenza di cibo);
- III. termoregolazione (la stretta vicinanza tra gli individui potrebbe permettere loro di resistere a condizioni ambientali avverse);
- IV. maggiore probabilità di vincere nella competizione con individui della stessa specie o di specie diverse.

D'altra parte, i costi possono insorgere principalmente dalla competizione per risorse limitate. In individui a stretto contatto vi è un'elevata probabilità di insorgenza di infezioni parassitarie (Krause et al., 2002; Kutsukake, 2009), che possono alterare negativamente il comportamento dei membri del gruppo e aumentarne la suscettibilità in presenza di predatori (Rubio-Rodríguez et al., 2017), oltre ad aumentare la trasmissione di malattie (Krause et al. 2002; Kutsukake, 2009).

In sintesi, affinché le aggregazioni siano vantaggiose, i benefici (in termini di fitness) che gli individui ottengono vivendo in un gruppo devono essere maggiori dei costi (Buss, 1981; Whitehouse & Lubin, 2005).

1.1.3 Esempi di aggregazioni in ambiente marino

In ambiente marino sono noti numerosi esempi di aggregazioni soprattutto tra i vertebrati. Tra questi possiamo ricordare il caso di *Stenella longirostris* (Gray, 1828) in cui si osserva un elevato livello di coordinamento nel nuoto, con conseguenti benefici per tutti i membri del gruppo, ad esempio durante il foraggiamento; questi gruppi probabilmente si formano come risposta alla difesa dei predatori (es. orche) (Norris & Schilt, 1988), e variano notevolmente in dimensioni, da pochi delfini a un migliaio o più (Perrin, 2009).

Anche nelle orche l'organizzazione sociale si basa sulla formazione di grandi gruppi, che sono composti da individui di età e sesso differenti, dove in genere è presente una femmina adulta e uno o due discendenti; in questi animali, il legame madre-figlio rimane forte fino all'età adulta (Baird, R. W., & Whitehead, H. 2000). Nei banchi formati dalle aringhe *Clupea harengus* Linnaeus, 1758 lo spostamento nella forma di banco non solo rende più facile per i pesci trovare rotte migratorie ideali, ma ne aumenta anche la precisione (Rubio-Rodríguez et al., 2017).



Figura 1.1: Banco di aringhe (Clupea arengus Linnaeus, 1758). Fonte: De Agostini Picture Library.

Anche tra gli invertebrati possiamo trovare alcuni esempi: quello più noto riguarda il krill antartico (*Euphausia superba* Dana, 1850), le cui aggregazioni, in termini di numero e biomassa, concorrono o superano quelle di qualsiasi altro animale sulla terra. È stato stimato che queste aggregazioni presentino densità che possono raggiungere i 1000 individui /m³ ed estensioni orizzontali fino a 1000 metri. Questo comportamento aggregativo è importante per molti aspetti della biologia e dell'ecologia del krill, come l'alimentazione, la riproduzione, e l'allontanamento dai predatori (Cox et al., 2011).



Figura 1.2: Krill antartico. Fonte: Aker Biomarine.

Tra gli organismi appartenenti al Phylum Cnidaria, sono spesso descritte le formazioni di aggregazioni in specie solitarie. Nei fiordi cileni meridionali, ad esempio, si possono osservare grandi aggregazioni della sclerattinia *Desmophyllum dianthus* (Esper, 1794), che raggiungono una densità massima di popolazione di oltre 1500 esemplari/m² (Försterra & Häussermann, 2003).

1.2.2 Cooperazione e competizione

Cooperazione:

Originariamente, la cooperazione fu definita come "uno stato ecologico dinamico di organismi che vivono in aggregazione, caratterizzati da un vantaggio reciproco, sufficiente a superare gli svantaggi associati all' affollamento" (Webster's Collegiate 7th Ed.) e fu utilizzata in questo senso dall'ecologo

americano Warder C. Allee agli inizi del 1900 (Buss, 1981). Questa definizione fu rivista dagli autori Sachs et al. (2004), che indicarono la cooperazione come un'interazione che può essere sia vantaggiosa per entrambi gli individui coinvolti, sia costosa per l'individuo che esegue il comportamento cooperativo e vantaggiosa per quello che lo riceve. Secondo questa definizione, il cooperatore paga un costo affinché un altro individuo riceva un beneficio (Nowak, M. A. 2006), che risulta essere direttamente collegato al grado di parentela tra gli individui coinvolti (Clutton-Brock, 2009).

In generale, la cooperazione animale è spiegata dalla teoria di Hamilton (1963-1964) della “fitness inclusiva”, che, come detto precedentemente rappresenta il contributo genetico totale di un individuo alla generazione successiva e si compone di fitness diretta e indiretta:

- I. Fitness diretta: i geni sono trasmessi da un individuo alla generazione successiva per mezzo della riproduzione personale;
- II. Fitness indiretta: i geni sono trasmessi indirettamente da un individuo alla generazione successiva per mezzo dell'assistenza offerta a parenti non discendenti diretti (Alocock, 2001; Clutton-Brock, 2009).

La cooperazione può essere sia intra- che interspecifica, ed in particolare può favorire maggiormente individui conspecifici imparentati tra loro e che condividono una grande porzione di alleli, dove il comportamento avvantaggia il ricevente, ma è costoso per l'attore (Axelrod & Hamilton, 1981); tuttavia, oltre a questo tipo di cooperazione altruistica, si può osservare anche la cooperazione tra

individui non imparentati, che risulta però avvenire raramente (Clutton-Brock, 2009; Barta et al., 2011). Questo potrebbe essere dovuto al fatto che anche il comportamento cooperativo sia un carattere trasmesso da una generazione all'altra (Kasper et al., 2017).

Competizione:

La competizione è definita come un'interazione negativa tra due o più specie che utilizzano una stessa risorsa, che risulta essere limitata (Connell et al., 2004; Byers, 2009). Si osservano generalmente due tipi di competizione tra specie:

- I. la competizione per interferenza si verifica quando due o più organismi si contendono direttamente le risorse attuando, ad esempio, comportamenti ostili ed aggressivi;
- II. la competizione per sfruttamento si verifica quando un organismo compete indirettamente con altri organismi per le risorse, sfruttando quest'ultime per limitarne la disponibilità ai competitori.

Nelle comunità bentoniche marine di substrato duro, la risorsa più limitante è rappresentata dallo spazio (Rossi & Snyder, 2001; Svensson & Marshall, 2015); poriferi, cnidari, tunicati, ed altri taxa caratterizzati da una vita bentonica sessile sono spesso distribuiti in chiazze ("patches"), che si pensa si siano evolute proprio in risposta ad un'intensa competizione per lo spazio (Rossi & Snyder, 2001). Studi rivolti agli organismi marini bentonici pongono

particolare attenzione al ruolo della competizione per interferenza (Ferguson et al., 2013). Ad esempio, nelle scogliere coralline la competizione ha un forte impatto sulla biodiversità e sulla composizione delle comunità. Per i coralli costruttori lo spazio rappresenta una risorsa indispensabile per l'insediamento delle larve (Chadwick & Morrow, 2011). Diversi studi hanno documentato una serie di meccanismi difensivi e aggressivi che si verificano tra gli cnidari (Lapid et al., 2004, Pedersen et al., 2019; Sampayo et al., 2020), ma anche nelle interazioni con altri organismi sessili che si trovano nelle vicinanze, come alghe e spugne (Chadwick, & Morrow, 2011; Clements et al., 2018, 2020; Olinger et al., 2021). In particolare, le sclerattinie hanno evoluto una serie di meccanismi per indebolire i loro vicini e liberare spazio per un'ulteriore crescita della colonia, ad esempio con lo sviluppo di “sweeper tentacles” e “sweeper polyps”, cioè tentacoli e polipi allungati che servono da sentinella e da difesa diretta contro i competitori, o ancora la digestione extracelenterica, in cui i filamenti mesenterici normalmente utilizzati per l'alimentazione fungono da organi aggressivi e digeriscono i tessuti dei coralli adiacenti (Peach & Hoegh-Guldberg, 1999; Lapid et al., 2004; Chadwick & Morrow, 2011). Anche le alghe, maggiori competitori della fauna bentonica sessile, hanno evoluto diverse strategie per ottenere una più elevata disponibilità di substrato, come la produzione di composti allelopatici o l'invasione basale da parte del tallo, che influenzano negativamente la crescita degli organismi nelle vicinanze (River & Edmunds, 2001; Chadwick &

Morrow, 2011; Clements et al., 2018, 2020). Queste strategie possono causare il passaggio da una comunità a dominanza coralligena ad una a dominanza macroalgale, in cui si registra un aumento nella presenza di tunicati e coralli morti, con conseguente impatto a livello ecosistemico (Bruno et al., 2009).

Altri esempi di competizione interspecifica si osservano nei poriferi, che in seguito alla loro capacità di incrostare e perforare il substrato carbonatico, costituiscono dei competitori particolarmente distruttivi nei confronti di madrepora e coralli ramificati; ad esempio, la spugna incrostante *Diplastrella gardineri* Topsent, 1918 ricopre rapidamente i tessuti di alcuni coralli ramificati nel Mar Rosso Settentrionale (Chadwick, & Morrow, 2011).

Oltre allo spazio, anche la carenza di cibo può diventare un fattore limitante, in quanto gli organismi adesi al substrato non possono spostarsi liberamente alla ricerca di zone più ricche di risorse (Svenson & Marshall, 2015). Un esempio di competizione alimentare avviene nei substrati a fondo molle (Mar Baltico), dove l'invasione da parte del polichete *Marenzelleria viridis* (Verrill, 1873) ha comportato una riduzione della popolazione dell'anfipode *Monoporeia affinis* (Lindström, 1855) a causa del massivo consumo delle stesse risorse alimentari (Kotta & Olafsson, 2003). Buss (1979) riporta competizione alimentare nei brizoi incrostanti *Onychocella alula* (Hastings) e *Antropora tinctoria* (Hastings), in cui i lofofori più grandi della prima specie hanno maggiore successo di cattura delle particelle organiche rispetto alla seconda, che presenta lofofori ridotti in dimensioni, causandone una diminuzione del tasso di

alimentazione. Esiste dunque una forte relazione tra la competizione per lo spazio e quella per il cibo, che spesso risultano essere interdipendenti (Fréchette et al., 1992). Un approfondito studio sperimentale ha dimostrato che i bivalvi della specie *Mytilus edulis* Linneaus, 1758 presentavano una minore crescita se sottoposti a poveri regimi alimentari, e gli individui con una taglia minore densamente aggregati erano soggetti a forte stress competitivo, mostrando un tasso di mortalità più alto rispetto ai bivalvi più grandi (Fréchette et al., 1992). Nella comunità coralligena del mare caraibico, in cui diverse specie condividono lo spazio, Porter (1976) indica una correlazione tra la taglia della preda e il diametro orale dei polipi, favorendo le specie che hanno un diametro maggiore e, quindi, una maggiore efficienza alimentare (Porter, 1976).

1.2.3 Protocooperazione

Un'ulteriore relazione tra individui che rientra nelle interazioni cooperative è la protocooperazione. Il fenomeno della protocooperazione può essere descritto come un comportamento facoltativo mutualistico non mediato da processi cognitivi (Allaby, 1998; Musco et al., 2018), dove organismi strettamente associati cooperano per ottenere dei vantaggi. Questo fenomeno è molto studiato soprattutto nei batteri (Driessen et al., 1982; James, 1995), in particolare tra i batteri *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (Goin, 2010; Sasaki, 2015; Yamauchi et al., 2019), che, insieme, sono capaci di metabolizzare

attivamente il lattosio in acido lattico favorendo la fermentazione in tempi molto rapidi (3-4 ore; De Felip, 2001). Sebbene la proto cooperazione sia molto diffusa tra microrganismi, questo comportamento può essere osservato anche in artropodi, uccelli, pesci e mammiferi (Herbert-Read et al., 2016). Vi sono alcuni noti esempi di proto cooperazione tra gli uccelli e altri vertebrati. L'indicatore golanera (*Indicator indicator*, Sparrman, 1777) conduce il tasso del miele (*Mellivora capensis*, Schreber, 1776) all'alveare per ricavarne, dalla sua azione, la cera prodotta dalle api, che da solo non riuscirebbe a procurarsi, e ricompensa il tasso lasciandogli il miele; il guardiano dei coccodrilli (*Pluvianus aegyptius*, Linnaeus, 1758) raccoglie sanguisughe e piccoli pezzi di cibo dalle bocche aperte di questi rettili; il piccolo fringuello di terra (*Geospiza fuliginosa*, Gould 1837) rimuove le zecche dalla pelle dell'iguana marina (*Amblyrynchus cristatus*, Bell, 1825);. Due specie di picchi africani (*Buphagus spp.*) si associano abitualmente alle mandrie di grandi animali da pascolo per ricavare dalla loro pelle gli ectoparassiti, costituenti di una parte importante della loro dieta (Isenhardt & Desante, 1985). Nei tre casi sopracitati, in cui si verifica proto cooperazione interspecifica, il vantaggio per la specie ricevente è il mantenimento della pulizia da parassiti e altri microrganismi eventualmente dannosi.

Il fenomeno della proto cooperazione però non è del tutto chiaro, in quanto vi è una sottile linea tra questo tipo di interazione ed il commensalismo; ad esempio, l'airone guardabuoi (*Bubulcus ibis*, Linnaeus, 1758), i cowbirds (*Molothrus spp.*), e occasionalmente altre specie di uccelli utilizzano il dorso dei

bovini o di altri grandi pascolatori come piazzola mobile di osservazione, dalle quali si tuffano al suolo per catturare gli insetti messi in fuga dai movimenti delle loro cavalcature. Non è chiaro però, se i cowbirds o gli aironi catturino gli insetti dagli animali stessi. Questo comportamento è, quindi, generalmente considerato un esempio di commensalismo più che di proto cooperazione (Isenhardt & Desante, 1985).

Recentemente, alcuni autori hanno ipotizzato che la proto cooperazione sia una strategia non volontaria messa in atto da alcune specie di cnidari bentonici, sia coloniali sia solitari in popolazioni molto dense, con la conseguenza di catturare, bloccare e predare collettivamente organismi molto più grandi della dimensione del loro diametro orale (Musco et al., 2018; ter Horst and Hoeksema, 2021, Gregorin et al., 2022). Questo comportamento è stato osservato nell'antozoo endemico del Mar Mediterraneo *Astroides calycularis* (Pallas, 1766), in cui diversi polipi collaborano nella cattura di individui della specie di medusa *Pelagia noctiluca* (Forsskål, 1775), superiori in dimensione di circa 10-12 volte rispetto al singolo polipo (Fig. 1.3).



Figura 1.3 Cattura di *Pelagia noctiluca* da parte di *Astroides calycularis* (Musco et al., 2018)

Sempre nel Mar Mediterraneo, tra i 3 e i 15 metri di profondità, è stata osservata una cattura collaborativa di *P. noctiluca* da parte di due esacoralli: *Parazoanthus axinellae* (Schmidt, 1862) e *Cladocora caespitosa* (Linnaeus, 1767), anch'essa specie endemica (Gregorin, osservazioni personali); Gregorin et al., (2022) hanno descritto la predazione collettiva della medusa *Aequorea* spp. da parte dei polipi del corallo azooxantellato *Tubastraea* cf. *micranthus* (Ehrenberg, 1834), nel Golfo di Suez, in Mar Rosso. Oltre alle meduse della classe Scyphozoa, anche le salpe (Tunicata, Thaliacea) possono rappresentare delle prede per coralli coloniali, come riportato da ter Horst e Hoeksema (2021). Un fattore che sembra influire sulla proto-cooperazione è la vicinanza tra gli individui: in particolare, la possibilità di catturare una preda potrebbe essere favorita dallo stretto contatto tra polipi conspecifici, che, in tal modo, potrebbero

condividere non solo la preda stessa, ma anche i costi di cattura. Questo può spiegare il fatto che il fenomeno in ambiente naturale sia stato osservato maggiormente in specie coloniali, dove, a causa della struttura della colonia, i polipi sono a stretto contatto tra loro. Tuttavia, anche polipi appartenenti a colonie diverse, ma vicine nello spazio, sono stati osservati durante questo tipo di collaborazione (Musco et al., 2018). Un altro fattore che può influire sulla proto-cooperazione è il numero dei polipi coinvolti nella cattura; è stato, infatti, ipotizzato che più polipi coinvolti aumentino il successo della predazione, condividendo i costi di cattura, ma anche la conseguente suddivisione della preda catturata. È stato osservato che polipi inizialmente coinvolti possono abbandonare l'azione e, viceversa, polipi che non partecipano inizialmente, si possono unire in seguito per approfittare della risorsa catturata (Gregorin et al. 2022).

Molte specie di antozoi sono unicamente eterotrofe, non presentando zooxantelle simbiotiche, e per nutrirsi catturano particelle di materia organica nella colonna d'acqua con i loro tentacoli, da batteri a prede più grandi come micro- e mesozooplankton (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009; Hoeksema & Waheed, 2012). Tuttavia, ancora poche informazioni sono disponibili sul ruolo che il macro- megazooplankton gelatinoso riveste nella loro dieta. Il trofismo delle diverse specie potrebbe influire sulla proto-cooperazione, in quanto specie autotrofe potrebbero ottenere nutrienti a sufficienza tramite simbiosi ed essere quindi meno incoraggiate ad intraprendere uno sforzo, sebbene condiviso, per la

cattura di una preda di grandi dimensioni. È stato osservato che alcune prede possono essere totalmente ingerite oppure solo parzialmente consumate e poi rigettate, con vari livelli di degradazione del tessuto (Mehrotra et al., 2019). Inoltre, la condivisione della cattura di una preda di grandi dimensioni potrebbe portare di conseguenza ad un aumento del successo riproduttivo e della crescita individuale di colonie e individui singoli, con benefici in termini di fitness. Tuttavia, questo comportamento implica anche dei costi, che si traducono molto spesso in dispendio energetico per quegli organismi che inizialmente cooperano tra loro durante la cattura della preda, ma nel momento in cui la cattura è avvenuta, si trasformano in competitori attivi per cercare di assicurarsi quanto più cibo possibile. Pertanto, la proto-cooperazione riguarda la fase cooperativa iniziale, che ha il fine di portare a termine con successo la cattura della preda, a cui fa seguito una fase successiva competitiva, in cui i polipi si dividono la preda catturata. La durata di queste due fasi può essere molto diversa, la prima nell'ordine dei minuti, la seconda fino a qualche ora (Gregorin et al., 2022). Si può quindi ipotizzare che la strategia proto-cooperativa per la predazione di organismi di grandi dimensioni sia tanto più vantaggiosa quanto meno sia intensa la fase competitiva successiva, basandosi dunque su un equilibrio tra cooperazione e competizione.

1.3 Organismi coinvolti nello studio

Le specie oggetto della tesi sono:

- I. *Aurelia coerulea* von Lendenfeld, 1884: organismo modello, scelto per studiare il comportamento alimentare al livello del suo stadio bentonico sessile;
- II. *Syllis prolifera* Krohn, 1852: organismo scelto come preda di grandi dimensioni per i polipi di *A. coerulea*;
- III. *Artemia salina* (Linnaeus, 1758): organismo scelto come preda di piccole dimensioni.

1.3.1 *Aurelia coerulea* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria, Scyphozoa)

La specie *Aurelia coerulea* appartiene al phylum Cnidaria e alla classe Scyphozoa. Questo phylum include più di 9000 specie che vivono in ambienti acquatici, prevalentemente marini. Uno degli aspetti più interessanti di questo phylum è il dimorfismo. Tutti gli cnidari possono essere ricondotti a uno dei due tipi morfologici: il polipo, di solito adattato a una vita sessile o sedentaria, e la medusa planctonica (Cleveland, 2011). Gli cnidari hanno un'unica apertura che funge sia da bocca che da ano ed è generalmente circondata da tentacoli, che portano cnidocisti; la sinapomorfia di questo phylum, infatti, sono gli cnidociti, al cui interno è racchiuso un organello urticante estrusivo detto cnidocisti, utilizzato per la predazione, l'adesione al substrato e la difesa (Technau & Steele, 2011). Migliaia di cnidocisti si trovano nei tentacoli di anemoni, meduse e

idrozoi, che sono tutti carnivori, a prescindere dalla tipologia e dalla dimensione delle prede (Cairns et al. 2009).

1.3.1.1 Filogenesi e ciclo vitale

A livello filogenetico gli cnidari sono tradizionalmente collocati alla base della linea filetica che ha dato origine ai Metazoa, come sister group dei Bilateria; contrariamente a quanto si pensa solo un sottoinsieme di specie presenta simmetria radiale mentre la maggior parte presenta simmetria bilaterale.

Alcuni rappresentanti fossili delle principali linee evolutive degli cnidari presenti nel Cambriano sembrano essere notevolmente simili alle forme ad oggi esistenti, suggerendo che più cladi attualmente presenti, esistessero già oltre 500 milioni di anni fa.

Gli cnidari si dividono in due grandi cladi: Anthozoa e Medusozoa.

Degli Anthozoa fanno parte circa 7500 specie esistenti e comprendono due gruppi principali: Hexacorallia (anemoni di mare, anemoni tubolari, coralli costruttori di barriera e coralli neri) e Octocorallia (coralli molli, gorgonie e penne di mare).

I Medusozoa comprendono 3700 specie esistenti e si dividono in quattro gruppi: Scyphozoa (le “vere” meduse), Cubozoa (meduse cubiformi), Staurozoa (meduse a stelo), e Hydrozoa (idroidi, idromeduse, sifonofori), (Zapata et al., 2015).

Gli cnidari bentonici sono prevalentemente sessili e prediligono diversi tipi di substrati naturali (rocce, conchiglie, altri metazoi, alghe e piante marine, ecc.) e artificiali (piloni sommersi, boe, chiglie di imbarcazioni, cime, ecc.). Le meduse

planctoniche si trovano in mare aperto e spesso molto lontano dalla costa. Sono prevalentemente marine, ma esistono alcune specie di acqua dolce (Cleveland, 2011), come *Craspedacusta sowerbii* (Lankester 1880), originaria del sistema fluviale Yang-tse in Cina, ma segnalata anche in molte località di tutto il mondo (Angradi, 1998).

Il genere cosmopolita *Aurelia* appartiene alla classe Scyphozoa; studi molecolari indicano che ci sono almeno tredici specie criptiche appartenenti a questo genere (Scorrano et al., 2017; Seo et al., 2020). Nel Mare Mediterraneo sono state finora registrate tre specie: *Aurelia coerulea* von Lendenfeld, 1884, *Aurelia relict*a Scorrano, Aglieri, Boero, Dawson & Piraino, 2016 e *Aurelia solida* Browne, 1905. La distribuzione di queste specie è molto diversa: *A. solida* è considerata migrante lessepsiana e diverse popolazioni sono presenti in acque costiere di mare aperto (Mar Adriatico, Mar Ionio, Canale di Sicilia, sottobacini del Mediterraneo Orientale e Occidentale), *A. relict*a è endemica dei laghi di Mljet (Croazia); mentre, *A. coerulea* è una specie confinata in lagune o porti turistici costieri (Varano, Mare Adriatico; Lago di Sabaudia, Mar Tirreno; Empuriabrava, Mar delle Baleari) e il suo ingresso in Mediterraneo sembra essere causato principalmente dall'acquacoltura e da imbarcazioni marittime (Scorrano et al., 2017)

Il ciclo vitale delle specie appartenenti alla classe Scyphozoa solitamente include tre stadi vitali: larva (planula) (immagine a. Fig. 1.4), polipo (immagine b. Fig. 1.4) e medusa (immagine c. Fig.1.4). Il passaggio da uno stadio all'altro è

strettamente regolato da stimoli ambientali (Fuchs et al., 2014) in quanto, temperatura, salinità, approvvigionamento alimentare e luce possono influenzare questi processi ontogenetici (Purcell, 2007; Hubot et al., 2017). Inoltre, la riproduzione asessuale dello stadio di polipo dipende da ritmi stagionali e generalmente si verifica durante il tardo inverno e inizio primavera (Di Camillo e at., 2010; Fuchs et al., 2014).

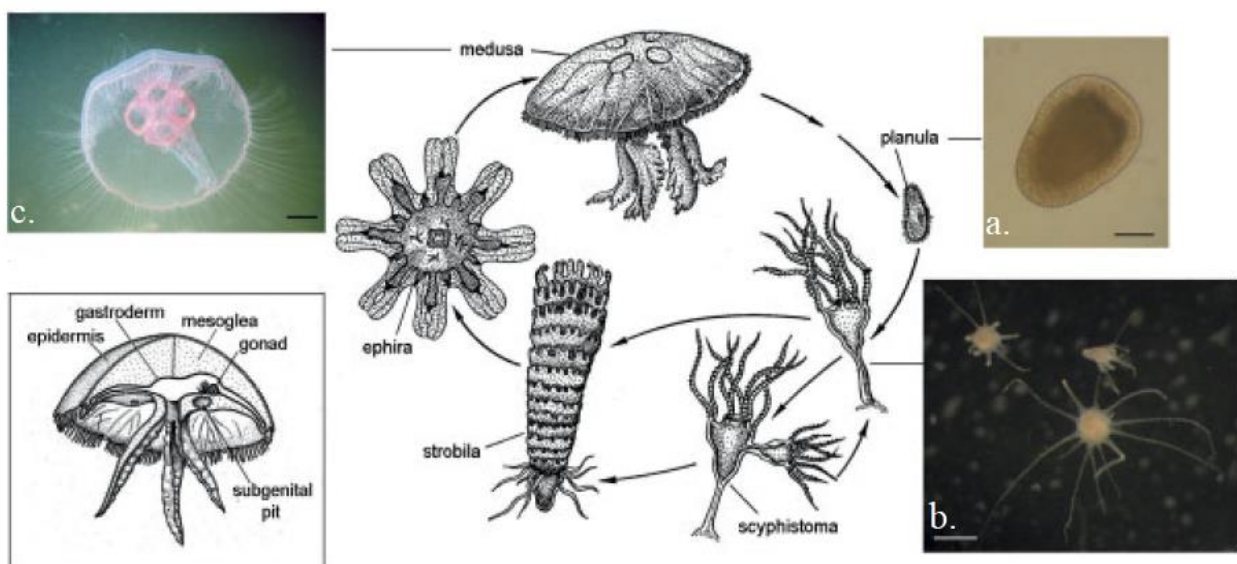


Figura 1.4: Ciclo vitale del genere Aurelia: immagine a. stadio larvale (planula), immagine b. stadio polipoide, immagine c. stadio medusoide (Matveev, et al., 2012)

Lo stadio medusoide è di dimensioni relativamente grandi, mentre quello polipoide è piccolo e poco appariscente (Matveev et al., 2012). La locomozione della medusa avviene per contrazioni muscolari del margine dell'ombrella, quando l'acqua viene espulsa dalla cavità subombrellare e, di conseguenza, l'animale viene spinto in direzione aborale. Il sistema nervoso è rappresentato da una rete nervosa.

La medusa si riproduce sessualmente e le gonadi sono localizzate in tasche gastriche nell'ombrella; le cellule uovo rimangono nelle gonadi mentre gli spermatozoi vengono liberati in mare attraverso la bocca e, successivamente, entrano nella bocca di una femmina, si dirigono verso le gonadi dove avviene la fecondazione. Gli embrioni vengono rilasciati dalla cavità orale e incubati sulle braccia orali delle femmine, per questo motivo, durante la fine dell'estate è possibile osservarvi dei grappoli di colore giallo (Matveev et al., 2012). Dallo sviluppo embrionale si forma una larva ciliata (planula), che lascia la madre e diventa planctonica. Dopo qualche ora (al massimo qualche giorno), la planula aderisce ad un adeguato substrato duro, sviluppandosi in un polipo chiamato scifistoma. Lo scifistoma è sessile (Matveev et al., 2012), in grado di nutrirsi non appena sviluppa tentacoli e bocca (Lucas et al., 2012). In risposta a fattori ambientali (Lucas, C. H et al 2012), lo scifistoma va incontro ad un processo asessuato di fissione trasversale chiamato strobilazione, durante il quale lo scifistoma prende il nome di strobila (Figura 1.5).

L'effetto della strobilazione è la produzione di una pila di minuscoli dischi (efire), che si staccheranno, matureranno e diventeranno la successiva generazione di meduse.



Figura 1.5: Polipo di A. coerulea che va incontro al processo di strobilazione. Foto personale.

Le efire hanno la maggior parte delle caratteristiche della medusa adulta, con proporzioni e dimensioni diverse. L'efira può rimanere quiescente sul o vicino al fondo durante l'inverno, in modo da risalire in superficie in primavera e crescere fino a diventare una medusa adulta sessualmente matura in meno di un anno, raggiungendo un diametro di 30–40 cm (Matveev et al., 2012). Gli stadi di scifistoma e di strobila furono descritti per la prima volta dal biologo norvegese Michael Sars (1829) che attribuì loro rispettivamente i nomi delle specie *Scyphistoma filicorne* e *Strobila octoradiata*. Fu solo quando il processo di

strobilazione fu documentato per la prima volta da Sars (1835) che lo scifistoma, la strobila e l'efira furono riuniti in un unico ciclo vitale (Helm, 2018).

I polipi conducono una vita sessile o sedentaria, i loro corpi di forma colonnare hanno un'estremità inferiore (aborale) allungata in un sottile peduncolo, terminante con un disco basale (o pedale) per ancorarsi al substrato. Nell'estremità superiore, definita calice, è presente la bocca, nota come disco orale, quest'ultima è situata su un rilievo conico chiamato ipostoma ed è circondata dai tentacoli che, come il corpo, possono allungarsi quando l'animale è affamato. La bocca conduce in un intestino a fondo cieco, detto cavità gastrovascolare o celenteron (Fig. 1.6), (Cleveland, 2011).

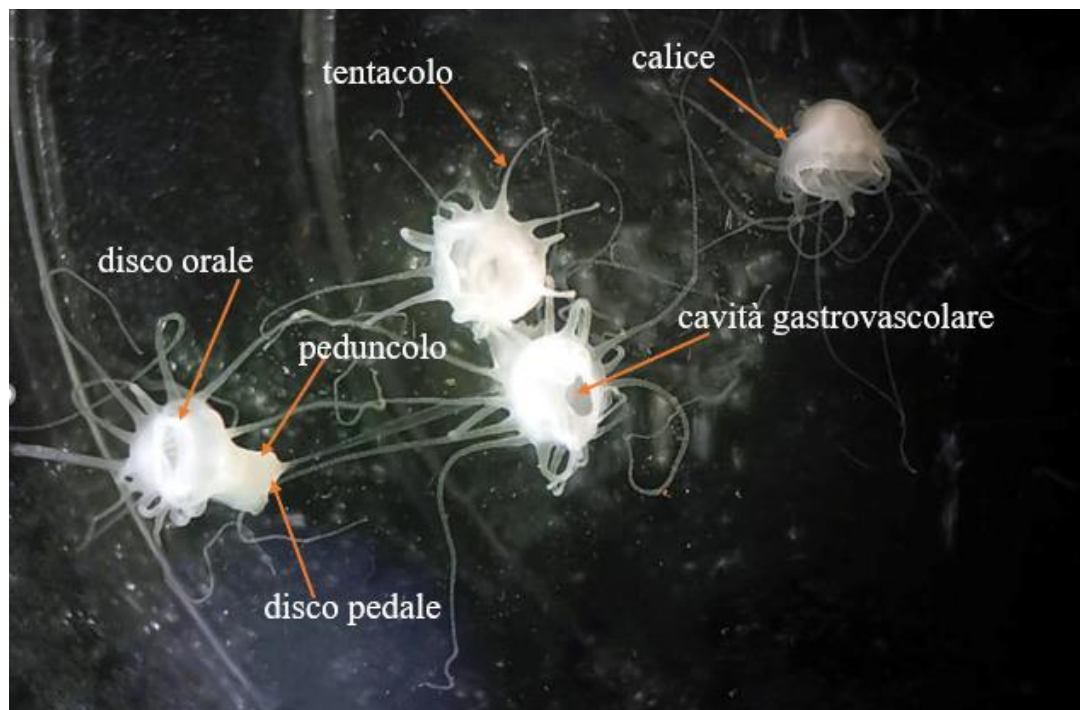


Figura 1.6: Caratteristiche morfologiche dei polipi di A. coerulea. Foto personale.

Lo scifistoma del genere *Aurelia* è in grado di attuare diverse modalità di riproduzione asessuale, presentando una strategia riproduttiva definita “multimodale” (Schiariti et al., 2015). I tipi di riproduzione sono i seguenti:

- I. Gemmazione laterale: un nodulo di tessuto si forma lateralmente sulla parete del corpo, la gemma che si stacca dal polipo che l’ha generata costituisce un clone;
- II. Podocisti: si formano al di sotto della regione basale del polipo, sono ricoperte da una guaina chitinoso e sono spesso di colore brunastro (Schiariti et al., 2015);
- III. Produzione di “EFSP”: particelle di tessuto simili a gemme mobili definite “EFSP” (External Produced Free-Swimming Propagules) si sviluppano come protuberanze in seguito a costrizione del tessuto in corrispondenza del punto di giunzione del calice fino al peduncolo, compiono movimento rotatorio e hanno bassa motilità (Vagelli, 2007; Adler, L., & Jarms, G. 2009) vengono rilasciate prima dello sviluppo del polipo e, spostandosi, possono colonizzare siti più lontani, rappresentando una strategia per la dispersione e minimizzando la competizione intraspecifica per le risorse (Schiariti et al., 2015);
- IV. Produzione di “IFSP”: agglomerati di tessuto (circa 0,2 mm) definiti "IFSP" (Internal Produced Free-Swimming Propagules), sono prodotti nella cavità gastrica o all'interno degli stoloni, si sviluppano in polipi completi dopo

essere stati rilasciati attraverso l'apertura della bocca (Vagelli, 2007; Adler, L., & Jarms, G. 2009), compiono movimento rotatorio;

- V. Fissione longitudinale: può verificarsi al livello intra-tentacolare o tramite rottura del polipo in due metà, le parti mancanti del corpo iniziano a rigenerarsi dalle metà durante o dopo questo processo;
- VI. Strobilazione: segmentazione trasversale del polipo con formazione e rilascio di efire (Adler, L., & Jarms, G. 2009; Lucas et al., 2012).

Dunque, fattori densità-dipendenti controllano non solo i tassi di riproduzione ma anche la modalità riproduttiva adottata dai polipi (Schiariti et al., 2015). Riguardo alle podocisti, si ritiene servano a tre scopi: i) aumento del numero di polipi, ii) sopravvivenza durante periodi di scarsità di risorse alimentari e iii) protezione dalla predazione (Lucas et al., 2012; Schiariti et al., 2014). Il numero delle podocisti prodotte da un singolo individuo può essere considerevole, il loro tasso di produzione è influenzato dalla temperatura, salinità e disponibilità di cibo. È probabile che questa modalità di riproduzione asessuata si sia evoluta per resistere a condizioni in cui i polipi altrimenti non sopravviverebbero (Schiariti et al., 2014). La potenziale capacità dello scifistoma di cambiare la strategia riproduttiva in risposta a condizioni ambientali conferisce al genere *Aurelia* alta adattabilità alle acque costiere temperate dove vive comunemente (Schiariti et al., 2015).

1.3.1.2 Ecologia e distribuzione

Il genere *Aurelia* predilige una temperatura dell'acqua compresa tra i 9-19°C, esso è molto diffuso a livello globale, dalle latitudini polari a quelle temperate e tropicali; gli organismi appartenenti a questo genere sono in grado di compiere migrazioni verso la superficie durante il giorno, e verso il fondo di notte (Matveev et al., 2012).

La specie *Aurelia coerulea* è invece confinata nelle zone costiere del Mare Mediterraneo, che presenta, grazie alla sua conformazione chiusa, forti fluttuazioni di temperatura e salinità (Garić & Batistić, 2022).

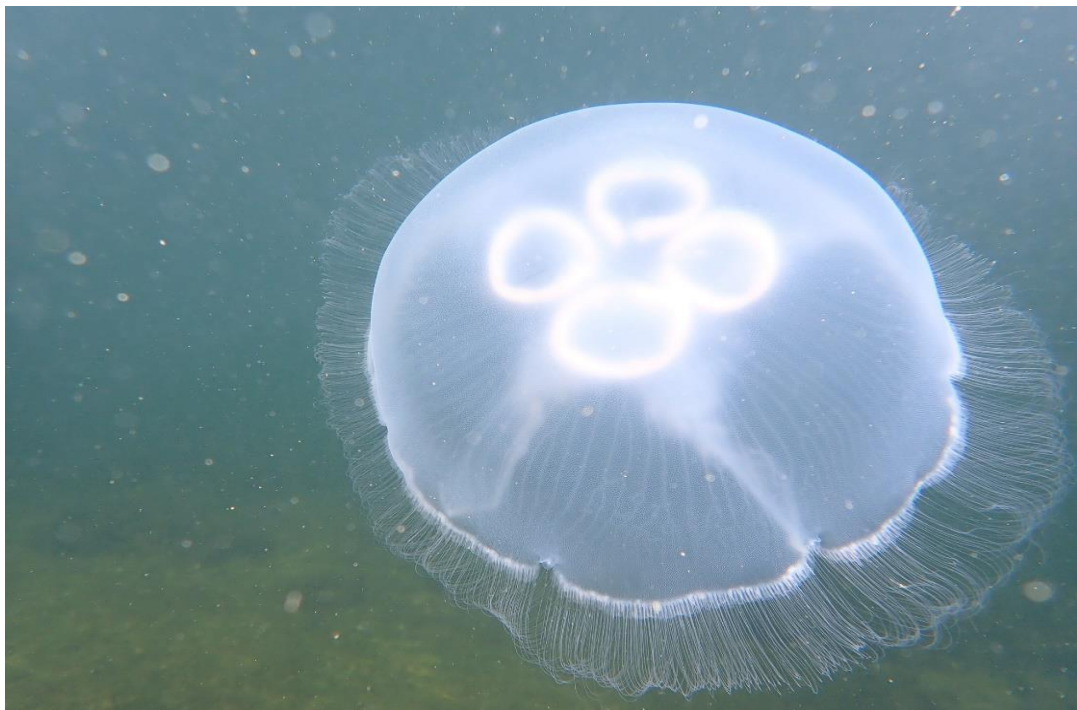


Figura 1.7: Aurelia coerulea von Lendenfeld, 1884. Fonte: Frèdèric Andre.

I polipi del genere *Aurelia* mostrano una bassa selettività nell'alimentazione (Di Camillo et al., 2010) poiché consumano una grande varietà di prede zooplanctoniche, tra cui copepodi, larve di molluschi e pesci,

comprese alcune prede più grandi di loro. Possono sopravvivere anche per mesi senza cibo a basse temperature o salinità; quando il cibo scarseggia, i polipi più grandi possono nutrirsi di quelli più piccoli nelle vicinanze (Lucas, C. H et al 2012). In natura, i polipi sono in grado di insediarsi su diversi substrati, sia naturali (rocce, conchiglie, ecc.), sia artificiali (vetro, ceramica o plastica, Di Camillo et al., 2010) e, dal momento che il numero delle strutture sommerse artificiali ad oggi sta aumentando, queste potrebbero giocare un ruolo importante nel fornire nuovi habitat per i polipi, aumentando così la dimensione delle popolazioni di meduse (Lucas et al., 2012) e di conseguenza il verificarsi di eventi di blooms (Hubot et al., 2017). È probabile che la disponibilità di substrato sia strettamente correlata con la densità dei polipi e, dato che quest'ultima aumenta mediante la riproduzione asessuata, il substrato disponibile può diventare un fattore limitante che aumenta la competizione intraspecifica con conseguente rallentamento dei tassi di riproduzione (Melica et al., 2014).

In acque costiere temperate, i polipi possono essere esposti ad un ampio range di variabili ambientali biotiche e abiotiche (competizione intra- ed interspecifica, predazione, effetti di temperatura, salinità, ipossia, pH, inquinamento, irradianza, ecc.) che ne influenzano la sopravvivenza e la longevità (Lucas et al., 2012; Schiariti et al., 2015). L'adattabilità della fase polipoide a queste fluttuazioni conferisce al genere *Aurelia* un'ampia tolleranza ai parametri ambientali, grazie alla quale ha una distribuzione cosmopolita (Lucas et al., 2014). Inoltre, questo genere è soggetto ad eventi di fioriture massive ("blooms",

aumenti temporanei della densità di una popolazione a livello locale) dovuti all'insorgere di condizioni particolarmente favorevoli, con aggregazioni di individui che possono raggiungere anche i 250 individui per metro quadro (Uye et al., 2002).

Negli ultimi decenni l'aumento delle fioriture di meduse a livello mondiale è diventato una questione cruciale dal punto di vista ecologico e sociale. Molte meduse, infatti, competono con i pesci per le risorse alimentari e inoltre, costituiscono dei potenziali predatori di uova e stadi larvali, diventando responsabili di bruschi cambiamenti nell'abbondanza e nella composizione di specie zoo- ed ittioplanctoniche (Astorga et al. 2012). Inoltre, i blooms interferiscono con le attività economiche: le meduse intasano le reti da pesca danneggiando l'intero settore, causano gravi danni all'acquacoltura (Di Camillo et al., 2010; Astorga et al., 2012), intasano i sistemi di raffreddamento delle centrali elettriche costiere e degli impianti di desalinizzazione, e possono influire negativamente sulle attività turistiche e ricreative legate al mare (Astorga et al. 2012). Le cause principali che favoriscono lo svilupparsi dei "bloom" sono dovute ad attività antropiche: il riscaldamento globale, l'eutrofizzazione (che aumenta il carico di nutrienti nelle zone costiere, permettendo l'aumento del fitoplancton e di conseguenza dei suoi predatori primari, prede a loro volta delle meduse), e, come già citato, l'aumento di substrato disponibile per la fase polipoide grazie al moltiplicarsi di strutture artificiali sommerse (Melica et al., 2014).

1.3.2 *Syllis prolifera* (Annelida, Polychaeta)

Syllis prolifera (Krohn, 1852) è una specie di anellide polichete appartenente alla famiglia dei Sillidi; è ampiamente distribuita in acque temperate calde (Musco & Giangrande, 2005) e dimora principalmente in scogliere rocciose con vegetazione lungo la frangia litorale e praterie di fanerogame; è un erbivoro (Giangrande et al. 2000) e si nutre principalmente della vegetazione marina su cui dimora. Questa specie è gonocorica, caratterizzata da una riproduzione definita “epitochia”. La prima fase del ciclo vitale inizia in individui che presentano circa 40 segmenti, la cui parte posteriore subisce marcate modificazioni somatiche e gametogenesi (metamorfosi dell’epitoco) con conseguente formazione di un'unità riproduttiva specializzata, lo stolone.



Figura 1.8: esemplare adulto di *S. prolifera* con uno stolone femminile maturo (Gallucci & Gambi, 2014)

Una volta completata la maturazione sessuale, lo stolone si stacca dall'individuo progenitore bentonico intraprendendo una breve fase di vita pelagica per rilasciare le uova. Gli stoloni sono gonocorici, quello femminile è pieno di piccole uova (15-20 μm) di colore giallo-arancio pallido, mentre lo stolone maschile ha un colore biancastro e i suoi segmenti sono pieni di spermatozoi. Dagli stoloni vengono rilasciati nella colonna d'acqua spermatozoi e da poche centinaia a poche migliaia di uova, che, una volta fecondate, si depositano sul fondo dove avviene un breve sviluppo embrionale. Dopo 48 ore, avviene la schiusa e le larve iniziano una completa fase bentonica. Dopo circa 6 giorni, queste sviluppano i primi segmenti, parapodi e, una volta raggiunta una dimensione di 6-7 segmenti, iniziano a sviluppare l'apparato faringeo adulto che impiega fino a 3 settimane per completarsi. Durante questo periodo si registra una significativa riduzione del tasso di crescita e un aumento della mortalità. La formazione di un apparato faringeo completo segna la fine dello sviluppo larvale e l'inizio di una fase giovanile che impiega circa 6 settimane per completarsi.

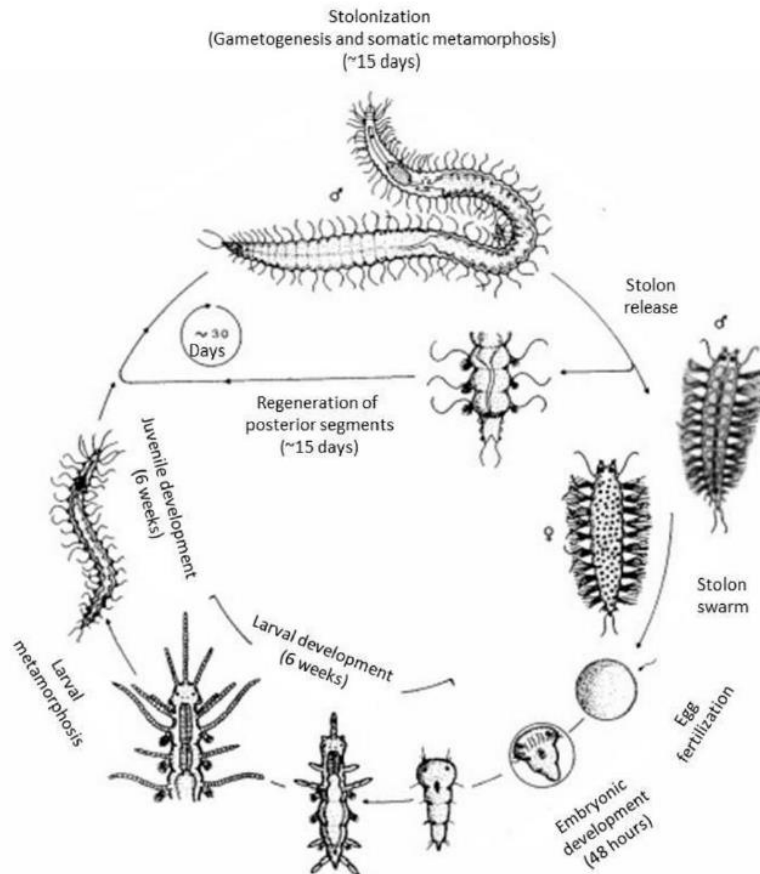


Figura 1.9: Schema del ciclo vitale di *S. prolifera* (Gallucci e Gambi, 2014)

Durante lo sviluppo giovanile viene aggiunto un nuovo segmento ogni 2 giorni e quando gli individui raggiungono la dimensione di 30-40 segmenti sono pronti per iniziare la prima stolonizzazione (Gallucci & Gambi, 2014).

1.3.3 *Artemia salina* (Arthropoda, Crustacea)

Artemia salina (Linnaeus, 1758) è un piccolo crostaceo d'acqua salata appartenente al genere *Artemia*, unico della famiglia Artemiidae. Questa specie tollera elevate salinità, pertanto vive in laghi e stagni ad una salinità compresa tra

i 60 ai 300 ppt (parti per mille); è una specie endemica del Mediterraneo, ma si trova in tutti i continenti.



Figura 1.10: *A. salina* (Munteanu et al., 2011)

Può sopravvivere in acque povere di ossigeno, infatti la concentrazione minima di ossigeno per un adulto è molto bassa (0,5 milligrammi per litro) e per un nauplio anche meno di 0,3 milligrammi per litro. *A. salina* presenta dimorfismo sessuale, il maschio adulto può raggiungere 8-10 mm di lunghezza, mentre la femmina può arrivare fino a 10-12 mm e può contenere fino a 200 uova; quando queste ultime vengono rilasciate, galleggiano sull'acqua e se le condizioni ambientali sono favorevoli possono svilupparsi direttamente in nauplii (larve), mentre in condizioni sfavorevoli si trasformano in cisti, uno stadio che gli permette di resistere a lunghi periodi di disidratazione e riprendere il ciclo vitale quando le condizioni ritornano adatte allo sviluppo e alla riproduzione; le cisti

sono molto resistenti anche a condizioni estreme, essendo in grado di sopravvivere a contatto con liquidi aggressivi, mancanza di ossigeno e presenza di pesticidi. Affinché le cisti schiudano in nauplii (lo stadio larvale) sono necessari idratazione e ossigeno (in un periodo di 24-48 ore). Subito dopo la schiusa, il nauplio presenta un solo occhio (occhio naupliare), successivamente ne sviluppa due, con un risultato finale di tre; lo stadio di nauplio è positivamente fototattico, nuota attratto dalla luce attraverso la colonna d'acqua usando le antenne.

Questa specie, in particolare la fase di nauplio, è molto utilizzata in acquacoltura come alimento vivo per la crescita di molte specie commerciali di pesci, crostacei e cnidari, in quanto ricca di acidi grassi polinsaturi e pertanto molto nutriente. È, inoltre, impiegata regolarmente per test di tossicità di varie sostanze chimiche (Munteanu et al., 2011), grazie anche alla facile reperibilità e mantenimento in colture di laboratorio (Asem et al., 2010). Per questi motivi è stata selezionata come preda mesozooplanctonica per i polipi di *A. coerulea*.

1.4 OBIETTIVI

- I. Lo scopo del seguente lavoro di tesi è studiare il comportamento alimentare collettivo dei polipi di *A. coerulea*. Infatti, una preda di grandi dimensioni è stata fornita ad un gruppo di polipi per testare la proto-cooperazione e il successo di predazione e, inoltre, per valutare l'effetto che questo tipo di

strategia alimentare ha sulla crescita individuale e della popolazione. Sono quindi, stati ideati due esperimenti:

- Il primo per testare la capacità dei polipi di *A. coerulea* di catturare una preda di grandi dimensioni (*S. prolifera*) tramite proto-cooperazione, intervenendo sulla distanza tra i polipi, ritenuta essere uno dei fattori che possono interferire con il successo della predazione. L'ipotesi di partenza è che la vicinanza tra i polipi permette loro di avere un maggiore successo nel predare un organismo di grandi dimensioni. L'alta densità dei polipi influenza positivamente il successo della predazione.
- Il secondo per valutare la crescita individuale, il tasso di riproduzione per gemmazione laterale e il livello di aggregazione dei polipi all'interno di una area definita, in seguito alla somministrazione di tre regimi alimentari differenti: a) una dieta a base di *A. salina*, preda mesozooplanctonica; b) una dieta a base di *S. prolifera*, preda di grandi dimensioni; c) una dieta basata sulla somministrazione di entrambe le prede, più simile alle possibilità di alimentazione in condizioni naturali, dove le prede zooplanctoniche difficilmente scarseggiano. L'ipotesi è che il tipo di dieta somministrata ai polipi determini un differente effetto per quanto riguarda la crescita somatica, la distribuzione spaziale e il numero di nuovi individui; ci si aspetta dunque una crescita e una

distribuzione omogenea per i polipi che si alimentano di *A. salina*, così come una maggiore crescita e tendenza all'avvicinamento con conseguente creazione di aggregazioni da parte dei polipi che riescono ad alimentarsi di *S.prolifera*.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Mantenimento degli organismi

2.1.1 Polipi di *Aurelia coerulea*

I polipi di *A. coerulea* sono stati forniti dall'Acquario di Cattolica (Cattolica, RM - Italia). I polipi sono stati campionati dalle pareti delle vasche di backup dell'acquario, e trasportati entro qualche ora al laboratorio di Zoologia dell'Università Politecnica delle Marche, all'interno di contenitori termici per evitare sbalzi di temperatura. Una volta in laboratorio, i polipi sono stati trasferiti in vaschette di vetro da 700 ml riempite con acqua di mare filtrata a 0.22 μm (Filtered Sea Water, FSW) a salinità 38 PSU, e mantenuti all'interno di una camera termostatica, a temperatura $18.0^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ e un fotoperiodo di sedici ore di luce e otto ore di buio. Tre volte alla settimana, l'acqua delle vaschette è stata cambiata con FSW fresca, e i polipi sono stati alimentati con nauplii di *Artemia salina*. Le pareti e il fondo delle vaschette sono state periodicamente puliti per la rimozione del microfilm algale ed eventuali residui di cibo per evitare di compromettere la salute dei polipi e alterare le condizioni di allevamento.

2.1.2 *Artemia salina*

A. salina, oltre a essere stata utilizzata come cibo per l'allevamento dei polipi di *A. coerulea*, è stata selezionata e utilizzata come preda di piccole dimensioni per lo svolgimento dell'esperimento. Le cisti di *A. salina* sono state

facilmente reperite in commercio. Per permetterne la schiusa, 0.31 g di cisti sono state idratate in un becher di vetro graduato contenente 600 ml di FSW a temperatura di 24°C e a salinità di 38 PSU, dotato di aeratore e coperto con una pellicola trasparente per evitare l'evaporazione. Dopo 24-36 ore, la coltura contenente i nauplii appena schiusi è stata rinnovata con lo stesso volume di FSW fresca tramite l'utilizzo di un filtro con maglie di 200 µm. Successivamente, la coltura è stata posizionata sotto una fonte di luce per cinque minuti: questo procedimento permette ai nauplii, positivamente fototattici, di raggrupparsi in prossimità della luce e quindi di essere prelevati facilmente e forniti ai polipi.

2.1.3 *Syllis prolifera*

La specie di polichete *Syllis prolifera* è stata selezionata come preda di grandi dimensioni da somministrare ai polipi durante gli esperimenti. Gli individui sono stati campionati a 1-3 metri di profondità lungo la costa dell'Isola d'Ischia (Golfo di Napoli, Italia) da un operatore in snorkeling. I talli macroalgali presenti sul substrato roccioso sono stati raschiati, staccati e inseriti rapidamente in sacchetti di cotone, le cui maglie, seppur molto fini, possono essere attraversate da questi organismi; pertanto, questi sacchetti sono stati inseriti a loro volta in buste di plastica più grandi per evitarne la perdita (Massa-Gallucci & Gambi, 2014). Gli esemplari di *S. prolifera* sono stati identificati e selezionati mediante osservazione allo stereomicroscopio tra i vari organismi di meio- e macrofauna associati ai talli algali campionati e successivamente, sono stati trasferiti in

laboratorio all'interno di contenitori termici. Una volta in laboratorio, *S. prolifera* è stato mantenuto in vaschette di vetro riempite con FSW (salinità 38 PSU), riposte in camera termostatica (temperatura di $18.0^{\circ}\text{C} \pm 0.5$, periodo luce-buio 16-8 ore). Tre volte alla settimana, è stato effettuato il cambio dell'acqua insieme all'alimentazione, somministrando ai policheti spinaci surgelati finemente tritati.

I motivi per cui questa specie di polichete è stata scelta come preda di grandi dimensioni per i polipi di *Aurelia coerulea* sono i seguenti:

- I. Diversi studi hanno riportato casi di idrozoi che si nutrono di policheti (es. *Tubularia crocea* Agassiz, 1862, *Perarella Schneideri* Motz-Kossowska, 1905), (Genzano, 2005; Bavestrello et al., 2000), suggerendo appetibilità di questi organismi per i polipi di cnidari;
- II. È un organismo modello in quanto facile da campionare e mantenere in colture di laboratorio (Gallucci & Gambi, 2014);
- III. Ha la giusta taglia dimensionale (10-25 mm) in relazione ai polipi, essendo dalle 10 alle 20 volte più grande del diametro orale dei polipi di *A. coerulea*, che varia da 0.34 a 2.03 mm;

2.2 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di *A. coerulea* sottoposti a tre regimi alimentari diversi

Nel seguente lavoro sperimentale sono stati testati tre differenti regimi alimentari sui polipi di *A. coerulea*: una dieta a base di *A. salina*, una dieta a base

di *S. prolifera* e una dieta mista a base di *A. salina* e *S. prolifera*. L'esperimento ha avuto una durata di 36 giorni (dal 15 novembre al 20 dicembre 2021).

2.2.1 Preparazione dell'esperimento

I polipi usati in questo esperimento sono stati selezionati all'interno delle vaschette da 700 ml utilizzate per il mantenimento. La selezione è avvenuta in modo casuale per ridurre un eventuale effetto legato alla loro dimensione di partenza. Si è quindi proceduto al distacco dei polipi dal fondo e dalle pareti delle vaschette di mantenimento per trasferirli all'interno di vaschette più piccole (volume 200 ml) utilizzate come unità sperimentali, contenenti 140 ml di FSW.

Sono state allestite tre unità sperimentali per tipo di dieta, costituenti le repliche. I polipi trasferiti nella vaschetta sperimentale sono stati fatti aderire su una superficie piana costituita da una piastra Petri riposta all'interno della stessa, su cui era stato tracciato un quadrato di 4 cm², che rappresentava l'area di partenza in cui racchiudere i polipi, in modo da avere un riferimento iniziale sulla loro disposizione nello spazio. Al momento di inizio dell'esperimento, ogni replica comprendeva 8 polipi.

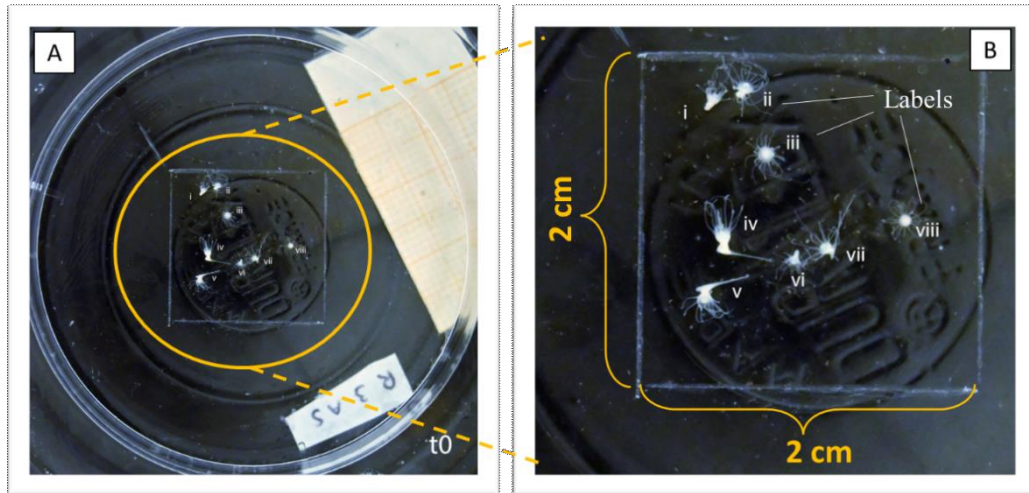


Figure 2.1: Preparazione delle repliche sperimentali; in A) vaschetta al tempo t_0 , con otto polipi casualmente selezionati e fatti aderire all'interno di una superficie di 4 cm^2 disegnata sulla piastra Petri. In B, dettaglio dell'area centrale, i polipi sono indicati con i numeri romani per essere seguiti per tutto il periodo dell'esperimento.

Su ogni vaschetta è stato appoggiato un coperchio trasparente al fine di evitare l'evaporazione e facilitare l'etichettatura delle repliche con numero della replica e la dieta ricevuta (es.: R1 A, replica numero 1, dieta "Artemia").

Un periodo di circa due settimane è stato lasciato ai polipi per l'acclimatazione e l'adesione al fondo delle piastre Petri. Durante questo periodo e per tutta la durata dell'esperimento, l'acqua era periodicamente cambiata, mantenendo le tempistiche del metodo di coltura.

Le tre diete sono state così nominate: 1. Dieta "Artemia" – preda di piccole dimensioni; 2. Dieta "Syllis" – preda di grandi dimensioni; 3. Dieta "Mix" – insieme delle due prede. Le quantità di cibo per ogni dieta sono state standardizzate sulla base dei pesi secchi delle prede. Differenti aliquote di coltura sovraffollata di *A. salina* sono state prelevate, filtrate, e lavate con acqua

deionizzata per rimuovere il sale in eccesso, successivamente asciugate in stufa per 72 ore a 60°C per calcolarne il peso secco. Parallelamente, alcuni individui di *S. prolifera* di lunghezza variabile tra 9 e 12 mm sono stati selezionati per il calcolo del peso secco, dunque riposti in stufa a 60°C per 72 ore.

Il peso secco medio di un polichete della lunghezza di 10.55 mm \pm 1.1 era di 0.22 mg \pm 0.147. A questo peso corrispondeva un'aliquota di 35 μ l di coltura di *A. salina*, ottenuta da 0.31 g di cisti in 600 ml di FSW, lasciata sotto la sorgente luminosa per 5 minuti dopo 24-36 ore ("Overcrowded culture", OC). Pertanto, le tre diete sono state così composte (Tabella 2.2):

1. Dieta Artemia: 70 μ l di coltura sovraffollata (OC);
2. Dieta Syllis: 2 esemplari di *S. prolifera* della lunghezza di 10.5 mm \pm 1.0;
3. Dieta Mix: 35 μ l di coltura sovraffollata (OC) di *A. salina* e 1 individuo di *S. prolifera*.

	Dieta Artemia	Dieta Syllis	Dieta Mix
<i>A. salina</i>	70 μ l OC	–	35 μ l OC
<i>S. prolifera</i>	–	2 ind.	1 ind.

Tabella 2.2: quantità di cibo selezionato per dieta, calcolato sulla base dei pesi secchi degli organismi. OC = "Overcrowded culture" (coltura sovraffollata). Ind. = individui.

2.2.2 Esperimento

L'esperimento prevedeva la somministrazione delle tre diete ai polipi di *A. coerulea*. La frequenza dell'alimentazione è stata decisa sulla base dei tempi di digestione dei polipi, che in seguito ad ingestione di *S. prolifera* e della corrispondente quantità in peso secco di *A. salina* variano tra i 7 e i 10 giorni. Pertanto, la somministrazione del cibo è stata attuata ad intervalli di 7 giorni, cioè una volta alla settimana con cadenza regolare. All'inizio dell'esperimento, e ogni 4 giorni per tutta la sua durata (36 giorni), le repliche sono state fotografate con una macchina fotografica Nikon_DK 16-50, mantenendo sempre la stessa distanza dall'obiettivo alle vaschette; in totale sono state scattate 11 foto di cui la prima (corrispondente al tempo zero, "t0") risale all'inizio dell'esperimento ed è antecedente alla prima somministrazione delle diete. L'ultima foto (al tempo 10, "t10") è stata scattata l'ultimo giorno di osservazione.

Successivamente alle foto, i polipi sono stati alimentati con la rispettiva dieta. La somministrazione di *S. prolifera* è avvenuta mantenendo la pipetta ad una certa altezza dalla vaschetta in posizione verticale, in modo da evitare qualsiasi interferenza con la cattura della preda da parte dei polipi. Ai polipi della dieta "Mix", dopo 40 minuti dalla somministrazione di *S. prolifera*, sono stati somministrati 35 µl di coltura di *A. salina*. Questo accorgimento ha permesso ai polipi di catturare il polichete e poi, eventualmente, i nauplii di *A. salina*. L'acqua è stata cambiata tre volte a settimana, lontano dall'eventuale pasto, per non creare disturbi.

Il confronto *a posteriori* delle fotografie ha permesso la valutazione dei seguenti parametri, trattati come variabili di risposta dell'esperimento. Le successive misurazioni dei seguenti parametri sono state effettuate sugli otto polipi iniziali, nominati e seguiti dall'inizio alla fine dell'esperimento.:

1. Crescita somatica individuale, valutata tramite la misurazione del diametro orale dei polipi, cioè la distanza più lunga che unisce due margini opposti della corona di tentacoli passando per l'apertura boccale (immagine a. Fig. 2.2). Il diametro orale è stato utilizzato come approssimazione della dimensione dei polipi in quanto, non avendo struttura rigida, l'altezza del calice è molto variabile, mentre il diametro orale è la dimensione che solitamente resta sempre costante. Il diametro orale è indicato con la sigla MDD, dall'inglese "Mouth Disc Diameter" (Porter, 1976) (figura 2.2).

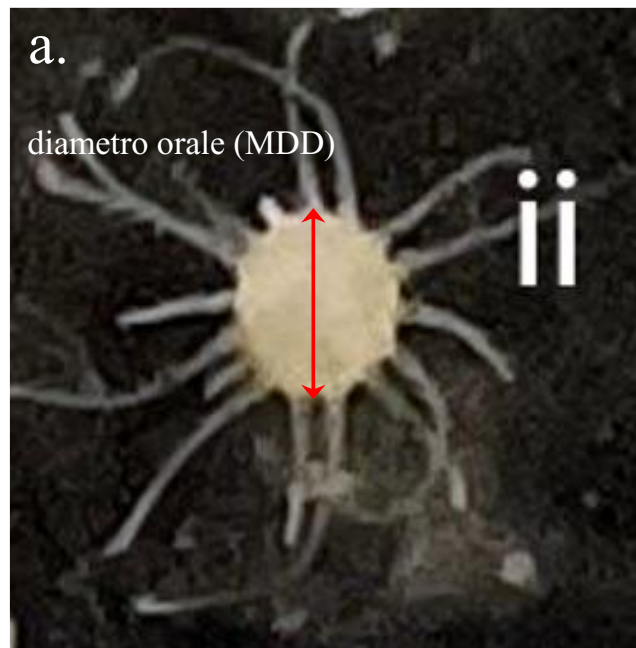


Figura 2.3: immagine a. diametro orale (MDD). Foto personale.

2. Livello di aggregazione dei polipi, valutata misurando la distanza tra un polipo e il suo più vicino: al tempo 0 i polipi fotografati sono stati taggati con il software Photoshop, per rendere possibile il loro riconoscimento nelle foto successive, per essere nominati allo stesso modo fino alla fine del periodo di osservazione (Fig. 2.3). La distanza tra i polipi e il loro diametro orale è stata misurata con l'utilizzo del software opensource ImageJ.

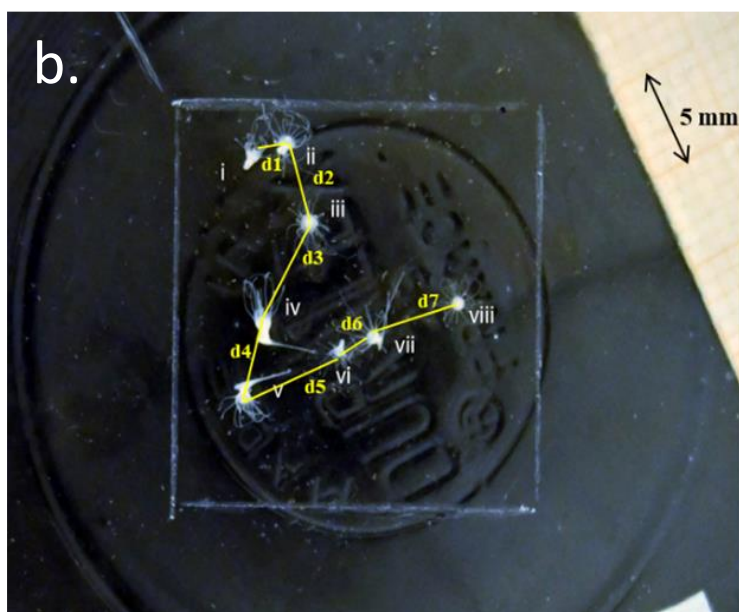


Figura 2.4. Tag dei polipi e misurazione delle distanze. Foto personale.

3. Tasso di riproduzione asessuata per gemmazione laterale: indica quanta energia ricavata dall'alimentazione viene investita dai polipi nella riproduzione, e quindi, nella crescita della popolazione. Il tasso di riproduzione asessuata è stato calcolato contando il numero di nuovi nati (piccoli polipi già indipendenti in seguito al distacco dal genitore fig. 2.5)

al t10 per ogni replica di ogni dieta, e trattato il dato in media tra le repliche, seguendo la formula seguente:

$$\text{Tasso di riproduzione} = \frac{N^{\circ} \text{ nuovi nati}}{N^{\circ} \text{ individui popolazione originaria}} * 100$$

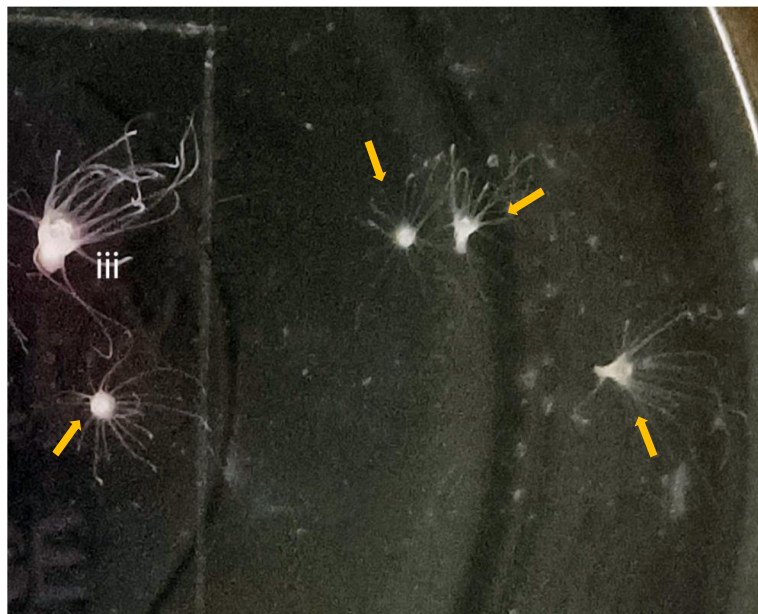


Figure 2.5: Le frecce in giallo rappresentano i nuovi nati. Foto personale.

I nuovi individui formati tramite gemmazione non sono stati considerati però come individui a sé stanti: il loro diametro orale, così come la distanza dagli altri polipi, è dovuta al tempo trascorso dal momento del distacco dal polipo genitore, ed è quindi variabile. Pertanto, queste due misure non possono essere considerate indicative della dieta somministrata nel tempo.

4. Stato di salute: una scala di valori è stata utilizzata come riferimento, con il valore 0 = polipi morti o fortemente degenerati (tentacoli in riassorbimento o assenti, no apertura orale, no partecipazione attiva all'alimentazione); 0.5 = polipi parzialmente degenerati, con tentacoli accorciati, ma ben riconoscibili e apertura orale chiusa ma visibile, con possibilità di recupero (partecipazione attiva, ma scarsa all'alimentazione); 1= polipi in ottima salute, tentacoli estesi, manifestazione di qualche contrazione dei tentacoli o dell'apertura orale (partecipazione attiva all'alimentazione). Questa valutazione è stata ideata per valutare che tutti i polipi fossero in salute durante l'esperimento.

Variabile di risposta	Misura	U.M.	Metodo
<i>Crescita individuale</i>	Diametro orale	mm	Misura dal bordo dei tentacoli al bordo dei tentacoli di fronte passando per la bocca
<i>Riproduzione asessuata</i>	N° nuovi nati	–	Individui nuovi staccati dall'individuo genitore, con tentacoli sviluppati ed attivamente partecipi nell'alimentazione
<i>Organizzazione spaziale</i>	Distanza	mm	Distanza tra un polipo e il suo più vicino
<i>Stato di salute</i>	Salute	Scala 0-1	0 = polipi morti/fortemente degenerati; 0.5 = polipi parzialmente degenerati; 1 = polipi in ottima salute

Tabella 2.6: Variabili di risposta, grandezza misurata, unità di misura (U.M.) e metodo di raccolta dei dati.

2.3 Valutazione del successo di predazione tramite proto cooperazione tra polipi di *A. coerulea* per la cattura della preda di grandi dimensioni

In questo esperimento è stato testato il successo di predazione di *S. prolifera* da parte dei polipi di *A. coerulea* disposti secondo tre differenti livelli di aggregazione, quindi, alla densità della popolazione: livello di aggregazione

minimo, intermedio e massimo. Sono state allestite 7 repliche per livello di aggregazione e ogni replica comprendeva 8 polipi.

I livelli di aggregazione sono stati determinati in base alla distanza dei polipi, decisa a priori sulla base dell'Area di Cattura (Dall'inglese "Capture Area", CA) degli stessi, definita come la superficie (approssimabile ad un cerchio) occupata dai tentacoli estesi di un singolo individuo (figura 2.7). La CA media è stata calcolata su 24 polipi selezionati random, con un risultato di $15.386 \text{ mm}^2 \pm 1.74 \text{ ES}$ (Errore Standard).

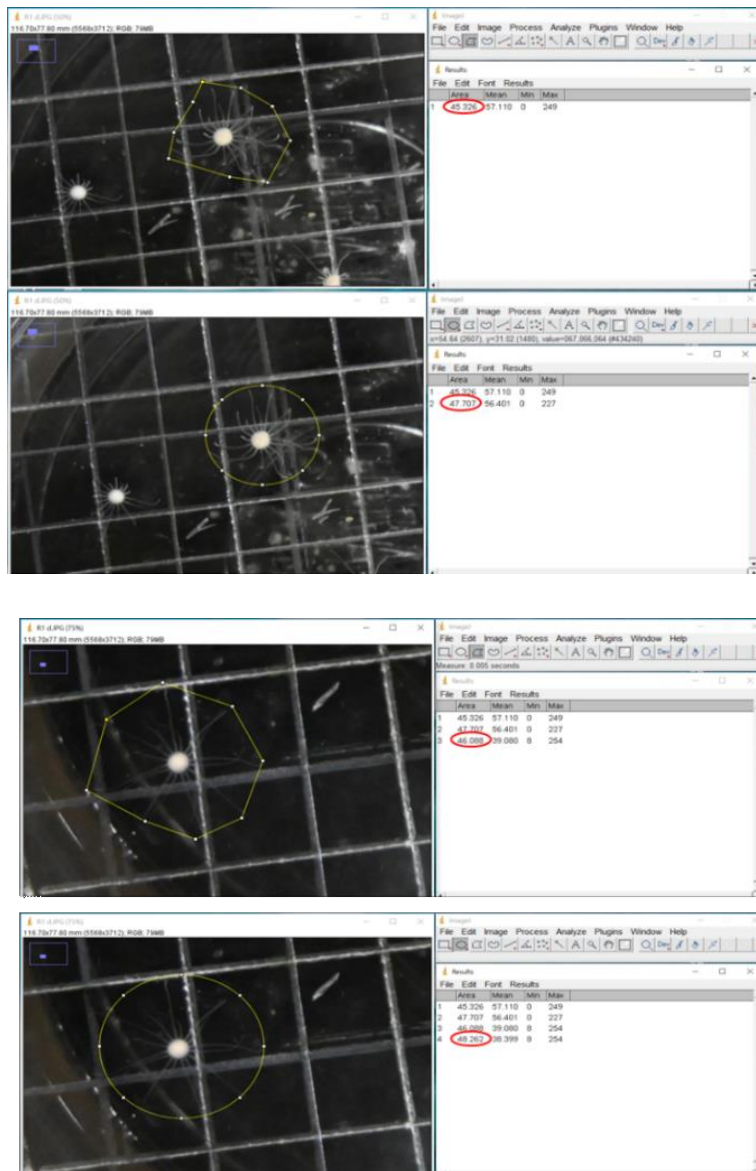


Figura 2.7: Esempio di calcolo dell'Area di Cattura (CA), nelle foto di sinistra l'area di cattura effettiva, nelle foto di destra l'approssimazione a cerchio.

Pertanto, sulla base del diametro della CA media, è stata calcolata la distanza nel seguente modo:

1. livello di aggregazione massimo: diametro $CA/2$ (distanza dei polipi = $0.47 \text{ cm} \pm 0.08$): i tentacoli dei polipi sono sovrapposti, creano un reticolo molto denso (Fig. 2.9).

2. livello di aggregazione intermedio: diametro CA (distanza dei polipi = $0.90 \text{ cm} \pm 0.17$): I tentacoli dei polipi formano una rete, le loro estremità sono vicine ma non si sovrappongono (Fig. 2.10);

3. livello di aggregazione minimo: diametro CA* 2 (distanza dei polipi = $1.8 \text{ cm} \pm 0.37$): i tentacoli dei polipi, seppur ben estesi, sono lontani gli uni dagli altri e non si toccano (Fig. 2.11).

Per far aderire i polipi alla piastra Petri alla corretta distanza gli uni dagli altri, è stata tracciata sul fondo della Petri una griglia con reticolo di lato 0.47 mm (Fig. 2.8).

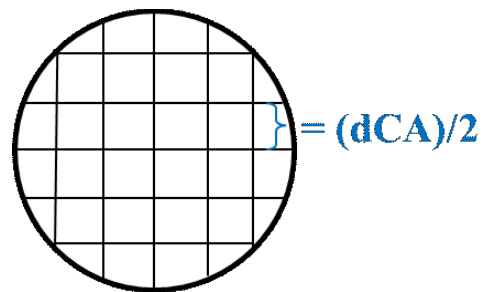


Figura 2.8: rappresentazione grafica dell'Area di Cattura media (CA)

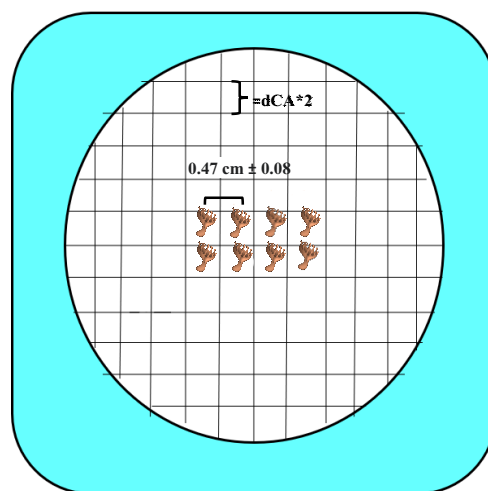


Figura 2.9: Rappresentazione grafica livello di aggregazione massimo

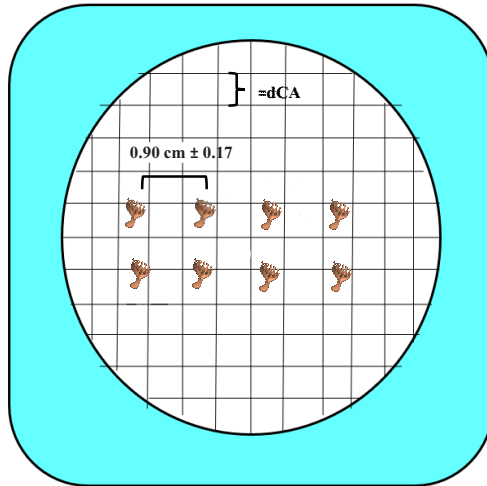


Figura 2.10: rappresentazione grafica livello di aggregazione intermedio

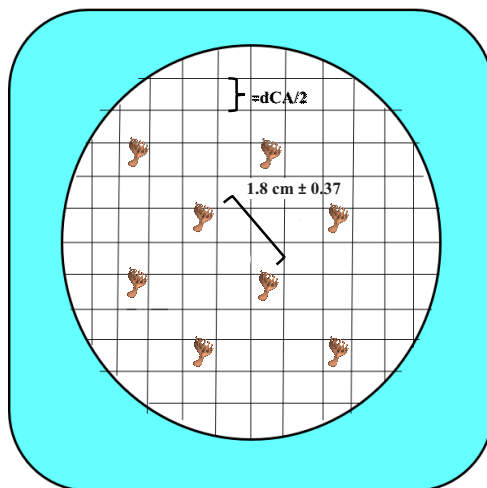


Figura 2.11: rappresentazione grafica livello di aggregazione minimo

Successivamente all'adesione dei polipi alla distanza loro assegnata, i seguenti dati sono stati misurati *a priori*, per confrontare il dato teorico con il dato reale dell'area di cattura, e per verificare l'assenza di possibili differenze nella dimensione dei polipi tra vaschette:

- Distanza media (mm): distanza tra un polipo e il suo più vicino;

- Diametro orale (mm): per evitare di avere una distribuzione ineguale tra polipi più grandi e quelli più piccoli e garantire un'omogeneità dei dati;

L' esperimento è stato ideato al fine di ottenere le seguenti variabili di risposta:

- I. Successo della predazione: capacità dei polipi di catturare la preda;
- II. Numero di polipi coinvolti nella cattura;
- III. Osservazione della cavità gastrovascolare dei polipi che catturano la preda di grosse dimensioni, 72 ore dopo la cattura;
- IV. Valutazione del livello di degradazione del tessuto della preda 72 ore dopo la cattura;
- V. Misurazione dell'intervallo di tempo dalla cattura della preda fino alla sua fuga o paralisi/morte;
- VI. Misurazione dell'intervallo di tempo dalla cattura della preda da parte di due o più polipi fino alla sua divisione;
- VII. Nel caso di fuga della preda, modalità di fuga (autotomia o rapidi movimenti del corpo);

La degradazione del tessuto della preda è stata valutata assegnando un punteggio in una scala di valori così identificati, basandosi sul lavoro di Mehrotra et al. (2019): 0 = nessuna perdita dei tessuti, la preda è fuggita o è stata uccisa ma non ingerita; 0.5 = la preda è stata rigettata dopo parziale ingestione, ma risulta ancora riconoscibile; 1 = la preda è stata rigettata in porzioni altamente consumate, il livello di degradazione dei tessuti non permette la sua distinzione.

Ad inizio esperimento, subito dopo aver somministrato in maniera casuale gli esemplari di *S. prolifera* (range di lunghezza 9.5-11.5 mm) alle repliche di ogni trattamento, è stata effettuata la raccolta dei dati riguardanti le variabili di risposta. Le modalità con cui è avvenuta la somministrazione dei *S. prolifera* e l'allestimento delle repliche sono state le stesse dell'esperimento precedente.

3. RISULTATI

3.1 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di *Aurelia coerulea* sottoposti a tre regimi di dieta

I risultati dei test statistici effettuati sulle misure *a priori* del diametro orale dei polipi prelevati casualmente ed utilizzati come organismi sperimentali hanno permesso di sottolineare l'assenza di errori di selezione dovuti alla taglia dei polipi, escludendo un trend dimensionale di partenza all'interno delle repliche sperimentali (MDD t0: Shapiro-Wilk: $p=0.844$; Levene: $p=0.782$; ANOVA: $p=0.870$). Inoltre, i polipi utilizzati all'interno delle repliche sono soggetti alla variabilità tra le repliche stesse, dunque, il fattore nominato "Batch", che indica appunto la possibile variabilità, è stato testato come ulteriore elemento, e in tutti i test non ha prodotto risultati significativi. Lo stato di salute di tutti polipi è sempre risultato uguale 1: questo ha permesso di evidenziare il buon mantenimento degli animali durante il periodo di osservazione e non è stato ulteriormente analizzato.

3.1.1 Dieta "Artemia" – a base di *Artemia salina*

Dall'analisi fotografica dei polipi di *A. coerulea* che hanno ricevuto la dieta a base di *A. salina* si osserva che in tutte le repliche vi è un progressivo aumento del tasso di crescita individuale dei polipi costituenti la popolazione di studio. In tutte e tre le repliche il valore medio del diametro orale (MDD) varia da 0.81 mm \pm 0.212 al t0 a 1.16 mm \pm 0.241 al t10, con un aumento del diametro orale di 0.35

mm \pm 0.221; ciò è confermato dal grafico in figura 3.1, nel quale, sono riportate tre classi dimensionali di MDD (< 0.8 mm, $0.8 - 1$ mm, ≥ 1 mm) a cui fanno riferimento le percentuali di polipi, calcolate sul totale della popolazione, che rientrano in queste categorie. Il progressivo aumento del diametro orale è evidenziato dal rispettivo aumento della percentuale degli individui con un diametro superiore o uguale a 1 mm, da un valore di 12.50% al t0 fino a un massimo di 75% al t10. Contestualmente si registra una diminuzione dei polipi più piccoli (<0.8 mm) dal 53% al 9%, in quanto essi crescono nel tempo in seguito ad alimentazione.

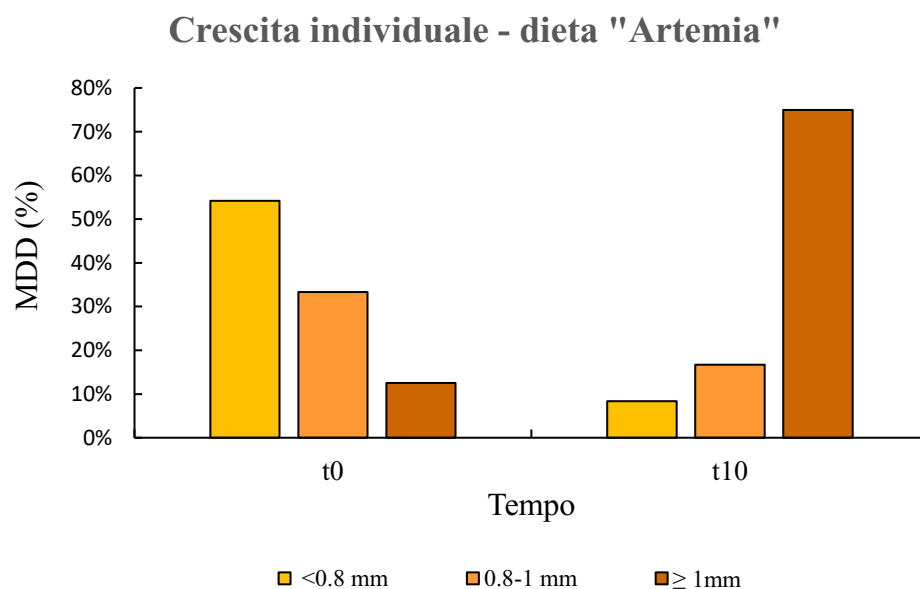


Figura 3.1 crescita del diametro orale dei polipi (MDD, mm) alimentati con A. salina. Sono riportati tre intervalli dimensionali (< 0.8 mm, $0.8 - 1$ mm, ≥ 1 mm) e le percentuali di polipi, calcolate sul totale della popolazione, aventi MDD che rientra in uno di questi intervalli. La suddivisione è riportata al tempo 0 ("t0") e al tempo 10 ("t10").

Per quanto riguarda il livello di aggregazione, si osserva che tra la maggior parte dei polipi di tutte le repliche vi è un progressivo aumento delle distanze dal

t0 al t10. Nella prima replica (R1A) essi si allontanano spostandosi da un valore minimo di 2.48 mm al t0 fino ad un massimo di 36.73 mm al t10, con delle differenze tra questi due tempi che variano da 5.84 mm a 31.29 mm, in media $15.79 \text{ mm} \pm 8.532 \text{ (t10-t0)}$. In figura 3.2 si può osservare il trend di allontanamento dei polipi della popolazione iniziale nella replica R1A.

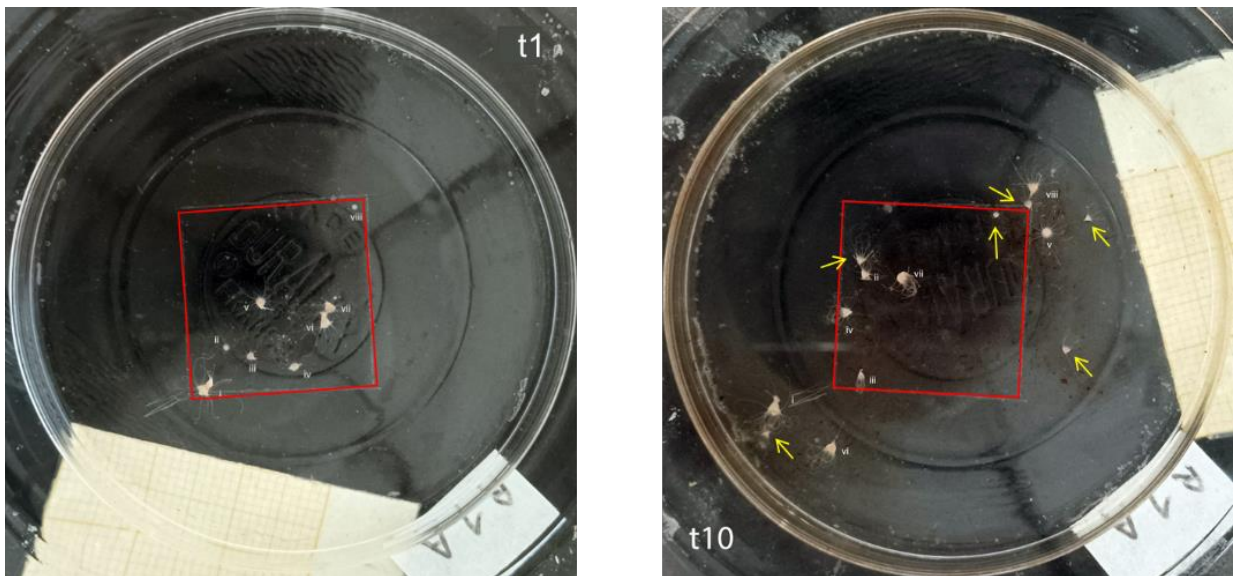


Figura 3.2: popolazione al t1 e al t10 della replica R1A. Si nota l'aumento delle distanze tra i polipi iniziali, all'interno dell'area centrale di 4cm² al t0 (quadrato rosso) e allontanati all'esterno al t10. Si nota inoltre formazione di nuovi individui indipendenti tramite gemmazione laterale (freccie gialle in t10) e il loro posizionamento nello spazio.

Questo trend si osserva anche nelle altre due repliche (R2A, R3A), anche se meno accentuatamente rispetto alla prima. Nella seconda replica (R2A), tre distanze rimangono praticamente invariate ($1.23 \text{ mm} \pm 1.469$), mentre tra altri cinque polipi si osserva un aumento delle distanze da un minimo di 1.96 mm al t0 fino ad un massimo di 21.26 mm al t10, con una variazione tra il t0 e il t10 da 4.62 mm a 17.73 mm ($t10-t0$), attestandosi in media su un valore di $10.29 \text{ mm} \pm$

6.332. Nella terza replica, ad eccezione di due polipi che tendono a diminuire le loro distanze dal t0 al t10 ($-2.85 \text{ mm} \pm 2.378$) e una distanza che aumenta solo lievemente ($t_{10}-t_0 = 2.17 \text{ mm}$), le restanti cinque aumentano da un valore minimo di 1.27 mm al t0 fino ad un massimo di 22.44 mm al t10, con un valore medio di $8.54 \text{ mm} \pm 3.468$ e una variazione ($t_{10} - t_0$) che va da 4.86 mm a 13.63 mm. Per ottenere dei risultati esplicativi del cambiamento delle distanze tra gli otto polipi di ciascuna delle tre repliche, sono stati considerati tre intervalli ($< 5 \text{ mm}$, $5 - 10 \text{ mm}$ e $> 10 \text{ mm}$) in modo da calcolare la percentuale di distanze tra gli individui che vi rientrano (figura 3.3). Ne risulta che la distanza minima ($< 5 \text{ mm}$) tende a diminuire nel tempo, da un valore pari a 41.67% al t0 fino a 12.0% al t10. In questo tempo d'osservazione, pertanto, la percentuale più alta è rappresentata dai polipi con distanze superiori e/o uguali a 10 mm (75.0%). Questi valori indicano una tendenza dei polipi ad allontanarsi tra loro.

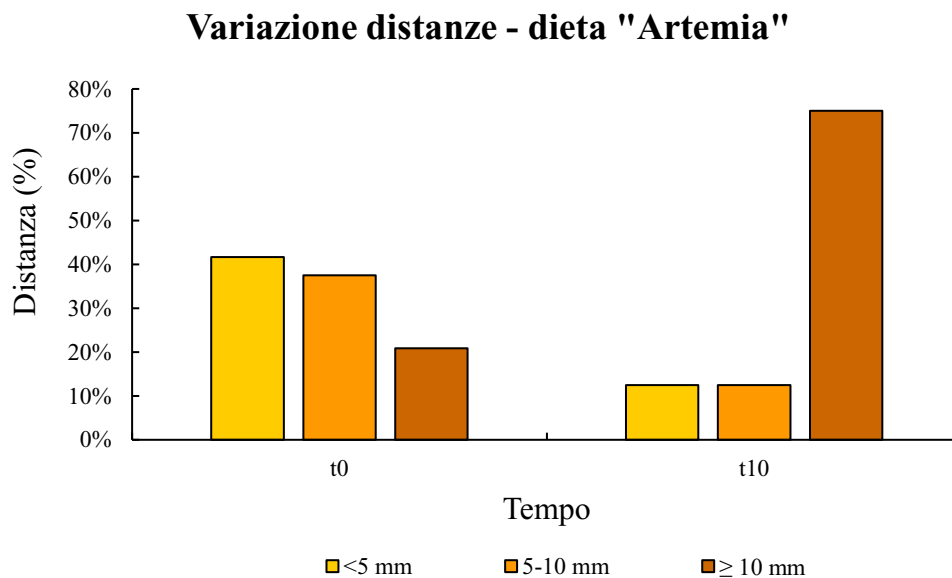


Figura 3.3: Variazioni delle distanze tra i polipi alimentati con A.salina. Le distanze sono suddivise in tre intervalli (< 5 mm, 5 - 10 mm e > 10 mm), e sono riportate le percentuali delle distanze tra individui che rientrano in questi intervalli, al tempo 0 ("t0") e al ("t10").

Il tasso di riproduzione asessuata dei polipi a cui è stata somministrata la dieta "Artemia" è del 41.67%, ad indicare che la popolazione è quasi raddoppiata. I nuovi polipi indipendenti rimangono per un primo periodo in prossimità degli adulti e poi si distribuiscono uniformemente nella vaschetta, tendendo ad allontanarsi dai genitori (figura 3.2). L'analisi generale della popolazione dalle fotografie scattate dal t0 al t10 permette di osservare una distribuzione uniforme e omogenea degli individui, in cui sono assenti trend dimensionali e spaziali.

3.1.2 Dieta "Syllis" – a base di *Syllis prolifera*

Dall'analisi fotografica delle repliche che hanno ricevuto la dieta "Syllis" (a base di *S. prolifera*, cioè la preda di grandi dimensioni che implica

protocooperazione), si osserva che solo alcuni polipi riescono a nutrirsi del polichete in seguito alla sua cattura. Per questi polipi vi è un evidente aumento dell'MDD da un valore medio di $1.01 \text{ mm} \pm 0.104$ al t_0 fino ad un massimo di $1.51 \text{ mm} \pm 0.202$ al t_{10} , ad indicare che mediamente essi aumentano le loro dimensioni di circa un terzo, mentre gli altri polipi che non si nutrono del polichete diminuiscono leggermente in dimensioni da un valore medio di $0.89 \text{ mm} \pm 0.263$ al t_0 fino ad un minimo di $0.76 \text{ mm} \pm 0.259$. Pertanto, dal grafico in figura 3.4 si osserva che la percentuale di polipi aventi MDD superiori o uguali a 1 mm rimane pressoché invariata tra il t_0 e il t_{10} , con un valore pari a 41.67%, in relazione al fatto che nel corso del tempo alcuni polipi diminuiscono in dimensioni mentre altri aumentano, e la loro media si equivale. Analogamente, gli intervalli minore e intermedio ($< 0.8 \text{ mm}$ e $0.8-1 \text{ mm}$) non mostrano una forte variazione; questi valori indicano che i polipi molto piccoli ad inizio esperimento rimangono tali alla fine.

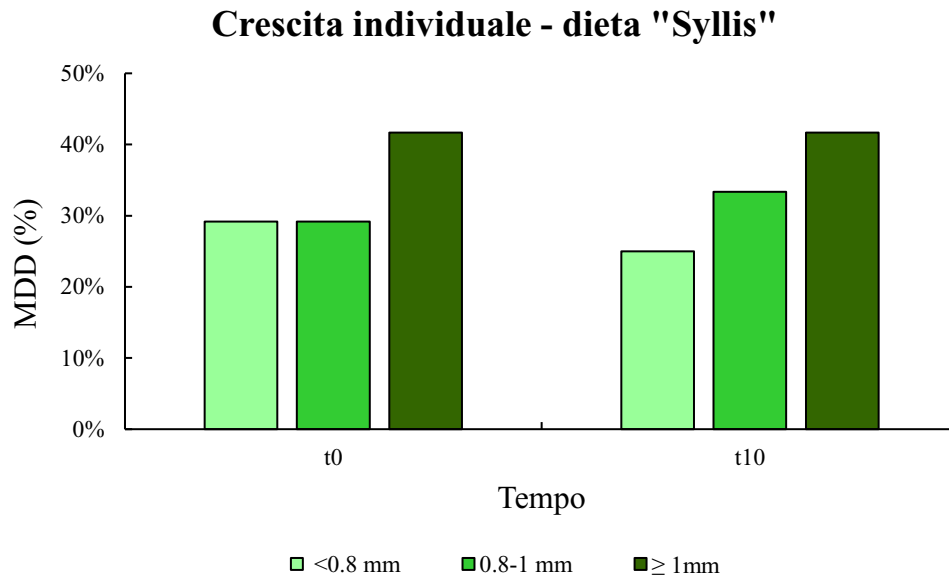


Figura 3.4: Crescita del diametro orale dei polipi alimentati con *S. prolifera*. Sono riportati tre intervalli dimensionali (< 0.8 mm, $0.8 - 1$ mm, ≥ 1 mm) e le percentuali di polipi al tempo 0 ("t0") e al tempo 10 ("t10") aventi diametro orale che rientra in uno di questi intervalli.

Per quanto riguarda le distanze, in almeno due repliche su tre si osserva una tendenza alla formazione di piccoli gruppi, composti da tre o più individui. In particolare, i gruppi vengono formati dai polipi che riescono a catturare il polichete, ben visibile nella cavità gastrovascolare degli stessi. La colorazione bianco-trasparente dei polipi permette infatti di stabilire tramite analisi visiva quali polipi sono riusciti a catturare ed ingerire la preda di grosse dimensioni. Da ciò deriva la possibilità di valutare anche i trend di avvicinamento dei polipi inizialmente esclusi dalla predazione verso quelli che hanno ingerito *S. prolifera*: in tutte e tre le repliche alcuni polipi tendono infatti ad avvicinarsi in prossimità di quelli che probabilmente hanno mangiato da inizio esperimento. Ad esempio, nella seconda replica (R2S) si nota la formazione di un gruppo, all'interno del

quale la distanza media tra i polipi tende a diminuire nel tempo, da un valore medio di $9.52 \text{ mm} \pm 3.751$ al t_0 fino a un valore medio di $5.55 \text{ mm} \pm 1.327$ al t_{10} . Si osserva inoltre che altri due polipi (figura 3.5) che precedentemente sono più distanti dagli altri, si avvicinano progressivamente al gruppo e rimangono nelle vicinanze fino alla fine delle osservazioni dopo aver mangiato in momenti differenti. Questo è il caso del polipo “viii” (cerchiato in rosso in figura 3.5), che progressivamente si avvicina al gruppo formato da “iii”, “vi” e “vii”, così come il polipo “v”, cerchiato in giallo in figura 3.5, t_9 .

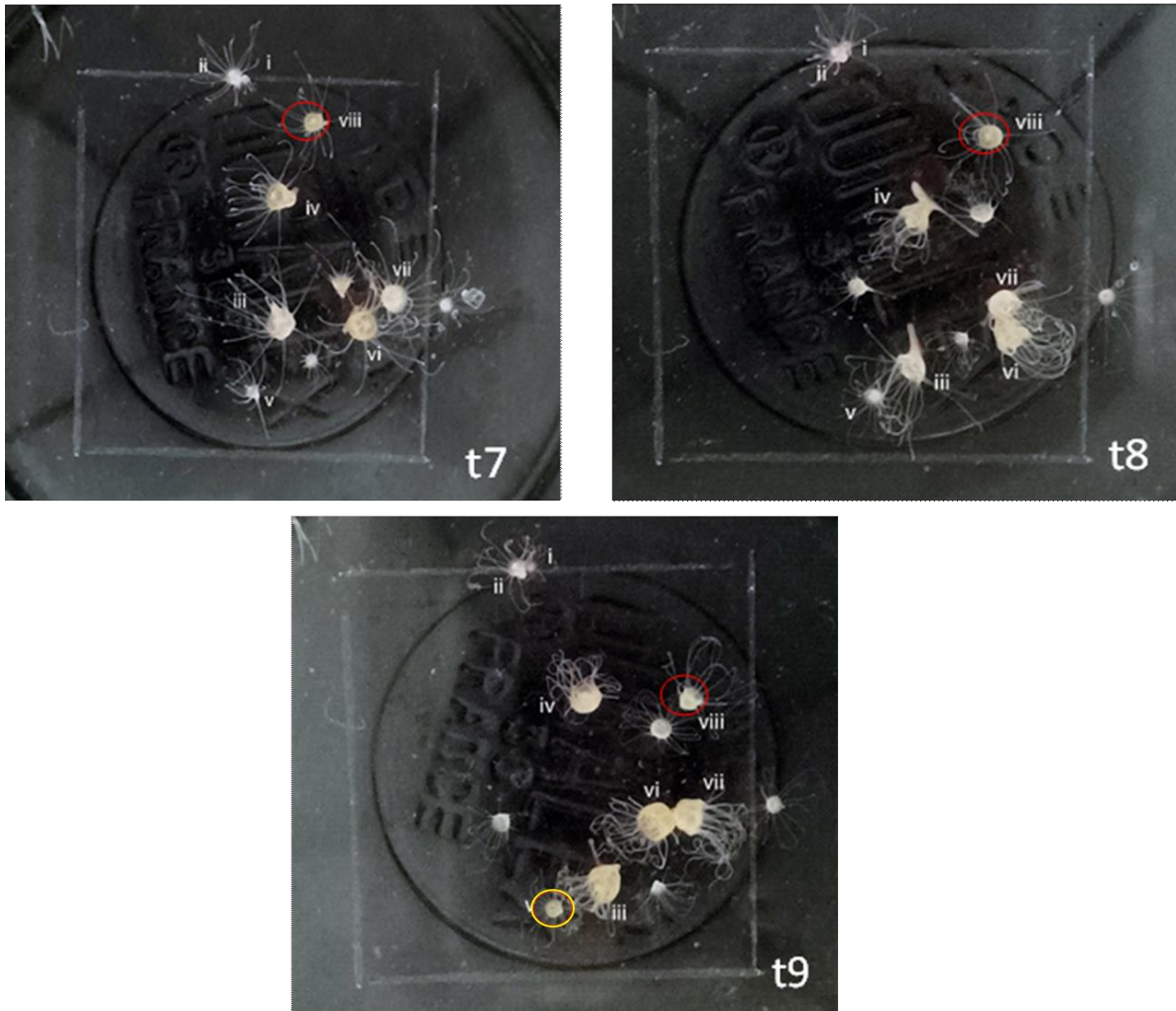


Figura 3.5: Replica R2S, t7 – t9. Il polipo “viii” (cerchiato in rosso) mangia al t7 insieme ad altri due polipi (“iv” e “vi”) e dal t8 inizia progressivamente ad avvicinarsi al gruppo, mentre il polipo “v” (cerchiato in giallo) mangia al t9 insieme ai polipi “iii”, “vi” e “vii”, avvicinandosi ancora di più.

Nella terza replica (R3S) si osserva invece che quattro polipi su otto sono presumibilmente riusciti a mangiare il polichete poiché presentano la cavità gastrovascolare scura: questi quattro polipi mantengono più o meno tutti le stesse distanze dal t0 al t10, con un valore medio rispettivamente di $9.54 \text{ mm} \pm 5.577$ (t0) e di $10.66 \text{ mm} \pm 3.509$ (t10). In questa replica, inoltre, si osserva che due

polipi rimasti a digiuno compiono spostamenti evidenti per avvicinarsi ai polipi che hanno catturato la preda, e riuscendo anch'essi probabilmente a nutrirsi: il primo ("ii"), si sposta progressivamente verso il centro dell'area di 4 cm², riuscendo a mangiare insieme agli altri polipi al t4 (figura 3.6, t2 – t4, cerchio rosso), l'altro ("i") segue lo stesso trend di avvicinamento riuscendo però a mangiare al t7 e avvicinandosi agli altri polipi dal t8 (figura 3.7, t7 – t8, cerchio rosso).

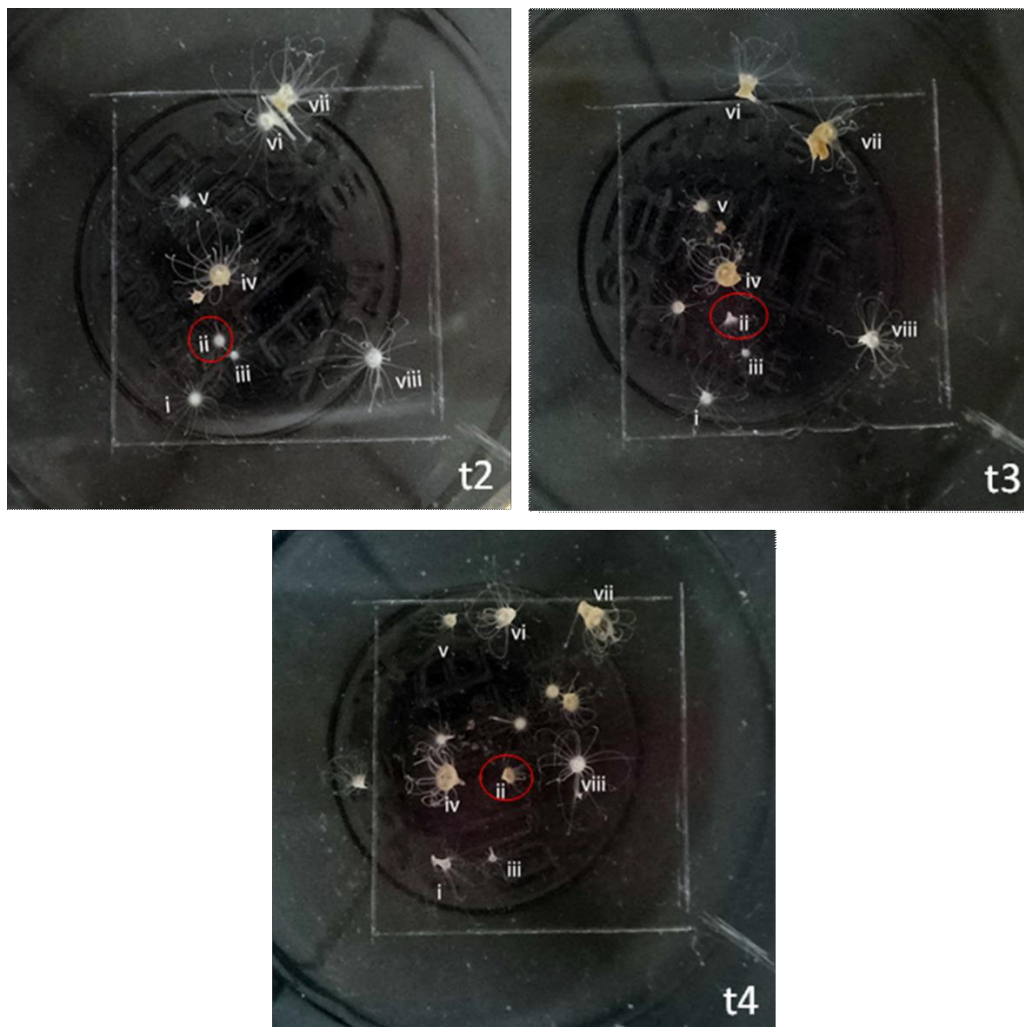


Figura 3.6: Il polipo "ii", cerchiato in rosso, si sposta progressivamente verso il centro dell'area (4 cm²) e al t4 cattura il polichete riuscendo così a nutrirsi (replica R3S).

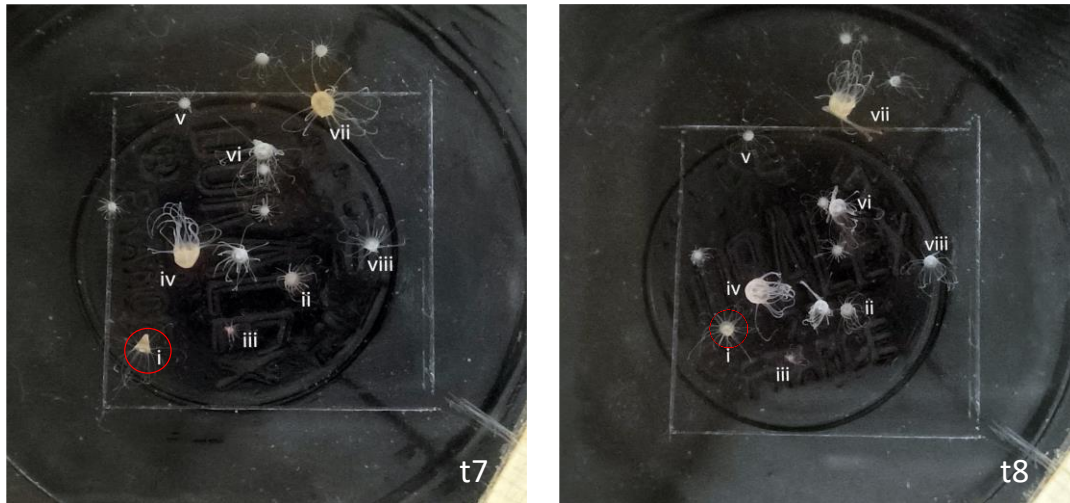


Figura 3.7: Il polipo (i) cerchiato in rosso al t7 mangia (cavità gastrovascolare scura), mentre al t8 inizia ad avvicinarsi agli altri per poi mangiare nuovamente nei successivi tempi (Replica R3S).

Suddividendo le distanze nei tre intervalli (< 5 mm, $5 - 10$ mm e ≥ 10 mm) (figura 3.8), è possibile osservare una leggera diminuzione, per i polipi le cui distanze rientrano nei due intervalli minore e intermedio (< 5 mm e $5 - 10$ mm), da 37.50% a 33.33% e da 37.50% a 29.17% rispettivamente. Al contrario, la percentuale di polipi la cui distanza rientra nell'intervallo maggiore o uguale a 10 mm aumenta da 25.00% (t0) a 37.50% (t10). Pertanto, contrariamente a quanto accade nella dieta "Artemia", non si può sottolineare una tendenza dei polipi all'allontanamento, ma piuttosto quella a mantenere invariate le loro posizioni o a modificarle solo leggermente.

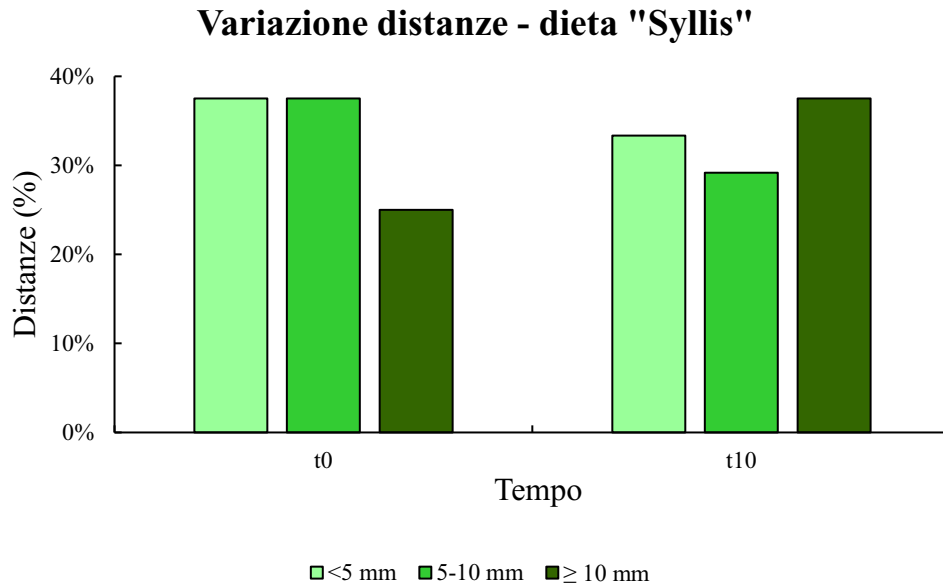


Figura 3.8: Variazioni delle distanze tra i polipi alimentati con *S. prolifera*. Le distanze sono suddivise in tre intervalli (< 5 mm, 5 - 10 mm e > 10 mm), e sono riportate le percentuali delle distanze tra individui che rientrano in questi intervalli, al tempo 0 ("t0") e al ("t10").

Il tasso di riproduzione asessuata dei polipi che hanno ricevuto la dieta "Syllis" è del 54.17 %. Si osserva inoltre che i polipi che crescono di più, in quanto riescono a mangiare *S. prolifera* originano un numero maggiore di nuovi nati rispetto a quelli che non si nutrono affatto, come nella replica R3S in cui si osserva la formazione di 6 nuovi polipi totali, nati presumibilmente da soli tre adulti che, durante il corso dell'esperimento, hanno mangiato il polichete. Questa interpretazione si evince dalla vicinanza dei nuovi nati ai genitori nei primi giorni dopo il distacco dagli stessi.

3.1.3 Dieta “Mix” – a base di *Artemia salina* e *Syllis prolifera*

La crescita individuale dei polipi appartenenti alle repliche che hanno ricevuto la dieta “Mix” evidenzia entrambe le situazioni precedenti: si osserva la crescita di quei polipi che riescono molto spesso a catturare il polichete e ad ingerirlo. Il loro diametro orale aumenta da un valore medio di $0.83 \text{ mm} \pm 0.244$ al t_0 fino ad un massimo di $1.04 \text{ mm} \pm 0.206$ al t_{10} . Questo è particolarmente evidente nella seconda e terza replica (R2Mix e R3Mix), in cui i polipi che crescono molto sono anche quelli che rimangono vicini. Inoltre, a differenza della dieta a base di *S. prolifera*, si osserva che in tutte e tre le repliche vi è un generale aumento del diametro orale dei polipi, da un valore medio di $0.85 \text{ mm} \pm 0.174$ al t_0 fino ad un massimo di $1.20 \text{ mm} \pm 0.319$. Tale aumento generale delle dimensioni della popolazione iniziale è riportato nel grafico in figura 3.9, in cui si osserva che dal t_0 al t_{10} vi è un aumento della percentuale di polipi aventi $\text{MDD} \geq 1 \text{ mm}$, da un valore minimo di 16.67% ad un massimo di 62.50%.

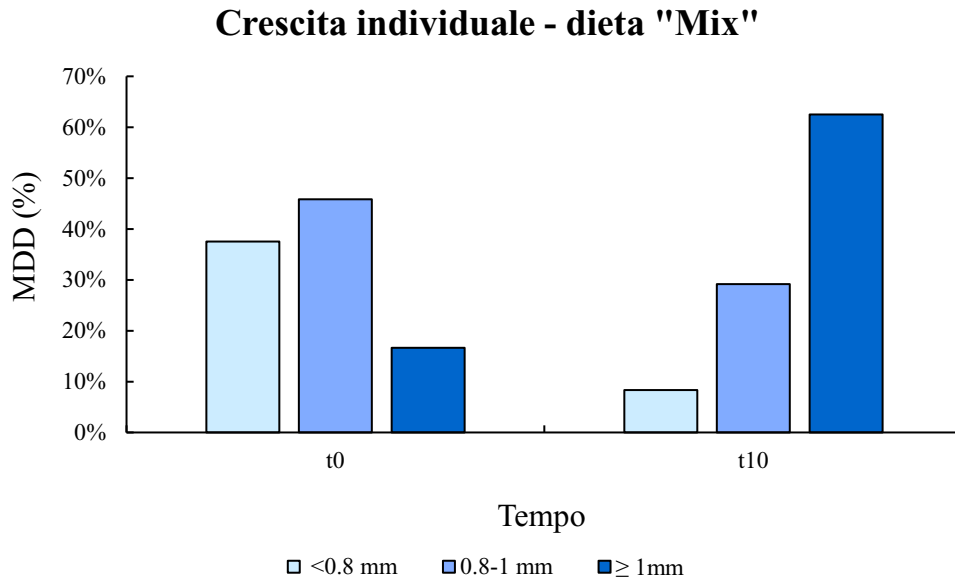


Figura 3.9: Crescita del diametro orale dei polipi alimentati con la dieta Mix. Sono riportati tre intervalli dimensionali (< 0.8 mm, $0.8 - 1$ mm, ≥ 1 mm) e le percentuali di polipi al tempo 0 ("t0") e al tempo 10 ("t10") aventi diametro orale che rientra in uno di questi intervalli.

Per quanto riguarda il livello di aggregazione, si osserva una tendenza alla formazione di gruppi all'interno della popolazione. Questo è particolarmente evidente nella terza replica (figura 3.10), in cui nel primo sottogruppo, composto da 3 polipi, si osserva una distanza iniziale media di $8.11 \text{ mm} \pm 1.864$, che diminuisce a $4.97 \text{ mm} \pm 0.849$ al t10, dimostrando un dimezzamento delle distanze. Al contrario, i polipi che formano il secondo sottogruppo, riconoscibile al t0, tendono ad allontanarsi, da una distanza minima media di $12.21 \text{ mm} \pm 4.322$ al t0 fino ad un massimo di $30.14 \text{ mm} \pm 4.629$ al t10. È interessante notare che, anche in questo caso come nelle repliche che hanno ricevuto solo *S. prolifera*, i polipi che rimangono vicini tra loro sono quelli che si nutrono del polichete, mentre quelli che si allontanano sono impossibilitati a catturarlo. Solo nella prima

replica (R1Mix), si osservano dei trend alterni di allontanamento e avvicinamento tra i polipi, che sono comunque molto lievi (figura 3.11): in particolare tutti gli otto polipi non escono mai dall'aera centrale di 4 cm^2 (ad eccezione di un singolo polipo che si discosta leggermente all'esterno del perimetro al t10). Infatti, il massimo distanziamento che si registra tra il t0 e il t10 è di 11.21 mm, mentre le altre distanze variano in media di $0.96 \text{ mm} \pm 5.076$. L'alto valore della deviazione standard dalla media è dovuto al fatto che tre distanze diminuiscono ($t10 - t0 = -4.03 \text{ mm} \pm 3.135$) ed altre quattro aumentano ($t10-t0 = 4.71 \text{ mm} \pm 1.147$) durante il periodo di osservazione. In generale, il grafico in figura 3.12 riporta la percentuale di distanze $<5\text{mm}$, $5-10 \text{ mm}$ e $\geq 10\text{mm}$ a cui fanno riferimento i valori misurati tramite analisi fotografica. Si può notare una diminuzione degli intervalli minore e intermedio ($<5\text{mm}$ e $5-10 \text{ mm}$) da un valore per entrambi di 41.67% al t0 che scende rispettivamente al 12.50% e al 29.17% al t10. Contrariamente, l'intervallo che comprende le distanze più lunghe registra un forte aumento, da 16.67% a 58.33%.

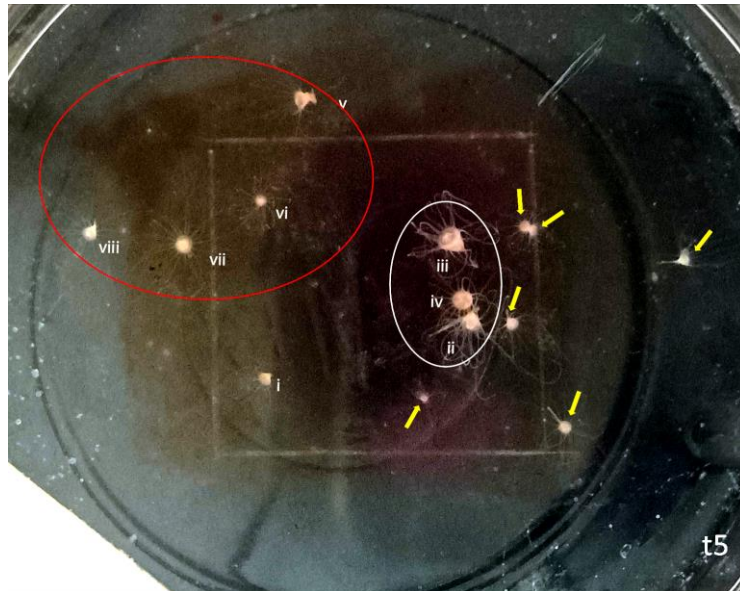


Figura 3.10: Dieta Mix, replica R3Mix al tempo 5 (“t5”). I polipi cerchiati in rosso tendono ad aumentare le loro distanze, mentre i polipi cerchiati in bianco si avvicinano nel tempo e sono quelli che presentano il polichete all’interno della cavità gastrovascolare. Le frecce gialle indicano i nuovi nati, presumibilmente formati tramite gemmazione dai tre polipi cerchiati in bianco (6 totali).

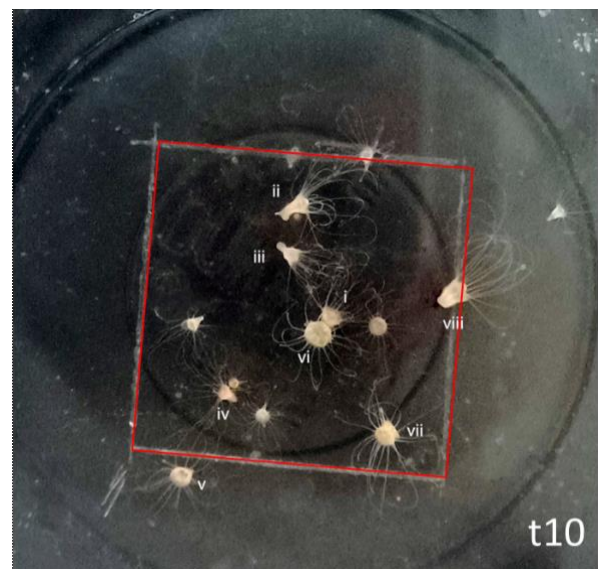


Figura 3.11: Replica R1Mix al tempo 1 (“t1”) e al tempo 10 (“t10”). Il quadrato rosso indica l’area centrale di 4cm² tracciata sul fondo della piastra Petri, in cui i polipi sono stati fatti aderire prima dell’inizio dell’esperimento; si può osservare la tendenza dei polipi a rimanere all’interno dell’area centrale fino alla fine del periodo sperimentale (“t10”).

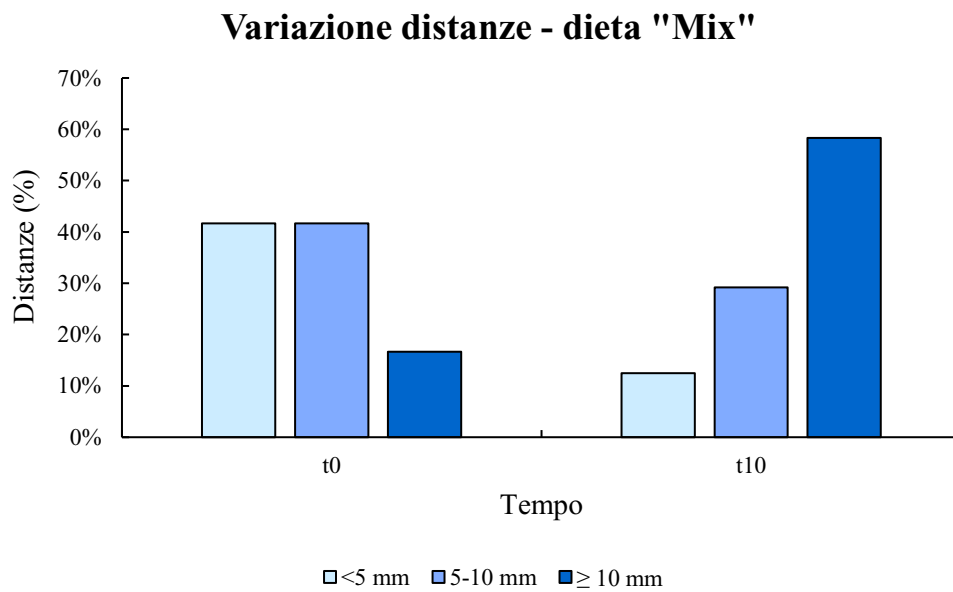


Figura 3.12: Variazione delle distanze tra i polipi alimentati con la dieta Mix. Le distanze sono suddivise in tre intervalli (< 5 mm, 5 - 10 mm e > 10 mm), e sono riportate le percentuali delle distanze tra individui che rientrano in questi intervalli, al tempo 0 ("t0") e al ("t10").

Il tasso di riproduzione a sessuata risultante da questo tipo di dieta raggiunge il 100% (valore medio tra le repliche), indicando che la popolazione iniziale in media raddoppia la sua numerosità. In particolare, nella terza replica (R3Mix), tra il t1 e il t5 si formano 6 nuovi individui (+75%) indicati dalle frecce gialle in figura 3.10, che diventano 9 al t10, risultando in un aumento della popolazione del 112.5%. Dalle loro posizioni, si può supporre che questi nuovi polipi siano stati formati dai 3 individui adulti che rimangono vicini, e che quindi mangiano il polichete. Analogamente, nelle altre due repliche si registrano 6 e 9 nuovi individui indipendenti al t10 (+75% e + 112.5% rispettivamente). Si nota inoltre che i polipi che ricevono la dieta "Mix", producono due generazioni figlie:

ciò significa che i polipi formati durante l'esperimento tramite gemmazione laterale a partire dalla popolazione iniziale, si riproducono a loro volta, formando nuovi polipi indipendenti.

3.1.4 Confronto del tasso di riproduzione, della crescita individuale e del livello di aggregazione dei polipi tra diete

Al fine di osservare la presenza di eventuali differenze tra le diete, i valori di MDD e distanza (espressi in percentuale dei polipi che rientrano nei tre intervalli dimensionali) sono stati confrontati tra il tempo iniziale (t_0) e il tempo finale (t_{10}). Per quanto riguarda la crescita individuale, si osserva che la maggiore crescita è data dalla dieta a base di *A. salina* (75%), superiore rispetto alla dieta "Syllis" (41.67%) e "Mix" di (62.50%). Inoltre, si osserva che i polipi che dimostrano un minore accrescimento delle loro dimensioni fanno parte delle repliche che hanno ricevuto la dieta "Syllis", la cui differenza percentuale media di MDD superiore a 1 mm tra t_0 e t_{10} rimane invariata. Interessante notare che in questa dieta i polipi rientranti negli intervalli <0.8 e $0.8-1$ mm rimangono pressoché invariati in numero tra il tempo iniziale e finale (-4.17% e 4.17% rispettivamente). Al contrario, i polipi che rientrano in questi due intervalli, ma alimentati con le altre due diete, diminuiscono molto: la percentuale di polipi con $MDD < 0.8$ mm diminuisce del 45.83% mentre quella con MDD compreso tra 0.8 e 1 mm diminuisce del 16.67% con dieta "Artemia"; analogamente questi stessi intervalli diminuiscono rispettivamente del -29.17% e del -16.67% nella

dieta “Mix” (figura 3.13). Questo trend si può notare nel grafico in figura 3.14, in cui sono riportati i valori medi dei diametri orali dei polipi, calcolati a loro volta come media tra le repliche e suddivisi per dieta, dal tempo iniziale (t_0) al tempo finale (t_{10}) dell’esperimento. Si può infatti notare che la crescita maggiore media si ha in seguito alla somministrazione della dieta “Mix”, mentre quella minore avviene nelle repliche che ricevono la dieta “Syllis”. L’analisi della varianza a misure ripetute indica un chiaro effetto della dieta nel tempo per quanto riguarda la crescita dei polipi (RM – ANOVA: $p=0.003$). I confronti pianificati (t -tests) che comparano il diametro orale medio dei polipi tra il tempo iniziale e il tempo finale tra le diverse diete indicano una differenza significativa tra le diete “Artemia” e “Syllis” ($p=0.023$) e tra le diete “Syllis” e “Mix” ($p=0.044$), mentre tra le diete “Artemia” e “Mix” non vi sono differenze significative evidenziate dal t -test ($p=0.779$).

Confronto tra diete – crescita individuale

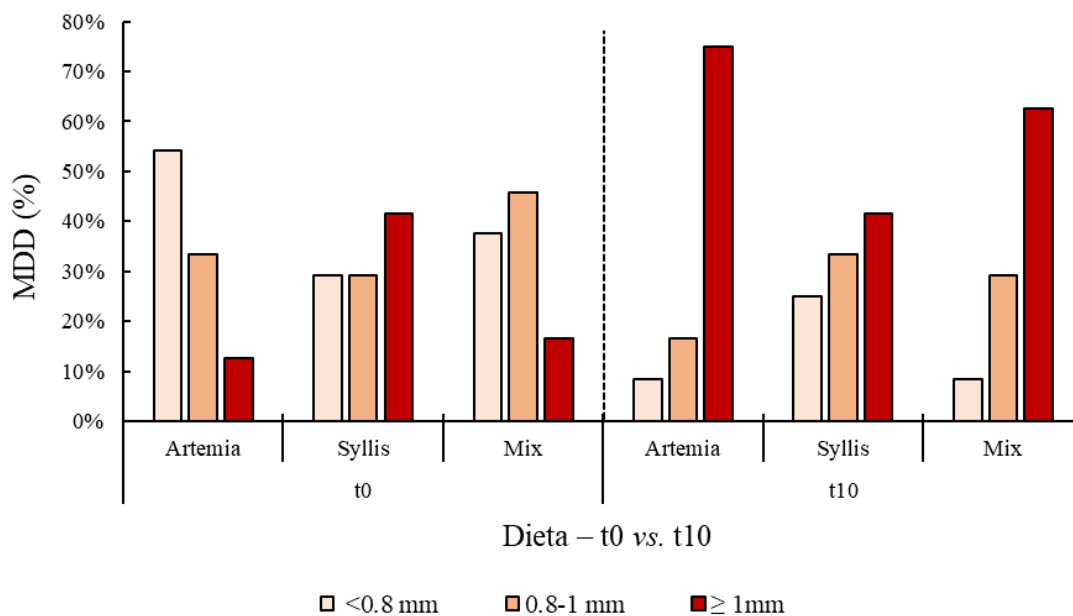


Figura 3.13: Confronto delle percentuali del diametro orale dei polipi in base alla dieta ricevuta. I diametri orali (MDD, mm) sono suddivisi in intervalli (< 0.8 mm, $0.8 - 1$ mm e ≥ 1 mm). Sono riportate le percentuali dei diametri orali dei polipi che rientrano in questi intervalli, al tempo 0 (“t0”) e al tempo 10 (“t10”).

Confronto tra diete - crescita individuale media

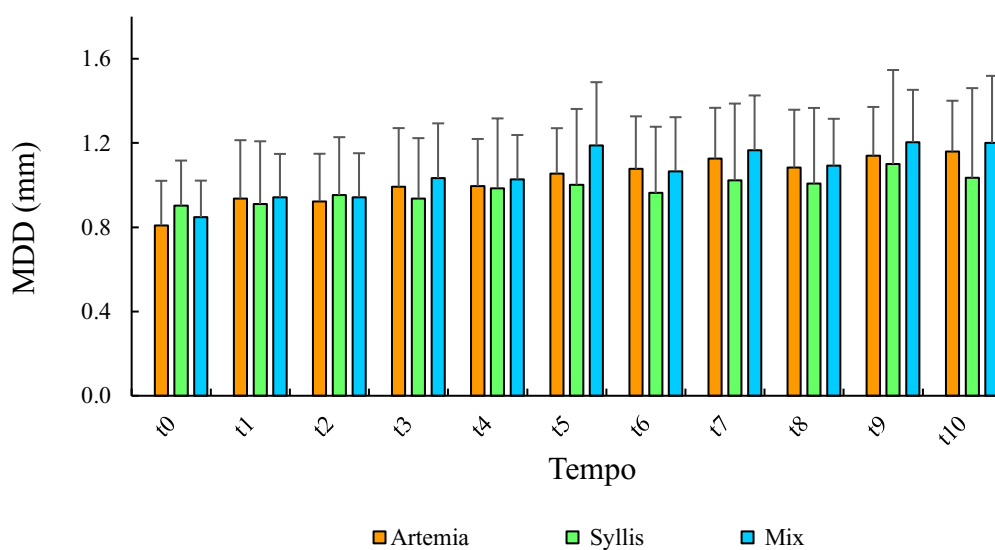


Figura 3.14: Confronto della crescita del diametro orale (MDD, mm), calcolata come media tra i polipi di una replica e media tra le repliche delle tre diete, dal tempo 0 (“t0”) al tempo 10 (“t10”). Le barre di errore si riferiscono alla deviazione standard.

Per quanto riguarda il livello di aggregazione dei polipi sottoposti a diete diverse e al suo cambiamento durante il periodo dell'esperimento, il confronto delle loro distanze permette di osservare che il numero di polipi che rientrano nell'intervallo ≥ 10 mm aumenta molto nelle repliche che hanno ricevuto la dieta "Artemia", da 20.83% al t0 al 75% al t10 (figura 3.15). Questo aumento indica che i polipi che si nutrono di *A. salina* tendono ad allontanarsi gli uni dagli altri di più rispetto alle repliche delle altre due diete; infatti, nella dieta "mix" si osserva una percentuale pari a 58.33% di distanze maggiori o uguali a 1 mm, con un incremento dal t0 al t10 del 45.83%. È interessante notare che anche per quanto riguarda le distanze i polipi che hanno ricevuto la dieta "Syllis" non hanno subito particolari variazioni (t10-t0: $<5\text{mm} = -4.17\%$; $5-10\text{mm} = -8.33\%$; $\geq 10\text{ mm} = 12.50\%$). Confrontando le distanze medie (figura 3.16) tra i polipi delle repliche di ciascuna dieta, si osserva che i valori più elevati sono rappresentati dalle repliche che hanno ricevuto la dieta "Artemia". I polipi delle repliche che hanno ricevuto la dieta "Syllis" riportano in media una differenza tra il t0 e il t10 pari a $3.70\text{ mm} \pm 3.472$, che indica il loro distanziamento. Per quanto riguarda la dieta "Mix", si nota un aumento delle distanze medie tra il t0 e il t10 minore rispetto alla dieta "Artemia", ma maggiore rispetto alla dieta "Syllis" ($8.83\text{ mm} \pm 5.186$), indicando una tendenza ad allontanarsi meno accentuata rispetto ai polipi che avevano a disposizione solo la preda zooplanctonica di piccole dimensioni. Anche in questo caso l'analisi della varianza a misure ripetute evidenzia un effetto della dieta nel tempo per quanto riguarda le distanze tra i polipi, e quindi il loro

livello di aggregazione (RM – ANOVA, $p=0.000$). I confronti pianificati (t -tests) che comparano le distanze medie tra i polipi soggetti alla somministrazione delle tre diete tra il tempo iniziale e il tempo finale indicano una differenza significativa tra le diete “Artemia” e “Syllis” ($p=0.018$), mentre tra le diete “Artemia” e “Mix” e “Syllis” e “Mix” non vi sono differenze significative evidenziate dal t -test (rispettivamente $p=0.108$ e $p=0.420$).

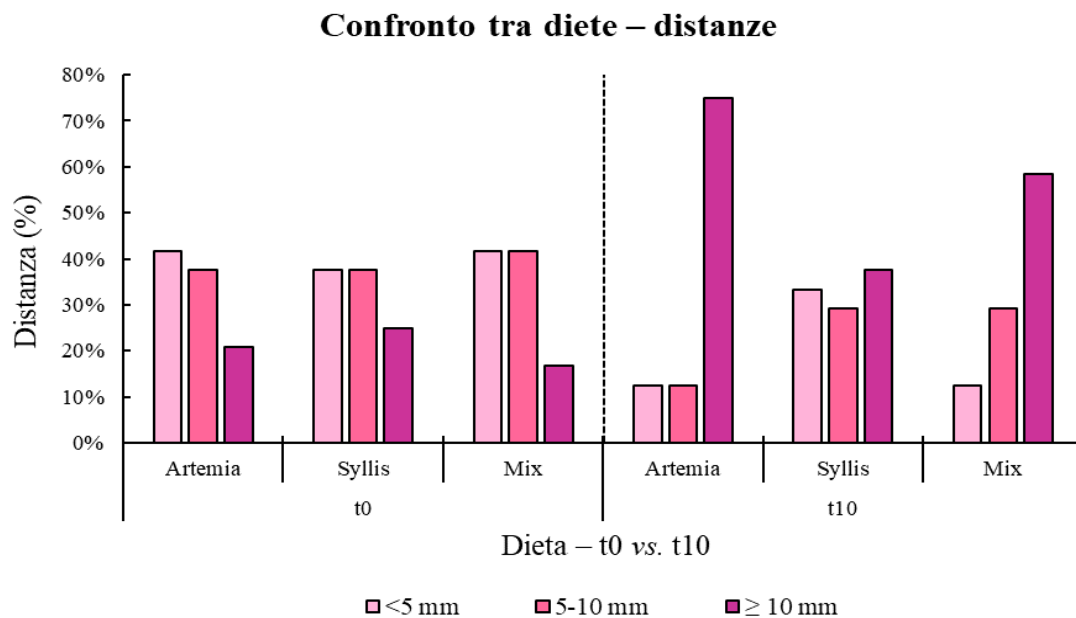


Figure 3.15: Confronto delle percentuali delle distanze tra i polipi in base alle diete ricevute. Le distanze sono suddivise in intervalli (< 5 mm, 5 - 10 mm e ≥ 10 mm). Sono riportate le percentuali delle distanze tra individui che rientrano in questi intervalli, al tempo 0 (“t0”) e al (“t10”).

Confronto tra diete - distanza media

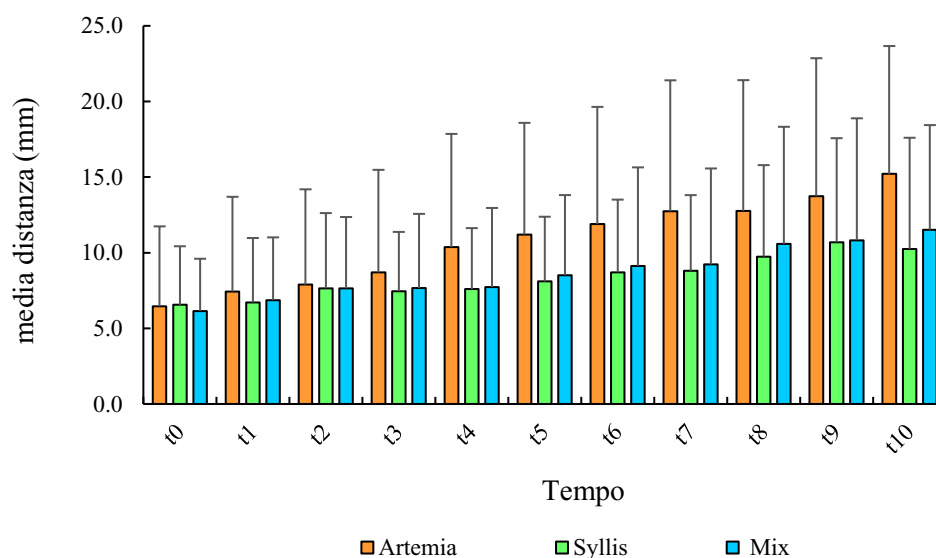


Figura 3.16: Confronto delle distanze (mm), calcolate come media delle distanze tra i polipi di una replica e media tra le repliche delle tre diete, dal tempo 0 (“t0”) al tempo 10 (“t10”). Le barre di errore si riferiscono alla deviazione standard.

Sia dall’osservazione fotografica che dall’analisi grafica, il tasso di riproduzione maggiore si registra nei polipi con la dieta “Mix”, con un totale di 24 nuovi nati al tempo t10, rappresentante la somma degli individui nati nelle tre repliche, mostrando un aumento medio della popolazione del 100%. Contrariamente, nelle diete “Syllis” e “Artemia” si registrano in totale rispettivamente 13 nuovi nati (incremento medio della popolazione = +54.17%) nel primo caso e 10 nuovi nati (incremento medio della popolazione = +41.67 %) nel secondo (figura 3.17). Nonostante ci siano delle differenze tra il numero di nuovi nati, l’analisi della varianza dei dati non evidenzia significatività nell’aumento del numero della popolazione tra le diete (Shapiro-Wilk test per la

normalità dei dati, $p=0.5099$; Levene test per omogeneità della varianza, $p=8557$; ANOVA, $p=0.14$).

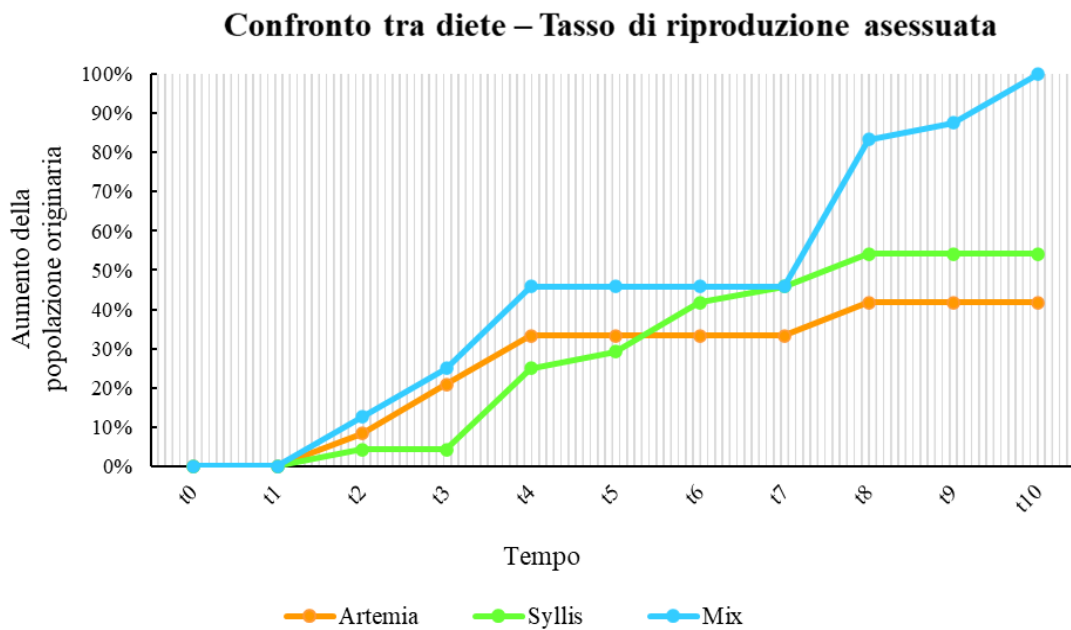


Figura 3.17: Tasso di riproduzione asessuata riferito alle tre diete, calcolato come percentuale di nuovi individui prodotti tramite gemmazione laterale sul totale della popolazione iniziale di otto polipi, in media tra le repliche.

Dal confronto tra le medie degli MDD di ciascuna replica per trattamento con la percentuale dei nuovi nati dal t0 al t10, si osserva che valori più elevati nel numero dei nuovi nati (100%) che si registrano nelle repliche della dieta “Mix” sono le stesse che in quasi ogni tempo presentano valori medi degli MDD più elevati rispetto agli altri due trattamenti come precedentemente citato. Anche la dieta a base di *A. salina* favorisce elevati livelli di crescita nei polipi; tuttavia, si osserva che la linea rappresentante la percentuale dei nuovi nati mostra i valori più bassi tra tutte e tre le diete, con un valore pari a 41.67 % al t10 (figura 3.18).

Confronto tra diete – medie di crescita individuale e tassi di riproduzione asessuata

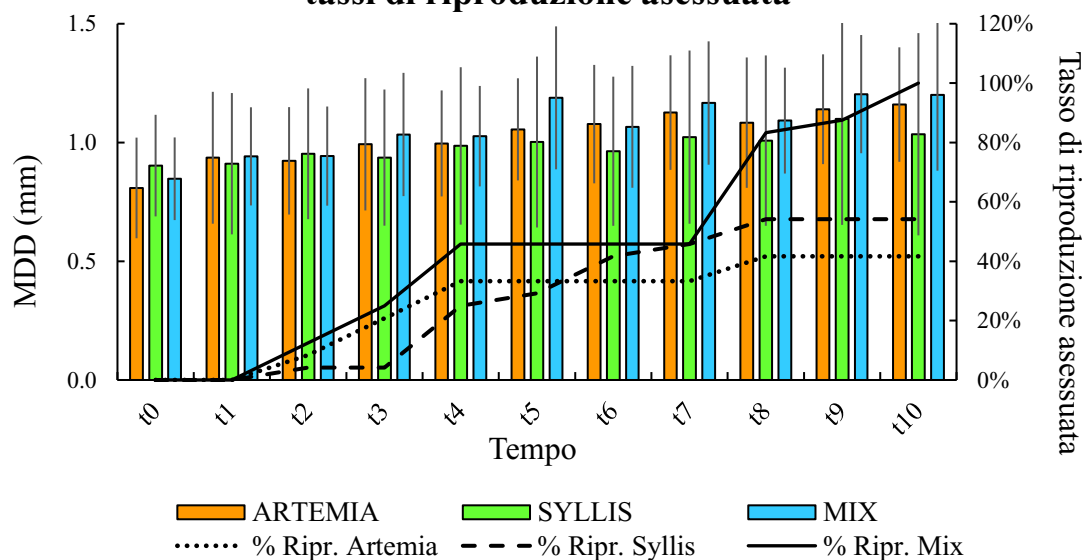


Figura 3.18: Confronto tra la crescita del diametro orale medio tra tutte le repliche e la media dei tassi di riproduzione asessuata calcolata tra le repliche di ciascuna dieta. I valori in percentuale indicano l'aumento del numero di nuovi nati sul totale della popolazione originaria.

3.2 Successo di predazione tramite proto-cooperazione tra polipi di *Aurelia coerulea* per la cattura della preda di grosse dimensioni

In questo esperimento è stato studiato il successo di predazione in relazione al livello di aggregazione dei polipi. Dalle analisi effettuate *a priori* dalle foto scattate prima dell'inizio dell'esperimento tramite l'utilizzo del software ImageJ, è stato possibile evidenziare che la selezione random dei polipi costituenti le popolazioni di 8 individui per ogni replica è stata efficace per quanto riguarda la dimensione dei polipi (MDD: Shapiro-Wilk: $p < 0.05$; Levene test: $p > 0.05$; Kruskal-Wallis test: $p=0.075$), a cui corrisponde un numero di tentacoli che non è significativamente diverso tra i livelli di aggregazione (Shapiro-Wilk: $p < 0.05$; Kruskal-Wallis test: $p=0.762$). La preda di grosse dimensioni è stata anch'essa selezionata in modo casuale e somministrata alle repliche: la lunghezza dei policheti *S. prolifera* utilizzati per l'esperimento non dimostra differenze significative tra i vari livelli di aggregazione (Shapiro-Wilk: $p < 0.05$; Kruskal-Wallis: $p=0.247$). L'area di cattura effettiva nel livello di aggregazione minimo è leggermente superiore a quella misurata *a priori* su un sub-campione di polipi (15.39 mm^2), con un valore calcolato in media pari a $16.81 \text{ mm}^2 \pm 6.171$, mentre è leggermente inferiore per i livelli di aggregazione intermedio e massimo, rispettivamente $13.02 \text{ mm}^2 \pm 1.725$ e $13.40 \text{ mm}^2 \pm 3.792$. Analogamente, la distanza tra i polipi calcolata sulla base dell'area di cattura teorica per ogni livello di aggregazione è leggermente inferiore rispetto a quella effettiva per il livello di aggregazione minimo ($20.50 \text{ mm} \pm 2.000$), così come per il livello di

aggregazione intermedio ($10.88 \text{ mm} \pm 1.019$) e per quello massimo ($6.15 \text{ mm} \pm 0.722$).

La Tabella 3.19 riassume i risultati di tale esperimento, correlati ad altri parametri osservati e calcolati durante l'osservazione, per un periodo di 01:30:00 ore e *a posteriori* (dopo 72 ore dall'eventuale predazione). Si nota che nel livello di aggregazione minimo, 2 repliche su 7 dimostrano successo di predazione (28.57%, figura 3.20). In particolare, in entrambi i casi la cattura è stata effettuata da 1 solo polipo. È interessante notare come il tempo trascorso dal primo tocco tra i tentacoli del polipo e la preda fino alla sua paralisi e/o morte sia molto variabile tra le due repliche, con la durata di 4 minuti nel primo caso e ben 43 minuti nel secondo. Lo stesso polipo che cattura il polichete in entrambe le repliche è l'unico che mostra la cavità gastrovascolare piena dopo 72 ore. In entrambe le repliche si nota che la preda non viene interamente ingerita: dopo 72 ore essa si trova sul fondo della vaschetta e dimostra uno stato di degradazione del tessuto rispettivamente pari a 1, cioè non è più riconoscibile o presente in pezzi, e 0.5, cioè parzialmente consumata.

Riguardo al livello di aggregazione intermedio, la predazione avviene in 5 repliche su 7, mostrando un successo del 71.43% (figura 3.20). Anche in questo caso, il tempo trascorso tra il primo tocco del polichete con i tentacoli dei polipi fino alla morte e/o paralisi della preda varia da un minimo di 1:37 minuti ad un massimo di 8:08 minuti, mentre nei casi in cui il polichete riesce a fuggire grazie a rapidi movimenti e contorsioni, il periodo di fuga varia in media 15.9 secondi

± 1.21 . Nonostante l'alto successo di predazione, si nota che solo in due repliche i polipi collaborano per catturare la preda ($n=2$), mentre negli altri 3 casi, come notato nel livello minimo di aggregazione, il polichete viene catturato da un solo polipo. Anche in questo caso, dopo 72 ore i polipi che mostrano cavità gastrovascolare piena sono gli stessi che hanno partecipato alla cattura della preda. Nelle due repliche in cui la preda viene condivisa tra due polipi, la seguente suddivisione dura 53 e 37 minuti rispettivamente, e quest'ultima viene interamente ingerita (degradazione del tessuto =1).

Infine, per il livello di aggregazione massimo, la cattura avviene in 4 repliche su 7, con un successo di predazione pari a 57.14% (figura 3.20). Inoltre, in tutte le repliche che mostrano successo predatorio, la cattura viene effettuata da un solo polipo, ad eccezione della seconda replica (R2) in cui il polichete viene catturato in seguito alla collaborazione di 3 polipi. In questo caso la preda viene interamente ingerita, la sua paralisi avviene in 7 minuti, mentre, la sua suddivisione dura più di un'ora e mezza, corrispondente al tempo massimo di osservazione stabilito dal metodo sperimentale. Dopo 72 ore, gli stessi tre polipi sono gli unici ad avere la cavità gastrovascolare piena, così come tutti gli altri polipi che singolarmente hanno catturato e ingerito il polichete. Pertanto, nella figura 3.20 si osserva che la percentuale di successo di cattura è maggiore per le repliche dei polipi appartenenti al livello di aggregazione intermedio ($0.90 \text{ cm} \pm 0.17$) con un valore di 71.43%.

<i>Repliche</i>	<i>Cattura</i>	<i>Fuga per autotomia/ movimenti rapidi</i>	<i>N° polipi coinvolti nella cattura</i>	<i>N° polipi con cavità gastrica piena</i>	<i>Livello di degradazione del tessuto della preda</i>	<i>Tempo trascorso da primo contatto a paralisi e/o morte</i>	<i>Tempo trascorso per la divisione della preda tra più polipi</i>
MIN R1	No	Movimento	-	0	-	0:00:25	-
MIN R2	No	Movimento	-	0	-	0:00:17	-
MIN R3	Si	-	1	1	1	0:04:00	-
MIN R4	No	Movimento	-	0	-	0:00:21	-
MIN R5	Si	-	1	1	0.5	0:43:00	-
MIN R6	No	Movimento	-	0	-	0:00:05	-
MIN R7	No	Movimento	-	0	-	0:00:01	-
INT R1	No	Movimento	-	0	-	0:00:16	-
INT R2	Si	-	1	1	1	0:03:00	-
INT R3	Si	-	1	1	1	0:08:08	-
INT R4	Si	-	2	2	1	0:01:37	0:53:00
INT R5	Si	-	2	2	1	0:04:00	0:37:00
INT R6	Si	-	1	1	1	0:04:27	-
INT R7	No	Movimento	-	0	-	0:00:15	-
MAX R1	No	Movimento	-	0	-	0:00:01	-
MAX R2	Si	-	3	3	1	0:07:00	> 1:30:00
MAX R3	Si	-	1	1	1	0:14:00	-
MAX R4	Si	-	1	1	0.5	0:23:00	-
MAX R5	No	Movimento	-	0	-	0:02:00	-
MAX R6	Si	-	1	1	1	0:09:00	-
MAX R7	No	Movimento	-	0	-	0:00:14	-

Tabella 3.19: Tabella dei dati raccolti durante l'esperimento. In rosso le repliche in cui due o più polipi hanno collaborato per la cattura della preda.

Successo di predazione

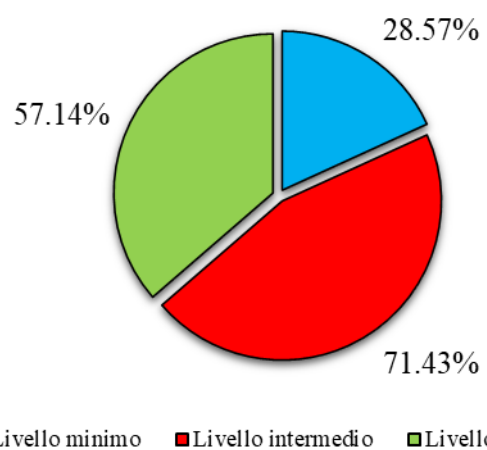


Figura 3.20: Percentuale di successo di predazione dei polipi distribuiti nei tre livelli di aggregazione: minimo, intermedio e massimo.

4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

4.1 Tassi di riproduzione, crescita individuale e livello di aggregazione dei polipi di *Aurelia coerulea* sottoposti a tre regimi di dieta differenti

Lo scopo di questo lavoro sperimentale è stato quello di valutare la crescita individuale, il tasso di riproduzione asessuale tramite gemmazione laterale e il livello di aggregazione di otto polipi di *Aurelia coerulea* in seguito alla somministrazione di tre differenti regimi alimentari: una preda zooplanctonica (“Artemia”), una preda di grosse dimensioni (“Syllis”) e entrambe insieme (“Mix”), per un periodo di 36 giorni. La modalità di foraggiamento delle due prede da parte dei polipi richiede una strategia sospensivora nel primo caso e una cattura collettiva nel secondo, definita proto-cooperazione da Musco et al. (2018). La dieta “Mix” rappresenta maggiormente la disponibilità di cibo in ambiente naturale, dove le prede mesozooplanctoniche difficilmente scarseggiano e le prede di grosse dimensioni sono risorse effimere, talvolta abbondanti (Musco et al., 2018). Studiando le tre variabili di risposta *a posteriori* tramite analisi fotografica, si è potuto constatare il differente effetto sui polipi del tipo di dieta somministrata. La qualità del cibo influenza molti aspetti del ciclo di vita degli scifozoi e ricopre un ruolo decisivo nel determinare la dimensione di una popolazione, influenzandone non solo i tassi di crescita e di riproduzione, ma anche il processo di strobilazione, la tolleranza allo stress (Ishii & Watanabe 2003; Toekoelyi, et al., 2016; Chi et al., 2019), e la messa in atto di fasi dormienti

e stadi di resistenza, strategie atte alla sopravvivenza a condizioni ambientali avverse (Schiariti et al., 2015). Dai risultati sperimentali ottenuti, per quanto riguarda la crescita somatica individuale, la dieta “Artemia” comporta un incremento omogeneo del diametro orale dei polipi: essi crescono gradualmente con un tasso costante dalla prima somministrazione della dieta fino alla fine del periodo di osservazione; al contrario, i polipi che hanno ricevuto la dieta “Syllis” mostrano delle differenze all’interno di ciascuna replica: infatti, alcuni riescono a catturare ed ingerire il polichete ed aumentano molto le loro dimensioni, con un incremento che in certi casi tocca l’83.9%. Diverso è il tasso di crescita di quei polipi che sono troppo lontani dal sito di cattura del polichete, determinato casualmente dalla somministrazione manuale, e che non riescono ad approfittarne restando quindi a digiuno. Questi polipi rimangono nel tempo molto piccoli, e nel 45.8% dei casi decrescono leggermente (in media di $-0.12 \text{ mm} \pm 0.08$). La relazione tra la riduzione di taglia dei polipi e prolungati periodi di digiuno è riportata in diverse specie di *Aurelia*, sia in condizioni di laboratorio che in ambiente naturale (Spangenberg, 1967, Wang et al., 2018; Purcell et al., 2019); la quantità di cibo ingerita influenza il processo di degenerazione dei polipi di *A. relict*a in forme dormienti, una strategia per la sopravvivenza durante periodi caratterizzati da condizioni avverse (Hubot et al., 2017). Considerando queste differenze interne alle repliche “Syllis”, non sorprende che la media calcolata tra tutti gli individui sia leggermente inferiore rispetto alla media dei diametri orali dei polipi ai quali è stata somministrata la dieta “Artemia”: questo è dovuto al

fatto che la media viene calcolata su tutti i valori misurati, quelli più piccoli così come quelli più grandi, e quindi si avvicina ad un valore simile a quello dei polipi alimentati con *A. salina* che, al contrario, hanno tutti circa le stesse dimensioni. Infatti, la deviazione standard dei diametri orali, indice della dispersione dei dati in riferimento alla loro media (Bland e Altman, 1996), appare molto diversa quando confrontiamo i dati relativi alle due diverse diete: il valore dei polipi della dieta “Syllis” inizia ad aumentare rispetto a quello della dieta “Artemia” a partire dalla metà del periodo di osservazione, fino a raddoppiarlo alla fine (dev.st. “Artemia”, $t_{10} = \pm 0.241$; dev.st. “Syllis”, $t_{10} = \pm 0.426$).

Oltre alla crescita individuale, che permette la maturazione degli organismi marini e il loro sviluppo da giovani individui in adulti (Ishii e Watanabe, 2003), la quantità di cibo ne influenza anche la riproduzione (Samat et al., 2020), e interviene sulla strategia riproduttiva adottata dai polipi del genere *Aurelia* (Lucas et al., 2012; Schiariti et al., 2014), e sulla percentuale di energia proveniente dall'alimentazione da devolvere alla riproduzione asessuale (Lucas, 2001). La dieta mesozooplanctonica a base di *A. salina* comporta una uniforme disponibilità di cibo per tutti i polipi, che, di conseguenza, mostrano un tasso di riproduzione omogeneo, così come si dimostrava il tasso di crescita. Ogni individuo ha la stessa possibilità degli altri di nutrirsi, e la sua possibilità di crescere e di riprodursi è positivamente correlata alla quantità di cibo, oltre alla sua qualità (Meidel e Scheibling, 1999; Vilchis et al., 2005; Chi et al., 2019; Samat et al., 2020). Diversi studi confermano la relazione tra la produzione di gemme da parte degli scifistomi

di *A. aurita* e la quantità di cibo a disposizione, dove si osserva un aumento della riproduzione asessuata all'aumentare della disponibilità di cibo (Ishii e Watanabe, 2003; Han e Uye, 2010; Hubot et al., 2017). Al contrario, nelle repliche alimentate con *S. prolifera*, come già discusso precedentemente, solo alcuni polipi riescono ad accedere alla risorsa alimentare, mentre altri rimangono a digiuno, in molti casi anche per tutta la durata dell'esperimento. Il numero complessivo di nuovi polipi, indice del tasso di riproduzione, è simile a quello della dieta "Artemia", ma la differenza è che i polipi che rimangono a digiuno non si riproducono affatto, presumibilmente conservando le energie per il mantenimento delle funzioni vitali. Il loro diametro orale talvolta diminuisce, probabilmente in risposta alla scarsità di cibo, che può significare l'inizio del passaggio ad una fase dormiente. Al contrario, i polipi che ingeriscono la preda di grandi dimensioni sono gli unici a riprodursi. Poiché la quantità di cibo che le repliche hanno ricevuto è equivalente per tutte le diete (calcolata sul peso secco delle prede), questo dato indica un tasso di riproduzione individuale molto maggiore nei polipi che hanno mangiato il polichete: questi individui producono singolarmente fino a 5 nuovi polipi, rispetto agli individui della dieta "Artemia", in cui lo stesso numero di nuovi polipi è raggiunto grazie al contributo di tutta la popolazione iniziale. I polipi che si nutrono del polichete vanno probabilmente incontro a dei costi energetici legati alla fase di competizione che segue la cattura, durante la quale si spartiscono la preda, e successivamente alla lunga fase di digestione (anche 10 giorni, osservazioni personali). Ciononostante, l'energia

fornita dal polichete appare sufficiente per permettere l'elevato tasso riproduttivo individuale osservato, nonché una considerevole crescita somatica. La destinazione dell'energia derivante dall'alimentazione, infatti, viene suddivisa tra i processi metabolici e le funzioni biologiche, tra cui mantenimento, crescita somatica, riproduzione e processi di degenerazione o rigenerazione (Rinkevich, 1996), influenzando tutte le fasi del ciclo vitale delle diverse specie di *Aurelia* (Shick, 1973; Lucas et al., 1998; Båmstedt et al., 2001).

Un'altra differenza sostanziale osservata nella popolazione di *A. coerulea* valutata durante l'esperimento si riscontra nella distribuzione spaziale dei polipi. I risultati ottenuti confermano le ipotesi iniziali, evidenziando una tendenza all'avvicinamento e alla formazione di aggregazioni tra i polipi che riescono a catturare il polichete (dieta "Syllis" e "Mix"); al contrario, i polipi che non erano alimentati con questo tipo di preda o che comunque non sono riusciti a catturare non mostrano questa tendenza (dieta "Artemia" e "Mix"). La formazione di aggregazioni da parte dei polipi in risposta alla somministrazione di *S. prolifera*, e quindi il loro avvicinamento, potrebbe avere lo scopo di facilitarne la cattura tramite una strategia collaborativa, in linea con l'ipotesi che la proto-cooperazione possa essere un fattore chiave nella formazione di dense aggregazioni nelle popolazioni di cnidari bentonici (Musco et al., 2018). Inoltre, è interessante notare il trend di avvicinamento da parte di alcuni polipi, inizialmente esclusi dalla predazione, verso quelli che catturano ed ingeriscono il polichete. Questo potrebbe essere dovuto a dei meccanismi di riconoscimento della preda nelle

vicinanze. Loomis (1955) e Fulton (1963) descrivono una reazione alimentare dei polipi di *Hydra littoralis* Hyman, 1931 e *Cordylophora* Allman, 1844 a prodotti metabolici rilasciati dalle prede nell'acqua, in particolare glutatione ridotto e l'amminoacido prolina. Una reazione simile si riscontra anche nel gasteropode *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767), in cui è stata osservata la capacità di foraggiare in gruppo grazie all'abilità di intercettare nell'acqua l'odore della preda ferita (*Cassostrea virginica* Gmelin, 1791), (Brown & Alexander 1994). Si ipotizza dunque che i polipi possano essere spinti ad avvicinarsi verso quelli che catturano la preda attratti dal suo odore e quindi più precisamente da qualche composto chimico rilasciato nell'acqua; inoltre, il link tra la produzione di enzimi digestivi e il tipo di preda è stato approfondito da diversi autori (Leal et al., 2014), ma la potenzialità di questi enzimi di attrarre individui conspecifici è ancora sconosciuta. Questi polipi, spinti in un secondo momento ad unirsi al gruppo in cui avviene la cattura, potrebbero agire da cooperatori nell'eventuale successiva predazione collettiva: un aumento del numero dei polipi coinvolti potrebbe portare a un maggiore successo di predazione, poiché, in gruppi cooperativi, il successo di un singolo predatore dipende direttamente da quello del suo compagno (Packer & Ruttan 1988). Ulteriori analisi chimiche dovrebbero essere eseguite per approfondire la natura dei composti rilasciati dalla preda e/o dalla sua digestione, al fine di comprendere le cause che spingono i polipi all'avvicinamento.

Sebbene diversi studi descrivano casi in cui più polipi di cnidari collaborano nella cattura di prede di grandi dimensioni sia in condizioni di laboratorio che in ambiente naturale (Christensen, 1967; Bavestrello et al., 2000; Alamaru et al., 2009; Hoeksema & Waheed 2012; Cerrano et al., 2016; Musco et al., 2018; Gregorin et al., 2022), non sono presenti attualmente altri studi che riportino casi di catture collaborative da parte di polipi di *A. coerulea*.

Se da un lato i polipi che hanno ricevuto la dieta “Syllis” tendono a mantenere pressoché invariate le loro posizioni o a modificarle solo leggermente, diversa è la situazione osservata nei polipi che hanno ricevuto la dieta “Artemia”; in questo caso il livello di aggregazione non segue un vero e proprio trend, in quanto i polipi si distribuiscono in maniera uniforme all’interno delle vaschette. In situazioni dove la disponibilità di risorse, sia di cibo che di spazio, risulta sufficientemente abbondante, e in assenza di predatori o altri fattori esterni (Kaliszewicz, 2013; Melica et al., 2014; Schiariti et al., 2015), si può ipotizzare che la distribuzione uniforme dei polipi all’interno delle repliche “Artemia” sia dovuta ad un distanziamento sufficientemente adeguato per evitare competizioni tra conspecifici ed assicurare ad ogni individuo la massima capacità di cattura delle prede mesozooplanctoniche (Kaliszewicz , 2013).

Ad esempio, è frequentemente riportato che gli scifistomi di *Aurelia aurita* possono staccarsi dal substrato e allontanarsi ad una certa distanza dai polipi vicini, così da ridurre al minimo i possibili effetti densità-dipendenti, diminuendo di conseguenza la competizione per le risorse disponibili (Schiariti et al., 2014;

2015). Seguono la stessa dinamica anche gli individui delle generazioni figlie, che qualche giorno dopo il distacco dal genitore tendono a disporsi ad una distanza paragonabile a quella mantenuta dagli altri polipi. L'allontanamento dagli individui parentali è stato precedentemente descritto nei polipi di *A. coerulea* e *A. relicta*, che in questo modo diminuiscono la pressione dovuta alla competizione intraspecifica (Hubot et al., 2017). Va osservato, inoltre, che la densità di partenza all'interno delle repliche era di 2 individui per cm². In ambiente naturale, le densità osservate in popolazioni di *Aurelia aurita* nella fase polipoide nel Mare Adriatico centro-settentrionale (Di Camillo et al., 2010) variano dai minimi inizio-primaverili di 12-20 individui/cm², ai massimi estivi di 45 ind./cm², e corrispondono alle densità descritte da Hernroth & Gröndhal (1983) nel Mare del Nord, mentre Miyake et al. (2002) riportano densità che raggiungono gli 88 ind./cm² nella baia di Kagoshima (Giappone). In condizioni di laboratorio, gli scifistomi possono aggregarsi fino a raggiungere i 60 ind./cm² (Gröndhal, 1988; 1989). Nonostante ci possano essere differenze interspecifiche tra diverse specie di *Aurelia* e differenze stagionali che comportano fluttuazioni di densità (Di Camillo et al., 2010), i motivi che spingono i polipi a formare densi aggregati sono molteplici, tra cui competizione intra- ed interspecifica in situazioni di limitazione di risorse, predazione, (Hernroth & Gröndhal, 1985), riproduzione tramite gemmazione (Melica et al., 2014), e reclutamento larvale gregario (Burke, 1983; Gröndhal, 1989). Un ulteriore motivo che potrebbe spiegare l'elevata densità che si ritrova in ambiente naturale è dimostrato dai

risultati ottenuti dall'esperimento, in cui il foraggiamento collettivo di una preda di grandi dimensioni comporta l'avvicinamento dei polipi ed il mantenimento di questa vicinanza nel tempo.

Nella dieta "Mix" si osservano entrambe le situazioni riportate precedentemente sia riguardo la crescita individuale che il livello di aggregazione tra i polipi. Si riscontra un aumento dei diametri orali non solo nei polipi che si nutrono di *S. prolifera*, ma anche in quelli che si nutrono di *A. salina*, seppure in misura inferiore. Questo spiega la maggiore crescita media dei polipi, rispetto alle altre due diete. Una delle differenze con la dieta "Syllis" è che i polipi che non riescono a catturare il polichete si nutrono comunque di *A. salina*, e questo pare escludere il loro interesse ad avvicinarsi al gruppo collaborativo per la predazione di *S. prolifera*. Pertanto, si nota la formazione di piccoli sottogruppi di polipi che catturano la preda di grandi dimensioni, ma non si nota un trend di avvicinamento dei conspecifici ad essi. Analogamente a quanto succede tra gli individui della dieta "Artemia", i polipi che mangiano *A. salina* seguono un trend di allontanamento con una distribuzione più o meno uniforme.

I tassi più alti di riproduzione asessuata si registrano nelle repliche che hanno ricevuto questa dieta, con un numero di nuovi polipi maggiore e la formazione di due generazioni figlie anziché una. Questa maggiore produzione potrebbe essere dovuta proprio alla diversa natura dei due alimenti somministrati, che nel complesso rendono la dieta più ricca in termini nutrizionali: la presenza combinata del polichete e dei nauplii, che già da soli soddisfano il fabbisogno

energetico dei polipi (Wang et al., 2015) potrebbe complessivamente aumentarne il valore nutritivo, influenzando positivamente sulla riproduzione asessuata dei polipi (Chi et al., 2019). In generale i policheti, oltre a contenere alti livelli di proteine, lipidi e acidi grassi polinsaturi, contengono anche numerosi composti attivi dal punto di vista ormonale (Meunpol et al., 2005); in diversi studi, infatti, sono stati utilizzati come risorsa alimentare per i gamberetti *Penaeus monodon* Fabricius, 1798, al fine di promuoverne la maturazione e garantirne il successo riproduttivo (Tirado 1996; Meunpol et al., 2005; Leelatanawit et al., 2014);

Nonostante ci siano differenze nel numero dei nuovi polipi a fine esperimento, l'analisi statistica dei dati non evidenzia differenze significative nella crescita delle popolazioni che hanno ricevuto le diverse diete. Questo risultato potrebbe essere relazionato alla durata limitata dell'esperimento e al basso numero di repliche per dieta; pertanto, un esperimento condotto per tempi più lunghi e con un maggior numero di unità sperimentali potrebbe evidenziare maggiori differenze, rilevabili a livello statistico, nella crescita delle popolazioni. Inoltre, dovrebbero essere svolte analisi approfondite riguardo al profilo nutrizionale dei sillidi, famiglia cui appartiene *Syllis prolifera*, per comprendere meglio il loro contributo nutritivo; finora pochi studi hanno focalizzato la loro attenzione sull'effetto che la composizione biochimica delle prede (ad esempio il contenuto di vitamine e acidi grassi) esercita sullo stadio bentonico di *Aurelia* (Chi et al., 2019). Tra questi, uno studio sperimentale riporta la formazione di un numero più elevato di gemme da parte dei polipi di *A. aurita* in seguito alla

somministrazione di alimenti con un alto contenuto di acidi grassi polinsaturi, sebbene non sia però risultata una significativa crescita somatica dei polipi (Chi et al. 2019); inoltre, è stato osservato da Kamiyama (2018) che polipi di *A. aurita* alimentati con organismi microzooplanctonici (piccoli organismi unicellulari ciliati) investono le loro energie principalmente nella produzione di nuovi polipi invece che nella crescita individuale, mostrando tassi di riproduzione molto più alti rispetto a quelli sottoposti ad una dieta a base di *A. salina*; quest'ultima, al contrario, sembra avere un effetto maggiore sulla crescita somatica dei polipi (Kamiyama, 2018); questi dati sono in accordo con le nostre osservazioni che suggeriscono che i polipi alimentati con la dieta "Artemia" investano le loro energie prevalentemente nella crescita somatica poiché in queste repliche si registra proprio il numero minore di nuovi polipi.

4.1.2 Conclusioni e prospettive future

In conclusione, le ipotesi di partenza sono state confermate dall'analisi delle osservazioni e dei dati sperimentali. I risultati attesi rispetto alla differenza nella distribuzione spaziale dei polipi sono stati effettivamente osservati: si riporta il distanziamento tra i polipi al fine di evitare la competizione intraspecifica in presenza di prede mesozooplantoniche, e un avvicinamento tra conspecifici che favorisce la loro collaborazione per lo sfruttamento di una risorsa alimentare di grandi dimensioni. Anche la crescita somatica soddisfa le ipotesi iniziali, in quanto risulta uniforme in seguito ad alimentazione sospensiva,

contrariamente alla crescita differenziata degli individui della popolazione dovuta a protocoperazione. Inoltre, sebbene non ci fossero previsioni chiare rispetto al tasso di riproduzione asessuata, l'assenza di produzione di nuovi polipi da parte degli individui rimasti esclusi dalla predazione collettiva confermano i vantaggi di questa strategia solo per i polipi coinvolti. Inoltre, la somministrazione della dieta mista mostra l'unione degli effetti delle diete singole, rispecchiando le differenze nei valori delle variabili di risposta.

Le differenze ottenute da questo studio sperimentale evidenziano inoltre la necessità di approfondire alcuni aspetti:

- le risposte a diversi regimi alimentari da parte dello stadio bentonico di *Aurelia*, in quanto la maggior parte di studi presenti focalizzano l'attenzione sul suo stadio planctonico (Lucas, 2001; Whang et al., 2015);
- la composizione nutrizionale delle prede fornite, per comprendere meglio alcuni aspetti legati non solo al tasso di crescita e di riproduzione, ma anche alla destinazione dell'energia derivante dall'alimentazione ai vari processi metabolici e funzioni biologiche; inoltre, mancano attualmente studi sperimentali che concentrino l'attenzione sugli effetti della somministrazione di una dieta mista ai polipi di *Aurelia* e sul ruolo che diversi tipi di prede di grandi dimensioni potrebbero avere nel garantire o meno il loro successo riproduttivo;
- la durata del comportamento cooperativo attraverso un esperimento condotto su tempi più lunghi con una contemporanea registrazione di un

video in time-lapse; questo potrebbe aiutare a chiarare il momento in cui questa fase si verifica. Dato che le strategie proto cooperative finora sono state riportate solo in forma di osservazioni in ambiente naturale (Musco et al., 2018; Ter Horst & Hoeksema, 2021; Gregorin et al., 2022), sarebbe interessante studiarle da un lato in condizioni di laboratorio e dall'altro in condizioni naturali misurando in modo più dettagliato tempi delle fasi e distanze tra individui. Queste indagini potrebbero mostrare che questo comportamento si verifica in molte più specie di invertebrati bentonici di quanto in realtà si pensi. Inoltre, permetterebbe di descrivere anche il comportamento competitivo, che ha luogo durante la successiva suddivisione della preda tra i polipi coinvolti nella cattura. Qualora si manifesti competizione, la misurazione della sua durata e della sua intensità, in termini di spesa energetica, potrebbe essere necessaria per quantificare i costi dovuti alla cattura e alla spartizione della preda, dal momento che la strategia proto cooperativa è tanto più vantaggiosa quanto è meno intensa la fase competitiva successiva (Gregorin et al., 2022).

4.2 Successo di predazione tramite proto cooperazione tra polipi di *Aurelia coerulea* per la cattura della preda di grandi dimensioni

Lo scopo principale di questo lavoro sperimentale è stato quello di testare la capacità dei polipi di *A. coerulea* di catturare una preda di grandi dimensioni

(*Syllis prolifera*) in relazione al loro livello di aggregazione, ipotizzando che la vicinanza tra i polipi possa essere un fattore determinante nel garantire un maggiore successo della cattura collettiva. Per testare questa ipotesi, sono stati allestiti tre livelli di aggregazione, minimo, intermedio e massimo. I risultati ottenuti evidenziano una maggiore percentuale di successo (71.4%) quando i polipi si trovano ad una distanza l'uno dall'altro di $0.90 \text{ cm} \pm 0.17$ (livello intermedio), mentre la percentuale di cattura più bassa (28.6%) si registra, come ipotizzato, nel livello di aggregazione minimo (distanza tra polipi di $1.8 \text{ cm} \pm 0.37$), nel quale la cattura del polichete è avvenuta solo in due repliche su sette da parte di un singolo polipo. Il motivo per cui un solo individuo di piccole dimensioni riesce a catturare una preda fino a 10 volte più grande può dipendere dal metodo di somministrazione della preda stessa, che, essendo rilasciata dall'alto per non influire sulla sua destinazione, spesso cade in acqua in posizione arrotolata. Questa posizione facilita il polipo nel prendere contatto con differenti porzioni del corpo della preda mediante i numerosi tentacoli che contengono cnidocisti, inducendone la paralisi. Analogamente, se il polichete viene inizialmente catturato da un solo polipo mediante contatto dei tentacoli con la porzione pro-peristomiale, l'autotomia metamerica periferica non risulta più possibile e l'animale è rapidamente destinato alla paralisi, a meno che movimenti molto decisi e repentini gli permettano di fuggire. La predazione di animali a partire dal lato orale è riportata negli scifistomi di *Aurelia* e *Cyanea* Péron &

Lesueur, 1810, che si alimentano della preda a partire dall'estremità cefalica (Östman, 1997).

A differenza del livello di aggregazione minimo, in quello intermedio e massimo si registrano casi in cui la cattura della preda avviene per proto cooperazione; in particolare nel primo caso si osserva la collaborazione tra polipi in due repliche, e in entrambe la preda viene catturata da due polipi, mentre nel secondo caso la predazione collettiva viene attuata in una sola replica da 3 individui. Tuttavia, la presenza di un alto numero di catture effettuate da un singolo polipo anche in questi due livelli comporta una sovrastima del successo di proto cooperazione.

Inoltre, si osserva che i polipi che sono riusciti a catturare e a nutrirsi della preda (sia singolarmente che in gruppo) sono gli unici a mostrare cavità gastrovascolare contenente cibo dopo un periodo sufficientemente lungo (72 ore), e questo ci permette di escludere un'alimentazione saprofaga, cioè l'alimentazione di parti e/o frammenti di animali morti, da parte degli individui esclusi dalla predazione del polichete; il rifiuto di alimentarsi di una organismi morti è riportato anche negli idrozoi del genere *Hydra*, che si nutrono solo di prede vive (Fulton, 1963).

Questo esperimento ha condotto a risultati promettenti per quanto riguarda l'ipotesi iniziale, ossia che un'elevata distanza tra conspecifici comporta un calo nell'utilizzo della strategia proto cooperativa. Inoltre, ha permesso di evidenziare una soglia di distanza massima che permette la predazione collettiva, e che

equivale al livello intermedio, in quanto anche in questo caso avviene protocollazione. Il riconoscimento di questa soglia, in cui i tentacoli di un polipo sfiorano con la parte apicale quelli dei conspecifici più vicini, esclude la necessità della creazione di un reticolo molto denso, formato invece da tentacoli sovrapposti. Questo può essere dovuto al fatto che il polichete, nel tentativo di scappare, viene catturato dai tentacoli del polipo adiacente. Nowak (2006) indica chiaramente che la capacità di fuga della preda è fortemente ostacolata dalla presenza di una rete di conspecifici. Inoltre, al diminuire della distanza inter-individuale, il numero di polipi coinvolti nella cattura collettiva aumenta. I vantaggi delle aggregazioni nello sfruttamento di prede di grandi dimensioni, che rappresentano risorse effimere in ambiente naturale, sono stati riportati da Ryer & Olla (1992), Musco et al., (2018), Triki et al. (2019), MacGregor et al. (2020) e Gregorin et al. (2022). La predazione collettiva di organismi difficili da catturare ed ingerire, inoltre, sembra promuovere la formazione di aggregazioni allo scopo di un foraggiamento collettivo (Packer e Ruttan, 1988).

Nonostante questi risultati, l'alto numero di predazioni effettuate da un singolo polipo può essere dovuto ad alcuni errori procedurali durante l'attività sperimentale, nella scelta degli organismi in termini di dimensioni e nella somministrazione del polichete alle repliche. Pertanto, si ritiene necessaria l'esecuzione di ulteriori esperimenti con lo stesso schema dei livelli di aggregazione, possibilmente prendendo in considerazione organismi con un

maggiore rapporto di taglia preda/predatore e/o un metodo meno condizionante nella somministrazione della preda.

In conclusione, sebbene il fenomeno della proto-cooperazione sia frequentemente descritto in natura, esso risulta essere ancora poco chiaro poiché gli articoli scientifici ad ora pubblicati a riguardo si basano su osservazioni e descrizioni etologiche. Le modalità e le tempistiche con cui avviene la proto-cooperazione tra conspecifici sono state parzialmente analizzate, tuttavia, appare necessaria una valutazione approfondita che prenda in esame non solo le fasi successive a quella cooperativa, ma anche i benefici e costi che queste comportano.

5. BIBLIOGRAFIA

- Adler, L., & Jarms, G. (2009). New insights into reproductive traits of scyphozoans: special methods of propagation in *Sanderia malayensis* GOETTE, 1886 (Pelagiidae, Semaestomeae) enable establishing a new classification of asexual reproduction in the class Scyphozoa. *Marine Biology*, 156(7), 1411-1420.
- Alamaru, A., Bronstein, O., Dishon, G., & Loya, Y. (2009). Opportunistic feeding by the fungiid coral *Fungia scruposa* on the moon jellyfish *Aurelia aurita*. *Coral Reefs*, 28(4), 865-865
- Allaby M (1998) A dictionary of ecology. Oxford University Press, Oxford, p 440
- Allee, W. C. (1927). Animal aggregations. *The Quarterly Review of Biology*, 2(3), 367-398.
- Allee, W. C. (1931). Co-operation among animals. *American Journal of Sociology*, 37(3), 386-398
- Aloccock, J. (2001). *Etologia. Un approccio evolutivo*. Zanichelli
- Angradi, T. R. (1998). Observations of freshwater jellyfish, *Craspedacusta sowerbyi* Lankester (Trachylina: Petasidae), in a West Virginia reservoir. *Brimleyana*, 34-42.
- Asem, A., Rastegar-Pouyani, N., & De Los Ríos-Escalante, P. (2010). The genus *Artemia* leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and

false taxonomical descriptions. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38(3), 501-506.

- Astorga, D., Ruiz, J., & Prieto, L. (2012). Ecological aspects of early life stages of *Cotylorhiza tuberculata* (Scyphozoa: Rhizostomae) affecting its pelagic population success. In *Jellyfish Blooms IV* (pp. 141-155). Springer, Dordrecht.
- Baird, R. W., & Whitehead, H. (2000). Social organization of mammal-eating killer whales: group stability and dispersal patterns. *Canadian Journal of Zoology*, 78(12), 2096-2105.
- Båmstedt, U., Wild, B., & Martinussen, M. (2001). Significance of food type for growth of ephyrae *Aurelia aurita* (Scyphozoa). *Marine Biology*, 139(4), 641-650.
- Barta, Z., McNamara, J. M., Huszar, D. B., & Taborsky, M. (2011). Cooperation among non-relatives evolves by state-dependent generalized reciprocity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1707), 843-848.
- Bavestrello, G., Puce, S., Cerrano, C., & Balduzzi, A. (2000). Life history of *Perarella schneideri* (Hydrozoa, Cytaedidae) in the Ligurian Sea. *Scientia Marina*, 64(S1), 141-146.
- Bland, J. M., & Altman, D. G. (1996). Statistics notes: measurement error. *Bmj*, 312(7047), 1654.

- Brown, K. M., & Alexander Jr, J. E. (1994). Group foraging in a marine gastropod predator: benefits and costs to individuals. *Marine Ecology Progress Series*, 97-105.
- Burke, R. D. (1986). Pheromones and the gregarious settlement of marine invertebrate larvae. *Bulletin of marine science*, 39(2), 323-331.
- Buss, L. W. (1981). Group living, competition, and the evolution of cooperation in a sessile invertebrate. *Science*, 213(4511), 1012-1014.
- Byers, J. E. (2009). Competition in marine invasions. In *Biological invasions in marine ecosystems* (pp. 245-260). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Cairns, S. D., Gerhswin, L. A., Brook, F., Pugh, P. R., Dawson, E. W., Ocaña V, O., ... & Fautin, D. G. (2009). Phylum cnidaria; corals, medusae, hydroids, myxozoa. *New Zealand Inventory of Biodiversity. Volume 1. Kingdom Animalia: Radiata, Lophotrochozoa, Deuterostomia*.
- Cerrano C, Previati M, Castellano L, Gridelli S, Di Camillo CG (2016) Jelly-eating anthozoans: an underestimated trophic net. JBS Poster Presentation, 5th International Jellyfish Bloom Symposium, Barcelona
- Chi, X., Mueller-Navarra, D. C., Hylander, S., Sommer, U., & Javidpour, J. (2019). Food quality matters: Interplay among food quality, food quantity and temperature affecting life history traits of *Aurelia aurita*

(Cnidaria: Scyphozoa) polyps. *Science of the Total Environment*, 656, 1280-1288.

- Christensen, H. E. (1967). Ecology of *Hydractinia echinata* (Fleming)(Hydroidea, Athecata) I. Feeding biology. *Ophelia*, 4(2), 245-275.
- Claro, R., & Lindeman, K. C. (2003). Spawning aggregation sites of snapper and grouper species (Lutjanidae and Serranidae) on the insular shelf of Cuba. *Gulf and Caribbean research*, 14(2), 91-106.
- Cleveland, P. (2011). *Integrated principles of zoology*. McGraw-Hill Higher Education.
- Colin, P. L. (1992). Reproduction of the Nassau grouper, *Epinephelus striatus* (Pisces: Serranidae) and its relationship to environmental conditions. *Environmental Biology of Fishes*, 34(4), 357-377.
- Colombo, G. A., Mianzan, H., & Madirolas, A. (2003). Acoustic characterization of gelatinous plankton aggregations: four case studies from the Argentine continental shelf. *ICES Journal of Marine Science*, 60(3), 650-657.
- Connell, J. H., Hughes, T. P., Wallace, C. C., Tanner, J. E., Harms, K. E., & Kerr, A. M. (2004). A long-term study of competition and diversity of corals. *Ecological Monographs*, 74(2), 179-210.

- Cox, M. J., Watkins, J. L., Reid, K., & Brierley, A. S. (2011). Spatial and temporal variability in the structure of aggregations of Antarctic krill (*Euphausia superba*) around South Georgia, 1997–1999. *ICES Journal of Marine Science*, 68(3), 489-498.
- De Felip, G. (2001). *Recenti sviluppi di igiene e microbiologia degli alimenti*. Tecniche Nuove.
- Di Camillo, C. G., Betti, F., Bo, M., Martinelli, M., Puce, S., & Bavestrello, G. (2010). Contribution to the understanding of seasonal cycle of *Aurelia aurita* (Cnidaria: Scyphozoa) scyphopolyps in the northern Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90(6), 1105-1110.
- Fan, T. Y., Chou, Y. H., & Dai, C. F. (2005). Sexual reproduction of the alcyonacean coral *Lobophytum pauciflorum* in southern Taiwan. *Bulletin of marine science*, 76(1), Ferguson, N., White, C. R., & Marshall, D. J. (2013). Competition in benthic marine invertebrates: the unrecognized role of exploitative competition for oxygen. *Ecology*, 94(1), 126-135.43-154.
- Fitzgerald, M. R., & Ives, A. R. (2017). Conspecific attraction drives intraspecific aggregations by *Nephila clavipes* spiders. *Ethology*, 123(1), 51-60.

- Försterra, G., & Häussermann, V. (2003). First report on large scleractinian (Cnidaria: Anthozoa) accumulations in cold-temperate shallow water of south Chilean fjords. *Zoologische Verhandelingen*, 345, 117-128.
- Frechette, M., Aitken, A. E., & Page, L. (1992). Interdependence of food and space limitation of a benthic suspension feeder: Consequences for self-thinning relationships. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 83(1), 55-62.
- Fuchs, B., Wang, W., Graspentner, S., Li, Y., Insua, S., Herbst, E. M., ... & Khalturin, K. (2014). Regulation of polyp-to-jellyfish transition in *Aurelia aurita*. *Current Biology*, 24(3), 263-273.
- Fulton, C. (1963). Proline control of the feeding reaction of *Cordylophora*. *The Journal of general physiology*, 46(4), 823-837.
- Gallucci, A. M. & Gambi, M. C. (2014). *Syllis prolifera* Krohn, 1852 (Annelida, Sillidae): A standardised protocol for laboratory culturing of a model species.
- Genzano, G. N. (2005). Trophic ecology of a benthic intertidal hydroid, *Tubularia crocea*, at Mar del Plata, Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85(2), 307-312.

- Giangrande, A., Licciano, M., & Pagliara, P. (2000). La diversità delle diete in Syllidae (Annelida: Polychaeta). *Cahiers de Biologie Marine*, 41(1), 55-66.
- Goin, C. D. (2010). Growth of lactic acid bacteria: influence of proto-cooperation, bacteriophage infection, and prebiotic carbohydrates.
- Gregorin, C., Musco, L., & Puce, S. (2022). Proto-cooperation in *Tubastraea cf. micranthus* to catch large planktonic prey. *Marine Biodiversity*, 52(3), 1-2.
- Gröndahl, F. (1988). Interactions between polyps of *Aurelia aurita* and planktonic larvae of scyphozoans: An experimental study. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 45(1), 87-93.
- Gröndahl, F. (1989). Evidence of gregarious settlement of planula larvae of the scyphozoan *Aurelia aurita*: An experimental study. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 56(1), 119-125.
- Han, C. H., & Uye, S. I. (2010). Combined effects of food supply and temperature on asexual reproduction and somatic growth of polyps of the common jellyfish *Aurelia aurita* sl. *Plankton and Benthos Research*, 5(3), 98-105.
- Herbert-Read, J. E., Romanczuk, P., Krause, S., Strömbom, D., Couillaud, P., Domenici, P., ... & Krause, J. (2016). Proto-cooperation: group hunting sailfish improve hunting success by alternating attacks on

grouping prey. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1842), 20161671.

- Hernroth, L., & Gröndahl, F. (1983). On the biology of *Aurelia aurita* (L.)
1. Release and growth of *Aurelia aurita* (L.) ephyrae in the Gullmar Fjord, western Sweden, 1982–83. *Ophelia*, 22(2), 189-199.
- Hernroth, L., & Gröndahl, F. (1985). On the biology of *Aurelia aurita* (L.)
3. Predation by *Coryphella verrucosa* (Gastropoda, Opisthobranchia), a major factor regulating the development of *Aurelia* populations in the Gullmar Fjord, western Sweden. *Ophelia*, 24(1), 37-45.
- Hoeksema, B. W., & Waheed, Z. (2012). It pays to have a big mouth: mushroom corals ingesting salps at northwest Borneo. *Marine Biodiversity*, 42(2), 297-302*
- Houlbrèque, F., & Ferrier-Pagès, C. (2009). Heterotrophy in tropical scleractinian corals. *Biological Reviews*, 84(1), 1-17.
- Hubot, N., Lucas, C. H., & Piraino, S. (2017). Environmental control of asexual reproduction and somatic growth of *Aurelia* spp. (Cnidaria, Scyphozoa) polyps from the Adriatic Sea. *PLoS One*, 12(6), e0178482.
- Isenhardt, F. R., & Desante, D. F. (1985). Observations of scrub jays cleaning ectoparasites from black-tailed deer. *The Condor*, 87(1), 145-147.

- Ishii, H., & Watanabe, T. (2003). Experimental study of growth and asexual reproduction in *Aurelia aurita* polyps. *Sessile Organisms*, 20(2), 69-73.
- James, G. A., Beaudette, L., & Costerton, J. W. (1995). Interspecies bacterial interactions in biofilms. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 15(4), 257-262.
- Kamiyama, T. (2018). Planktonic ciliates as food for the scyphozoan *Aurelia coerulea*: feeding and growth responses of ephyra and metephyra stages. *Journal of Oceanography*, 74(1), 53-63.
- Kasper, C., Vierbuchen, M., Ernst, U., Fischer, S., Radersma, R., Raulo, A., ... & Taborsky, B. (2017). Genetics and developmental biology of cooperation. *Molecular ecology*, 26(17), 4364-4377.
- Kotta, J., & Ólafsson, E. (2003). Competition for food between the introduced polychaete *Marenzelleria viridis* (Verrill) and the native amphipod *Monoporeia affinis* Lindström in the Baltic Sea. *Journal of Sea Research*, 50(1), 27-35.
- Kutsukake, N. (2009). Complexity, dynamics and diversity of sociality in group-living mammals. *Ecological Research*, 24(3), 521-531.
- Krause, J., Ruxton, G. D., Ruxton, G., & Ruxton, I. G. (2002). *Living in groups*. Oxford University Press.

- Lapid, E. D., Wielgus, J., & Chadwick-Furman, N. E. (2004). Sweeper tentacles of the brain coral *Platygyra daedalea*: induced development and effects on competitors. *Marine Ecology Progress Series*, 282, 161-171.
- Leal, M. C., Nejstgaard, J. C., Calado, R., Thompson, M. E., & Frischer, M. E. (2014). Molecular assessment of heterotrophy and prey digestion in zooxanthellate cnidarians. *Molecular ecology*, 23(15), 3838-3848.
- Leelatanawit, R., Uawisetwathana, U., Khudet, J., Klanchui, A., Phomklad, S., Wongtripop, S., ... & Karoonuthaisiri, N. (2014). Effects of polychaetes (*Perinereis nuntia*) on sperm performance of the domesticated black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 433, 266-275.
- Loomis, W. F. (1955). Glutathione control of the specific feeding reactions of hydra. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 62(9), 211-227.
- Lucas, C. H., & Lawes, S. (1998). Sexual reproduction of the scyphomedusa *Aurelia aurita* in relation to temperature and variable food supply. *Marine Biology*, 131(4), 629-638.
- Lucas, C. H. (2001). Reproduction and life history strategies of the common jellyfish, *Aurelia aurita*, in relation to its ambient environment. In *Jellyfish blooms: Ecological and societal importance* (pp. 229-246). Springer, Dordrecht.

- Lucas, C. H., Graham, W. M., & Widmer, C. (2012). Jellyfish life histories: role of polyps in forming and maintaining scyphomedusa populations. *Advances in marine biology*, 63, 133-196.
- MacGregor, H. E., Herbert-Read, J. E., & Ioannou, C. C. (2020). Information can explain the dynamics of group order in animal collective behaviour. *Nature communications*, 11(1), 1-8.
- Majolo, B., Huang, P., Vonk, J., & Shackelford, T. (2018). Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior. In *Group Living*. Springer Intern. Publ.
- Matveev, I. V., Adonin, L. S., Shaposhnikova, T. G., & Podgornaya, O. I. (2012). Aurelia aurita—cnidarian with a prominent medusoid stage. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 318(1), 1-12.
- Mehrotra, R., Scott, C. M., & Hoeksema, B. W. (2016). A large gape facilitates predation on salps by Heteropsammia corals. *Marine Biodiversity*, 46(2), 323-324*
- Mehrotra, R., Monchanin, C., Scott, C. M., Phongsuwan, N., Caballer Gutierrez, M., Chavanich, S., & Hoeksema, B. W. (2019). Selective consumption of sacoglossan sea slugs (Mollusca: Gastropoda) by scleractinian corals (Cnidaria: Anthozoa). *PloS one*, 14(4), e0215063

- Meidel, S. K., & Scheibling, R. E. (1999). Effects of food type and ration on reproductive maturation and growth of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 134(1), 155-166.
- Melica, V., Invernizzi, S., & Caristi, G. (2014). Logistic density-dependent growth of an *Aurelia aurita* polyps population. *Ecological Modelling*, 291, 1-5.
- Müller, W. A., & Leitz, T. (2002). Metamorphosis in the Cnidaria. *Canadian journal of zoology*, 80(10), 1755-1771.
- Munteanu, c., Dumitraşcu, m., & sc, b. (2011). *Artemia salina*.
- Musco, L., & Giangrande, A. (2005). Mediterranean Syllidae (Annelida: Polychaeta) revisited: biogeography, diversity and species fidelity to environmental features. *Marine Ecology Progress Series*, 304, 143-153.
- Musco, L. et al. (2018). Protocooperation among small polyps allows the coral *Astroides calycularis* to prey on large jellyfish. *Ecology*, 99, 2400-2401.
- Norris, K. S., & Schilt, C. R. (1988). Cooperative societies in three-dimensional space: on the origins of aggregations, flocks, and schools, with special reference to dolphins and fish. *Ethology and Sociobiology*, 9(2-4), 149-179.
- Nowak, M. A. (2006). Five rules for the evolution of cooperation. *science*, 314(5805), 1560-1563.

- Okuyama, J., & Yamaguchi, T. (2022). Individual spawning performance and mating pair combinations in captive grouper aggregations. *Environmental Biology of Fishes*, 1-17.
- Östman, C. (1997). Abundance, feeding behaviour and nematocysts of scyphopolyps (Cnidaria) and nematocysts in their predator, the nudibranch *Coryphella verrucosa* (Mollusca). In *Interactions and Adaptation Strategies of Marine Organisms* (pp. 21-28). Springer, Dordrecht.
- Packer, C., & Ruttan, L. (1988). The evolution of cooperative hunting. *The American Naturalist*, 132(2), 159-198.
- Parrish, J. K., & Edelstein-Keshet, L. (1999). Complexity, pattern, and evolutionary trade-offs in animal aggregation. *Science*, 284(5411), 99-101.
- Peach, M. B., & Hoegh-Guldberg, O. (1999). Sweeper polyps of the coral *Goniopora tenuidens* (Scleractinia: Poritidae). *Invertebrate Biology*, 1-7.
- Perrin, W. F. (2009). Spinner dolphin: *Stenella longirostris*. In *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 1100-1103). Academic Press.
- Porter, J. W. (1976). Autotrophy, heterotrophy, and resource partitioning in Caribbean reef-building corals. *The American Naturalist*, 110(975), 731-742.

- Purcell, J. E. (2007). Environmental effects on asexual reproduction rates of the scyphozoan *Aurelia labiata*. *Marine Ecology Progress Series*, 348, 183-196.
- Purcell, J. E., Bondyale-Juez, D. R., Romero-Kutzner, V., Martínez, I., Caprioli, R., Tames-Espinosa, M., ... & Gómez, M. (2019). Food supply effects on the asexual reproduction and respiratory metabolism of *Aurelia aurita* polyps. *Hydrobiologia*, 846(1), 135-146.
- Rinkevich, B. (1996). Do reproduction and regeneration in damaged corals compete for energy allocation?. *Marine Ecology Progress Series*, 143, 297-302.
- River, G. F., & Edmunds, P. J. (2001). Mechanisms of interaction between macroalgae and scleractinians on a coral reef in Jamaica. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 261(2), 159-172.
- Rossi, S., & Snyder, M. J. (2001). Competition for space among sessile marine invertebrates: changes in HSP70 expression in two Pacific cnidarians. *The Biological Bulletin*, 201(3),
- Rubio-Rodríguez, U., Navarro-González, J. A., & Burgos-Vázquez, M. I. (2017) the gregarious behavior of marine fish and their relation to fishing.
- Ryer, C. H., & Olla, B. L. (1992). Social mechanisms facilitating exploitation of spatially variable ephemeral food patches in a pelagic marine fish. *Animal Behaviour*, 44(1), 69-74.

- Sachs, J. L., Mueller, U. G., Wilcox, T. P., & Bull, J. J. (2004). The evolution of cooperation. *The Quarterly review of biology*, 79(2), 135-160.
- Samat, N. A., Yusoff, F. M., Rasdi, N. W., & Karim, M. (2020). Enhancement of live food nutritional status with essential nutrients for improving aquatic animal health: A review. *Animals*, 10(12), 2457.
- Sasaki, Y. (2015). New findings of protocoevolution factors between two lactic acid bacteria for yogurt fermentation and their reductive genomic evolution. *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, 26(2), 109-117.
- Schiariti, A., Morandini, A. C., Jarms, G., von Glehn Paes, R., Franke, S., & Mianzan, H. (2014). Asexual reproduction strategies and blooming potential in Scyphozoa. *Marine Ecology Progress Series*, 510, 241-253.
- Schiariti, A., Melica, V., Kogovšek, T., & Malej, A. (2015). Density-dependent effects control the reproductive strategy and population growth of *Aurelia aurita* s.l. scyphistomae. *Marine biology*, 162(8), 1665-1672.
- Scorrano, S., Aglieri, G., Boero, F., Dawson, M. N., & Piraino, S. (2017). Unmasking *Aurelia* species in the Mediterranean Sea: an integrative morphometric and molecular approach. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 180(2), 243-267.

- Seo, Y., Chae, J., & Ki, J. S. (2020). The complete mitochondrial genome of the jellyfish *Aurelia coerulea* (Cnidaria and Scyphozoa) with phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(2), 1929-1930.
- Shen, S. F., Emlen, S. T., Koenig, W. D., & Rubenstein, D. R. (2017). The ecology of cooperative breeding behaviour. *Ecology Letters*, 20(6), 708-720.
- Shick, J. M. (1973). Effects of salinity and starvation on the uptake and utilization of dissolved glycine by *Aurelia aurita* polyps. *The Biological Bulletin*, 144(1), 172-179.
- Spangenberg, D. B. (1967). Iodine induction of metamorphosis in *Aurelia*. *Journal of Experimental Zoology*, 165(3), 441-449.
- Svensson, J. R., & Marshall, D. J. (2015). Limiting resources in sessile systems: food enhances diversity and growth of suspension feeders despite available space. *Ecology*, 96(3), 819-827.
- Technau, U., & Steele, R. E. (2011). Evolutionary crossroads in developmental biology: Cnidaria. *Development*, 138(8), 1447-1458.
- Ter Horst, L. J., & Hoeksema, B. W. (2021). Salpivory by Colonial Reef Corals at Curaçao, Southern Caribbean. *Diversity*, 13(11), 560.
- Tirado, M. C. (1996). Maturation diets for the marine shrimp *Penaeus vannamei* boone: role of polychaetes in broodstock reproductive performance. Cornell University.

- Toekoelyi, J., Bradacs, F., Hoka, N., Kozma, N., Miklos, M., Mucza, O., ... & Barta, Z. (2016). Effects of food availability on asexual reproduction and stress tolerance along the fast–slow life history continuum in freshwater hydra (Cnidaria: Hydrozoa). *Hydrobiologia*, 766(1), 121-133.
- Triki, Z., Wismer, S., Rey, O., Ann Binning, S., Levorato, E., & Bshary, R. (2019). Biological market effects predict cleaner fish strategic sophistication. *Behavioral Ecology*, 30(6), 1548-1557.
- Vagelli, A. A. (2007). New observations on the asexual reproduction of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) with comments on its life cycle and adaptive significance. *Invertebr Zool*, 4(2), 111-27.
- Vilchis, L. I., Tegner, M. J., Moore, J. D., Friedman, C. S., Riser, K. L., Robbins, T. T., & Dayton, P. K. (2005). Ocean warming effects on growth, reproduction, and survivorship of southern California abalone. *Ecological Applications*, 15(2), 469-480.
- Wang, Y. T., Zheng, S., Sun, S., & Zhang, F. (2015). Effect of temperature and food type on asexual reproduction in *Aurelia* sp. 1 polyps. *Hydrobiologia*, 754(1), 169-178.
- Wang, N., Li, C., Wang, Y., & Feng, S. (2018). Carbon distribution strategy of *Aurelia coerulea* polyps in the strobilation process in relation to temperature and food supply. *Journal of Oceanology and Limnology*, 36(6), 2216-2230.

- Whitehouse, M. E., & Lubin, Y. (2005). The functions of societies and the evolution of group living: spider societies as a test case. *Biological Reviews*, 80(3), 347-361.
- Wisenden, B. D. (1999). Alloparental care in fishes. *Reviews in fish biology and fisheries*, 9(1), 45-70.
- Yamauchi, R., Maguin, E., Horiuchi, H., Hosokawa, M., & Sasaki, Y. (2019). The critical role of urease in yogurt fermentation with various combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. *Journal of dairy science*, 102(2), 1033-1043.