

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Veterinarie

Ciclo XXXI

Settore Concorsuale: 07/G1 – SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

Settore Scientifico Disciplinare: AGR 20 – ZOOCOLTURE

**RIPRODUZIONE ARTIFICIALE E SVEZZAMENTO
LARVALE DEL POLPO (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797)
IN AMBIENTE CONTROLLATO**

Presentata da: dott. Antonio Casalini

Coordinatore Dottorato

Supervisore

Prof. Arcangelo Gentile

Dott. Oliviero Mordenti

Esame finale anno 2019

RIASSUNTO

L'interesse commerciale per lo sviluppo dell'allevamento del polpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797), nasce dal fatto che questo mollusco cefalopode ricopre un'importantissima nicchia nell'ambito del mercato ittico Italiano ed Europeo, essendo particolarmente amato dai consumatori in qualsiasi periodo dell'anno. Questa continua domanda di prodotto si scontra però con la sua scarsa disponibilità in natura, a causa di uno sforzo di pesca eccessivo e poco controllato, con conseguente intensa fluttuazione dei prezzi nei periodi di abbondanza o carenza dell'offerta.

Uno degli aspetti più evidenti e affascinanti dei cefalopodi è la moltitudine di *display* e colori che vengono prodotti sulla superficie della pelle. Nessun altro animale cambia il suo aspetto così rapidamente ed ha un'ampia gamma di manifestazioni. Le tonalità di colore che possono essere osservate, sono prodotte da cellule specializzate presenti sotto il derma che combinandosi tra loro non provocano cambiamenti solo a livello cromatico, ma anche tissutale, grazie all'attività della muscolatura del derma. Tutte queste componenti nella loro completezza conferiscono al polpo la capacità di poter spaziare attraverso un elevato numero di profili che prendono il nome di *patterns*, i quali non sono limitati alla sola colorazione della cute, ma anche a tutte quelle tipologie posturali e locomotorie che essi sono capaci di assumere. Al momento il polpo è considerato una specie innovativa per l'acquacoltura, in quanto presenta alcune caratteristiche biologiche molto interessanti quali: ciclo di vita breve (1–2 anni), elevato tasso di accrescimento (>15% del peso corporeo al giorno), elevato indice di conversione alimentare, elevato tasso di fecondità e facile adattamento alla cattività con accettazione di alimento di basso valore commerciale. Vi è infatti un grande interesse in tutta Europa per lo sviluppo di nuove tecniche di riproduzione artificiale, svezzamento e ingrasso sia in vasche a circuito chiuso che in strutture galleggianti. I risultati fino ad ora ottenuti in termini di svezzamento e sopravvivenza delle paralarve risultano tuttavia ancora insoddisfacenti per considerare il polpo come una vera nuova specie da allevare. L'obiettivo del presente studio è stato quello di mettere a punto un nuovo impianto per il mantenimento in ambiente controllato di adulti di *Octopus vulgaris*. Scegliendo il comportamento come indicatore dello stato di salute degli animali, sono state create le condizioni ambientali ottimali per favorirne la riproduzione spontanea ed ottenere paralarve vitali, con le quali eseguire prove di alimentazione in grado di garantirne la sopravvivenza.

INDICE

CAPITOLO I.....	1
Il polpo (<i>Octopus vulgaris</i> Cuvier, 1797)	
1.1 Introduzione.....	2
1.1.1 Produzione Cefalopodi.....	4
1.1.2 Allevamento del Polpo.....	7
1.1.3 Ingrasso in Spagna.....	8
1.2 Identificazione tassonomica.....	11
1.2.1 Habitat e distribuzione.....	11
1.2.2 Fisiologia ed anatomia.....	13
1.3 Ciclo vitale e riproduzione.....	20
1.4 Capacità cromatiche e <i>patterns</i>	27
1.4.1 Componenti tessiturali.....	30
1.4.2 Componenti locomotorie.....	32
1.4.3 Componenti posturali.....	34
1.4.4 Componenti cromatiche.....	35
1.5 <i>Body patterns</i> e <i>displays</i>	38
Bibliografia.....	46
CAPITOLO II.....	53
Espressioni comportamentali di adulti di <i>Octopus vulgaris</i> mantenuti in ambiente controllato	
2.1 Introduzione.....	54
2.2 Materiali e Metodi.....	56
2.2.1 Prelievo e trasporto degli esemplari.....	56
2.2.2 Peso e sessaggio.....	57
2.2.3 Disegno sperimentale.....	58

2.2.4	Impianto di stabulazione.....	58
2.2.5	Condizionamento degli animali.....	60
2.2.6	Osservazione dei <i>patterns</i> comportamentali.....	61
2.2.7	Analisi dei dati.....	64
2.3	Risultati e Discussioni.....	65
2.3.1	Intraspecifici – Reazione al disturbo.....	67
2.3.2	Camuffamento – Riposo.....	70
2.3.3	Posturali.....	73
2.3.4	Riproduttivi.....	75
2.3.5	Locomotori.....	78
2.3.6	Negativi.....	82
2.4	Conclusioni.....	86
	Bibliografia.....	87
	Allegato.....	90
CAPITOLO III.....		108
Implementazione di un nuovo impianto per la riproduzione in cattività di <i>Octopus vulgaris</i>		
3.1	Introduzione.....	109
3.2	Materiali e Metodi.....	110
3.2.1	Descrizione dell'impianto di riproduzione.....	110
3.2.2	Prelievo, trasporto e stoccaggio degli esemplari.....	114
3.2.3	Peso e sessaggio.....	116
3.2.4	Condizionamento dei riproduttori.....	117
3.2.5	<i>Performance</i> riproduttive.....	119
3.2.6	Analisi statistica.....	119
3.3	Risultati e Discussioni.....	120
3.4	Conclusioni.....	130

Bibliografia.....	131
CAPITOLO IV.....	137
Sopravvivenza di paralarve di <i>Octopus vulgaris</i>: test di alimentazione	
4.1 Introduzione.....	138
4.2 Materiali e Metodi.....	140
4.2.1 Produzione delle paralarve.....	140
4.2.2 Disegno sperimentale.....	140
4.2.2.1 I° Prova: Flusso circolare – Flusso statico.....	141
4.2.2.2 II° Prova: Densità di allevamento.....	142
4.2.2.3 III° Prova: Alimentazione.....	143
4.2.3 Analisi statistica.....	143
4.3 Risultati e Discussioni.....	144
4.3.1 Flusso.....	144
4.3.2 Densità.....	146
4.3.3 Alimentazione.....	148
4.4 Conclusioni.....	153
Bibliografia.....	154

CAPITOLO I

IL POLPO

(Octopus vulgaris Cuvier, 1797)

1.1 INTRODUZIONE

Il polpo fa parte della classe più organizzata tra i molluschi *Cephalopoda*, il cui nome deriva dal greco *kephale* (testa) e *podos* (piede) che significa “piede sul capo”, poiché in questi animali il piede risulta strettamente associato al capo. I cefalopodi attuali discendono da ancestrali molluschi bentonici comparsi nel nostro pianeta nell’Era Cambriana. Il primo mollusco riconosciuto e ritenuto il progenitore di questi è *Plectronoceras cambria*, un organismo bentonico dotato di una conchiglia conica divisa internamente da setti trasversali, vissuto circa 450 milioni di anni fa. Attraverso l’acquisizione di sistemi di galleggiamento alcuni molluschi hanno abbandonato lo stile di vita bentonico, per adottarne uno nectonico. Questo ha fatto sì che i molluschi potessero occupare tutta la colonna d’acqua, dagli strati più superficiali a quelli più abissali. Ciò che ha permesso questo ampliamento del loro habitat è stata la trasformazione del loro primitivo piede in braccia ed in un sifone flessibile, capace di direzionare il movimento attraverso spinte propulsive esercitate da un potente sistema di ventilazione. La conchiglia esterna è una caratteristica che non è stata mantenuta da tutti gli appartenenti alla classe *Cephalopoda*, tanto che è possibile trovarla solo in alcuni cefalopodi (*Nautiloidea*), mentre in altri è regredita internamente o è addirittura scomparsa. È nell’era Giurassica, circa 195 milioni di anni fa, che ha avuto inizio una vera e propria radiazione evolutiva che ha raggiunto il suo apice 100 milioni di anni fa, portando i *Coleoidea* a diversificarsi nei *taxa* che divennero predominanti nell’era Terziaria: *Teuthoidea*, *Sepioidea* e *Octopodoidea* (Fig. 1). Non tutti gli esponenti di questi *taxa* hanno perseguito uno stile di vita necto-pelagico, tanto che gli appartenenti alla superfamiglia *Octopodoidea* presentano specie che vivono a stretto contatto col fondo, come lo stesso *Octopus vulgaris* (Boyle e Rodhouse, 2005).

Tra i cefalopodi, uno dei gruppi più importanti è quello rappresentato dai polpi bentonici appartenenti alla famiglia *Octopodidae*. Questa grande famiglia comprende oltre 200 specie (Norman e Hochberg, 2005a), che variano in dimensioni da *taxa* pigmei maturi inferiori a 1 g (ad es. *Octopus wolfi*) a forme giganti superiore a 100 kg (ad es. *Enteroctopus dofleini*). Queste specie occupano tutti gli habitat marini, dalle barriere intertidali tropicali alle latitudini polari, fino a profondità di quasi 4000 m (Voss, 1988). I polpi bentonici adottano due importanti strategie di vita (Boletzky, 1977a; 1992). La prima (olobentica) è la produzione di poche uova di grandi dimensioni, con il risultato

di embrioni ben sviluppati che assomigliano agli adulti e adottano rapidamente l'abitudine dei loro genitori. La seconda strategia (merobentica) riguarda la produzione di numerose e piccole uova con la schiusa di larve semitrasparenti che possono assumere nuoto attivo e/o planctonico e che occupano nicchie ecologiche distinte da quelle degli adulti. Quest'ultima categoria di schiusa ha arti poco sviluppati, poche ventose, cromatofori semplici e muscolatura trasparente. Questo marcato contrasto tra, la morfologia e l'ecologia degli stadi planctonici dei cefalopodi con la loro forma adulta, ha portato alla coniazione del termine "paralarva". Young e Harman 1988 definiscono "paralarva" come "un cefalopode post-schiusa" che conduce vita pelagica con modalità diverse dei suoi conspecifici più grandi.

Lo studio condotto da Ibáñez *et al.* (2014) sostiene che il successo della colonizzazione dei polpi dipende dalla dispersione delle paralarve. I polpi olobentici sono comuni nelle acque profonde e fredde, mentre i popi merobentonici sono comuni in acque temperate e calde. Questa differenziazione delle strategie sembra essere correlata con la stabilità ambientale. Con basse temperature e bassa stocasticità ambientale come gli ambienti con acque profonde e polari, per sopravvivere i polpi producono poche uova grandi ed esemplari bentonici ben sviluppati, migliorando così le possibilità di sopravvivenza e riproduzione nella stessa area. Invece, con alte temperature e alta stocasticità ambientale, come gli habitat tropicali e temperati, per sopravvivere i polpi producono numerose uova piccole con paralarve planctoniche che migliorano le possibilità di sopravvivenza e riproduzione, utilizzando le opportunità transitorie dell'ambiente tra bentonico e pelagico (Ibáñez *et al.*, 2014). La strategia del ciclo di vita di *Octopus vulgaris* ne è certamente la spiegazione vista la sua ampia distribuzione e l'esistenza di diverse specie criptiche associate allo stesso.

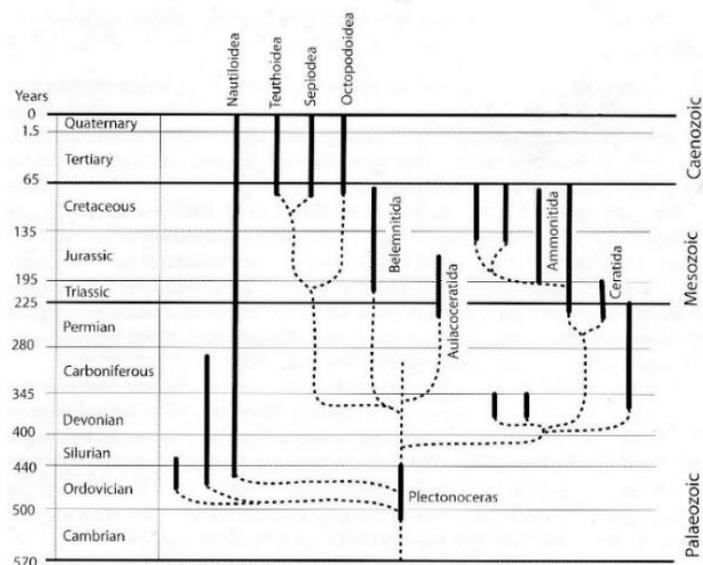


Figura 1 Possibile albero evolutivo dei gruppi di cefalopodi (Boyle e Rodhouse, 2005)

1.1.1 PRODUZIONE CEFALOPODI

La pesca marittima a livello mondiale è un settore che è entrato ampiamente in crisi negli ultimi anni, a causa dello sfruttamento di quelli che sono stati i principali stock ittici (*finfish*) (Graham e Portela, 2014). Lo sbarco globale del pescato è infatti rimasto relativamente statico a partire dalla fine degli anni '80, arrivando a 90.9 milioni di tonnellate nel 2016, un valore in calo confrontato con gli ultimi due anni (FAO, 2018). Questo assieme ad una popolazione globale in continua crescita (stimate 9 miliardi di persone nel 2050) rappresenta una delle maggiori sfide che attualmente è necessario affrontare, considerando inoltre l'attuale delicato momento (cambiamenti ambientali, incertezza economico-finanziaria e crescente competizione per le risorse naturali). Per questo la comunità internazionale ha preso un impegno senza precedenti, quando nel Settembre 2015 a New York i membri delle Nazioni Unite hanno stilato un piano per lo sviluppo sostenibile entro il 2030 (*2030 Agenda for Sustainable Development*) (FAO, 2016). Nella serie di obiettivi da perseguire vi è quello di condurre il settore della pesca, ma anche dell'acquacoltura, attraverso un piano di sicurezza alimentare e di uso responsabile delle risorse naturali, in modo da garantire uno sviluppo sostenibile in termini economici, sociali e ambientali. L'acquacoltura può rappresentare una chiave di svolta in questo contesto, specialmente dal 2014, quando per la prima volta questo settore è stato capace di fornire prodotti ittici per il consumo umano in quantità maggiori rispetto alla pesca (FAO, 2018) (Fig. 1.1).

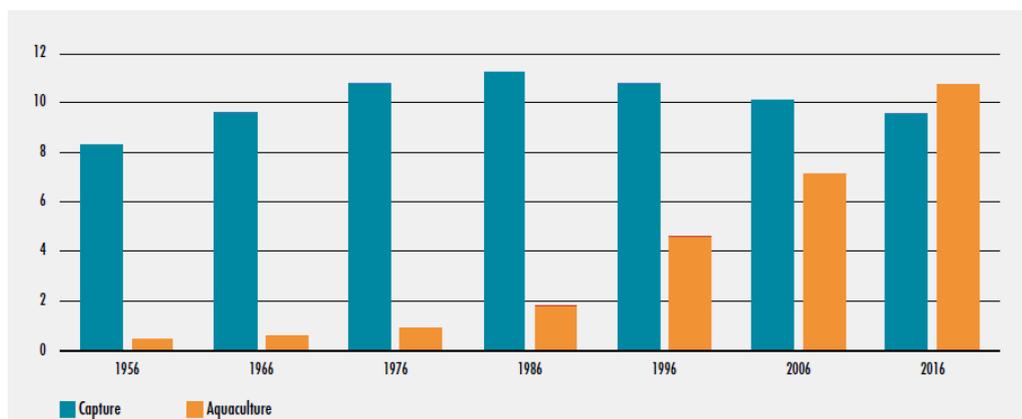


Figura 1.1 Contributo dell'acquacoltura e della pesca per il consumo umano (FAO, 2018)

Dopo cinque anni di continua crescita iniziata nel 2010, le catture di cefalopodi sono rimaste stabili nel 2015, superando i 4 milioni di tonnellate, ma sono crollate nel 2016,

quando le catture delle tre specie principali di calamari hanno mostrato una perdita combinata di 1,2 milioni di tonnellate (FAO, 2018) (Fig. 1.2).

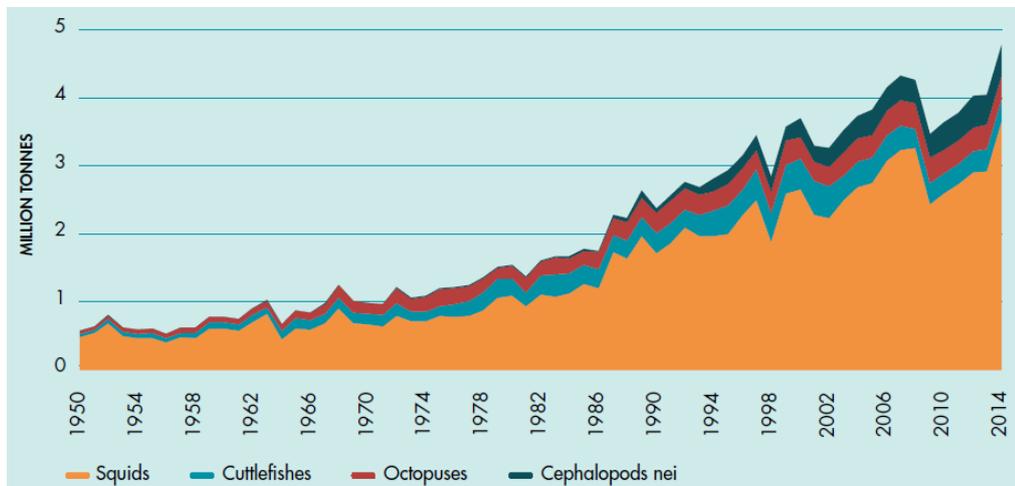


Figura 1.2 Trends di pesca dei principali gruppi di cefalopodi (FAO, 2016)

I cefalopodi comprendono molti organismi, tra cui il calamaro, la seppia ed il polpo, per un totale di circa 800 specie. I cefalopodi presentano un elevato tasso di accrescimento ed una elevata fecondità che permette loro di resistere ad una forte pressione di pesca. Tuttavia, l'aumento dello sforzo di pesca ha portato ad una riduzione dell'espansione di questi stock commerciali. Se da un lato tali organismi presentano dei ritmi di crescita esponenziali nel breve periodo, dall'altro bisogna considerare il fatto che si tratta di animali molto sensibili alle condizioni ambientali. Variazioni delle condizioni di temperatura possono portare conseguenze inaspettate sul tasso di accrescimento, sulla maturità sessuale e sulla dimensione dei futuri adulti conducendo a crolli repentini (Graham e Portela, 2014). Cali nel numero delle catture sono stati osservati in corrispondenza dell'incremento delle temperature del mare (Jereb *et al.*, 2016).

La domanda ed il consumo di cefalopodi è incrementata negli ultimi anni, con Italia, Spagna e Giappone che rappresentano i principali consumatori ed importatori. La produzione mondiale di polpo (*Octopus sp.*) negli ultimi 30 anni ha indicato un costante incremento nelle catture, passando dal 179.042 tonnellate del 1980 alle 350.710 del 2010 (Jereb *et al.*, 2016).

Questo aumento nel trend delle catture deve essere messo in relazione all'aumento dello sforzo della pesca ed allo spostamento di questa verso lo stock dei cefalopodi rispetto a quello dei *finfish* (Jereb *et al.*, 2016). La pesca del polpo avviene sia su grande scala con mezzi industriali (reti a strascico, nasse, vasi) che su piccola scala con mezzi artigianali

(a mano, ami). Il polpo rappresenta un elevato valore medio di mercato (4.48\$ al kg) tanto da essere più redditizio di altri *finfish* (tonno, scombridi, marlin) (Jereb *et al.*, 2016). Più di 100 specie di polpi vengono prelevate per scopi umani, nonostante ciò le statistiche di cattura riportate dalla FAO attualmente elencano 4 specie (*Octopus vulgaris*, *Octopus maya*, *Eledone cirrhosa*, *Eledone moschata*), tutte le altre vengono classificate come non identificate. Delle 4 specie, la più largamente pescata nel mondo è *Octopus vulgaris* (Jereb *et al.*, 2016). Le catture mondiali attribuite a *Octopus vulgaris* sono calate dai picchi di inizio anni '70 (più di 100.000 tonnellate) per stabilirsi intorno alle 36.000 tonnellate nel 2016 (Fig. 1.3) (FAO FishStat).

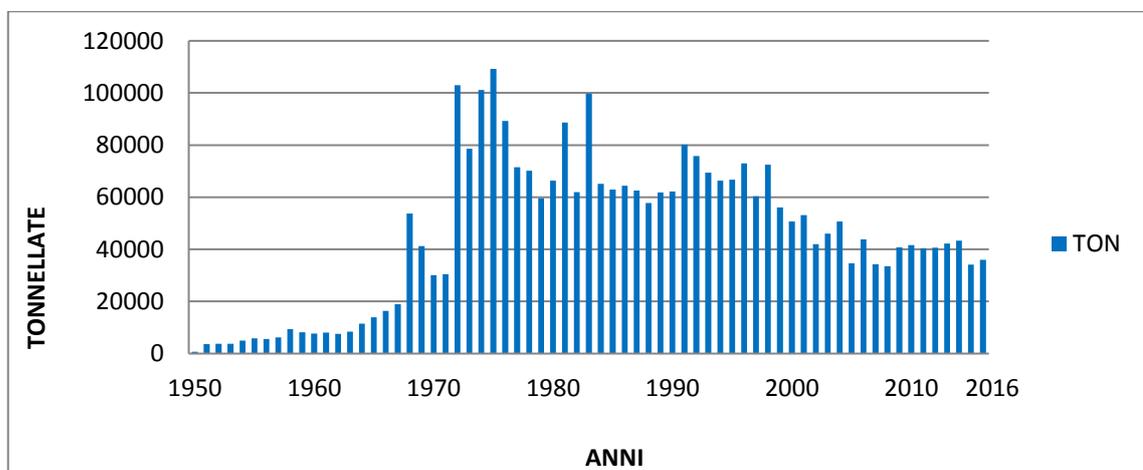


Figura 1.3 Catture globali di *Octopus vulgaris* (FAO FishStat)

In Italia, secondo i dati del Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari, e Forestali forniti tramite la Borsa Merci Telematica Italiana, nel 2017, sono state pescate 2.641 tonnellate di polpo, con un incremento del 10,7% rispetto al 2016 (BMTI, 2018).

Tale specie viene commercializzata sia come prodotto fresco che trasformato (FAO, 2016). *Octopus vulgaris* è una specie ampiamente richiesta sia per l'appetibilità delle sue carni quanto per il suo elevato valore di mercato, per questa ragione rappresenta una risorsa da preservare evitando di sovrasfruttarla come è accaduto in passato con altri stock. Per poter raggiungere una gestione sostenibile della pesca del polpo è cruciale conoscerne la biologia, in particolar modo due fasi critiche del suo ciclo biologico: insediamento bentonico e comportamento riproduttivo (Jereb *et al.*, 2016). Ricerche e studi che consentissero di pianificare piani di ripopolamento ed allevamento per salvaguardare gli stock ittici naturali sono stati sviluppati in particolar modo in Giappone e Spagna.

1.1.2 ALLEVAMENTO DEL POLPO

L'attività di ripopolamento dei cefalopodi è nata dalla consapevolezza dell'esaurimento delle risorse naturali e dalla necessità di non intaccare ulteriormente in modo massivo gli stock che al momento sono oggetto di sovrasfruttamento. Tale attività prevede il prelievo dei riproduttori dall'ambiente naturale, grazie ai quali è possibile ottenere nuovi nascituri che in seguito verranno rilasciati negli habitat dove ve ne sarà bisogno. Il successo del ripopolamento per mezzo dell'acquacoltura, supportato dal



Figura 1.4 Stazioni in cui la JASFA produce seme di cefalopodi (Nabhitabhata e Segawa, 2014)

settore pubblico, è stato storicamente eccezionale in Giappone fin dai primi anni '60 (Nabhitabhata e Segawa, 2014). In Giappone nel 1963 l'Associazione per l'allevamento di pesci del mare interno di Seto (SISFFA) si è prodigata per lo sviluppo di tecnologie per il ripopolamento delle specie acquatiche iniziando i primi esperimenti di incubazione di grappoli di uova di *Octopus vulgaris* prelevati dal mare. Tale associazione nel 1978 è stata incorporata all'interno della JASFA (Associazione per il ripopolamento dei mari del Giappone) grazie alla quale sono stati realizzati diversi successi in campo scientifico. Ricerche mirate per fornire un'adeguata alimentazione hanno permesso di raggiungere un alto tasso di sopravvivenza nella produzione di paralarve in fase di insediamento (13,1%) attraverso l'alimentazione con Lance di sabbia Pacifica congelate (*Ammodytes personatus*) e nauplii di grandi dimensioni di *artemia tibetiana* (Okumura *et al.*, 2005). In aggiunta a queste attività di ricerca sono stati installati dei rifugi artificiali in aree di nidificazione per essere d'aiuto alla deposizione delle uova con lo scopo di accrescere gli stock naturali lungo le acque costiere del Giappone. Tra queste aree una zona molto significativa dal punto di vista economico per *Octopus vulgaris* è proprio il Mare Interno di Seto (Nabhitabhata e Segawa, 2014) (Fig. 1.4).

In quest'area annualmente vengono posizionati da 12.000 a 17.000 vasi per fornire alla specie delle tane dove potersi rifugiare e deporre le uova, in modo da salvaguardare il reclutamento dello stock. Sebbene quest'attività di ripopolamento degli stock naturali

risuota un considerevole successo sociale è necessario ottenere l'appoggio anche delle associazioni di pesca locali, affinché il successo di questo progetto possa essere garantito. Infine, ulteriori ricerche devono essere effettuate per fare in modo di chiudere il ciclo biologico in allevamento senza avere la necessità di prelevare i riproduttori dall'ambiente.

1.1.3 INGRASSO IN SPAGNA

Il polpo comune (*Octopus vulgaris*) ha suscitato molto interesse negli anni recenti come specie che potrebbe essere considerata adatta alla produzione su larga scala per diverse ragioni, tra cui l'alto valore di mercato. Il polpo comune ha infatti una elevata fecondità (ogni femmina produce dalle 100.000 alle 500.000 uova), un tasso di crescita rapido (superiore ai 16-26 g al giorno), alto contenuto proteico (rappresentante il 70-90% del peso corporeo e sostanza secca) ed un elevato tasso di conversione alimentare (riesce convertire il 30-60% del cibo ingerito in massa corporea) (Sánchez *et al.*, 2014). Al momento le tecnologie disponibili per completare il ciclo biologico in allevamento non sono sufficienti, a causa della mancata disponibilità di diete commerciali. Per questa ragione il metodo di produzione è ancora basato sul prelievo in natura dei sub-adulti, i quali vengono messi all'ingrasso alimentandoli con specie dal basso valore commerciale o proveniente dal *by-catch* (Sykes *et al.*, 2014).



Figura 1.5 Gabbie per l'ingrasso del polpo

La fase di ingrasso di *Octopus vulgaris* può essere gestita con diverse metodologie: in gabbie sommerse o galleggianti ormeggiate lungo la costa in aree riparate (porti o estuari) (Fig. 1.5) o lontano dalla costa, oppure anche all'interno di vasche (Sánchez *et al.*, 2014). La Spagna è al momento il paese dove vengono effettuate la maggior parte delle ricerche sull'allevamento di *Octopus vulgaris*. Diversi studi sulla nutrizione e sulla fisiologia del polpo comune hanno permesso di identificare diversi parametri che potrebbero ottimizzare la produzione e facilitarne l'allevamento in intensivo (Sánchez *et al.*, 2014). Tra questi parametri fondamentali ci sono la temperatura, la salinità, l'ossigeno disciolto, la concentrazione di composti azotati ed il flusso d'acqua. Il primo tentativo

commerciale di allevare *Octopus vulgaris* è avvenuto in vasche con acqua a ricircolo ed in gabbie galleggianti verso la fine degli anni '90. Questi esperimenti sono stati ideati per determinare le condizioni di allevamento ottimali per raggiungere la taglia commerciale (2,5-3,5kg) (Sánchez *et al.*, 2014). È stato osservato che i maschi crescono leggermente più rapidamente rispetto alle femmine (Sánchez *et al.*, 1998), sebbene i pesi finali di ambo i sessi nelle gabbie galleggianti non differiscano da quelli dei polpi allevati singolarmente. Tuttavia, le migliori performance sull'accrescimento sono state ottenute con femmine non mature o con basso stadio di maturità (Estefanell *et al.*, 2013; 2014). Infatti, la maturazione delle femmine durante il periodo dell'allevamento diventa un problema, poiché dal momento che depongono le uova smettono di mangiare e crescere. Per questo viene suggerita la separazione dei sessi prima che inizi la fase di ingrasso, in modo tale da prevenire perdite commerciali. Un altro importante fattore da tenere in considerazione è il peso iniziale dei polpi; esemplari di 330 g raggiungono mediamente la taglia di mercato in 4 mesi (Iglesias *et al.*, 2000). Per diminuire questo lasso di tempo si preferisce partire da polpi di 1 Kg, così da ottenere un profitto più elevato (Sánchez *et al.*, 2014). Per l'ingrasso sia dei giovanili che degli adulti, la densità di stoccaggio iniziale in vasche e gabbie è di grande importanza dal momento che il tasso di accrescimento è così elevato che la biomassa può triplicare in poche settimane (Sánchez *et al.*, 2014). Con densità non superiori a 14 kg/m³ ed una alimentazione composta da pesci, crostacei e molluschi individui di 770-1000 g possono raggiungere taglie di 3kg in 3 o 4 mesi, con possibilità di realizzare 2-3 cicli di ingrasso per anno (Chapela *et al.*, 2006). Diete alternative derivanti da mangimi formulati sono state sperimentate per l'allevamento di *Octopus vulgaris*, sebbene con risultati marcatamente inferiori sul piano del tasso di accrescimento (Sánchez *et al.*, 2014). Alcuni di questi risultati sono stati attribuiti alla poca appetibilità ed allo scarso contenuto nutrizionale del mangime. È stato tuttavia osservato che l'uso della gelatina come legante in mangimi umidi (>70% acqua) sia ottimale sia dal punto di vista dell'appetibilità che dal punto di vista dell'ingestione e della manipolazione (Sánchez *et al.*, 2014), sebbene gli alginati rimangano più stabili in acqua. Ci sono abbastanza indicazioni per stabilire con un certo grado di affidabilità, le condizioni ottimali per il processo di ingrasso di *Octopus vulgaris*, anche se sono ancora necessari studi per stabilire i parametri ottimali per l'allevamento del polpo comune in ciascuna area geografica e per differenti sistemi di produzione (vasche a terra o gabbie galleggianti: aree protette, fuori costa o bentoniche). Studi esaustivi sulla biochimica dei cefalopodi, sulle loro diete naturali e

sulle materie prime hanno portato a grandi progressi nella comprensione delle loro esigenze nutrizionali (Sánchez *et al.*, 2014). Con diete semi-umide formulate si è riusciti a raggiungere discreti tassi di accrescimento, soprattutto in quelle a base di pesce. Ricerche future dovrebbero avere come scopo primario quello di ottenere una produzione massiva di giovanili in cattività da portare all'ingrasso ed un miglioramento dei formati per raggiungere migliori tassi di accrescimento (García *et al.*, 2014), in questo modo si diminuirebbe l'impatto ambientale riducendo il numero di esemplari prelevati in natura.

1.2 IDENTIFICAZIONE TASSONOMICA

Octopus vulgaris Cuvier, 1797 (Fig. 1.6) è un invertebrato marino appartenente al phylum dei Molluschi e alla classe dei Cefalopodi, la cui tassonomia è in fase di revisione negli ultimi anni. La specie appartiene al genere *Octopus*, che comprende circa 200 specie, la maggior parte delle quali di elevato interesse commerciale. Di seguito è riportata la classificazione sistematica di *O. vulgaris*.

Regno: Animalia
Phylum: Mollusca
Classe: Cephalopoda
Sottoclasse: Coloidea
Superordine: Octopodiformes
Ordine: Octopoda
Sottordine: Incirrata
Famiglia: Octopodidae
Sottofamiglia: Octopodinae
Genere: *Octopus*
Specie: *Octopus vulgaris*



Figura 1.6 *Octopus vulgaris*

1.2.1 HABITAT E DISTRIBUZIONE

O. vulgaris vive in prossimità della costa fino al margine esterno della piattaforma continentale a profondità comprese tra 0 e 200 metri. È distribuito in quasi tutto il mondo, lo si trova sia in acque tropicali, subtropicali che temperate, ma non nelle fasce climatiche polari o subpolari, poiché sotto i 7°C diviene inattivo. La sua presenza è abbondante nel Mar Mediterraneo, nell'Oceano Atlantico Orientale e nelle acque del Giappone. Tuttavia, recenti studi molecolari su specifiche sequenze geniche (geni mitocondriali COIII e 16S) hanno evidenziato l'esistenza di 4 forme di *Octopus vulgaris*, che nonostante vengano identificate come unica specie dovrebbero essere distinte da quella residente in Mar Mediterraneo e Nord Est Atlantico, considerate come *Octopus vulgaris sensu stricto* (Borrelli *et al.*, 2006; Jereb *et al.*, 2016) (Fig. 1.7).

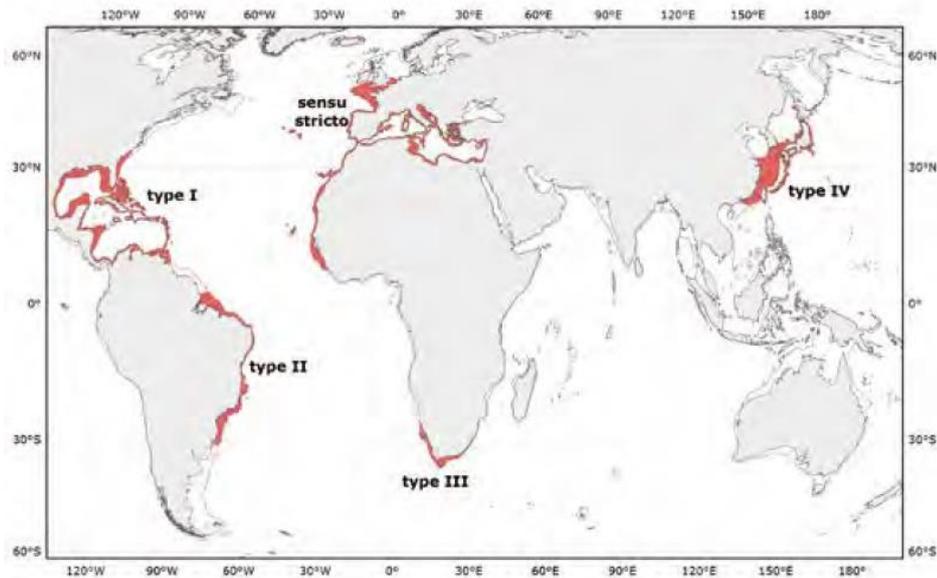


Figura 1.7 In rosso la distribuzione geografica dei membri di tutte le forme di *Octopus vulgaris* (Jereb *et al.*, 2016)

Tali forme vengono pertanto identificate come tipi aggiuntivi di *Octopus vulgaris* in attesa di ulteriori studi sulla genetica: *Octopus “vulgaris”* di tipo I (presente nelle acque del Mar dei Caraibi), *Octopus “vulgaris”* di tipo II (presente lungo le coste sud-occidentali dell’Atlantico), *Octopus “vulgaris”* di tipo III (presente dalla Namibia fino alla parte Orientale del Sud Africa) e *Octopus “vulgaris”* di tipo IV (presente dalle acque del Sud del Giappone fino a Taiwan e Hong Kong). Tale dubbio nasce dall’osservazione di differenti body patterns rilevati in aree geografiche distinte. È stata riscontrata la presenza di *Octopus vulgaris* in un’ampia varietà di habitat: rocciosi, coralligeni ed in praterie di vegetali. È risaputo che tale specie compia migrazioni stagionali, seppur limitate. Solitamente si spostano in acque più profonde per svernare, mentre risalgono più in superficie durante l’estate. Nella parte occidentale del Mediterraneo individui maturi, o in fase di maturazione, si spostano lungo la costa nei primi mesi primaverili, seguiti più tardi da individui più piccoli o immaturi. Questi due gruppi iniziano a ritirarsi in acque più profonde rispettivamente intorno ad Agosto/Settembre e Novembre/Dicembre (Jereb *et al.*, 2016).

1.2.2 FISIOLOGIA ED ANATOMIA

Octopus vulgaris differisce dagli altri cefalopodi come calamari e seppie per avere solo 8 braccia, tutte di uguale lunghezza e agilità, con una doppia fila di ventose che parte dalla base e continua fino all'estremità. Il corpo arrotondato e compatto ha solo una traccia di conchiglia ed è così flessibile che assume una forma idrodinamica quando il polpo nuota espellendo l'acqua dal sifone (*jet swimming*). Tuttavia, durante il nuoto i cuori del polpo cessano di battere provocandogli un debito di ossigeno. Ciò è dovuto all'aumento di pressione che si viene a formare all'interno della cavità del mantello che impedisce il ritorno venoso, ecco perché il *jet swimming* non può essere un sistema di locomozione regolare (Villanueva e Norman, 2008). Quando si trova sul fondo il polpo si muove per metà nuotando e per metà strisciando mediante eleganti movimenti delle sue braccia palmate. Si nutre generalmente di granchi ed altri crostacei, ma anche bivalvi, vermi o pesci che trova in piccole aperture tra le rocce o in strette fenditure. Come tutti i cefalopodi infatti è un attivo predatore, localizza le prede grazie al suo ottimo apparato visivo, ma si pensa che anche dei segnali chimici giochino un ruolo importante (Boyle e Rodhouse, 2005). Nonostante abbia un ampio spettro di alimentazione è molto selettivo nelle parti da ingerire, infatti scarta gusci di conchiglie, carapaci, ossa e cartilagini che hanno un basso valore nutritivo (Boyle e Rodhouse, 2005). La maggior parte dei polpi risiede in anfratti rocciosi, dove possono trovare ottimi ripari, mentre quelli presenti in aree sabbiose tendono a costruirsi rifugi con diverse tipologie di frammenti, addirittura le stesse bottiglie di vetro buttate possono venire adoperate come casa (Pearse *et al.*, 1993). Tuttavia, queste inusuali dimore non sono efficaci contro l'assalto da parte di uno dei suoi principali predatori: la murena. Sebbene i polpi siano prevalentemente bentonici vi sono famiglie che sono divenute completamente pelagiche adottando nuove strategie di galleggiamento, come l'utilizzo di una vescica natatoria ripiena di gas (femmine di *Ocythoe tuberculata*), oppure multipli strati gelatinosi sovrapposti combinati ad una diminuzione della concentrazione di ioni pesanti nei fluidi (Seibel *et al.*, 2004).

Qualsiasi sia l'ambiente in cui vivono, le braccia sono dotate di potenti ventose muscolari che servono primariamente per catturare e trattenere le loro prede, anche se nel maschio hanno un'ulteriore funzione legata alla riproduzione (Wells, 1962). Un polpo può avere più di 240 ventose per braccio (in totale 1900) che utilizza per trattenere le prede, agevolare gli spostamenti, per ancorarsi a varie strutture, per

manipolare oggetti e per percepire l'ambiente circostante. Le ventose sono capaci di attaccarsi a diverse strutture, superfici piatte e larghe, irregolari e oggetti di piccole dimensioni. Oltre all'adesione per aspirazione, il bordo della ventosa può essere piegato in ogni lato per avvolgere e trattenere sottili filamenti e lamine.

La porzione esposta della ventosa è definita INFUNDIBULO (Fig. 1.8). Sulla superficie dell'infundibulo sono presenti creste radiali e scanalature ricoperte da una cuticola chitinoso che periodicamente si stacca e viene rinnovata. Al centro dell'infundibulo vi è un orifizio che si apre in una cavità quasi sferica, chiamata ACETABOLO (Fig. 1.8). Le ventose sono attaccate al braccio attraverso una corta muscolatura capace di farle ruotare in ogni direzione e farle aderire a qualsiasi oggetto. Le pareti dell'acetabolo e dell'infundibulo sono costituite dalla muscolatura intrinseca di aspirazione, composta da un insieme tridimensionale di muscoli robusti e strettamente aggregati. Non sono presenti elementi scheletrici né spazi contenenti fluidi (Poli e Fabbri, 2012) (Fig. 1.8).

La cupola dell'acetabolo è costituita principalmente da fibre muscolari radiali inserite in una capsula di tessuto connettivo che riveste le superfici interna ed esterna dell'acetabolo. Oltre alla muscolatura radiale, nella cupola dell'acetabolo sono presenti fasci di fibre muscolari meridionali, adiacenti alla superficie esterna della cupola, che si estendono tra le fibre radiali e si irradiano in senso verticale circondando la muscolatura radiale. Nella parete dell'acetabolo, inoltre, è presente una serie di fasci di MUSCOLI

CIRCONFERENZIALI, orientati parallelamente alla superficie dell'infundibolo, in buona parte disposti nella superficie interna dove formano uno sfintere a livello dell'orifizio che connette l'acetabolo alla parete dell'infundibolo. La muscolatura della

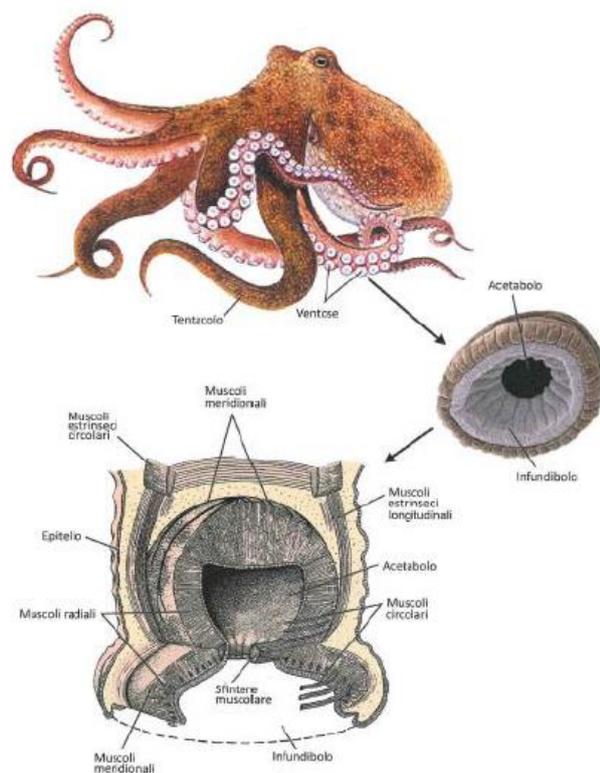


Figura 1.8 Disegno schematico della ventosa di un polpo (Poli e Fabbri, 2012)

parete dell'infundibolo è simile a quella dell'acetabolo, dove predomina la muscolatura radiale, intercalata tra fasci di muscoli circonfenziali e muscoli meridionali. Le ventose sono attaccate alle braccia da una serie di fasci muscolari estrinseci longitudinali che sono circondati da uno strato di muscoli circonfenziali estrinseci formando uno sfintere. La base della ventosa può essere allungata per la contrazione dei muscoli circonfenziali e accorciata per la simultanea contrazione dei muscoli estrinseci longitudinali (Poli e Fabbri, 2012).

La base meccanica dell'adesione per aspirazione è semplice: il bordo dell'infundibolo si appiattisce contro la superficie di un oggetto sigillandola, e all'interno della cavità acetabolare viene ridotta la pressione. Dopo che una ventosa ha preso contatto con una superficie, la contrazione della muscolatura radiale dell'acetabolo genera una forza che tende a ridurre lo spessore della parete, aumentando il volume della cavità dell'acetabolo. Se il bordo della ventosa aderisce intimamente alla superficie sigillandola (la produzione di muco da parte dell'epitelio del bordo dell'infundibolo impedisce all'acqua di entrare), l'aumento del volume interno crea una depressione che fa aderire la ventosa alla superficie (Poli e Fabbri, 2012).

Tanto maggiore è l'accorciamento delle fibre radiali, tanto maggiore sarà la depressione all'interno della cavità. In questa fase, i fasci di muscoli meridionali e circolari si rilassano agendo da antagonisti, mentre la loro contrazione incrementa lo spessore della parete dell'acetabolo facendo aumentare la pressione interna e il distacco della ventosa. In definitiva, attraverso un appropriato controllo neuromuscolare, possono essere prodotte specifiche e complesse flessioni e curvature in ogni punto.

Una volta intrappolata la preda viene direzionata verso l'apparato boccale che è costituito da un becco chitinoso e dalla radula. Prede come crostacei e bivalvi vengono manipolate in un modo lento e complesso, la polpa viene rimossa dall'esoscheletro o dalle valve in maniera molto accurata e pulita (Boyle e Rodhouse, 2005). Ciò è dovuto in parte ai delicati movimenti del becco, della radula e delle ventose, ma soprattutto dalla secrezione salivare emessa dalla ghiandola digestiva contenente un misto di componenti bioattive (proteasi e chitinasi), che facilitano il distacco della polpa (Boyle e Rodhouse, 2005). Dopo l'ingestione i frammenti di cibo proseguono il loro percorso lungo il restante **apparato digerente**, composto da: esofago ed un suo diverticolo (*crop*), stomaco, cieco e intestino (Fig. 9). Il prodotto terminale del metabolismo azotato nel polpo è rappresentato dall'ammoniaca (NH_4^+).

L'**apparato escretore** è costituito da due organi: *tessuto renale ed epitelio branchiale*. Il tessuto renale è raggruppato in masse flocculanti (appendici renali) che riassorbono in parte l'ultrafiltrato prodotto al livello dei vasi prossimi ai cuori branchiali, mentre l'epitelio branchiale è un sistema di escrezione di ammoniaca extrarenale che consente la diretta eliminazione dello ione nell'acqua di mare. Il polpo può vivere per significativi periodi di tempo utilizzando anche solo l'epitelio branchiale (Boyle e Rodhouse, 2005). *Octopus vulgaris* possiede un paio di branchie (Dibranchiato) ben vascolarizzate che gli consentono di respirare attraverso un sistema controcorrente: il flusso d'acqua passa attraverso le lamelle di ogni branchia in direzione opposta a quello del sangue, tale sistema serve a massimizzare lo scambio di gas (Boyle e Rodhouse, 2005).

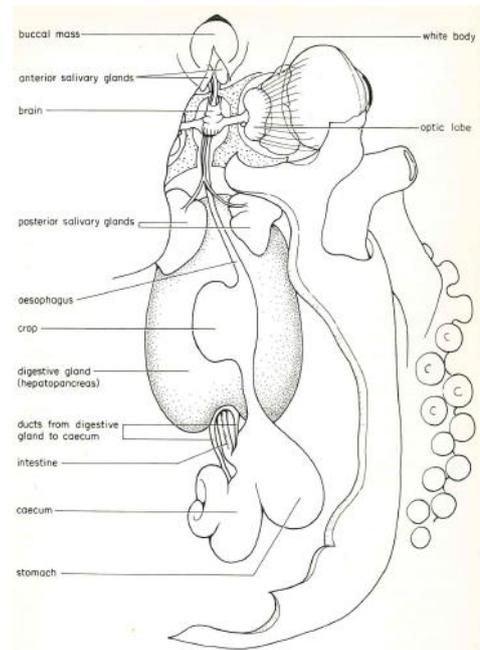


Figura 1.9 Anatomia dell'apparato digerente (Wells, 1978)

Il **sistema circolatorio** è di tipo chiuso e consiste di 3 cuori: due branchiali ed uno sistemico. Nelle branchie il sangue viene ossigenato, dopodiché viene spinto verso il cuore sistemico (2 atri e 1 ventricolo) che grazie ad una potente pressione sistolica pompa il sangue lungo la periferia del corpo. Il sangue ossigenato del polpo presenta una colorazione blu, dovuto alla presenza di rame contenuto all'interno del pigmento respiratorio emocianina. Il legame tra ossigeno ed emocianina è meno efficiente rispetto a quello con l'emoglobina dei vertebrati, per questo è necessario una pressione sanguigna ed una portata maggiore per mantenere l'alto tasso metabolico di questo attivo predatore (Jereb *et al.*, 2016).

L'**apparato riproduttore maschile** consiste di un singolo testicolo e di un sistema spaiato di dotti (Fig. 1.10). Il testicolo (*t*) è una massa compatta di cellule separate da tessuto connettivo e da vasi dotati di un'ampia riserva di sangue. La parete dei dotti è costituita da cellule germinali dove avviene la differenziazione degli spermatozoi. Lo sperma migra nel testicolo dove viene impacchettato in spermatozoi. Le spermatozoi (*esp*) vengono immagazzinate nel complesso della borsa del Needham (*cbn*), dopodiché proseguono il loro percorso fino a raggiungere il pene (*p*). La gonade di un maschio immaturo si presenta molto piccola e di colore bianco, le singole componenti del

complesso sono appena distinguibili. Man mano che lo sviluppo prosegue, il testicolo va ad assumere una colorazione avorio, contemporaneamente aumenta di dimensione, il condotto afferente si allarga, la vescicola seminale e la borsa del Needham crescono acquisendo una tonalità oca. Il peso del testicolo aumenta sempre più lentamente, fino a stabilizzarsi, mentre il complesso della borsa del Needham cresce continuamente superando quello del testicolo. Dopo il rilascio degli spermatozoi il complesso della borsa del Needham continua a rimanere voluminoso, sebbene sia parzialmente o totalmente vuoto, mentre il testicolo diventa relativamente piccolo e la colorazione simile alla paglia (Guerra, 1975).

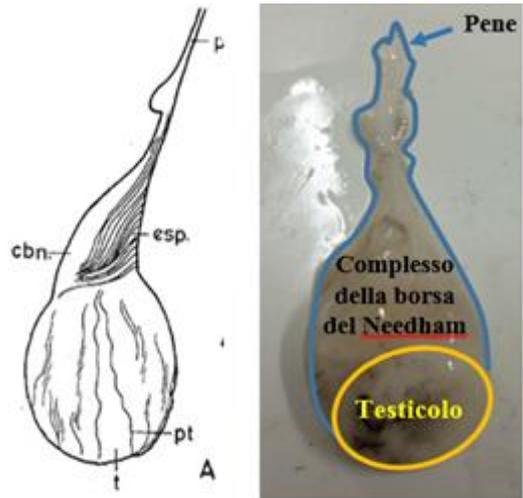


Figura 1.10 Gonade maschile di *Octopus vulgaris* (Guerra, 1975)

L'**apparato riproduttore femminile** è costituito da un singolo ovario (*p.ov*) da qui dipartono due ovidotti (*ovd*) (Fig. 1.11). A circa metà lunghezza gli ovidotti presentano le ghiandole oviducali (*gl.ov*), nelle quali sono presenti le spermateche in cui viene immagazzinato lo sperma. Lo sperma rimane vitale all'interno di esse anche per 4 mesi (Wells, 1978). Il processo di maturazione della femmina conduce ad un enorme sviluppo dell'ovario, stessa cosa avviene alle uova contenute al suo interno. In questa fase la gonade comprime e sposta il resto degli organi della cavità palleale (O'Dor e Wells, 1978). È opportuno sottolineare che nella femmina vi sono delle caratteristiche

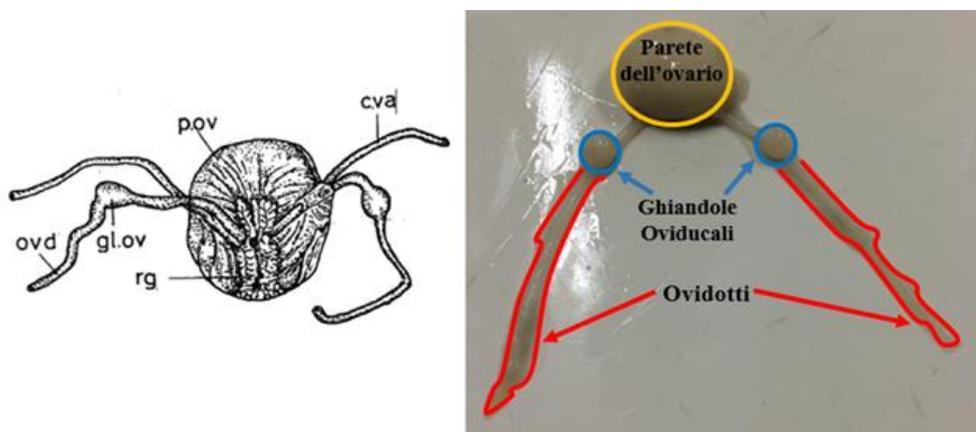


Figura 1.11 Gonade femminile di *Octopus vulgaris* (Guerra, 1975)

che permettono di definire accuratamente lo stato di maturità sessuale: la dimensione e la struttura delle ghiandole oviducali, insieme ad altre differenti parti della gonade (Guerra, 1975). Durante la fase di immaturità gli ovidotti si presentano semitrasparenti e sottili, le ghiandole oviducali sono uniformi e bianche, l'ovario è piccolo e bianco. Nella fase di inizio sviluppo gli ovidotti si allargano, le ghiandole oviducali aumentano progressivamente di dimensioni e presentano una doppia fila di dentelli di intenso colore bianco nella regione anteriore. Infine, nella fase di maturità le ghiandole oviducali presentano la regione mediana di colore rossastro, in contrasto a quella sottostante che è madreperlacea. Nel post ovulazione gli ovidotti acquisiscono una colorazione avorio, le ghiandole oviducali si riducono leggermente e si scuriscono, mentre la membrana dell'ovario diviene più flaccida (Guerra, 1975) (Fig. 1.12).



Figura 1.12 Diversi stadi di sviluppo della gonade femminile di *Octopus vulgaris*. A sinistra la gonade di un esemplare immaturo, al centro di un esemplare maturo, mentre a destra la gonade di una femmine dopo l'ovideposizione.

Attraverso il peso totale dell'animale ed il peso della gonade è possibile calcolare l'indice gonadosomatico (IGS) ed identificare 6 stadi di maturità per ambo i sessi: **immaturo, in sviluppo, in maturazione, piena maturità, deposizione e post-riproduzione** (Cuccu *et al.*, 2013).

Per quanto riguarda il **sistema nervoso centrale** è composto da una massa più o meno compatta di cellule che costituiscono il cervello, legato ad una serie di gangli periferici. Il cervello è localizzato tra gli occhi ed è racchiuso in un robusto cranio cartilagineo (Fig. 1.13). Esistono chiare divisioni funzionali tra i diversi lobi dell'encefalo, le aree deputate al controllo di diversi muscoli sono localizzate nelle zone laterali e sovra-

esofagee del cervello, mentre quelle che controllano braccia, mantello, capo, sifone e i cromatofori sono localizzate nella parte sub-esofagea (Boyle e Rodhouse, 2005). In aggiunta al cervello esistono masse di gangli periferici che controllano specifici organi, inoltre conferiscono un certo grado di autonomia per quanto riguarda il movimento locale. Sulla superficie delle braccia, ma non solo, sono presenti

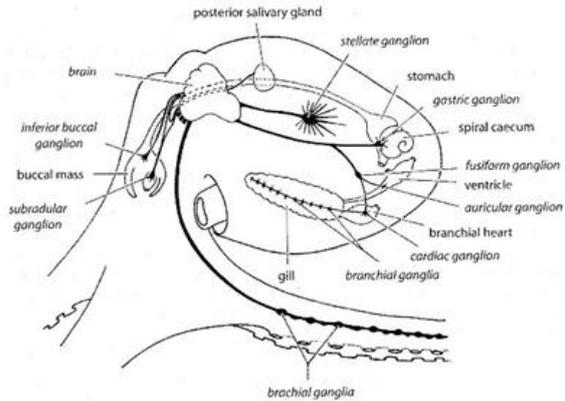


Figura 1.13 Immagine schematica del cervello e dei gangli principali del sistema nervoso di *Octopus vulgaris* (Boyle e Rodhouse, 2005)

cellule sensitive dotate di propriocettori che giocano un ruolo importante nella risposta a feedback di stimoli tattili e chimici, ciò consente loro di discriminare oggetti che differiscono per qualità e di maneggiarli con estrema abilità. Un altro senso molto sviluppato è quello della vista, essenziale sia per le specie che vivono in ambienti poco profondi, che per quelle che vivono in regioni più abissali (Boyle e Rodhouse, 2005). Infine, tipico dei coleoidi è la presenza di una vescica muscolare contenente inchiostro, localizzato in prossimità dell'intestino posteriore, che viene espulso attraverso un forte getto d'acqua dalla base del sifone. L'inchiostro è costituito soprattutto da melanina ed una volta rilasciato in acqua tende a formare una discreta massa composta da piccole particelle di muco legate tra loro. Essa ha la funzione di distrarre eventuali inseguitori in modo da permettere al cefalopode di cambiare rapidamente direzione e scappare (Boyle e Rodhouse, 2005). Ciò fa del polpo un animale estremamente complesso sia dal punto di vista anatomico che fisiologico, tuttavia la sua più grande capacità risiede nell'abilità di poter cambiare colorazione e fisionomia in base alle proprie esigenze, rendendolo estremamente fuggevole.

1.3 CICLO VITALE E RIPRODUZIONE

Octopus vulgaris è un animale a sessi separati pertanto all'interno del suo ciclo biologico non cambia sesso. Il suo ciclo di vita è relativamente breve, con una stima di 1 o 2 anni, anche se questo periodo secondo alcuni autori può variare a seconda della zona geografica: tra 12 e 20 mesi nel Mediterraneo, da 18 a 24 mesi nella costa NW dell'Africa, da 9 a 15 mesi nella costa NE dell'Africa (Mangold e Boletzky, 1973). La stagione riproduttiva del polpo è molto ampia e varia in base alla zona geografica; tuttavia si identificano due picchi di riproduzione annuali: il primo corrisponde al periodo marzo-maggio, più importante nell'Atlantico e nel Mediterraneo, e il secondo in autunno (settembre-ottobre) (Hatanaka, 1979; Smale e Buchan, 1981).

È possibile osservare un certo dimorfismo sessuale tra maschi e femmine: i maschi sessualmente maturi presentano alla base del 2° e 3° paio di braccia delle speciali ventose di dimensioni molto maggiori rispetto a tutte le altre (*Expanded Suckers*), mentre le femmine ne sono sprovviste (Wells, 1978). Tali ventose sono utilizzate dal maschio durante la fase di approccio nei confronti della femmina a dimostrazione della sua raggiunta maturità sessuale (*Sucker Display*). L'esposizione di queste speciali ventose è necessario, poiché aiuta a prevenire eventuali tentativi di attacco da parte della femmina, quando questa è di dimensioni maggiori. Oltre questo particolare display non sono stati osservati degli altri tipi di *patterns* da parte del maschio di *Octopus vulgaris* durante l'accoppiamento (Wells, 1962). Negli Octopodi la fertilizzazione è interna e i maschi per fecondare la femmina sfruttano un braccio strutturalmente modificato per trasportare le spermatofore, chiamato **Ectocotile** (Fig. 1.14). Tale arto corrispondente al terzo braccio di destra e la sua morfologia varia da specie a specie, tanto da essere utilizzato come carattere tassonomico (Wells e Wells, 1977).

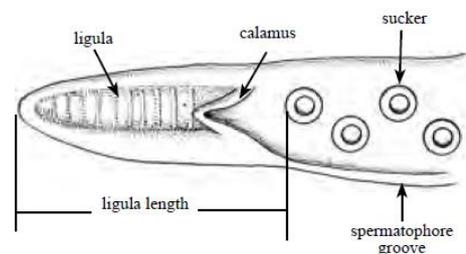


Figura 1.14 Parte terminale dell'ectocotile in *Octopus vulgaris* (Jereb *et al.*, 2016)

L'ectocotile è costituito da:

- **ligula**, che rappresenta la parte terminale dell'ectocotile;
- **calamo** (*calamus*), papilla conica alla base della ligula;
- **solchi spermatici** (*sperm groove*), solchi lungo il lato ventrale dell'ectocotile.

Le spermatofores vengono trasferite lungo i solchi spermatici dove vengono afferrati dalla ligula per poi essere rilasciate. La relazione, in ogni caso, è condotta a distanza, il maschio una volta avvicinarsi sufficientemente per accarezzare la femmina estende l'ectocotile e lo introduce all'interno della cavità del mantello di questa (Fig. 1.15).

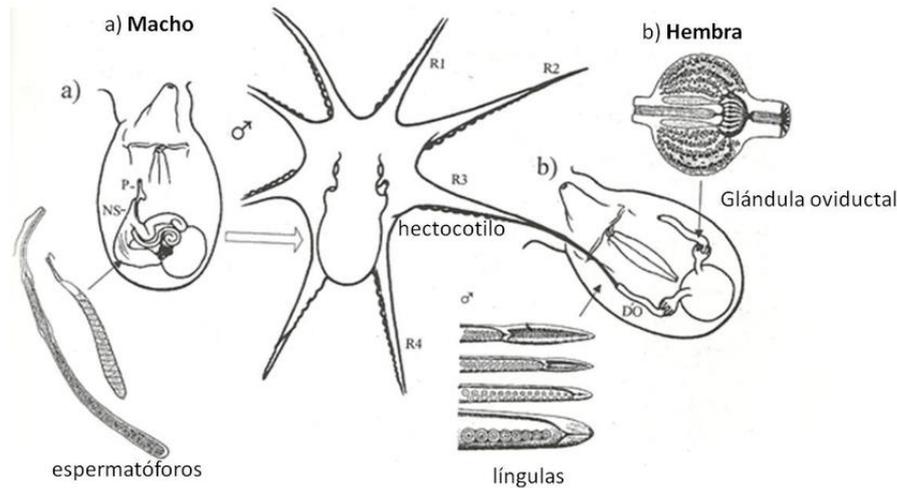


Figura 1.15 Comportamento riproduttivo di *Octopus vulgaris* (Hanlon e Messenger, 1996)

L'ectocotile ha la capacità di orientarsi correttamente all'interno della cavità del mantello della femmina in modo tale da raggiungere l'ovario (Galtsoff, 1961). L'inserzione di questo braccio nella cavità del mantello è inizialmente contrastata da parte della femmina, anche se in seguito questa accetta il maschio e giace tranquillamente, cosicché la copulazione possa procedere. Mediante peristalsi i pacchetti spermatici, immagazzinati nella Borsa del Needham, passano attraverso un dotto (*excurrent duct*) e raggiungono la parte terminale dell'ectocotile. Il trasferimento della prima spermatofores avviene dopo meno di un minuto dall'introduzione del braccio all'interno della cavità del mantello, mentre le seguenti spermatofores vengono rilasciate ad intervalli di 30 secondi, la copulazione può continuare per più di un'ora (Wells e Wells, 1977). Le spermatofores entrano all'interno degli ovidotti della femmina e si depositano all'interno delle ghiandole oviducali (Boyle e Rodhouse, 2005). La femmina può immagazzinare lo sperma di più maschi all'interno di un significativo intervallo di tempo prima del rilascio delle uova. Quando le uova passano all'interno delle ghiandole oviducali vengono fertilizzate, poiché lungo l'estremità arrotondata di queste è presente un micropilo dove lo sperma entra (Wells e Wells, 1977). Quando la femmina è prossima ad ovideporre cerca delle rocce sporgenti dove ripararsi. Le uova possono essere appese individualmente attraverso la base dei loro steli, oppure in grappoli con

gli steli intrecciati. Un grappolo solitamente è costituito da diverse centinaia di uova (Wells e Wells, 1977). Queste passano attraverso il sifone assieme ad un materiale glutinoso secreto dalle ghiandole oviducali, che funge da collante per l'attacco. I gambi delle prime uova ad essere incollate vengono pressati insieme a



Figura 1.16 Cure parentali dei grappoli ovarici

formare una radice che rappresenterà la base per l'attacco di altre. Dopo la deposizione la femmina rimane con loro mantenendole pulite, areandole e difendendole da eventuali predatori (Fig. 1.16). Le uova possono variare considerevolmente in dimensioni e numero. *Octopus vulgaris* probabilmente è il più prolifico degli Octopodi, mediamente produce 150.000 uova di 1-2 mm in pochi giorni, ma può arrivare fino a 500.000 unità (Villanueva e Norman, 2008). La cova dura circa 6 settimane, in questo lasso di tempo la femmina si alimenta poco o per niente, tanto che il cibo che solitamente verrebbe mangiato viene scartato ed allontanato dal nido (Wells, 1962). Al termine della schiusa la femmina muore.

Lo sviluppo embrionale dei futuri nascituri inizia già prima dell'ovideposizione. Secondo gli studi di Naef (1928) sono stati identificati 20 stadi di sviluppo embrionale che si differenziano in base alla torsione del sacco vitellino durante la gastrulazione ed alle inversioni dell'embrione. Gli stadi precedenti al VI sono relativi alla lenta torsione che il tuorlo compie durante la fase di gastrulazione (1) (Fig. 1.17) (Boletzky, 2010), dopodiché l'embrione inizia a ruotare lungo il suo asse

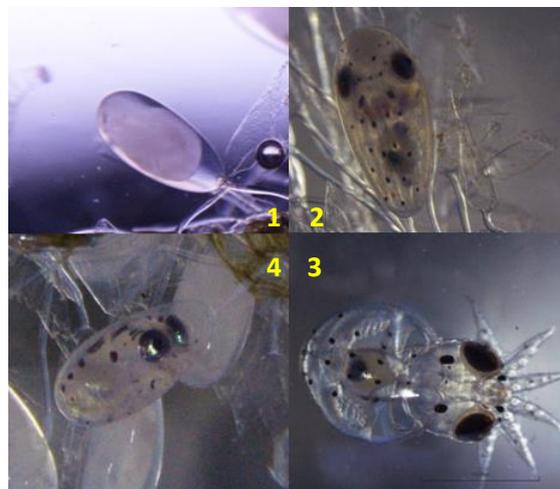


Figura 1.17 Diversi stadi dell'embriogenesi di *Octopus vulgaris*. 1) Fase pre-inversione, 2) Prima inversione, 3) Seconda inversione, 4) Paralarve appena schiusa

longitudinale. La rotazione avviene in senso orario partendo dal micropilo. Durante lo stadio VII l'embrione di *Octopus vulgaris* si gira in modo tale da esporre la sua parte posteriore verso il gambo, opposto al micropilo (2), nel caso in cui l'embrione fallisca questa inversione è destinato a morire (Wells e Wells, 1977). La seconda inversione si verifica allo stadio XVIII e dura 24 ore (3), in questo modo l'embrione si trova nella

posizione ideale per permettere alla paralarva di schiudere (4) (Fig. 1.17). L'embrione si alimenta del tuorlo che la femmina ha inserito all'interno di ciascun uovo, anche se nei primi stadi di sviluppo non sembra esserne interessato. Col procedere della divisione cellulare è possibile osservare una chiara suddivisione del sacco vitellino in due parti, una esterna ed una interna, connesse tramite la cavità boccale (Villanueva e Norman, 2008). Prima della schiusa l'embrione riassorbe il sacco esterno e lo trasferisce nel sacco vitellino interno. In caso di schiusa prematura l'embrione non riesce ad assorbire in tempo il sacco esterno, comportando così la perdita di nutrienti necessari all'accrescimento nelle prime fasi di vita (Boyle e Rodhouse, 2005). Il processo di schiusa avviene tramite una combinazione di contrazioni muscolari, rilascio di enzimi (organo di Hoyle) e da rigide setole (organi di Kölliker) (Boyle e Rodhouse, 2005). L'organo di Hoyle è localizzato sulla parte terminale posteriore del mantello e secerne degli enzimi che aiutano l'embrione a dissolvere il polo apicale della membrana del chorion. Gli organi di Kölliker sono visibili come rigide setole poste sulla superficie cutanea dell'embrione che, assieme alla combinazione dei movimenti del mantello, aiutano l'animale a muoversi in una direzione per uscire dall'uovo (Fig. 1.18).

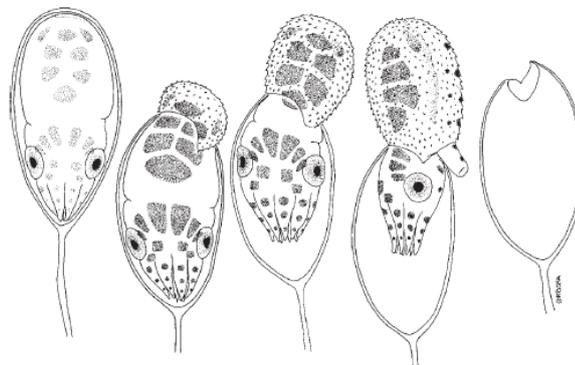


Figura 1.18 Processo di schiusa di *Octopus vulgaris* (Villanueva e Norman, 2008)

In caso di necessità la femmina stessa può forzare la schiusa delle uova attraverso il rilascio di un forte flusso d'acqua (Villanueva e Norman, 2008). Alla schiusa la paralarva misura circa 3 mm ed è dotata di 3 ventose per braccio, le quali continueranno ad aumentare di numero progredendo con lo sviluppo (Iglesias *et al.*, 2014). Immediatamente dopo la schiusa la paralarva nuota attivamente e si nutre inizialmente delle riserve del sacco vitellino interno, tuttavia l'attività predatoria inizia subito, pertanto è possibile supporre che la loro nutrizione sia lecitotrofica e planctivora allo stesso tempo. Esperimenti su *Octopus vulgaris* hanno dimostrato come le prime fasi

necessitano di una dieta ricca in fosfolipidi, PUFA e colesterolo, con un moderato contenuto di lipidi neutri (Boyle e Rodhouse, 2005). Per quanto riguarda lo stadio di paralarva poco si conosce dal punto di vista dell'areale geografico di distribuzione, sia per la difficoltà nel riconoscere caratteri sistematici nelle paralarve, che per la mancanza di metodi selettivi di campionamento. Tuttavia, si pensa che le aree di upwelling abbiano una grande importanza nella distribuzione delle paralarve di *Octopus vulgaris* (Villanueva e Norman, 2008). Tra le prede naturali delle paralarve di *Octopus vulgaris* vi sono zoeae di diversi crostacei decapodi (*Liocarcinus sp.* e *Palaemon sp.*), ma anche anfipodi ed ostracodi (Villanueva e Norman, 2008). Tuttavia, il fatto che la preda non sia viva non è un prerequisito indispensabile all'attacco; in laboratorio studi sull'alimentazione hanno dimostrato che le paralarve si nutrono anche di pellets e scaglie di pesce mentre scendono nella colonna d'acqua (Villanueva e Norman, 2008). Dopo 65-75 giorni dalla schiusa, alla temperatura di 20°C, le paralarve cambiano il loro comportamento da pelagico a bentonico (Fig. 1.19). Tale periodo intermedio dura circa 2 settimane e prende il nome di "insediamento", dopodiché l'esemplare entra nello stadio giovanile bentonico (Iglesias *et al.*, 2014). Secondo gli studi di Villanueva e Norman (2008) è possibile anticipare la fase di insediamento sperimentale a 47-54 giorni. Durante questa fase è possibile osservare una serie di modifiche morfologiche come: accrescimento delle braccia, aggiunta di nuove ventose, genesi di nuove componenti cellulari, sviluppo di componenti strutturali della pelle e della pupilla orizzontale (Villanueva e Norman, 2008). Si stima che durante la fase di insediamento i giovani polpi sviluppino tra le 17 e le 20 ventose per braccio (Iglesias *et al.*, 2014), mentre sulla superficie dorsale del mantello una densa rete di cromatofori, iridofori e leucofori comincia ad essere visibile per aiutare il polpo a mimetizzarsi ed assumere i *body patterns* tipici degli esemplari adulti. Infine, la pupilla delle paralarve diviene da circolare ad orizzontale, questo adattamento permette di discriminare meglio gli oggetti presenti sul fondale (Villanueva e Norman, 2008). Da questo momento in poi l'alimentazione del giovane polpo cambia e comincia a nutrirsi di molluschi, granchi,

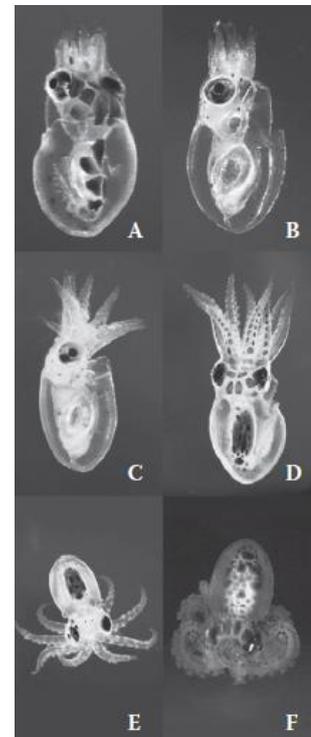


Figura 1.19 Individui di *Octopus vulgaris* dalla schiusa alla fase di reclutamento. A) 0 giorni, B) 20 giorni, C) 30 giorni, D) 42 giorni, E) 50 giorni, F) 47-54 giorni (Villanueva e Norman, 2008).

ricci di mare e pesci (Iglesias *et al.*, 2014). Maschi e femmine raggiungono la maturità sessuale a taglie diverse, infatti i maschi attorno ai 260 g di peso possono accoppiarsi, mentre le femmine raggiungono la maturità sessuale attorno ai 500 g (Boyle e Rodhouse, 2005), dopodiché avviene la fecondazione e il ciclo può ricominciare.

La strategia riproduttiva di *Octopus vulgaris* viene identificata col termine Simultaneous terminal spawning, ovvero l'ovulazione è sincrona e non vi è maturazione degli oociti durante la deposizione (Rocha *et al.*, 2001). La femmina all'interno di un'unica stagione riproduttiva rilascia tutte le uova che ha maturato nei mesi precedenti, tali uova schiudono all'interno di un determinato periodo di tempo che varia in base alla T°C. Solitamente con una temperatura di 20°C lo sviluppo dell'embrione dura circa 35-40 giorni (Boyle e Rodhouse, 2005), mentre portando la temperatura a 25°C il tempo si riduce a 22-25 giorni (Villanueva e Norman, 2008). Il controllo della maturazione del sistema riproduttivo nel polpo è legato sia a fattori interni (SNC, ghiandole endocrine, ormoni) che esterni (cambiamenti di temperatura, fotoperiodo, apporto di nutrienti, disponibilità di partners) (Wells, 1978). L'allungamento del fotoperiodo, assieme ad altri stimoli esterni, genera processi interni che influenzano il lobo sub peduncolato del SNC e la ghiandola ottica che si trova sui tratti ottici del cervello (Fig. 1.20). La ghiandola ottica rilascia degli ormoni (gonadotropina) che sopprimono la sintesi proteica nei muscoli, incrementando la

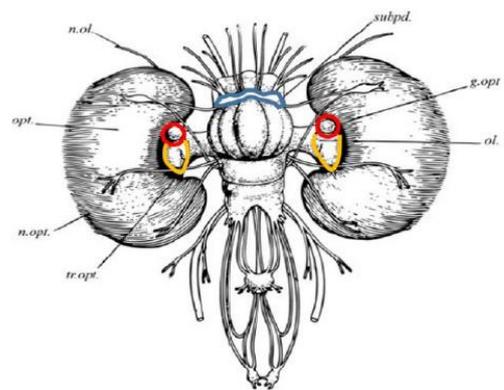


Figura 1.20 Disegno del SNC di *Octopus* visto dall'alto. Sono visibili: in rosso le ghiandole ottiche (*g.opt.*), in giallo i lobi olfattivi (*ol.*), in blu il lobo subpeduncolato (*subpd.*) (Wells, 1978).

concentrazione di amminoacidi liberi nel sangue (O'Dor e Wells, 1978). Questi amminoacidi si accumulano rapidamente nell'ovario, che li sfrutta per la sintesi delle proteine del tuorlo. Nella femmina questo evento è associato ad un aumento della crescita della gonade. L'ovario può raggiungere il 25% del peso del corpo comprimendo l'intestino dell'animale, per questo motivo la femmina durante la cova non si alimenta ed allontana il cibo (O'Dor e Wells, 1978). Alla fine della cova la femmina si presenta emaciata e con tessuti muscolari flaccidi, dopo poco muore. La maturazione non viene innescata fintanto che il lobo subpeduncolato inibisce la ghiandola ottica mediante un neuropeptide (FMRFammide), impedendo il rilascio della gonadotropina. Tuttavia, esistono due principali fattori che inibiscono il lobo subpeduncolato:

- l'allungamento del fotoperiodo inibisce il rilascio del neuropeptide;
- il lobo olfattivo rilascia un ormone che induce il rilascio delle gonadotropine (GnRH).

Questi due fattori pertanto inibiscono l'inibizione del lobo subpeduncolato permettendo alla femmina di convertire l'energia ricavata dal cibo per produrre la grande quantità di tuorlo richiesto. I maschi stessi, pur non essendo coinvolti nella sintesi del tuorlo muoiono smettendo di mangiare. Durante gli ultimi giorni di vita questi mostrano una degenerazione nella capacità di controllare il colore e la trama della pelle e di guarire le lesioni. Ciò suggerisce che la gonadotropina possa avere più effetti sul metabolismo oltre all'aumento della dimensione dell'ovario (O'Dor e Wells, 1978), oppure esiste la possibilità che altri ormoni siano coinvolti in tale processo (Wells, 1978). Ciò che è chiaro è che l'attivazione delle ghiandole ottiche conduce ad un processo irreversibile che porta i post riproduttori a perdere peso fino alla morte. Nessuna traccia di queste ghiandole è visibile negli stadi embrionali o in quelli di paralarva (Wells, 1978).

1.4 CAPACITÀ CROMATICHE E *PATTERNS*

Le tonalità di colore che possono essere osservate sulla superficie della cute del polpo sono prodotte dalla riflessione, assorbimento, diffrazione e diffusione della luce mediante cellule specializzate presenti sotto il derma. Combinandosi tra loro queste componenti non provocano cambiamenti solo al livello cromatico, ma anche tissutale grazie all'attività della muscolatura del derma. Tali componenti cromatiche includono gli **organi cromatofori**, gli **iridofori** ed i **leucofori**. Gli **organi cromatofori** del polpo sono composti da 4 tipi di cellule (Fig. 1.21):

- **compartimento pigmentato** (*Pigmented Compartment*), il quale contiene granuli di diverse colorazioni (marrone, arancione, rosso e giallo);
- **fibre muscolari** disposte radialmente (*Radial Muscle fibers*);
- **fibre nervose** o **assoni** (*Axons*) associate alle fibre muscolari;
- **cellule gliali** (*Glial Cells*) associate agli assoni.

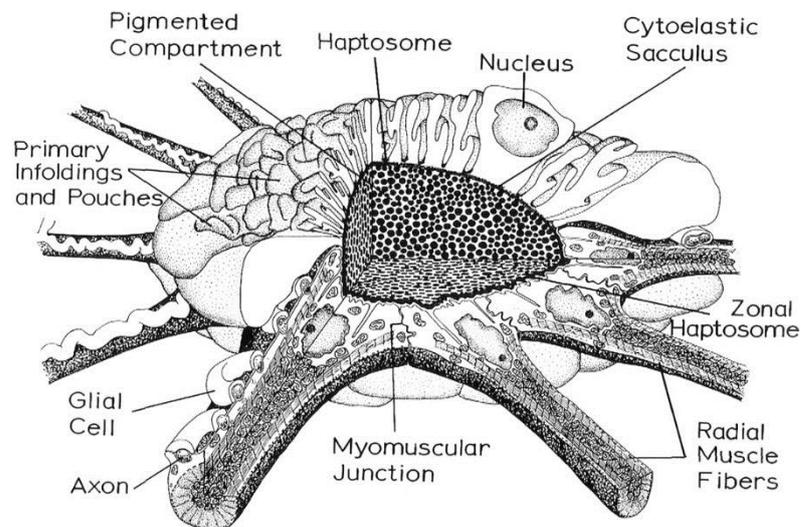


Figura 1.21 Illustrazione di un organo cromatoforo contratto (Cloney e Brocco, 1983)

Ogni cromatoforo ha al proprio centro un **sacchetto elastico** (*Cytoelastic Sacculus*) che riveste il **compartimento pigmentato**. L'espansione del sacchetto è controllata da una serie di 25 **fibre muscolari** disposte radialmente (Boyle e Rodhouse, 2005), le cui parti terminali sono ancorate nel tessuto connettivo del derma. Quando questi muscoli si contraggono il sacchetto si espande e va ad occupare quasi tutta la superficie esterna del cromatoforo, in questo modo imprime una colorazione intensa sulla superficie della

pelle. Contrariamente, quando i muscoli si rilassano il sacco diminuisce le sue dimensioni e la manifestazione della colorazione viene meno. La coordinazione di tale meccanismo è regolato non solo al livello muscolare, ma anche neuronale. Lungo ogni fibra muscolare c'è un nervo che contiene da 1 a 4 assoni che costituiscono una giunzione sinaptica continua lungo l'intera lunghezza del muscolo (Wells, 1978). Lo scarso numero di mitocondri presenti in questi organi assieme alla mancanza di riserve di glicogeno è indicativo del basso tasso di dispendio energetico necessario per questo processo metabolico (Cloney e Brocco, 1983).

La cromaticità della pelle del polpo è tuttavia resa più complessa dalla presenza di altre cellule (**iridofori**) contenenti schiere allineate di piastrine (*platelets*) (Cloney e Brocco, 1983). Esistono due classi di queste cellule non pigmentate, le **cellule riflettenti** e gli **iridociti**, ma il polpo presenta solo le prime. Le **cellule riflettenti** (Fig. 1.22)

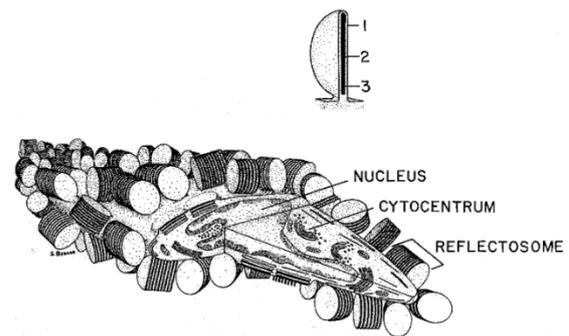


Figura 1.22 Immagine di una cellula riflettente circondata da riflettosomi (Cloney e Brocco, 1983)

hanno una forma ellissoide appiattita col nucleo posto al centro. Dal corpo cellulare si irradiano migliaia di processi chiamati **lamelle riflettenti** (*reflecting lamellae*), le quali sono attaccate attraverso uno stretto gambo al corpo stesso. Ogni lamella è dotata di una piastrina discoidale, strettamente legata al plasmalemma, che in base all'angolo di riflessione crea un'iridescenza metallica blu e verde (Cloney e Brocco, 1983). Gruppi di lamelle, composte da 2 a 32 elementi, sono organizzate in unità chiamate **riflettosomi** (*reflectosomes*) orientati casualmente rispetto all'asse che si interseca col corpo. Gli **iridociti** sono altre cellule capaci di riflettere la luce presenti in cefalopodi, come i calamari, che vengono distinte dalle **cellule riflettenti** per la loro ultrastruttura.

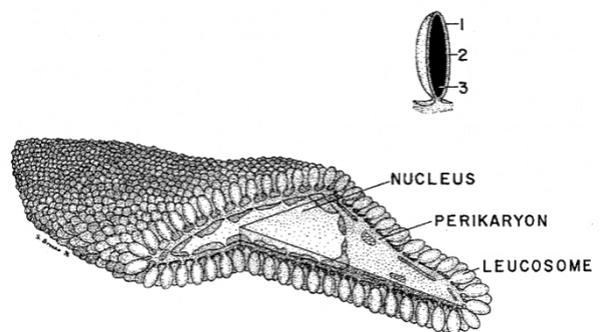


Figura 1.23 Immagine di un Leucoforo (Cloney e Brocco, 1983)

I **leucofori** sono cellule allungate e appiattite che si manifestano come *patches* di colore bianco. Ogni leucoforo possiede un nucleo centrale, mentre attorno alla parte periferica sono attaccati attraverso stretti gambi di citoplasma 1000-2000 processi bulbosi chiamati leucosomi (Cloney e Brocco,

1983) (Fig. 1.23). Ciascun leucoforo contiene un granulo leucosomiale elettro-denso e dalla forma ovale privo di colore. Contrazioni della muscolatura del mantello non hanno mostrato cambiamenti nella colorazione dei leucofori con differenti orientazioni (Cloney e Brocco, 1983). Cromatofori, iridofori e leucofori non sono distribuiti uniformemente lungo la superficie del corpo del polpo. Cromatofori di colore scuro sono localizzati prevalentemente sulla parte dorsale, mentre *patches* di colore chiaro sono visibili in aree specifiche della testa, del mantello e delle braccia (Wells, 1978; Cloney e Brocco, 1983). La figura dell'animale pertanto appare spezzata da patchwork di poligoni biancastri (leucofori) circondati da regioni riflettenti (iridofori) bordate di pieghe scure (cromatofori).

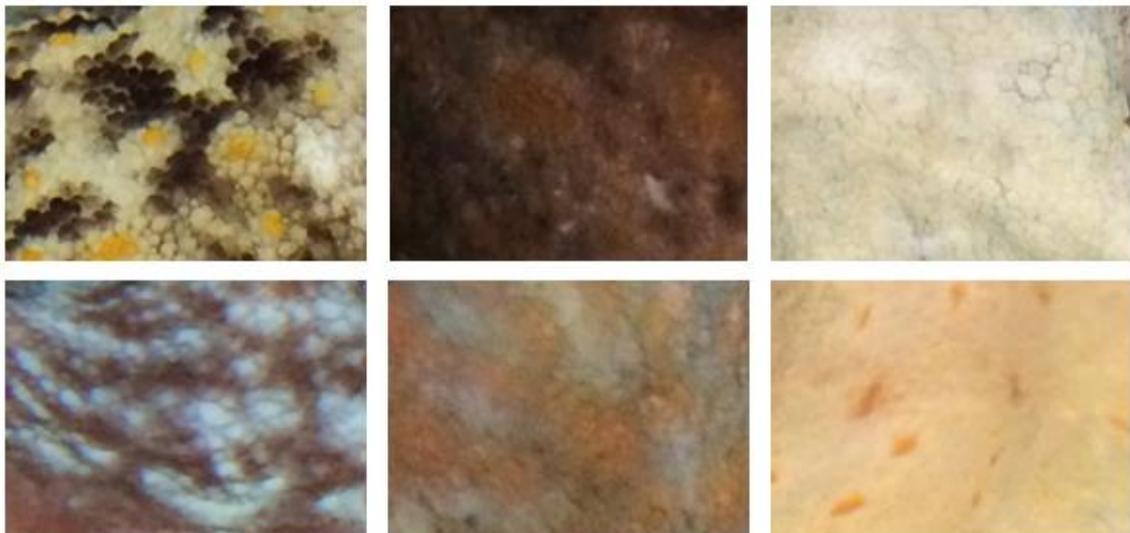


Figura 1.24 Differenti capacità cromatiche manifestate da *Octopus vulgaris*

Tutte queste componenti nella loro completezza conferiscono al polpo la capacità di poter spaziare attraverso un elevato numero di profili che prendono il nome di *patterns* (Fig. 1.24), i quali non sono limitati alla sola colorazione della cute, ma anche a tutte quelle tipologie posturali e locomotorie che essi sono capaci di assumere (Packard e Sanders, 1971). Il repertorio della produzione di *patterns* è infatti ulteriormente complicato dall'aggiunta di elementi che generano modificazioni lungo il contorno della superficie della pelle. I polpi sono in grado di modificare la trama della loro pelle rendendola simile a rocce, coralli, o altre strutture circostanti tramite il controllo di proiezioni epidermiche che possono formare protuberanze di forma variabile, dette **papille**. Quando le papille sono sollevate sopra la superficie del corpo la pelle appare irregolare, appuntita e ruvida. Le papille più larghe sono poste sulla superficie dorsale

del mantello. Le papille possono essere distinte per lunghezza, forma e disposizione: lunghe papille del mantello, papille laterali e lunghe papille della testa (Fig. 20) (Borrelli *et al.*, 2006). La totale ricchezza nella produzione di *patterns* è chiaramente collegata alla complessità ed alla varietà dell'habitat e della fauna ad esso associato (Boyle e Rodhouse, 2005). Maggiore è la complessità dell'habitat maggiore è la possibilità di osservare un'ampia varietà di *patterns*. Il polpo modifica la trama della propria cute non solo per mimetizzarsi nell'ambiente, ma anche per comunicare con conspecifici, per intimorire potenziali predatori e possibilmente per snidare prede che altrimenti rimarrebbero immobili (Wells, 1978). Il polpo è infatti capace di passare nella frazione di un secondo da una colorazione scura al bianco pallido.

All'interno del loro ciclo vitale i polpi esibiscono diverse caratteristiche cromatiche e morfologiche che permette loro di assumere diversi aspetti, tali modificazioni indicano diversi *pattern*. Tali componenti cromatiche e riflettenti sono visibili come chiazze sulla pelle che si distinguono tra di esse per il loro alto tono di contrasto. Tra tutti i *pattern* esistenti ve ne sono alcuni catalogati come criptici, poiché vengono manifestati in più occasioni.

Le caratteristiche visive che forniscono le basi dei *patterns* del corpo in *Octopus vulgaris* sono classificabili nelle seguenti componenti:

- Cromatiche (Chromatic light components and chromatic dark components);
- Posturali;
- Locomotorie;
- Tessiturali.

1.4.1 COMPONENTI TESSITURALI

Le modificazioni della superficie della pelle sono rese possibili tramite la proiezione o contrazione di protuberanze carnose dette PAPILLE (Borrelli *et al.*, 2006) (Fig. 1.25).

Papille lunghe del mantello (Packard e Sanders, 1971)

Appaiono come dei quadrilateri sulla superficie dorsale del mantello. La loro posizione è ben definita ed è facilmente riconoscibile, possono essere utilizzate come punti di riconoscimento per l'identificazione assieme alla posizione relativa di altre componenti (macchie bianche del mantello). Sono quattro, 2 si trovano sulla linea mediana del mantello (una anteriormente alla testa e una posteriormente alla punta del mantello),

mentre le altre 2 si sollevano sui lati del mantello. Quando non sono sollevate sono visibili come increspature sulla superficie del mantello.

Papille laterali (Fiorito e Gherardi, 1999)

Sono delle papille di taglia media dalla forma conica, che producono delle piccole elevazioni; sono distribuite sui lati del mantello e sulla superficie esterna della membrana interbranchiale.

Papille lunghe della testa (Packard e Sanders, 1971)

Un paio di prominenti papille proiettate sopra gli occhi come corna, le quali potrebbero ramificarsi in una serie di più piccole e meno allungate. Queste lunghe papille della testa sono disposte in serie longitudinale, possono essere molto rialzate sopra uno, o entrambi gli occhi, senza essere accompagnate dall'estensione di nessun'altra.



Figura 1.25 Modificazioni nella tessitura della cute di *Octopus vulgaris*

Back fin (Fiorito e Gherardi, 1999)

Si presenta come una piega o “pinna” di taglia medio-larga sull'estremità posteriore del mantello, con estensione variabile.

Grained skin (Packard e Sanders, 1971)

Una rete di solchi e macchie cambia la trama su tutto il corpo dell'animale. Questo accade in seguito alla contrazione della muscolatura sottostante, facendo sì che i solchi diventino profondi e stretti, creando un effetto “rugoso”.

Rough skin (Packard e Hochberg, 1977)

Quando le papille sono sollevate sulla superficie del corpo, la pelle appare irregolare, “spinosa” e ruvida. Come descritto da Cowdry (1911), le papille più grandi si trovano sulla superficie dorsale del mantello, tra gli occhi e sulla parte esterna delle prime due paia di braccia. Nel punto di origine dove sorgono queste grandi papille, le macchie sono disposte concentricamente. La posizione delle papille non cambia, possono variare in altezza e ciascuna papilla avrà sempre la stessa macchia al suo apice. Le papille

sembrano avere una funzione protettiva, in quanto quando sono sollevate rendono l'animale indistinguibile con le irregolarità dell'ambiente lo circonda.

Smooth skin (Packard e Sanders, 1971)

Quando i muscoli della pelle sono rilassati, le macchie e i solchi si trovano sullo stesso piano, apparendo larghe e poco profonde e conferendo un aspetto liscio a tutta la pelle del polpo. In queste condizioni le papille non sono sollevate sul corpo dell'animale.

1.4.2 COMPONENTI LOCOMOTORIE

Cleaning manoeuvre (Packard e Sanders, 1971)

Questa manovra viene osservata frequentemente in cattività, ma è stata osservata anche in natura. È un comportamento inconfondibile che può essere facilmente riconosciuto e identificato attraverso vari *steps*. La manovra inizia con l'estensione delle braccia, che sono ricurvi e rialzati. Ogni ventosa è estremamente tirata all'infuori in una maniera che non è mai stata osservata in alcun'altra attività, rendendo il margine esterno delle braccia ondulato ed increspato. Questa posizione può essere mantenuta per diversi secondi prima che la reale azione di pulizia abbia inizio. Il movimento consiste in una rapida rotazione delle braccia tenute strette ai lati del corpo, inizia dalla base e continua con un incremento della velocità sino all'apice. Il rivestimento cheratinico delle ventose è rilasciato nel processo e viene successivamente soffiato via dall'animale attraverso il getto del sifone.

Envelope (Fiorito e Gherardi, 1999)

L'envelope è una componente locomotoria che viene eseguita durante la cattura di una preda. Le braccia e il tessuto attorno, assumono la forma di un paracadute il quale, come una rete serve a rinchiudere la preda. Questa componente locomotoria solitamente inizia col l'estensione delle prime braccia che vengono leggermente espanse verso l'esterno. Quando si trova in questa posizione le parti terminali delle braccia sono ripiegate lateralmente in modo che le punte entrino in contatto tra loro. Le ventose aiutano l'animale a rimanere in una posizione stabile e di presa per mantenere saldamente il contatto col substrato, poi la membrana interbranchiale comincia ad allargarsi per ricoprire l'area sottostante. In tal modo circonda e nasconde la preda.

Withdrawal manoeuvre (Packard e Sanders, 1971)

Quando un polpo viene disturbato la sua prima reazione è quella di ritirare le braccia dietro la testa e il corpo per proteggersi, esponendo le ventose alla fonte di disturbo. Tuttavia, se il disturbo è forte o persiste il polpo esegue la *Withdrawal manoeuvre* (manovra di ritiro) assumendo una forma a palla (Mather, 1998). In questa estrema postura difensiva le uniche parti del corpo visibili sono la bocca, le ventose e il sifone spalancato attraverso il quale emette un forte getto d'acqua contro l'intrusore. La superficie bianca delle ventose contrasta in modo netto con la superficie della pelle, che assume una colorazione scura per l'espansione dei cromatofori. Un polpo che adotta questa manovra è quasi impossibile da rimuovere fintanto che mantiene questa posizione (Packard e Sanders, 1969). Quando nella *Withdrawal manoeuvre* entrano in gioco componenti non solo locomotorie, ma anche cromatiche e posturali, allora tale manovra si evolve nella ***Full withdrawal response*** ovvero è l'approccio estremo della manovra di ritiro. Durante la *Full withdrawal response*:

- ✓ La testa e gli occhi sono appiattiti e le palpebre possono essere occasionalmente chiuse;
- ✓ Il corpo sbianca in combinazione con la comparsa dell'*Eye ring* e dei bordi scuri sulle ventose;
- ✓ Le braccia vengono sollevate e arricciate dietro la testa e il corpo, con le ventose esposte verso l'esterno;
- ✓ Il polpo orienta il sifone verso lo stimolo.

Swimming (Packard e Sanders, 1969)

Il nuoto viene effettuato dai polpi è sfruttato in diverse occasioni e per diversi scopi. L'acqua viene espulsa con potenza dal sifone, in questo modo l'animale spinge se stesso attraverso l'acqua senza alcun contatto col fondale. Quando i polpi devono nuotare per distanze medio-lunghe, tendono ad usare una strategia del tipo "*stop and go*", alternando sequenze di nuoto ad avanzate lente o camminando. Esistono 3 diversi tipi di nuoto che il polpo può effettuare:

- nuoto all'indietro (*backwards swimming*);
- nuoto in avanti (*forwards swimming*);
- nuoto verso l'alto (*upwards swimming*).

Il nuoto all'indietro si verifica quando l'animale si lancia in avanti con l'apice del mantello e le braccia distese (*Arm loose*), ma può essere effettuato anche con le braccia arriciate (*Arms tucked in and curled*). Quest'ultimo tipo di nuoto (*Curled Arm Swimming*) viene eseguito quando il polpo è inseguito da qualcun altro, tanto che questa potrebbe essere una versione del *Broad Conflict Mottle* durante il nuoto. È stata osservata anche in occasione di conflitto, le braccia ripiegate all'indietro riducono apparentemente le *chance* di essere agganciati per le estremità dall'inseguitore. Nel nuoto in avanti l'animale si getta in avanti con la testa e col mantello e le braccia all'indietro, questo tipo di nuoto è tipico durante la cattura di una preda. Infine, nel nuoto verso l'alto l'animale nuota attraverso la superficie dell'acqua, cercando di raggiungere un obiettivo o uno stimolo che sia fuori dall'acqua. Questo tipo di nuoto è stato comunemente osservato in condizione di cattività, non si sa se si verifichi in natura.

1.4.3 COMPONENTI POSTURALI

Standing position (Packard e Sanders, 1971)

Durante la *Standing position* il polpo allunga la testa oltre la rimanente parte del corpo, così tanto da essere descritto come “se fosse in piedi”. Durante tale posizione la metà prossimale delle braccia è rigida, mentre gli apici possono essere distesi.

Arms twisted (Packard e Sanders, 1971)

Le braccia vengono allargate lungo assi ampiamente divergenti e vengono estese in modo non uniforme in tutta la loro lunghezza. Gli apici possono essere piegati e/o attorcigliati di diversi gradi. Il 1° paio di braccia viene ripiegato ed esteso, in questo modo tende ad arricciarsi all'indietro vicino al capo. Comportamento in genere mostrato per interesse verso un oggetto, oppure come postura protettiva soprattutto da esemplari giovanili.

Funnel directed towards external stimulus (Borrelli *et al.*, 2006)

Il sifone è diretto verso lo stimolo, come accade in forti reazioni avversive quando il polpo diventa rosso, soffiando potenti getti d'acqua dal sifone contro la fonte di disturbo.

Arms outstretched (Packard e Sanders, 1971)

Le braccia sono distese con l'estremità che spesso esplorano l'ambiente "alla cieca".

Arms upturned (Packard e Sanders, 1971)

Chiamata anche "Retroflex" (Mather, 1998), le braccia sono curve avanti e dietro la testa in direzione del mantello. All'estremità le braccia rigide sono rivolte all'indietro sopra la testa ed il corpo come un'armatura, con le ventose orientate verso l'esterno. Questa postura può essere di difesa nei confronti di minacce di predatori o conspecifici oppure una reazione ad un disturbo.

Reflected forearm (Packard e Sanders, 1971)

Il braccio è allungato e la sua parte terminale è ripiegata verso l'alto e all'indietro mostrando così le ventose.

1.4.4 COMPONENTI CROMATICHE

CHROMATIC LIGHT COMPONENTS

Arm white spots (Packard e Hochberg, 1977)

Sono una serie di piccole chiazze espresse, con una costante e definita distribuzione, lungo le braccia. Sono organizzate in gruppi da tre che vanno a definire gli angoli di piccoli triangoli, con la chiazza all'apice che è molto più cospicua rispetto alle due presenti alla base. Le chiazze bianche corrispondono alle aree dove è presente una fitta densità di leucofori, la loro manifestazione è dovuta alla completa contrazione di tutti i cromatofori sopra queste chiazze, in contrasto con l'espansione dei cromatofori attorno a quest'area.

Eye flash (Mather, 1994)

È caratterizzato da un velocissimo (meno di 1 secondo) sbiancamento ed inscurimento dell'area che circonda la pupilla, quando l'animale è disturbato nella propria tana.

Frontal white spots (Packard e Hochberg, 1977)

Chiazza formatasi grazie al denso assemblaggio di leucofori in prossimità della zona frontale della testa, sotto gli occhi, al punto di inserzione del 1° braccio. Generalmente questa chiazza viene espressa come due ovali, che possono essere uniti l'un l'altro attraverso una sottile barra trasversale. Nonostante ciò tali forme variano da un polpo ad un altro, a volte possono essere più allungate, altre volte possono fondersi dando una forma a manubrio. Il grado di espressione di questa chiazza è molto variabile, infatti può essere lieve o più prominente (Packard *et al.*, 1988). La stessa barra trasversale può presentare un'intensità che non è direttamente proporzionale all'intensità dei due ovali. Quando l'espressione di questa chiazza è cospicua il contrasto col resto del corpo diventa molto acuto, specialmente in condizioni di bassa luminosità (tanto da poter essere l'unica caratteristica visibile nel polpo). Questa chiazza prende anche il nome di "*foveal trap*" (trappola della fovea), poiché presenta una funzione difensiva. La fovea è la regione centrale della retina che corrisponde alla zona di massima acuità visiva, il polpo infatti gioca su questa caratteristica per proteggersi da eventuali sguardi indagatori. Lo sguardo di un eventuale predatore infatti si focalizza solamente sulla chiazza bianca, in questo modo non percepisce chiaramente quello che c'è intorno ad essa, nel frattempo il resto del corpo del polpo assume una colorazione che eguaglia quella del substrato, in questo modo non viene scoperto.

Head bar (Packard e Sanders, 1971)

È una barra bianca trasversale che si estende dorsalmente tra gli occhi. L'espressione di quest'area è data da una o più file di chiazze bianche, dove i cromatofori sono selettivamente contratti.

Mantle white spots (Packard e Hochberg, 1977)

Sono delle chiazze bianche prominenti (particolarmente nei sub-adulti) che appaiono sulla metà centrale del mantello dorsale e possono presentare il margine anteriore a forma di ferro di cavallo. Ogni chiazza è costituita da piccole macchie che, secondo la loro disposizione, fanno apparire queste chiazze ovali o a forma di ferro di cavallo. Ciò

suggerisce che i particolari arrangiamenti di queste chiazze possano rappresentare un carattere distintivo per ciascun individuo, al pari delle nostre impronte digitali. Questa componente cromatica risulta utile anche per il riconoscimento di individui provenienti da aree diverse.

White papillae (Packard e Sanders, 1971)

Sono una serie di marcature bianche formate dall'aggregazione di leucofori. Questi leucofori sono presenti nella regione della pelle rispetto alle papille che si sollevano sul margine esterno del mantello. Quando i cromatofori sovrastanti sono completamente contratti, i leucofori sottostanti riflettono la luce, facendo apparire le papille come "gessose".

CHROMATIC DARK COMPONENTS

Arms bar (Packard e Sanders, 1971)

Sono barre trasversali marroni o nere, che sono disposte in serie tra il I°, II° e III° paio di braccia, grazie alla selettiva espansione dei cromatofori scuri. Queste barre di colore scuro presentano una costante e definita distribuzione lungo le braccia, come è stato riportato per l'*Arm white spots*.

Black hood (Packard e Sanders, 1971)

L'espansione dei cromatofori determina l'incurimento della testa, in mezzo agli occhi, così da far sembrare l'animale come se indossasse un "cappuccio scuro". Questa componente cromatica viene anche esibita con "*head bar*" e "*frontal white spots*" i quali risaltano in modo evidente sullo sfondo scuro.

Eye bar (Packard e Sanders, 1971)

Può essere considerata come una delle componenti più comuni ed inconfondibili espressi da *Octopus vulgaris*. Consiste in una barra nera o marrone, che incrocia l'occhio ed estende la linea della pupilla orizzontale in avanti e indietro. L'*eye bar* può pulsare e variare di intensità in differenti parti. Può essere scura di fronte o dietro l'occhio, o in ambo di queste parti e può non essere colorata del tutto. Questa componente può essere esibita in diversi contesti: a riposo, mentre avanza lentamente o nuota vigorosamente.

1.5 BODY PATTERNS E DISPLAYS

Acute resemblance (Packard e Sanders, 1971)

L' *Acute Resemblance* corrisponde ad una varietà di pattern distruttivi utilizzati da *Octopus vulgaris* per i quali è alquanto difficile dare un'adeguata descrizione. Questa "colorazione distruttiva" (Hanlon e Messenger, 1996) è una forma di camuffamento, la quale si basa su due metodi:

- può modificare il naturale profilo dell'animale;
- può manifestare aree o forme sul corpo che attraggono l'attenzione dell'osservatore, distogliendolo dall'animale nella sua interezza (es. *Frontal White Spot*).

In *O. vulgaris*, come in altri cefalopodi, la "distruzione" è ottenuta dall'audace combinazione delle componenti cromatiche chiare e scure, le quali contrastano nettamente con il fondale, come la *White Spot* su uno sfondo scuro, o la *Dark Spot* su un terreno chiaro. Bande trasversali (es. *Arm Bars*, *Head Bar*, *White Streak*) combinate con strisce longitudinali (es. *Extend Hood*, *Median White Stripe*), producono un effetto simile, rendendo l'animale indistinguibile da ciò che lo circonda. Componenti strutturali e posturali, come l'innalzamento delle papille o il serpeggiare delle braccia o l'appiattimento del capo e degli occhi possono completare il quadro. Le strisce, le macchie e le bande trasversali, le quali contribuiscono all'effetto distruttivo, sono caratterizzate dal contrasto tra chiaro e scuro che sono spesso intensificati lungo i confini di queste aree. Ciò che rende eccezionale l'*Acute Resemblance* è che il contrasto delle zone può essere invertito e modulato.

Bishop (Borrelli *et al.*, 2006)

In questo *body pattern*, che viene espresso durante l'incontro (anche conflittuale) con altri esemplari, il polpo si solleva estendendo le braccia ed espandendo la rete interbranchiale al suo estremo. Il mantello è sollevato e direzionato verso l'alto, come un pallone gonfio, e termina con una punta (*Back fin*). L'espansione estrema delle braccia e della rete interbranchiale, fa sembrare il polpo come se indossasse una "veste da vescovo". L'animale presenta una colorazione marrone (*Uniform Brownish-red*) mentre la parte terminale delle braccia è ricurva e di colore pallido, con le ventose

estese. In alcuni casi delle piccole macchie bianche possono essere sparpagiate sul mantello e sulla rete interbranchiale. Queste corrispondono alle aree dove emergono le papille. Un polpo può assumere questo *pattern* quando è immobile in una posizione (es. in piedi) o quando si muove lentamente verso un avversario. In alcuni casi è stata osservata anche una forma incompleta di questo *pattern*, il mantello è sempre gonfio ma leggermente sollevato, rimane per lo più in posizione orizzontale.

Broad Conflict Mottle (Packard e Sanders, 1969)

Broad Conflict Mottle è uno dei tre *Mottled phases* riconosciuti in *Octopus vulgaris*. È caratterizzato dal rapido contrasto delle macchie chiare e scure e delle pieghe espresse simultaneamente e con differente estensione. Infatti, questo *pattern* consiste in ammassi di chiazze chiare, con l'interposizione di pieghe visibili solo come tenui linee, circondate da regioni di pelle dove i cromatofori sono ampiamente espansi. Le dimensioni e spesso anche l'intensità delle macchie, diminuiscono verso la periferia del corpo. Le papille non sono mai sollevate. Questo *pattern* si verifica in diversi contesti comportamentali, generalmente quando l'animale è disturbato da qualcosa, infatti tali screziature sono marcatamente espresse verso la fonte di disturbo. Può essere anche manifestato quando il polpo è indeciso se attaccare o meno un suo simile (*Conflict Mottle*).

Camouflage (Packard *et al.*, 1988)

Camouflage viene utilizzato come termine generico per includere i *pattern* criptici e distruttivi esibiti da *O. vulgaris*. Consiste in uno stato comportamentale più che uno specifico modello corporeo, adottato dal polpo e cefalopodi in generale, come difesa primaria contro i predatori. L'infinita varietà di *body patterns* implicati nel *camouflage*, è ottenuta quasi esclusivamente da segnali visivi.

Dymantic (Packard e Sanders, 1971)

Questo *pattern*, il più visibile tra quelli manifestati da *O. vulgaris*, è un *pattern* ostile che viene manifestato nei confronti di un potenziale predatore o di ulteriori stimoli negativi. È considerato infatti essere un segnale interspecifico che avvisa, a chi osa avvicinarsi troppo, di andarsene. In *Octopus vulgaris*, come per altri cefalopodi, questo *pattern* si manifesta quando l'animale è colto alla sprovvista da un pericolo, mentre si trova all'aperto. La prima reazione è quella di incurvare e sventolare completamente le

braccia verso l'esterno, espandendo fino all'estremo la rete interbranchiale. L'intero corpo, inclusa testa e braccia, si appiattisce e gli occhi vengono orientati verso l'alto, cosicché l'animale sembra giacere sullo stesso piano. In questo modo il polpo appare molto più grande di prima avendo espanso la propria area il più possibile. Allo stesso tempo la superficie del corpo sbianca, apparendo come una "maschera pallida" (*Dymantic Shield*) con le basi delle ventose contornate da una colorazione rosso scura o marrone. Gli occhi invece presentano la pupilla dilatata e l'*Eye Ring*. Potenti getti d'acqua vengono rilasciati dal sifone verso la fonte di disturbo. Nel caso in cui la fonte di disturbo persista o aumenti, il 2° paio di braccia viene proiettato in un movimento laterale e frontale disegnando un arco.

Se l'animale viene disturbato all'interno della sua tana, potrebbe manifestare un *Incomplete Dymantic*. In questo caso il corpo impallidisce e gli occhi diventano vistosamente scuri in contrasto col resto del corpo, proprio come nel *Dymantic pattern*. Tuttavia, l'espansione delle braccia è limitata e viene sostituita da un rialzo delle stesse e dal ritiro all'interno della tana. Questo tipo di comportamento comunque è età-dipendente: le circostanze che portano alla manifestazione di questo pattern negli adulti falliscono invece nei giovanili. Ciò è dovuto ad un programma neurologico che è appena accennato nei polpi che sono appena passati dalla fase planctonica a quella bentonica. Infatti, gli esemplari immediatamente dopo la metamorfosi (0.2–0.5 gr), rispondono alle fonti di disturbo producendo il *Branchial Hearts Display*, che viene successivamente sostituito dal *Flamboyant pattern*. Questo pattern del corpo criptico, inizialmente si manifesta con poche e semplici componenti cromatiche ad accompagnarne la postura, presto però si evolve in una forma matura caratterizzata da un più ampio repertorio cromatico (1–10 gr). Gli esemplari giovanili (10 gr) invece, rispondono alla fonte di disturbo esibendo un completo *Flamboyant pattern*, oppure un *Dymantic pattern* non ancora maturo. Nel *Dymantic pattern* immaturo le braccia vengono proiettate all'esterno, ma lo sbiancamento presente nell'adulto rimane assente. Esso viene sostituito da chiazze chiare su uno sfondo scuro tipico della posizione da conflitto. Il *Dymantic pattern* completo appare solo nel tardo stadio giovanile del polpo (10–100 gr), rappresentando la risposta finale dell'animale alle fonti di disturbo.

General resemblance (Packard *et al.*, 1988)

In *Octopus*, *General Resemblance* spesso si alterna con *Acute Resemblance* come forma alternativa di camuffamento; l'animale infatti è capace di passare da uno all'altro

pattern muovendosi nell'ambiente, a seconda dei diversi substrati che incontra. Tuttavia, le due forme di camuffamento differiscono l'una dall'altra per un importante aspetto. In *Acute Resemblance*, il camuffamento è ottenuto dalla rottura dell'integrità della forma dell'animale, portando le diverse parti del corpo a scollegarsi tra loro, oppure sviando l'attenzione dell'osservatore attraverso specifiche parti del corpo (Messenger, 2001). In *General Resemblance* invece, il camuffamento è prodotto nascondendo l'animale nella sua interezza, facendolo assomigliare ad una parte casuale del fondale.

Striped phases (Cowdry, 1911)

Questo *pattern* rappresenta le varie colorazioni a strisce esibite da *O. vulgaris*; il più importante corrisponde al ***Longitudinal Stripes*** (Packard e Sanders, 1971). Il corpo dell'animale diventa di un colore rossastro con la presenza di strisce bianche. La linea più larga si estende dal margine dorsale del 1° braccio di destra, corre attraverso gli occhi fino alla parte posteriore del mantello. Anche sul margine dorsale del 2° e 3° paio di braccia sono presenti le strisce bianche, ma terminano prima di raggiungere la regione della testa. La colorazione è prodotta dall'estrema espansione dei cromatofori (*Extend hood*) lungo il 1° e 2° paio di braccia. Questo pattern si verifica in diversi contesti: durante il nuoto, durante un'interazione sociale intraspecifica o come reazione ad un disturbo.

Sucker display (Packard, 1961)

Il *Sucker Display* viene eseguito dai maschi adulti nei confronti delle femmine come "rituale di corteggiamento". Quando un maschio nota la femmina, solleva il corpo dal fondo, alzando ed aprendo le braccia per mostrarle le ventose bianche. Durante questo processo, le ventose non sono tutte visibili allo stesso modo, poiché alcune sono ripiegate su stesse, come le ventose prossimali; le ventose extralarge, al contrario, sono molto espanse, apparendo particolarmente cospicue. Sembra quasi che le ventose estese siano usate come un segnale di riconoscimento maschio-femmina (Packard, 1963). Il maschio mostra alla femmina queste larghe ventose per indicare il suo sesso a quest'ultima, solo nel caso in cui la femmina sia molto grande (Wells e Wells, 1972). *Octopus vulgaris*, come la maggior parte degli octopodi, è un *terminal spawner*. I maschi raggiungono la maturità sessuale a taglie molto inferiori (tra 140–150 gr.) rispetto alle femmine (circa 800 gr.) (Mangold e Boletzky, 1973). Il maschio

probabilmente richiede alla femmina un suo segnale di approvazione, non solo per superarne la possibile ostilità, ma anche per assicurarsene la cooperazione. Solo successivamente il maschio può entrare col 3° braccio di destra (ectocotile) all'interno del mantello della femmina e rilasciare le spermatofores. Tuttavia, questo *display* può essere manifestato anche in altre occasioni, per esempio quando innanzi al polpo si presenta uno stimolo allarmante (come un oggetto non familiare). Questa esposizione delle ventose innanzi ad una potenziale fonte di pericolo, si sviluppa direttamente dalla posizione di ritirata, ed è più marcata verso la parte dell'intrusore. Sembra quasi che questo *display* non sia applicato solo verso la femmina, ma che inizialmente si sia evoluto come comportamento verso un animale più grande e solo in seguito sia stato utilizzato all'interno del corteggiamento (Packard, 1963).

Uniform phases (Cowdry, 1911)

È un termine generico che raggruppa le differenti colorazioni uniformi (*Uniform Light Gray*, *Uniform Brownish-red*, *Uniform Reddish-brown*) che può assumere *O. vulgaris*. La stessa colorazione *Brilliant White*, che corrisponde a quella assunta dal polpo nel *Dymantic pattern*, viene considerata facente parte della *Uniform phases*. Tuttavia, dal momento in cui quest'ultima si verifica sempre in combinazione col bordo scuro delle ventose, non viene inclusa nella *Uniform phases* in senso stretto.

Uniform light gray (Cowdry, 1911)

In questo *body pattern* il polpo mostra una tonalità di grigio chiaro sfumato col marrone, o anche leggermente con il verde; spesso si può apprezzare un inscurimento tra gli occhi e la superficie dorsale del mantello. Specifiche parti del corpo come il sifone e le ventose sono di colore scuro, in contrasto con lo sfondo grigio chiaro. Questo *pattern* è comune nel polpo, e viene esibito quando gli animali sono a riposo.

Uniform reddish-brown (Cowdry, 1911)

Questa colorazione bruno – rossastra è più chiara in corrispondenza della parte ventrale delle braccia e della membrana interbranchiale. È più chiara anche in corrispondenza della superficie ventrale del mantello. Questa colorazione uniforme può essere esibita in una varietà di contesti come: il nuoto, a riposo, la cattura di una preda o interazioni sociali, ma anche come reazione al disturbo talvolta eseguita da un getto di inchiostro.

Unilateral effect (Packard e Sanders, 1971)

Octopus vulgaris ha la capacità di dividere la colorazione del suo corpo a metà, mostrando una colorazione chiara da un lato ed una scura dall'altro. Durante lo stadio iniziale di questa manifestazione la linea di demarcazione è dritta e nitida e sembra dividere il polpo in 2 parti speculari. Questo effetto può persistere per una quantità di tempo variabile, successivamente queste colorazioni (o solo una delle due) cominciano a dissolversi portando la linea di demarcazione a diventare prima ondulata e poi a dissolversi completamente. Ciò porta l'*Unilateral effect* ad involversi nella *Uniform phase*, che può avere toni chiari (*Uniform Light Gray*) o scuri (*Uniform Reddish-brown*). Questa variazione impressionante sembra essere più frequentemente espressa durante incontri intra-specifici, col pattern più audace (solitamente scuro) verso il conspecifico.

Uniform Brownish-red (Cowdry, 1911)

Il polpo assume una tonalità rosso – brunastra, con sfumature di verde sul bordo della membrana interbranchiale e in mezzo agli occhi. Il lato inferiore delle braccia è di colore più chiaro, con tonalità quasi arancione. I peduncoli delle ventose appaiono brunastre. Questo *pattern* può evolvere in *Ground Dark Brown*, quando macchie chiare diventano evidenti e numerose sulla superficie dorsale della testa, del mantello, delle braccia e della membrana interbranchiale. Si manifesta quando il polpo avanza lentamente in avanti o nuota, durante incontri intra-specifici o nei confronti di una fonte di disturbo.

Zebra Crouch (Packard e Sanders, 1971)

Le strisce trasversali sono la caratteristica più distintiva di questo *body pattern*. Queste appaiono insieme alle barre delle braccia e quella dell'occhio, come strisce trasversali scure su tutto il corpo e quasi tutte le braccia. Il polpo è più o meno “accovacciato” con le braccia allargate verso il basso e dietro la testa, il mantello compresso a formare una punta (*Back fin*), e la pelle liscia ad eccezione della punta del mantello. Il polpo manifesta questo *pattern* nei confronti di un suo simile, per esprimere una forte aggressività (Moynihan, 1975).

Full attack response (Packard, 1963)

In questo *pattern* il polpo lancia sé stesso verso un granchio o un altro stimolo, nuotando grazie alla propulsione dell'acqua rilasciata attraverso il sifone, senza toccare il fondo. Le componenti cromatiche, posturali e locomotorie costituiscono un vero e proprio comportamento, che è l'esatto opposto di quello esibito nella *Full Withdrawal Response*. In questo caso infatti:

- I. La testa e gli occhi sono sollevati e spalancati;
- II. Il corpo è scuro o rossastro;
- III. Le braccia sono distese o rilassate con le ventose volte verso il basso;
- IV. Il polpo orienta il sifone posteriormente, nella direzione opposta allo stimolo.

In *O. vulgaris* la *Full attack response* è provocata dall'iniziale visione di un oggetto commestibile a cui segue il vero e proprio attacco. Si pensa che questa reazione implichi un doppio meccanismo: uno esterno che lavora sulle basi dell'informazione visiva, ed uno interno indipendente dalla visione (Maldonado, 1963a).

Il tempo trascorso, tra il riconoscimento della preda e lo slancio, definisce il tipo e la latenza dell'attacco eseguito dal polpo per ciascuna specifica condizione. Le analisi sul comportamento predatorio di *O. vulgaris*, permettono di stabilire il gradiente di attacchi che il polpo può effettuare (dal non attacco al pieno attacco), sulla base delle esperienze acquisite e sulla sua effettiva forza. Infatti, un polpo può rimanere ignaro della preda, anche se questa è visibile per un lungo periodo di tempo. Due variazioni di attacco lento sono conosciute:

- Nella prima il polpo si muove lentamente verso la preda catturandola. In questo tipo di attacco il polpo copre più del 40% della distanza totale durante il *second time-delay*, che comincia nel momento in cui c'è la fase di accelerazione che porterà poi all'effettivo attacco.
- Nella seconda variazione invece il polpo si ferma prima di raggiungere la preda, allunga le braccia per catturarla e la porta sotto di sé.

Conflict posture (Packard e Sanders, 1971)

Questa postura, che rende il comportamento così particolare ed inconfondibile, è adottata dal polpo come approccio iniziale in seguito al verificarsi di uno stimolo negativo; può rimanere fisso in una posizione oppure oscillare leggermente avanti e indietro per un periodo di tempo, con alcuni gruppi di cromatofori espansi al massimo e altri contratti, in modo tale da produrre un modello di contrasto “buio-luce” e con le braccia in parte estese in avanti ed in parte ripiegate all’indietro. Tale posizione sembra essere espressa quando, le componenti opposte di ritiro e di approccio sono presenti allo stesso tempo (Packard, 1963).

BIBLIOGRAFIA

BMTI. 2018. Analisi trimestrali sul prezzo e sul mercato dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura.

Boletzky, S. 1977a. Post-hatching behaviour and mode of life in cephalopods. *Symposia of the Zoological Society of London* 38, 557-567.

Boletzky, S. 1992. Evolutionary aspects of development, life style, and reproductive mode in incirrate octopods (Mollusca, Cephalopoda). *Revue Suisse de Zoologie* 99, 755-770.

Boletzky, S. 2010. 'The yolk organ' of cephalopod embryos: on transient functions from crawling substratum to provisional knapsack, in Proceedings of the 3rd international symposium Coleoid Cephalopods, Luxemburg, Dirk Fuchs. *Ferrantia* 59, 14-21.

Borrelli, L., Gherardi, F., Fiorito, G. 2006. A Catalogue of Body Patterning in Cephalopoda. Firenze University Press, Stazione Zoologica A. Dohrn.

Boyle, P., Rodhouse, P. 2005. Cephalopods: Ecology and Fisheries. Blackwell Science LTD, Oxford.

Chapela, A., González, Á.F., Dawe, E.G., Rocha, F.J., Guerra, Á. 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Scientia Marina* 70, 121-129.

Cloney, R.A., Brocco, S.L. 1983. Chromatophore Organs, Reflector Cells, Iridocytes and Leucophores in Cephalopods. *American Zoologist* 23, 581-592.

Cowdry, E.V. 1911. The colour changes of *Octopus vulgaris*. University of Toronto Studies, Biological Series, (10): 53 pp.

Cuccu, D., Mereu, M., Porcu, C., Follesa, M.C., Cau, A.L., Cau, A. 2013. Development of sexual organs and fecundity in *Octopus vulgaris* Cuvier, 1799 from the Sardinian waters (Mediterranean Sea). *Mediterranean Marine Science* 14, 270-277.

Estefanell, J., Roo, J., Guirao, R., Afonso, J.M., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Socorro, J. 2013. Efficient utilization of dietary lipids in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) fed fresh and agglutinated moist diets based on aquaculture by-products and low-price trash species. *Aquaculture Research* 44, 93-105.

Estefanell, J., Roo, J., Guirao, R., Izquierdo, M., Socorro, J. 2014. Biological performance of *Octopus vulgaris* in 'integrated aquaculture' models: effect of two potential fresh diets, sex and sexual maturation during the grow-out phase. *Aquaculture Research* 45, 1470-1480.

FAO. 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Rome.

FAO. 2018. The state of world fisheries and aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome.

Fiorito, G., Gherardi, F. 1999. Prey-handling behaviour of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) on Bivalve preys. *Behav. Processes*. 46, 75-88.

Galtsoff, P.S. 1961. Physiology of Reproduction in Molluscs. *American Zoologist* 1(2), 273-289.

García, J.G., Luaces, M., Veiga, C., Rey-Mendéz, M. 2014. Farming Costs and Benefits, Marketing Details, Investment Risks: The Case of *Octopus vulgaris* in Spain, Ch. 9, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva. Springer, New York, pp. 149-161.

Graham, J.P., Portela, J. 2014. Fisheries Production and Market Demand, Ch. 3, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 41-58.

Guerra, A. 1975. Determinación de las diferentes fases del desarrollo sexual de *Octopus vulgaris* Lamarck, mediante un índice de madurez. *Investigacion Pesquera* 39(2), 397-416.

Guerra, A., Roura, A., Gonzalez, A.F., Pascual, S., Cherel, Y., Perez-losada, M. 2010. Morphological and genetic evidence that *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 inhabits Amsterdam and Saint Paul Islands (southern Indian Ocean). *ICES Journal of Marine Science* 67, 1401-1407.

Guzik, M.T., Norman, M.D., Crozier, R.H. 2005. Molecular phylogeny of the benthic shallowwater octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37, 235-248.

Hanlon, R.T., Messenger, J.B. 1996. *Cephalopod Behaviour*. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.

Hatanaka, H., 1979. Studies on the fisheries biology of common octopus off northwest coast of Africa. *Bull. Far Seas Fish. Res. Lab.* 17, 13-124.

Ibanez, C.M., Pena, F., Pardo-Gandarillas, M.C., Mendez, M.A., Hernandez, C.E., Poulin, E. 2014. Evolution of development type in benthic octopuses: holobenthic or pelagobenthic ancestor? *Hydrobiologia* 725, 205-214.

Iglesias, J., Fuentes, L., Villanueva, R. 2014. *Octopus vulgaris*. Paralarval Culture, Ch. 23, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 427-450.

Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C. 2000. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): Present knowledge, problems and perspectives, *CIHEAM* 47, 313-322.

Jereb, P., Roper, C., Norman, M., Finn, J. 2016. *Cephalopods of the world: An Annotated and Illustrated Catalogue of cephalopod species known to date*, FAO Species Catalogue for fishery Purposes N.4, Vol. 3, Rome 2016.

- Maldonado, H. 1963a. The visual attack learning system in *Octopus vulgaris*. *J. Thor. Biol.* 5, 470-488.
- Mangold, K., Boletzky, S.V. 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7-12.
- Mather, J.A. 1988. Daytime activity of juvenile *Octopus vulgaris* in Bermuda. *Malacologia* 29, 69-76.
- Mather, J.A. 1994. Home choice and modification by juvenile *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda): specialized intelligence and tool use? *J. Zool. Lond.* 233, 359-368.
- Messenger, J.B. 2001. Cephalopod chromatophores: neurobiology and natural history. *Biological Reviews* 76, 473–528.
- Moynihan, M. 1975. Conservatism of displays and comparable stereotyped patterns among cephalopods. In: Baerends, G., Beer, C., Manning, C. (Eds.), *Function and Evolution in Behaviour*. Clarendon Press, Oxford, pp. 276-291.
- Nabhitabhata, J., e Segawa, S. 2014. Aquaculture to Restocking, Ch. 7, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 113-130.
- Naef, A. 1928. Fauna and Flora of the Bay of Naples, Cephalopoda Embriology, part 1, Vol. 2, Monograph 35, Smithsonian Institution Libraries, Washington D. C.
- Norman, M.D. & Hochberg, F.G. 2005a. The current state of octopus taxonomy. *Phuket Marine Biological Center Research Bulletin* 66, 127-154.
- O’Dor, R.K., e Wells, M.J. 1978. Reproduction versus somatic growth: hormonal control in *Octopus vulgaris*, *Journal of Experimental Biology* 77, 15-31.

- Okumura, S., Kurihara, A., Iwamoto, A., Takeuhi, T. 2005. Improved survival and growth in *Octopus vulgaris* paralarvae by feeding large type of *Artemia* and Pacific sandeel, *Ammodytes personatus*. *Aquaculture* 244, 147-157.
- Packard, A. 1961. Sucker display of *Octopus*. *Nature* 190, 736-737.
- Packard, A. 1963. The behaviour of *Octopus vulgaris*. *Bull. Inst. Oceanogr.* (Monaco) 1D: 35-49.
- Packard, A., Sanders, G.D. 1969. What the octopus shows to the world. *Endeavour* 28, 92-99.
- Packard, A., Sanders, G.D. 1971. Body patterns of *Octopus vulgaris* and maturation of the response to disturbance. *Animal Behaviour* 19, 780-790.
- Packard, A., Hochberg, F.G. 1977. Skin patterning in Octopus and other genera. Pages 191-231 in M. Nixon and J. B. Messenger, eds. The biology of cephalopods. Symp. Zool. Soc. Lond. (38): 615 pp.
- Packard, A., Trueman, E. R., Clarke, M. R. 1988. The skin of cephalopods (coleoids): general and special adaptations. P. 37 in: *The Mollusca*, Vol. 11, *Form and Function*, K.M. Wilbur, ed. Academic Press, New York.
- Pearse, V., Pearse, J., Buchsbaum, M., Buchsbaum, R. 1993. La radiazione adattativa dei molluschi: Cefalopodi, in *Invertebrati viventi*. Zanichelli Editore, Bologna, pp. 365-386.
- Poli, A., Fabbri, E. 2012. *Fisiologia degli animali marini*, Edises, 512 pp.
- Rocha, F., Guerra, A., González, Á. 2001. A review of reproductive strategies in cephalopods. *Biological review* 76, 291-304.

Sánchez, F. J., Valverde, J. C., García García, B. 2014. Chapter 24: *Octopus vulgaris*: On-growing. In J. Iglesias, L. Fuentes, & R. Villanueva (Eds.), *Cephalopod culture* (pp. 451-466). Dordrecht, the Netherlands: Elsevier.

Sánchez, F.J., Iglesias, J., Moxica, C., Otero, J.J. 1998. Growth of octopus (*Octopus vulgaris*) males and females under culture conditions. *European Aquaculture Society, Special Publication 26*, 244-245.

Seibel, B.A., Goffredi, S.K., Thuesen, E.V., Childress, J.J., Robison, B.H. 2004. Ammonium content and buoyancy in midwaters cephalopods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 313, 375-387.

Smale, M.J., Buchan, P.R. 1981. Biology of *Octopus vulgaris* off the east coast of South Africa. *Mar. Biol.* 65, 1-12.

Sykes, A.V., Koueta, N., Rosas, C. 2014. Historical Review of Cephalopods Culture, Ch. 4, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 59-75.

Villanueva, R., Norman, M.D. 2008. Biology Of The Planktonic Stages Of Benthic Octopuses, Ch. 46, in *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* (Gibson, R., N., Atkinson, R., J., A., e Gordon, J., D., M.). Taylor & Francis, pp. 105-202.

Voss, G.L. 1988. The biogeography of the deep-sea Octopoda. *Malacologia* 29, 295-307.

Warnke, K., Soller, R., Blohm, D., Saint-Paul, U. 2004. A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological systematics and Evolutionar Research* 42, 306-312.

Wells, M.J. 1962. The Behaviour in Cephalopods, Ch. 2, in *Brain and Behaviour in Cephalopods*. Stanford University Press, California, pp. 33-37.

Wells, M. 1978. OCTOPUS, Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate, Chapman e Hall Ltd, London.

Wells, M. J., Wells, J. 1972. Sexual displays and mating of *Octopus vulgaris* Cuvier and *O. cyanea* Gray and attempts to alter performance by manipulating the glandular condition of the animals. *Animal Behaviour* 20, 293-308.

Wells, M.J., Wells, J. 1977. Cephalopoda, Octopoda, Ch. 6, in: Reproduction of Marine Invertebrates, Vol.4. Academy Press Ink, New York, pp. 291-336.

Young, R.E., Harman, R.F. 1988. "Larva", "Paralarva" and "Subadult" in cephalopod terminology. *Malacologia* 29, 201-207.

CAPITOLO II

ESPRESSIONI COMPORTAMENTALI DI ADULTI DI *Octopus vulgaris* MANTENUTI IN AMBIENTE CONTROLLATO

2.1 INTRODUZIONE

Uno degli aspetti più evidenti e affascinanti del comportamento dei cefalopodi è la moltitudine di *display* e colori che vengono prodotti sulla superficie della pelle. Nessun altro animale cambia il suo aspetto così rapidamente ed ha un'ampia gamma di manifestazioni (Packard e Sanders, 1971; Hanlon e Messenger, 1988). Le tonalità di colore che possono essere osservate sulla superficie della cute del polpo, sono prodotte dalla riflessione, assorbimento, diffrazione e diffusione della luce mediante cellule specializzate presenti sotto il derma. Combinandosi tra loro queste componenti non provocano cambiamenti solo a livello cromatico, ma anche tissutale grazie all'attività della muscolatura del derma. Tali componenti cromatiche includono gli organi cromatofori, gli iridofori ed i leucofori (Boyle e Rodhouse, 2005). Tutte queste componenti nella loro completezza conferiscono al polpo la capacità di poter spaziare attraverso un elevato numero di profili che prendono il nome di *patterns*, i quali non sono limitati alla sola colorazione della cute, ma anche a tutte quelle tipologie posturali e locomotorie che essi sono capaci di assumere (Packard e Sanders, 1971).

La totale ricchezza nella produzione di *patterns* è chiaramente collegata alla complessità ed alla varietà dell'habitat e della fauna ad esso associato (Boyle e Rodhouse, 2005). Maggiore è la complessità dell'habitat maggiore è la possibilità di osservare un'ampia varietà di *patterns*. Il polpo modifica la trama della propria cute non solo per mimetizzarsi nell'ambiente, ma anche per comunicare con conspecifici, per intimorire potenziali predatori e possibilmente per snidare prede che altrimenti rimarrebbero immobili (Wells, 1978). Il polpo è infatti capace di passare nella frazione di un secondo da una colorazione scura al bianco pallido (Packard *et al.*, 1988).

All'interno del loro ciclo vitale i polpi esibiscono diverse caratteristiche cromatiche e morfologiche che permette loro di assumere diversi aspetti, tali modificazioni indicano diversi *pattern*. Tali componenti cromatiche e riflettenti sono visibili come chiazze sulla pelle che si distinguono tra di esse per il loro alto tono di contrasto.

Bohus *et al.* (1987) spiegano come in situazioni di stress o meno, vi sia una relazione tra comportamento e risposte fisiologiche. Per questo motivo, in questo studio, è stato scelto il comportamento come indicatore dello stato di salute degli animali. Infatti, l'osservazione dello stesso risulta non invasiva ed operativamente più semplice da eseguire su animali di difficile manipolazione.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare come differenti condizioni ambientali influenzino il comportamento di adulti di *Octopus vulgaris* mantenuti in ambiente controllato. Attraverso l'osservazione quali-quantitativa dei principali *patterns* comportamentali, si è cercato di acquisire le necessarie informazioni utili ad individuare una metodica efficace per il mantenimento degli animali in cattività, con l'obiettivo finale di rilevare le principali cause di riduzione del benessere animale ed ottenerne la riproduzione spontanea.

2.2 MATERIALI E METODI

2.2.1 PRELIEVO E TRASPORTO DEGLI ESEMPLARI

I polpi utilizzati per la sperimentazione sono stati prelevati dalla marineria di Gallipoli (LE) attraverso il metodo tradizionale di pesca con la lenza a mano o “polpara” (Fig. 2.1). Tale metodo, del tutto incruento, prevede l’uso di una lenza madre in nylon del diametro di 1 mm alla quale viene legata, tramite un moschettone, un terminale. Dal terminale dipartono dei braccioli ai quali vengono legati dei pesci (solitamente pesce azzurro). La parte inferiore del terminale è agganciata ad un piombo, dal peso variabile (300–1000 g) in base alla profondità di pesca e stagione, necessario affinché il terminale tocchi il fondale. Sulla parte superiore del terminale viene legata anche una busta in plastica, per attirare maggiormente l’attenzione da parte del polpo. Non appena il polpo si avvinghia all’esca la lenza viene recuperata a bordo e il polpo viene catturato a mano, in prossimità della superficie. Ciò è necessario poiché non appena il polpo emerge tende a lasciare la presa e fuggire. Non appena il polpo è stato recuperato viene inserito in una rete di nylon per essere stoccato temporaneamente all’interno di un secchio (Fig. 2.1). In totale sono stati catturati 12 esemplari di polpo.



Figura 2.1 Polpara per la pesca dei polpi ed esemplare appena catturato

Il trasporto degli esemplari è avvenuto attraverso una vasca coibentata del volume di 300 litri. Ogni polpo è stato inserito all’interno di una retina di nylon, per evitare fenomeni di aggressività. La vasca è stata dotata di un sistema di aereazione tramite compressore, per mantenere un buon livello di ossigenazione. Infine, la vasca di trasporto è stata sigillata con un coperchio per mantenere gli animali tranquilli al buio e mantenere la temperatura dell’acqua a $16 \pm 1,5$ °C. Non appena gli esemplari sono giunti

in laboratorio sono stati stoccati nelle vasche di stabulazione della serra Ittiologica del corso di Laurea in Acquacoltura e Igiene delle Produzioni Ittiche, del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie di Bologna (UNIBO).

2.2.2 PESO E SESSAGGIO

Una volta in laboratorio, gli animali sono stati sottoposti alla determinazione del peso ed all'identificazione del sesso. Il peso dei soggetti è avvenuto utilizzando una bilancia di marca BEL ($\pm 0,1$ gr). Il sessaggio è stato effettuato osservando la parte terminale del 3° braccio di destra e la dimensione/disposizione delle ventose su entrambe le prime due braccia. Nel primo caso, si osserva la parte apicale del braccio, che nella femmina risulta essere sottile e appuntita, mentre nel maschio è arcuata e tozza e prende il nome di ectocotile. Tale forma "a cucchiaio" è dovuta al fatto che durante l'accoppiamento il maschio utilizza questo braccio per trasferire le spermatofore all'interno del mantello della femmina. Nel secondo caso, se le ventose sono tutte regolari e di dimensioni omogenee si tratta di un esemplare di sesso femminile, mentre se sono presenti ventose irregolari e di dimensioni notevolmente maggiori rispetto a quelle circostanti si tratta di un esemplare di sesso maschile (Fig. 2.2).



Figura 2.2 Esemplare maschile (a) – Esemplare femminile (b) – Particolare dell'ectocotile (c)

2.2.3 DISEGNO SPERIMENTALE

Per la sperimentazione sono stati selezionati 8 esemplari:

- 4 maschi dal peso di 1320 ± 400 g
- 4 femmine dal peso di 1090 ± 110 g

e collocati in un impianto di stabulazione a circuito chiuso, costituito da 2 vasche rettangolari in grado di ospitare n.2 coppie/vasca.

Il comportamento dei polpi è stato valutato utilizzando 2 ambienti diversificati ottenuti attraverso particolari modifiche delle vasche di stabulazione. Più precisamente è stato creato:

1. un ambiente “**Spoglio**” (SPO) dove gli animali vivevano in una vasca di colore blu (come da fabbrica) con scomparti e fondo vuoti;
2. un ambiente “**Naturalizzato**” (NAT) dove una vasca identica era stata sottoposta ad un cambiamento di colore (dal blu al grigio), è stato inserito uno strato di sabbia sul fondo e posizionate delle rocce naturali.

Entrambe le vasche erano state dotate di tane artificiali.

Per tutto il periodo sperimentale gli animali sono stati mantenuti a temperatura e salinità controllate, a fotoperiodo naturale ed alimentati 1 volta/giorno. Le osservazioni qualitative e quantitative delle principali espressioni comportamentali degli animali, alle differenti condizioni ambientali, avevano una durata di 4 ore/giorno (10-12 a.m. e 15-17 p.m.) per 5 giorni/settimana e per un periodo complessivo di 20 settimane.

2.2.4 IMPIANTO DI STABULAZIONE

L'impianto di stabulazione è costituito da 2 vasche rettangolari della medesima dimensione ($3\times 0.62\times 0.50$), collegate ad un gruppo tecnico dotato di tutte le componenti essenziali per il controllo ed il trattamento delle acque a circuito chiuso (Fig. 2.3). Il volume totale dell'acqua, ad impianto operativo, è di 1.700 litri. Ciascuna vasca ha subito delle modifiche strutturali rispetto alle caratteristiche di fabbrica ed è stata adattata per ospitare la specie oggetto di studio. In entrambe sono stati creati 4 scomparti, in grado di ospitare un singolo polpo. La separazione è avvenuta tramite

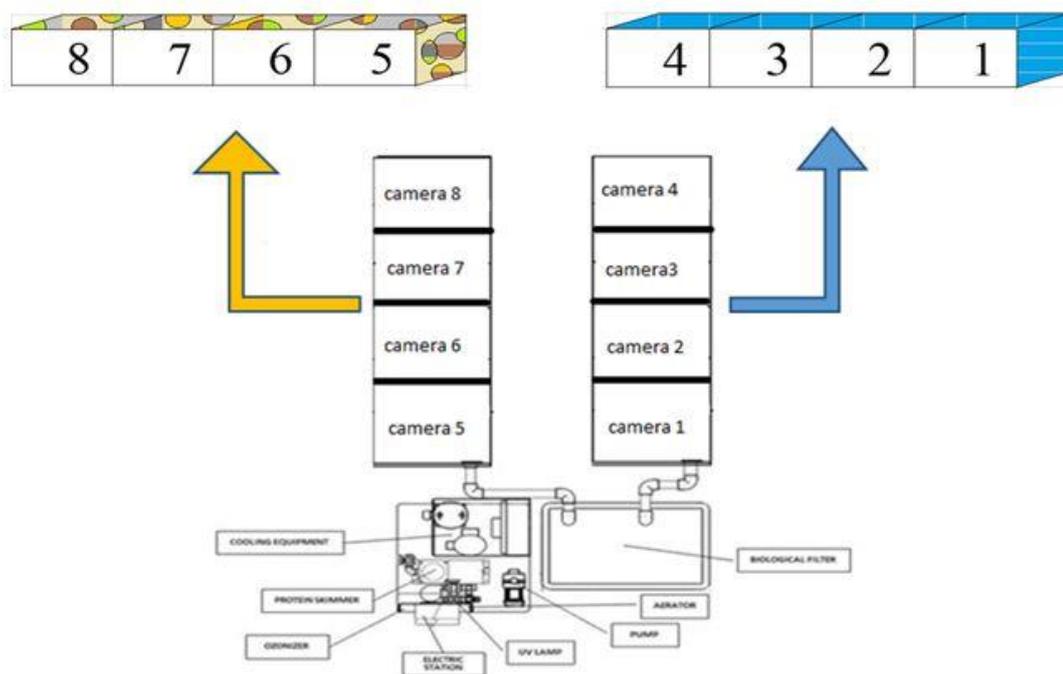


Figura 2.3 Impianto di stabulazione utilizzato per il mantenimento dei polpi

delle griglie in plastica dotate di fori, per consentire l'interazione tra gli individui e contemporaneamente salvaguardare l'istinto territoriale e l'incolumità degli animali. Ogni animale disponeva di uno spazio di 216 cm^3 ($72 \times 50 \times 60$). Le vasche sono state dotate di coperture in vetro trasparente per favorire l'entrata della luce ed impedire la fuga degli animali durante le ore notturne, le quali, grazie a delle cerniere, risultavano ribaltabili consentendo le operazioni quotidiane di ispezione e pulizia degli scomparti. Nella figura 2.3 è rappresentato l'impianto di stabulazione utilizzato per la prova, caratterizzato da un gruppo tecnico comune per le due vasche sperimentali (**NAT** e **SPO**): i 4 scomparti **SPO** sono stati mantenuti spogli come da fabbrica (materiale plastico atossico di colore blu, oblò in vetro per le osservazioni frontali) (Fig. 2.4), mentre gli scoparti **NAT** sono stati "naturalizzati" (fondo ricoperto di sabbia marina, inserimento di massi, sassi, ciottoli e cocci, oscuramento dell'oblò frontale in vetro e copertura delle pareti con fogli mimetici di colore marrone/grigio) (Fig. 2.5). Nelle vasche era presente una tana/scomparto, costituita da un tubo in pvc di color arancione.



Figura 2.4 Vasca SPO



Figura 2.5 Vasca NAT

2.2.5 CONDIZIONAMENTO DEGLI ANIMALI

Seguendo le indicazioni di Iglesias *et al.* (2014), i polpi per tutta la durata della prova sono stati mantenuti a fotoperiodo naturale primaverile-estivo (si è passati da 10,5 ore luce/giorno a 16 ore luce/giorno) e sottoposti ad un trattamento termico positivo (si è partiti da una temperatura iniziale di 16°C fino ad arrivare a 20°C al termine della sperimentazione).

La salinità è stata mantenuta giornalmente su valori pari a $35 \pm 2\%$, il pH è stato monitorato settimanalmente per verificare che i valori rimanessero all'interno del range ottimale per *O. vulgaris* (7.9-8.2) (Fiorito *et al.*, 2015). I valori di ammoniaca e nitriti sono stati osservati ogni tre giorni e mantenuti nei valori tollerabili per la specie.

I polpi venivano alimentati 1 volta al giorno con una dieta costituita principalmente da crostacei vivi e decongelati (*Carcinus sp.*, *Liocarcinus sp.*, *Squilla mantis*, *Panaeus kerathurus*), pesce decongelato (*Boops boops*, *Mugil cephalus*, *Sardina pilchardus*) e molluschi (*Mytilus galloprovincialis*).

2.2.6 OSSERVAZIONE DEI PATTERNS COMPORTAMENTALI

La sperimentazione ha avuto una durata di **20 settimane** durante le quali i polpi sono stati sottoposti ad osservazioni giornaliere di 4 ore:

- **2 ore al mattino** (9-11 oppure 11-13);
- **2 ore al pomeriggio** (13-15 oppure 15-17).

Le osservazioni venivano eseguite da personale precedentemente formato dal lunedì al venerdì (**5 giorni/settimana**) per un totale di **1200 minuti/settimana**.

Come supporto all'osservazione diretta sono stati effettuati filmati video e registrazioni subacquee. Gli animali erano identificati con lettere e numeri corrispondenti alla propria camera all'interno dell'impianto di stabulazione, come indicato in Tabella 2.1.

Tabella 2.1 Disposizione degli esemplari di polpo all'interno dell'impianto

VASCA	ESEMPLARE	SESSO	PESO (g)
SPO	C1	M	1840
	C2	F	1050
	C3	M	1350
	C4	F	950
NAT	C5	F	1180
	C6	M	1240
	C7	F	1190
	C8	M	870

Tenendo conto di quanto indicato da Borrelli *et al.* (2006), sono state scelte **n. 17 manifestazioni comportamentali** giudicate come maggiormente rappresentative delle condizioni degli esemplari in vasca e **n. 3 manifestazioni improprie** identificate come “**negativi**” (*autofagia, cannibalismo e morte*) (Tab. 2.2). Tutti questi, in base al loro significato, sono stati raggruppati fino a formare **n. 6 categorie di riferimento**. Tuttavia, per una questione di suddivisione dei vari comportamenti, si è preferito spostare nel gruppo “negativi” il *Dymantic pattern*, in quanto assimilabile appunto a stimoli negativi (Tab. 2.2).

Tabella 2.2 Espressioni comportamentali di riferimento

BODY PATTERNS		SIGNIFICATO
Intraspecifici – Disturbo		
1	<i>Broad Conflict Mottle</i> – BCM	Reazione al disturbo – avvertimento conflitto
2	<i>Unilateral Effect</i> – UE	Interazione ostile intraspecifica – disturbo
3	<i>Uniform Reddish-brown</i> – URB	Interazione intraspecifica – reazione al disturbo
4	<i>Longitudinal Stripes</i> – LS	Interazione intraspecifica – reazione al disturbo
5	<i>Bishop</i> – BI	Incontro intraspecifico – avvertimento conflitto
Camuffamento – Riposo		
6	<i>Acute Resemblance</i> – AR	Camuffamento
7	<i>General Resemblance</i> – GR	Camuffamento
8	<i>Uniform Light Gray</i> – ULG	Riposo, tranquillità
Posturali		
9	<i>Standing Position</i> – SD	Curiosità, interesse verso la femmina
10	<i>Arms Twisted</i> – AT	Forte interesse per un oggetto – operatore
Riproduttivi		
11	<i>Sucker Display</i> – SD	Corteggiamento della femmina
12	<i>Accoppiamento</i> – ACC	Atto sessuale M – F
Locomotori		
13	<i>Envelope</i> – E	Cattura preda – assunzione di cibo
14	<i>Cleaning Manoeuvre</i> – CM	Pulizia delle braccia, tranquillità
15	<i>Withdrawal Manoeuvre</i> – WM	Reazione di difesa senza contrattacco
16	<i>Full Attack Response</i> – FAR	Reazione di attacco inter-intraspecifica
Negativi		
17	<i>Dymantic Pattern</i> – DP	Paura, reazione a stimoli negativi, disturbo
18	<i>Autophagy</i> – A	Autofagia ed automutilazione delle braccia
19	<i>Cannibalism</i> – C	Cannibalismo
20	<i>Death</i> – D	Morte

Per la raccolta dei dati è stata costruita un'apposita scheda (Tab. 2.3) dove l'operatore quotidianamente poteva:

- *identificare il soggetto,*
- *annotare la presenza o assenza dei comportamenti di interesse,*
- *annotare il numero e la durata degli eventi,*
- *annotare eventuali commenti.*

Tutte le osservazioni giornaliere sono poi state trasferite su supporto informatico.

Tabella 2.3 Scheda di registrazione dei vari *patterns*

CODICE POLPO: Cx		OPERATORE:			
DATA:		Evento SI – NO N°		Durata (minuti)	Commenti
Intraspecifici – Disturbo					
1	<i>Broad Conflict Mottle – BCM</i>				
2	<i>Unilateral Effect – UE</i>				
3	<i>Uniform Reddish-brown – URB</i>				
4	<i>Longitudinal Stripes – LS</i>				
5	<i>Bishop – BI</i>				
Camuffamento – Riposo					
6	<i>Acute Resemblance – AR</i>				
7	<i>General Resemblance – GR</i>				
8	<i>Uniform Light Gray – ULG</i>				
Posturali					
9	<i>Standing Position – SD</i>				
10	<i>Arms Twisted – AT</i>				
Riproduttivi					
11	<i>Sucker Display – SD</i>				
12	<i>Accoppiamento – ACC</i>				
Locomotori					
13	<i>Envelope – E</i>				

continua Tab. 2.3

14	<i>Cleaning Manoeuvre – CM</i>				
15	<i>Withdrawal Manoeuvre – WM</i>				
16	<i>Full Attack Response – FAR</i>				
Negativi					
17	<i>Dymantic Pattern – DP</i>				
18	<i>Autophagy – A</i>				
19	<i>Cannibalism – C</i>				
20	<i>Death – D</i>				

2.2.7 ANALISI DEI DATI

I dati ottenuti dalle singole schede sono stati unificati ed elaborati con un foglio di calcolo Excel per determinare i valori medi di ogni singolo animale relativi ai vari patterns espressi e alla durata in minuti per le 20 settimane di osservazione.

Inoltre, i dati relativi alle osservazioni comportamentali sono stati elaborati sia come **numero totale di eventi/settimana** in ambiente **SPO e NAT** sia in termini di **minuti di attività/settimana** (1200 minuti).

Infine, le **6 categorie di riferimento** ed ogni **singolo pattern** sono state elaborate in **termini percentuale** sia del numero di eventi/settimana che di minuti di attività/settimana.

2.3 RISULTATI E DISCUSSIONI

I risultati relativi ai comportamenti totali hanno evidenziato come i polpi mantenuti in vasca SPO abbiano manifestato fin da subito un numero maggiore di *patterns* rispetto agli stessi in vasca NAT, raggiungendo i 100 e 95 comportamenti rispettivamente per M-SPO e F-SPO, contro i 70 e 73 per M-NAT e F-NAT (Fig. 2.6).

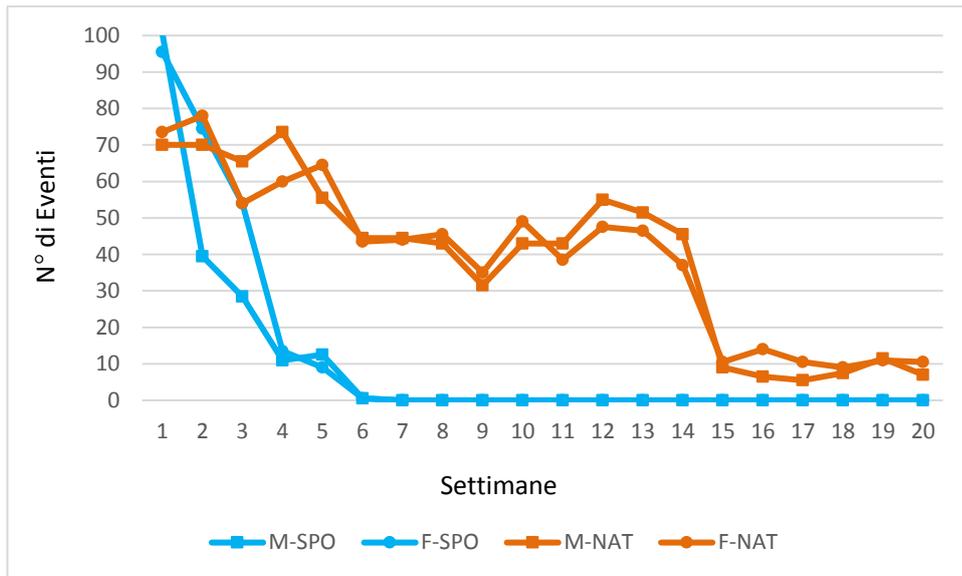


Figura 2.6 Comportamenti totali manifestati dai polpi

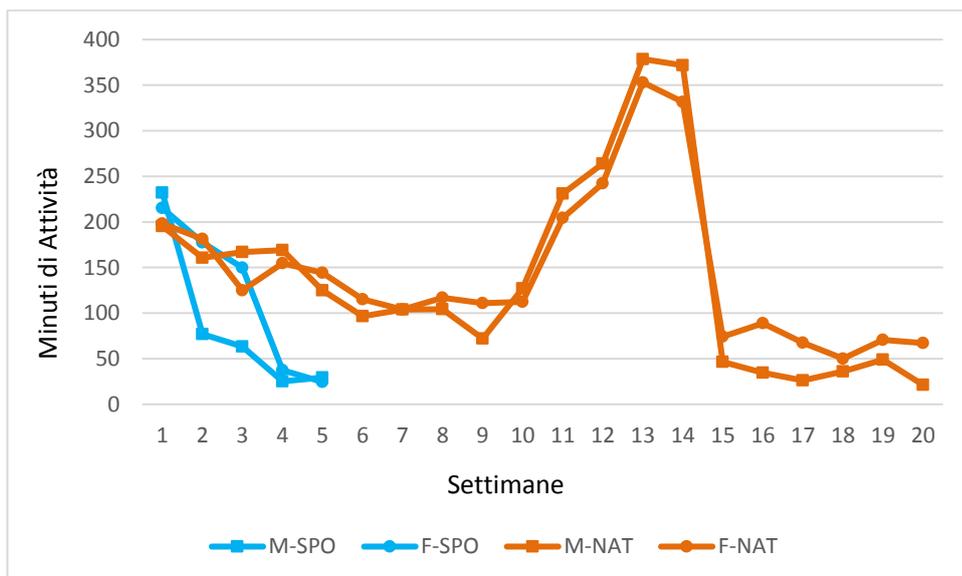


Figura 2.7 Minuti totali di espressione su 1200 minuti di osservazione

I *patterns* espressi dagli esemplari SPO sono stati per la maggior parte quelli associati a situazioni di stress o conflittualità inter/intra-specifica. L'andamento del grafico (Fig. 2.6) mostra un forte calo di eventi comportamentali già a partire dalla 2^a settimana di stabulazione dove è avvenuta la morte del primo esemplare nella vasca (maschio C3) che aveva manifestato episodi di autofagia. Alla 4^a settimana di stabulazione si è verificata la mortalità della femmina C4 (cannibalismo) mentre gli ultimi due esemplari (maschio C1 e femmina C2) sono deceduti alla 6^a settimana per autofagia.

La totale mortalità dei polpi in poche settimane ha evidenziato come l'ambiente SPO risulti innaturale e ostile per la specie: gli animali sono risultati sempre aggressivi verso i conspecifici e molto paurosi nei confronti delle interazioni con l'operatore. Infatti, già alla prima settimana di osservazione le interazioni sociali dei soggetti SPO hanno fatto registrare una durata in minuti più elevata rispetto agli animali NAT, interazioni che tuttavia erano quasi solamente rappresentate da *patterns* ostili (Fig. 2.7).

Nella vasca NAT invece, tutti i polpi hanno raggiunto la durata prevista di 20 settimane di stabulazione e solamente in fase post-riproduttiva sono giunti a morte naturale. Nei polpi NAT è stato possibile registrare un ampio ventaglio di *patterns*: nelle prime settimane i comportamenti negativi superavano i positivi sia in termini numerici che temporali ma poi a partire dalla 3^a settimana di osservazione è stata registrata un'inversione di tendenza a favore dei positivi che hanno raggiunto i livelli massimi dalla 9^a settimana grazie soprattutto all'entrata nel periodo riproduttivo dei polpi (Fig. 2.7). A partire dalla 15^a settimana è stata registrata una riduzione delle attività comportamentali in quanto le femmine NAT, terminata la fase di accoppiamento, sono entrate in tana per la deposizione e cure parentali delle uova.

2.3.1 INTRASPECIFICI – REAZIONE AL DISTURBO

A questa categoria fanno riferimento quei *patterns* manifestati dai polpi quando risultano infastiditi dall'avvicinamento di un conspecifico o come reazione ad una fonte di disturbo che possono degenerare in forme di attacco violente.

Nello studio in questione i soggetti SPO, pur per il breve periodo di sopravvivenza in vasca, hanno manifestato dalla 1^a alla 3^a settimana quasi il 70% di comportamenti ostili. Inoltre, il numero degli eventi è risultato più elevato nelle femmine rispetto ai maschi ad indicare una maggiore sensibilità al disturbo dei soggetti di sesso femminile (Fig. 2.8).

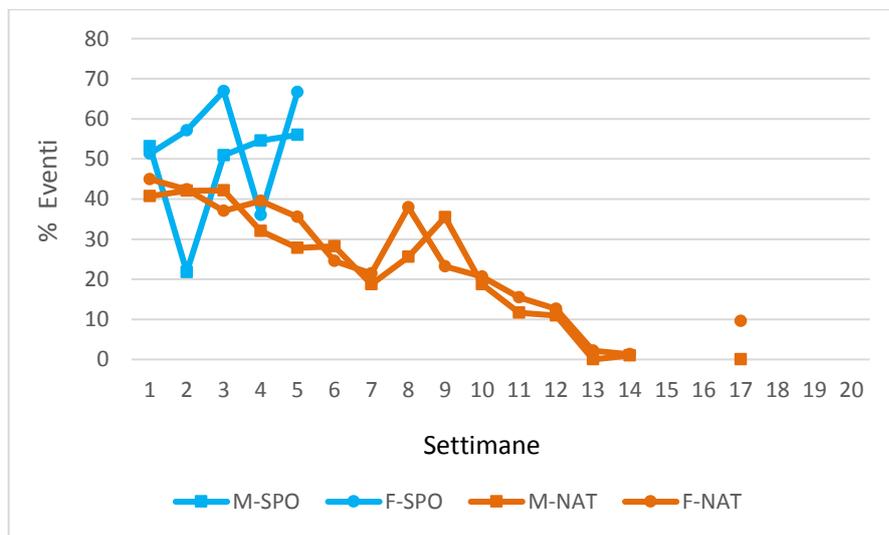


Figura 2.8 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

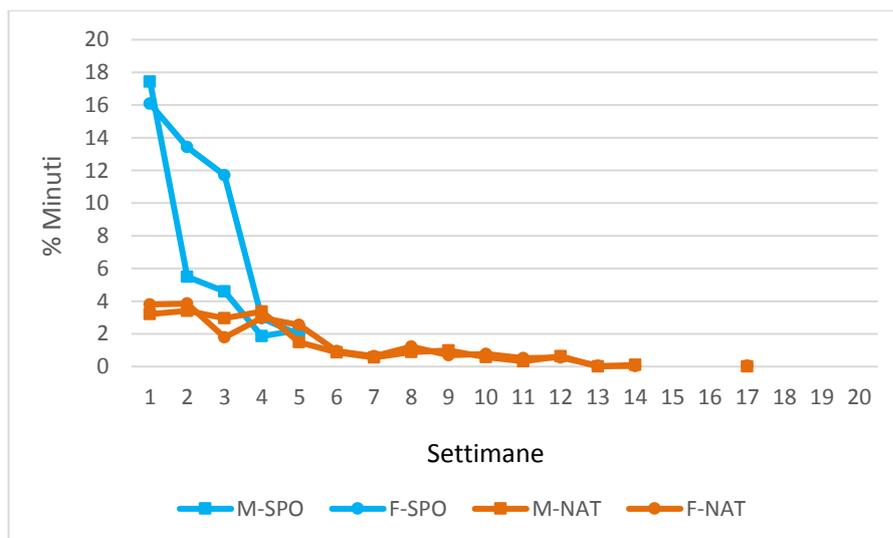


Figura 2.9 Percentuale di minuti espressi all'interno della categoria

La reazione al disturbo nella 1^a settimana di osservazione è risultata percentualmente molto elevata ($17\pm 1\%$), confermando come, in cattività, un ambiente spoglio ed un colore non idoneo possa accentuare l'intolleranza verso gli altri esemplari aumentando i fenomeni aggressivi e di nervosismo (Fig. 2.9). I polpi mantenuti in vasca NAT hanno manifestato tutti e 5 i *patterns* di questa categoria e, in termini di percentuale di eventi, hanno evidenziato un andamento decrescente: si è passati, infatti, da oltre il 40% di reazione al disturbo nella 1^a settimana fino alla completa scomparsa a partire dalla 14^a settimana. Un'inversione di tendenza è stata osservata fra la 7^a e la 10^a, settimana, giustificabile dai primi “approcci” dei maschi nei confronti delle femmine che ancora non risultavano pronte all'accoppiamento (Fig. 2.8). La durata media delle reazioni al disturbo è risultata percentualmente molto più bassa nei polpi che vivevano nella vasca naturalizzata rispetto a quelli mantenuti in vasca SPO (Fig. 2.9). Appare chiaro che l'ambiente dotato di fondale marino, seppur artificiale, abbia favorito anche in termini temporali le relazioni intra-specifiche positive.

Volendo analizzare i singoli comportamenti all'interno della categoria “**Interazione intraspecifica e reazione al disturbo**” il *pattern BCM* (Fig. 2.10) è stato tra quelli maggiormente espresso dai polpi “SPO” con un andamento opposto tra maschi e femmine: i maschi l'hanno manifestato meno volte le prime 2 settimane ma per più tempo, mentre le femmine più volte tra 4^a e la 5^a settimana ma per meno minuti di espressione rispecchiando probabilmente il difficile stato di salute dei due soggetti femminili che sarebbero poi deceduti a giorni (vedi Allegato). Per quanto riguarda invece i polpi “NAT” questo *pattern* si è manifestato frequentemente all'avvicinarsi del periodo di corteggiamento soprattutto da parte dei maschi, raggiungendo il 20% degli eventi. Una volta terminato il corteggiamento, il *pattern BCM* si è ridotto a favore di quelli classici di mimetismo (non superando lo 0,5% dei minuti di osservazione). Non è da escludere che in quel periodo particolare i maschi fossero infastiditi anche dalla presenza dell'operatore che effettuava le registrazioni comportamentali.



Figura 2.10 *Broad Conflict Mottle* – BCM

Per quanto riguarda il *pattern UE*, in cui il polpo mostra una colorazione chiara da un lato ed una scura dall'altro (verso la fonte di disturbo) (Fig.2.11), nelle prime settimane di sperimentazione è stato espresso maggiormente dai polpi “SPO” (circa il 2% del tempo di osservazione) rispetto ai polpi “NAT” (0,5% del tempo di osservazione) (Allegato). In termini di numero di eventi, il pattern è stato manifestato in entrambe le tipologie di vasca durante le prime settimane per poi andare a scemare col passare dei giorni. Nella vasca “NAT” è stato registrato un picco all'8^a settimana.



Figura 2.11 Unilateral Effect – UE

I *pattern URB* e *LS* (Fig. 2.12) sono stati sempre predominanti nella vasca “SPO” sia in termini numerici che temporali, confermando l'incapacità dei polpi di poter reagire positivamente nei confronti di altri soggetti o della fonte di disturbo. Nello specifico *URB* è stato espresso per più tempo dalle femmine tra la prima e la seconda settimana con più del 6% sul totale del tempo di osservazione e più volte dai maschi alla quinta settimana con quasi il 25% di eventi. Nella vasca “NAT” l'andamento dopo un picco iniziale del 18% è stato sempre decrescente per arrestarsi alla dodicesima settimana. Il comportamento degli animali riguardo invece *LS*, è sovrapponibile a *URB* con l'unica differenza che per entrambe le vasche “SPO” e “NAT” è cessato alla quinta settimana, per poi manifestarsi a “spot” l'ottava e l'undicesima settimana solo nei soggetti “NAT”, sempre in concomitanza con il periodo riproduttivo (Allegato).



Figura 2.12 Uniform Reddish-brown – URB e Longitudinal Stripes – LS

Per quanto riguarda il pattern *BI* (Fig. 2.13), questo viene manifestato quando un polpo è immobile in una posizione o quando si muove lentamente verso un avversario. Non è sempre detto che sfoci in un conflitto, a volte si può osservare una forma incompleta di

questo *pattern*, che si conclude poi positivamente. È stato molto manifestato in entrambe le vasche fin dalla prima settimana, a conferma del fatto che tale comportamento non è influenzato dal tipo di ambiente in cui il polpo vive ma è legato alle interazioni intraspecifiche. *BI* è stato espresso maggiormente dagli esemplari maschili di entrambe le vasche, in particolar



Figura 2.13 Bishop – BI

modo nella vasca “SPO” con il 4% del tempo di osservazione. Nella vasca “NAT” l’andamento di questo *pattern* è stato costante per le prime sei settimane, per poi ricomparire all’ottava in concomitanza con l’inizio del periodo riproduttivo. Infatti, gli esemplari maschili all’inizio del periodo di corteggiamento hanno manifestato molte volte (8%) questo *pattern*, anche rispetto le femmine (4%), non per aggressività ma solo come avvicinamento nei confronti di un altro esemplare. Alla fine del periodo di accoppiamento non è stato più registrato dagli animali in vasca (Allegato).

2.3.2 CAMUFFAMENTO – RIPOSO

In *O. vulgaris* il camuffamento può essere realizzato in diversi modi a seconda che l’animale nasconda la sua figura facendola assomigliare al fondale, oppure rompendone l’integrità, sviando l’attenzione dell’osservatore attraverso specifiche colorazioni del corpo (Messenger, 2001)

Nella vasca “NAT” i vari *patterns* riconducibili a questo gruppo sono stati in assoluto, per tutto il periodo di stabulazione degli animali, i più rappresentati sia come settimane di manifestazione che come numero di eventi proposti, mentre i polpi “SPO” hanno manifestato mimetismo solamente le prime 4 settimane, con un massimo del 15% di eventi e 0,6% come tempo, prima giungere a morte alla 6a settimana (Fig. 2.14 – 2.15).

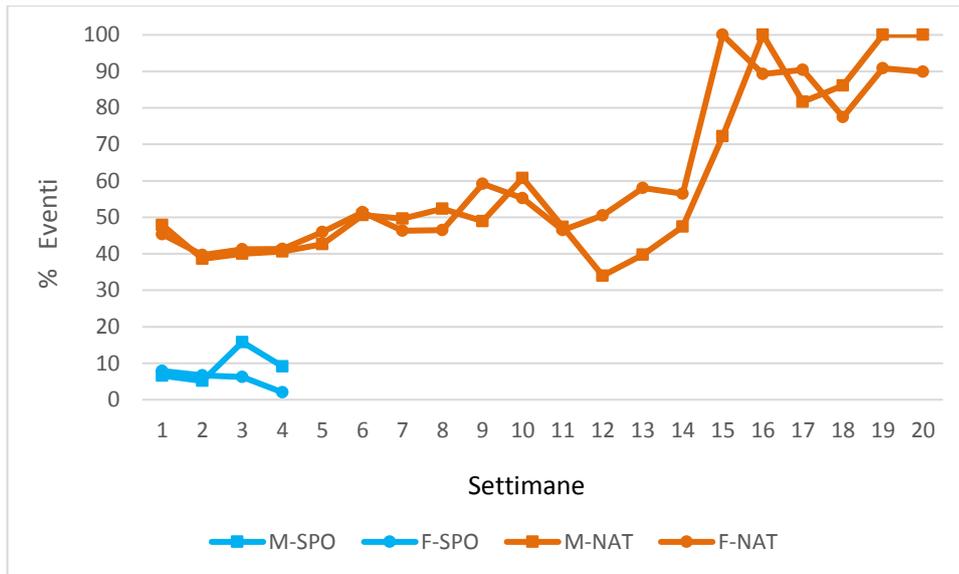


Figura 2.14 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

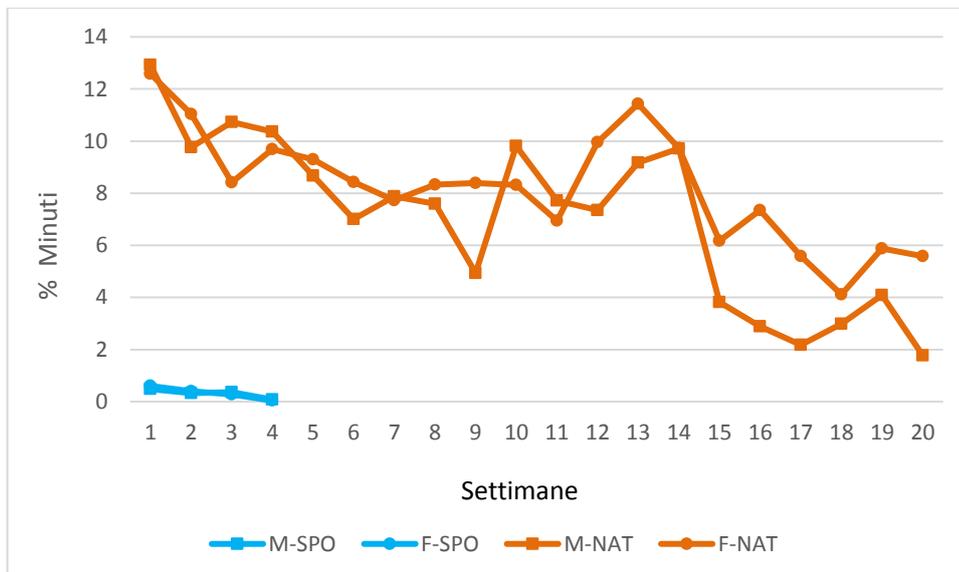


Figura 2.15 Percentuale di minuti espressi all'interno della categoria

Nei polpi “NAT” questi *patterns* sono risultati i più rappresentati fin da inizio prova, con quasi il 50% di eventi e il 13% di tempo. Il loro andamento è stato pressoché costante fino alla 14a settimana per poi registrare un’impennata a partire dalla fase di intanamento delle femmine (Fig. 2.14). Parimenti il tempo di espressione è stato il più alto tra tutti i vari comportamenti, confermando l’importanza della “naturalizzazione” delle vasche in caso di mantenimento di polpi in cattività.

Per quanto riguarda i *patterns* l’*Acute Resemblance (AR)* (Fig. 2.16), nella vasca “NAT” è stato quello meno rappresentato dei 3, perlopiù come tempo di espressione (max

1,6%) rispetto al numero di eventi. Questo può essere dovuto al fatto che in questo *pattern* l'animale rompe l'integrità del proprio corpo andando in contrasto con il fondale e quindi il polpo volutamente può aver preferito altre forme di camuffamento a questa. Durante le prime 14 settimane, è stato manifestato da entrambi i sessi in modo omogeneo, ma al termine dell'accoppiamento ed il conseguente allontanamento delle femmine, i maschi hanno maggiormente espresso l'AR fino a raggiungere il 70% di eventi. Probabilmente in fase di post-accoppiamento i maschi, interfacciandosi solo con l'operatore, hanno preferito questa forma di camuffamento rispetto alle altre (Allegato). Per quanto riguarda il *General Resemblance (GR)* (Fig. 2.16), è stato, sul lungo periodo, in assoluto il *pattern* più espresso sia come numero che come tempo. È la forma di camuffamento preferita, in cui l'animale si mimetizza con l'ambiente, come se facesse parte di esso. Il suo andamento è stato costante per le prime 14 settimane, oscillando intorno al 20% come eventi, poi si è innalzato bruscamente soprattutto per le femmine che iniziavano ad intanarsi per la deposizione delle uova ed arrivando al 100% degli eventi manifestati. Il valore più alto per le femmine rispetto ai maschi (72%) può essere motivato dal fatto che queste, iniziando il periodo di deposizione dei grappoli e rimanendo sempre in tana, non avessero più interazioni con gli altri esemplari, dedicandosi completamente alle cure parentali e manifestando sempre questo tipo di mimetismo. Anche nel tempo di esposizione, il *pattern GR* è stato quello più lungo utilizzato (Allegato).



Figura 2.16 *Patterns Acute Resemblance – AR; General Resemblance – GR; Uniform Light Gray – ULG*

L'*Uniform Light-gray (ULG)* (Fig. 2.16) è stato l'unico di questa categoria ad essere espresso anche dagli esemplari in vasca "SPO" per le prime 4 settimane. Inoltre, in termini di numero di eventi, se confrontato con la vasca "NAT", non si è discostato

molto da quest'ultima. Evidentemente per gli animali ad inizio prova, quando non erano impegnati in altre più frequenti interazioni ostili, era l'unico pattern di "riposo" che riuscivano a manifestare in quel tipo di vasca. In termini temporali il pattern *ULG* nei polpi "SPO" è risultato inferiore rispetto agli animali "NAT" a dimostrazione del fatto che quel tipo di ambiente fosse molto limitante per la loro omeostasi.

Come per il *pattern AR*, gli esemplari in vasca "NAT" hanno manifestato l'*ULG* costantemente fino alla fase di intanamento delle femmine per poi rimanifestarsi abbondantemente (circa il 50% di eventi) solo dai maschi nelle ultime settimane di stabulazione (Allegato).

2.3.3 POSTURALI

I *patterns* posturali sono molto caratteristici, in quanto l'animale assume una posizione particolare che può essere attribuita a diversi significati. Nello studio in questione sono stati presi di riferimento la *Standing Position (SP)* e l'*Arms Twisted (AT)*. Questi si sono manifestati solamente dagli esemplari in vasca "NAT", dalla 3° alla 15° settimana di sperimentazione. In termini numerici nelle femmine si sono mantenuti su valori intorno al 2-6% per poi scomparire in fase di intanamento, mentre nei maschi è stato osservato un aumento del numero di eventi soprattutto dopo la nona settimana di stabulazione (Fig. 2.17).

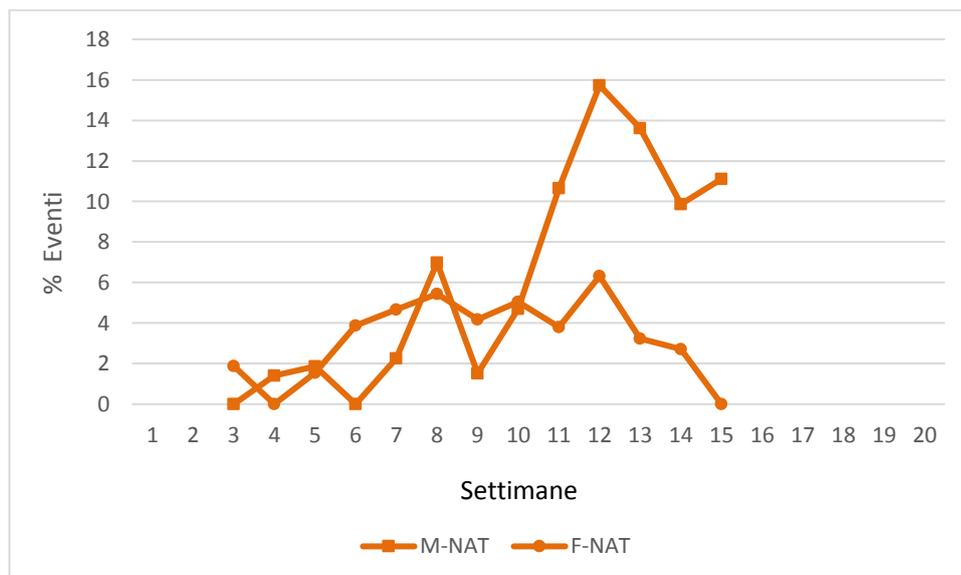


Figura 2.17 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

In termini temporali, i risultati hanno confermato come questi *patterns*, trattandosi principalmente di comportamenti di curiosità e interesse, abbiano la caratteristica di avere una durata in tempo breve (Fig. 2.18).

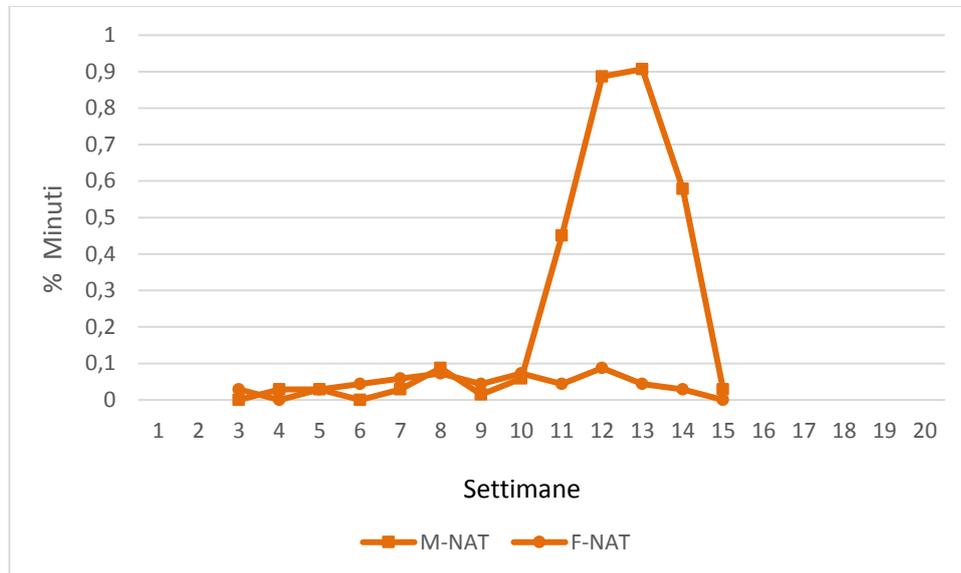


Figura 2.18 Percentuale di minuti espressi all'interno della categoria

Il *pattern AT* (Fig. 2.19), si è manifestato soprattutto con l'operatore in fase di alimentazione (associazione al cibo) e non a caso ha preso avvio solamente alla 3^o settimana, quando i polpi erano ormai tranquilli, adattati alla cattività ed alla presenza quotidiana dell'uomo. L'associazione operatore/cibo è confermato anche da un aumento dell'*AT* poco prima dell'inizio delle fasi di accoppiamento, periodo in cui i polpi hanno manifestato un forte aumento dell'appetito (Allegato).



Figura 2.19 Arms Twisted – AT

Il *pattern SP* invece, si è manifestato solamente negli esemplari di sesso maschile durante il periodo dell'accoppiamento (11a-14a settimana) dove si posizionavano come "se fossero in piedi" in quanto attratti dalla femmina (Fig. 2.20). Questo comportamento è stato registrato soprattutto quando i riproduttori erano ancora separati dalle griglie, per cui i maschi adottavano l'*SP*, superando il 10% degli eventi, in quanto impossibilitati ad effettuare direttamente il rituale di corteggiamento. Una volta eliminate le griglie, infatti, il numero degli eventi si è ridotto notevolmente (Allegato).



Figura 2.20 *Standing Position – SP*

2.3.4 RIPRODUTTIVI

Per quanto riguarda i *patterns* riproduttivi, questi sono stati registrati nelle due coppie della vasca “NAT” a partire dalla 11ma settimana di stabulazione. Il fatto di ottenere l'accoppiamento dei polpi in cattività non è un risultato scontato ed evidenzia come una condizione di naturalità, abbinata ad un adeguato protocollo termo-fotoperiodico e ad una corretta alimentazione, sia uno degli aspetti principali per portare i polpi alla riproduzione..

I comportamenti riproduttivi presi in considerazione, in particolare *Sucker Display (SD)* e l'atto sessuale vero e proprio identificato come *ACC*, hanno avuto una durata di 4 settimane, risultando molto frequenti ed intensi per i maschi, che hanno superato il 30% degli eventi nella 14° settimana (Fig. 2.21). Se confrontati con tutte le altre categorie di *patterns*, i riproduttivi sono quelli che hanno la maggior durata nel tempo, con valori che oscillano fra il 10% ed il 20% dei minuti settimanali, sia per i maschi che per le femmine (Fig. 2.22).

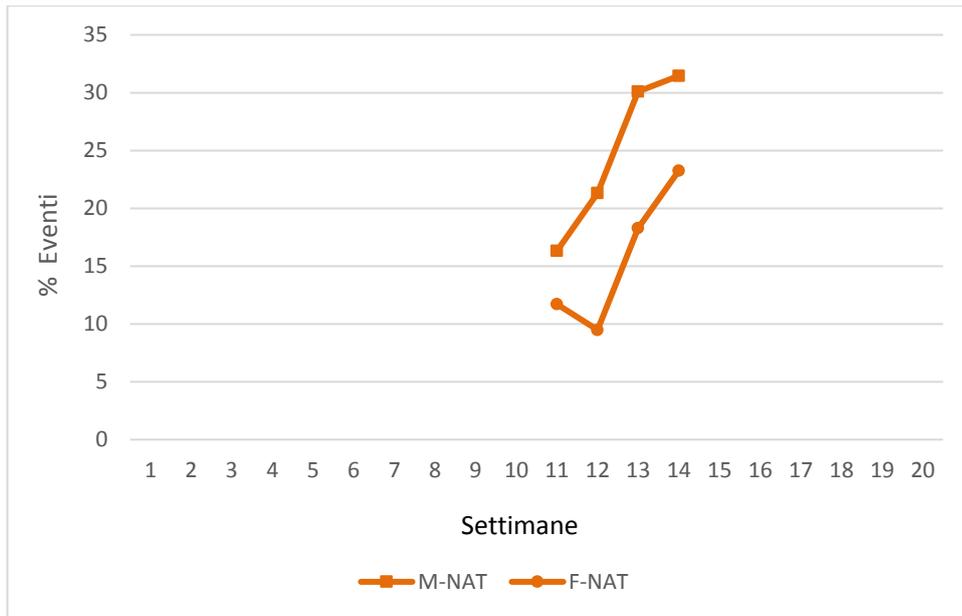


Figura 2.21 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

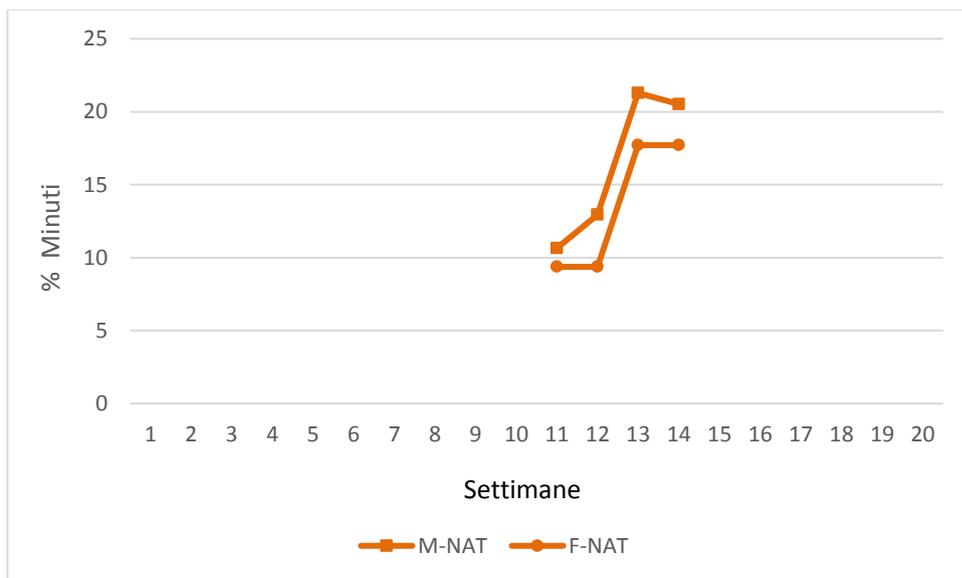


Figura 2.22 Percentuale di minuti espressi all'interno della categoria

In particolare, il *SD* viene eseguito dai maschi adulti nei confronti delle femmine come “rituale di corteggiamento”. All’inizio del periodo di riferimento, ha avuto un andamento crescente raddoppiando il numero degli eventi nella 1° settimana, arrivando al 12%, evidenziando come i maschi fossero molto attivi e interessati alle femmine per corteggiarle. Quando un maschio nota la femmina, solleva il corpo dal fondo, alzando ed aprendo le braccia per mostrarle le ventose, in particolare l’*Expanded sucker* (Fig. 2.23) come segnale di riconoscimento maschio–femmina e per richiedere alla stessa un

suo segnale di approvazione, non solo per superarne la possibile ostilità, ma anche per assicurarsene la cooperazione (Packard, 1963; Mangold e Boletzky, 1973).



Figura 2.23 *Sucker Display – SD*

Successivamente l'andamento del *SD* è stato pressoché stabile nel periodo centrale di attività riproduttiva per poi diminuire e non manifestarsi più a fine riproduzione (14^o settimana). *SD*, come espressione in tempo, rispecchia lo stesso andamento del numero degli eventi, con valori iniziali dell' 1,3%, picco del 3,5% e riduzione al 2,7% rispetto al tempo di osservazione (Allegato). È un *pattern* la cui durata è variabile e dipende da vari fattori: differenza di taglia maschio – femmina, tipo di approccio del maschio e recettività della femmina. Tuttavia, questo *display* può essere manifestato anche in altre occasioni, per esempio quando innanzi al polpo si presenta uno stimolo allarmante (come un oggetto non familiare), ma in questa sperimentazione questo evento non si è mai verificato.

Per quanto riguarda l'accoppiamento vero e proprio il numero di eventi, pur essendo stato identico tra maschi e femmine, percentualmente non sono risultati coincidenti in quanto i polpi oltre ad accoppiarsi hanno manifestato altri *patterns* (i maschi hanno manifestato ad esempio il *pattern* del rituale di corteggiamento, che fa parte della stessa categoria). L'accoppiamento consiste nell'inserimento del 3^o braccio modificato del maschio (ectocotile) all'interno del mantello della femmina per rilasciare lo spermatofores (Fig. 2.24). Tale evento è risultato inizialmente contrastato dalla femmina e solo dopo numerosi tentativi da parte del maschio avviene la copulazione vera e propria.



Figura 2.24 Accoppiamento – ACC

In media l'accoppiamento dura parecchi minuti, anche più di un'ora (Wells, 1978) e dipende, come per il *SD*, dalla differenza di taglia maschio-femmina, dal tipo di approccio del maschio, dalla cooperazione della femmina e dalla presenza di fattori di disturbo in generale. Nelle 4 settimane di accoppiamento, la durata degli stessi è aumentata considerevolmente, passando dal 9% al 17% sui minuti totali di osservazione. Probabilmente l'interazione costante e ripetuta tra le coppie ha portato ad una maggior confidenza tra le stesse, che si è tradotta in un aumento della durata degli accoppiamenti. Al termine di tale periodo, caratterizzato da accoppiamenti quotidiani, entrambe le femmine NAT, sono entrate nei



Figura 2.25 Grappoli ovarici

nidi artificiali e hanno avviato la fase di ovulazione attraverso la produzione e l'adesione dei classici grappoli ovarici all'interno delle tane (Fig. 2.25).

2.3.5 LOCOMOTORI

All'interno di questo gruppo ricadono una serie di *patterns* che esprimono diverse azioni con altrettanti significati: l'*Envelope (E)* che viene manifestato per catturare una preda, il *Cleaning Manoeuvre (CM)* che rappresenta una manovra di pulizia delle braccia, il *Withdrawal Manoeuvre (WM)* che è una postura difensiva ed il *Full Attack Response (FAR)* che è una manovra di attacco nei confronti di una preda o di un altro polpo. Complessivamente tutti questi *patterns* si sono manifestati durante la sperimentazione evidenziando, tuttavia, delle differenze fra i polpi mantenuti nelle due tipologie di vasca.

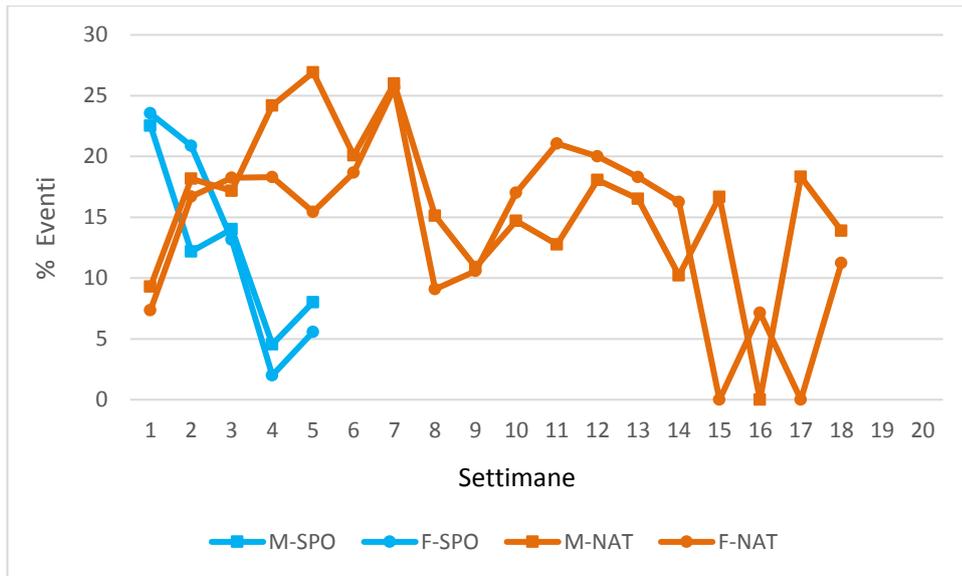


Figura 2.26 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

Nella vasca “SPO” si sono manifestati E, WM e FAR (no CM), con valori del 23% di eventi la 1° settimana e del 5-8% alla 5° settimana (Fig. 2.26). I più rappresentati sono stati quei *patterns* riconducibili a manovre di difesa oppure di attacco. Come tempo di espressione questi comportamenti sono molto brevi con un massimo dello 0,5–0,6% del tempo di osservazione nella prima settimana di sperimentazione (Fig. 2.27).

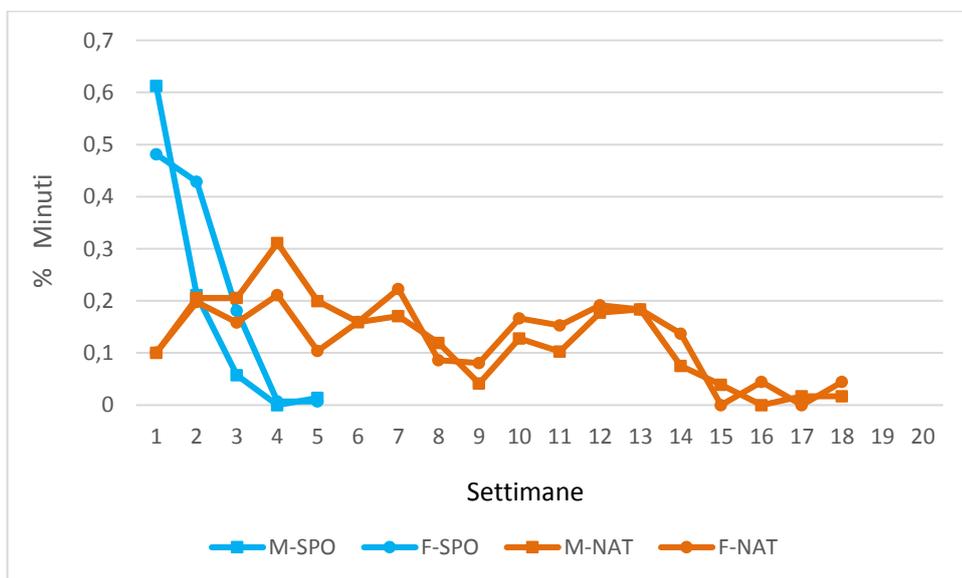


Figura 2.27 Percentuale di minuti espressi all'interno della categoria

I comportamenti locomotori per gli esemplari “NAT” hanno avuto, invece, un andamento altalenante per tutto il periodo della stabulazione. I valori massimi hanno

raggiunto il 26% alla 5° settimana nei maschi ed alla 7° settimana nelle femmine (Fig. 2.26). Anche nella vasca “NAT” la manifestazione di questi eventi è risultata breve (massimo 0,3%)(Fig. 2.27).

Il *pattern E*, componente locomotoria a forma di un paracadute che viene eseguita durante la cattura di una preda (Fig. 2.28), è stato manifestato dagli esemplari “SPO” le prime 5 settimane di stabulazione con valori in eventi del 4-8% per i maschi e 5-6% per le femmine. Sono valori modesti se confrontati con i polpi “NAT”, che evidenziano come le difficili condizioni ambientali della vasca



Figura 2.28 *Envelope – E*

non naturalizzata incidano negativamente sul comportamento trofico dei polpi sia nei confronti dell'alimento fresco scongelato che delle prede vive. Nella vasca “NAT” invece, le manifestazioni di *E* si sono mantenute sempre su valori elevati, sia come numero di eventi (max 23% per i maschi) che come tempo di espressione (0,26% per i maschi) (Allegato). I valori massimi si sono registrati nel periodo dell'accoppiamento in concomitanza anche con un aumento della temperatura in vasca. In questo periodo gli animali erano particolarmente voraci ed in particolar modo le femmine che avevano la necessità di sviluppare al massimo l'ovario. Al termine degli accoppiamenti (dalla 15° settimana in poi) *E* non è stato più manifestato dalle femmine in quanto queste sono entrate in tana per la deposizione e cura dei grappoli ovarici. La scomparsa dell'appetito in fase di intanamento è comune a tutti gli Ottopodi, in quanto la dimensione dell'ovario aumenta così tanto da comprimere l'intestino, provocando una sorta di costrizione meccanica, che impedisce così all'animale di alimentarsi. I maschi, dopo l'allontanamento dalle femmine, hanno continuato ad alimentarsi ancora per una settimana per poi smettere di manifestare questo *pattern*.

CM è una componente locomotoria manifestata solo dagli esemplari “NAT”, che consiste in una rotazione vorticoso delle braccia per pulire e rinnovare il rivestimento cheratinico delle ventose (Fig. 2.29). È stata manifestata a partire dalla 3° fino alla 16° settimana con andamento



Figura 2.29 *Cleaning Manoeuvre – Cm*

altalenante sia come numero di eventi che tempo di espressione. Durante gli accoppiamenti, ad esempio, si sono stabilizzati attorno al 3% degli eventi, sia per i maschi che per le femmine, per poi riprendere un andamento altalenante. Questo *pattern*, dalla breve durata (max 0,08% del tempo di osservazione), viene manifestato solitamente quando l'animale è tranquillo, a riposo nella sua tana, spesso concomitante con l'atto copulatorio (Allegato).

WM è una comportamento risultato poco manifestato durante la stabulazione degli animali. Confrontando le due vasche nelle prime 3 settimane, è stata maggiormente espressa in quella "SPO" sia come numero di eventi che di tempo. *WM* (Fig. 2.30) è una postura difensiva che il polpo assume quando viene disturbato oppure attaccato; la sua prima



Figura 2.30 *Withdrawal Manoeuvre – WM*

reazione è quella di ritirare le braccia dietro la testa e il corpo per proteggersi, assumendo una forma "a palla". È stata manifestata di più dai maschi "SPO", con il 9% degli eventi e lo 0,5% del tempo di osservazione, anche se per le femmine i valori sono stati di poco inferiori. La manifestazione di questa postura difensiva, rispecchia l'andamento generale negativo delle prime settimane all'interno della vasca "SPO", in cui le interazioni sociali tra i polpi sono state sempre ostili e conflittuali, accentuate soprattutto da una condizione ambientale sfavorevole. Nella vasca "NAT" invece, questa manovra è comparsa a "spot" tra la 1° e 2° settimana e tra la 6° e 7° settimana con valori inferiori al 2% degli eventi sia per i maschi che per le femmine (Allegato). *WM* si è manifestata in occasione di interazioni sociali tra i polpi, risolvendosi però molto più rapidamente rispetto alla vasca "SPO", grazie anche ad un ambiente molto naturale che consentiva ai polpi di poter spaziare tra un numero maggiore di *patterns*.

Nel *pattern FAR* il polpo lancia sè stesso verso la preda od un "nemico", nuotando grazie alla propulsione dell'acqua rilasciata attraverso il sifone, senza toccare il fondo (Fig. 2.31). È un movimento fulmineo, che dura pochissimi secondi. Nella vasca "SPO" è stato molto manifestato nelle prime 3 settimane, raggiungendo il 10% degli eventi per entrambi i sessi e lo 0,05% del tempo di



Figura 2.31 *Full Attack Response - FAR*

osservazione. Questo *pattern* è stato diretto maggiormente nei confronti degli altri polpi limitrofi confermando la difficoltà per i polpi di assumere un comportamento positivo in caso di condizioni ambientali sfavorevoli. Solitamente, infatti quando un polpo manifestava *FAR* l'altro esibiva l'*URB* oppure *UE*. Nella vasca "NAT" invece, è stato manifestato alla 1° settimana e dalla 5° alla 12° settimana. Nell'ambiente naturalizzato è stato maggiormente utilizzato durante la cattura delle prede anche se non sono mancati degli episodi in cui è stato rivolto verso i consimili. Il suo andamento, a parte un picco iniziale che ha raggiunto l'8% degli eventi, è andato riducendosi con il passare delle settimane, per attestarsi alla 12ma settimana su valori intorno al 2% ed in seguito sostituito dall'*envelope* come metodo di cattura (Allegato).

2.3.6 NEGATIVI

Per quanto riguarda i comportamenti negativi comprendenti il *Dymantic Pattern (DP)*, *Autophagy (A)*, *Cannibalism (C)* e *Death (D)*, sono stati tutti rappresentati graficamente come numero di eventi, mentre per quanto riguarda la durata in tempo è stato rappresentato solo *DP*, in quanto l'unico ad avere una manifestazione di continuità.

Il grafico 2.32 mostra chiaramente la differenza tra le due vasche nel periodo di stabulazione. Nella vasca SPO la presenza di questi comportamenti è stata fin da subito molto intensa, con valori iniziali del 20% degli eventi per poi aumentare fino al 100% alla 6° settimana. Nel grafico generale, per gli animali "SPO", ricadono anche gli episodi singoli di autofagia, morte e cannibalismo (Fig. 2.32).

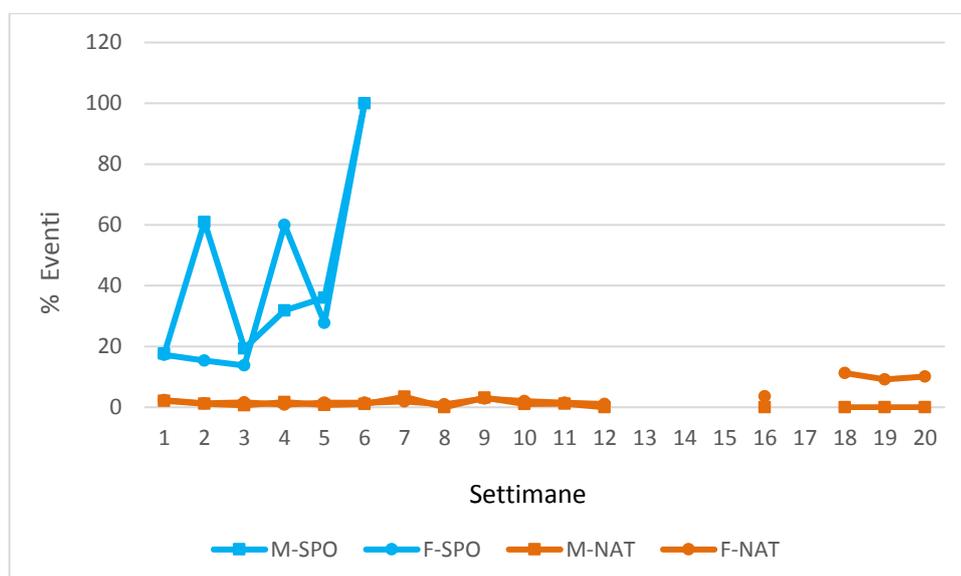


Figura 2.32 Percentuale di eventi manifestati all'interno della categoria

Più precisamente nella 1° settimana, il maschio C1 ha manifestato un episodio di autofagia del 3° braccio sinistro per poi morire la settimana dopo. L'altro caso di autofagia si è presentato la 5° settimana sull'esemplare femmina C3 sulle prime due paia di braccia, con morte alla 6° settimana. C'è stato anche un episodio di cannibalismo alla 4° settimana per la femmina C2. Il maschio C4 è morto invece la 6° settimana.

Il cannibalismo C (Fig. 2.33) è un comportamento che è stato osservato in diverse specie di polpi, tra cui *Octopus vulgaris* (Hartwick *et al.*, 1978; Nixon, 1987; Villanueva, 1993; Cortez *et al.*, 1995). Generalmente, gli esemplari più grandi, attaccano e afferrano quelli più piccoli con sette braccia, inserendo l'ottavo nell'imbuto per soffocarli, e poi li mangiano (Hanlon e Forsythe,



Figura 2.33 Cannibalismo

2008). Analizzando il contenuto stomacale di esemplari selvatici è stata confermata l'esistenza di cannibalismo in esemplari nel Mediterraneo occidentale e nell'Atlantico meridionale (Guerra, 1978; Smale and Buchan, 1981; Smith, 2003). Questo comportamento è principalmente correlato alla riproduzione: i maschi piccoli possono essere vulnerabili al cannibalismo da parte di femmine più grandi. Altri episodi di cannibalismo sono stati descritti nelle gabbie di ingrasso nella Ría de Vigo, dove la densità elevata e la disomogeneità di taglia tra gli esemplari, hanno contribuito al manifestarsi dell'evento (Chapela *et al.*, 2006). Il cannibalismo sessuale è stato documentato anche in esemplari selvatici di *O. cyanea* (Hanlon e Forsythe, 2008). La difesa del territorio può essere un'altra causa del comportamento cannibale nei cefalopodi (Ibáñez e Keyl, 2010). Amaratunga (1980), suggerisce che il comportamento cannibale potrebbe essere provocato dalla mancanza di cibo. Tuttavia, nel nostro caso, questa ipotesi non può essere supportata, in quanto gli animali venivano alimentati quotidianamente.

Per quanto riguarda gli episodi di autofagia A, non è chiaro quale sia l'elemento scatenante che porti il polpo a questo comportamento autodistruttivo (Fig. 2.34). Secondo Buldemann (1998), la causa potrebbe essere un "vettore" non identificato trasportato dall'acqua, ma appare chiaro che nel nostro caso, poiché tutti i polpi erano in un impianto a ricircolo, questa motivazione non può essere presa in considerazione. In linea generale l'elemento scatenante di questi comportamenti negativi nella vasca SPO

probabilmente deriva dal forte stress a cui gli animali erano sottoposti a causa di un ambiente non idoneo.



Figura 2.34 Autofagia – A

Per quanto riguarda i polpi mantenuti in vasca “NAT” l’unico comportamento negativo è risultato il *pattern DP*.

Il *DP* è considerato essere un segnale interspecifico che avvisa, a chi osa avvicinarsi troppo, di andarsene. Nella vasca “SPO” è stato manifestato fin da subito con valori del 17% di eventi e quasi lo 0,8% in tempo, sia per i maschi che per le femmine, per poi aumentare e raggiungere il 35% con i maschi alla 5° settimana (Fig. 2.35 e 2.36).

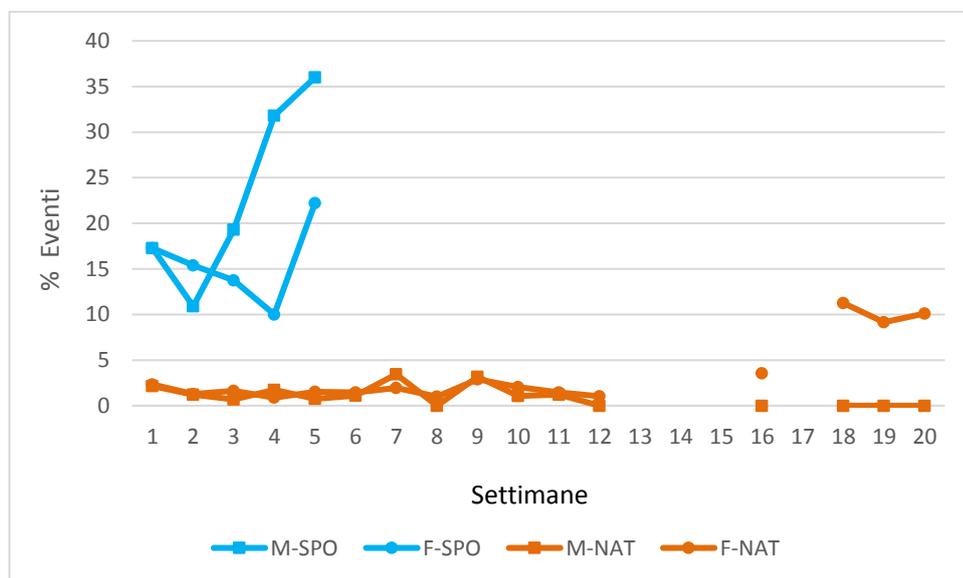


Figura 2.35 Percentuale di eventi manifestati all’interno del *pattern DP*

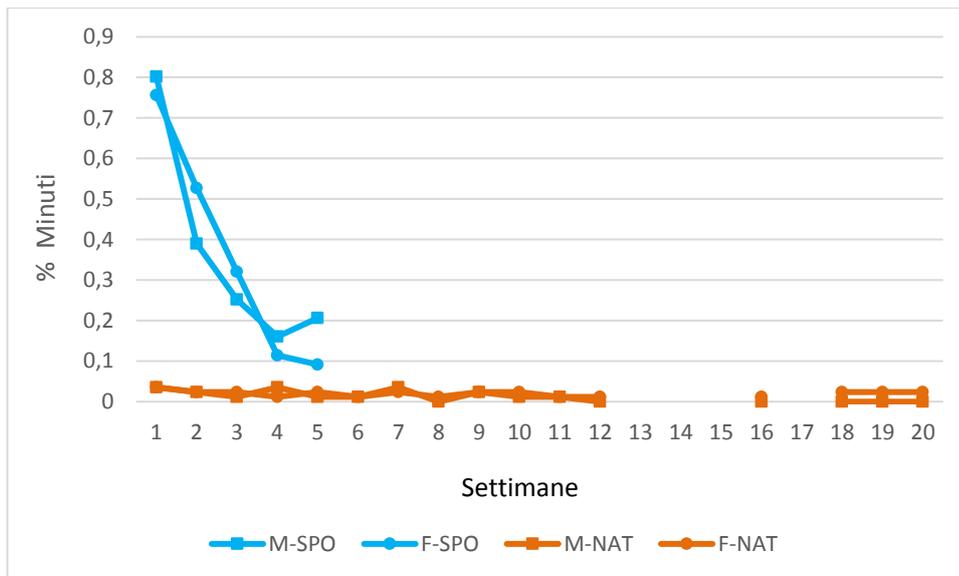


Figura 2.36 Percentuale di minuti espressi all'interno del *pattern DP*

In *Octopus vulgaris*, come per altri cefalopodi, questo *pattern* si manifesta quando l'animale è colto alla sprovvista da un pericolo, mentre si trova fuori dalla tana (Packard e Sanders, 1971) (Fig. 2.37). Questo *pattern* in vasca "SPO" è stato esibito molto anche nei confronti dell'operatore che osservava la vasca (gli animali risultavano sempre timorosi e diffidenti ad ogni piccolo movimento della persona). È stato manifestato anche una forma incompleta di questo *pattern* mentre l'animale era in tana, impallidendo ed inscurendo gli occhi. Evidentemente il colore blu della vasca sottoponeva gli animali ad uno stress costante e continuo, rendendoli sempre molto timorosi e impauriti.



Figura 2.37 *Dymantic pattern – DP*

Nella vasca "NAT" si è manifestato per entrambi i sessi fino alla 12° settimana, con valori intorno al 4% degli eventi ma con tempi molto bassi (inferiori allo 0,1%), dimostrando comunque di superare la diffidenza in pochissimo tempo (Fig. 2.35 e 2.36). Il *DP* nel periodo degli accoppiamenti non si è mai manifestato mentre nella fase di intanamento delle femmine ha raggiunto valori intorno al 10% spiegabile dal fatto che le femmine, essendo nel periodo di cure parentali, fossero un po' più suscettibili nei confronti dell'operatore che si avvicinava. I tempi di espressione sono tuttavia rimasti su valori modesti (pochi secondi).

2.4 CONCLUSIONI

La sperimentazione ha evidenziato come il polpo, mantenuto in ambiente controllato, necessiti di un ambiente che rispecchi il più possibile quello naturale. Del tutto inadatte risultano, infatti, vasche caratterizzate da un ambiente spoglio e di colore blu, che evidentemente per la specie risulta innaturale.

I *patterns* espressi dagli esemplari “**SPO**” sono stati quasi esclusivamente associati a situazioni di stress o conflittualità inter/intra-specifica. Gli animali erano inappetenti e timorosi, mostrando scarso interesse ed interagendo poco o quasi niente con l’habitat circostante.

La prova ha evidenziato come l’utilizzo di un ambiente artificiale adeguato, come quello utilizzato nella vasca “**NAT**”, riduca i fenomeni stressori, migliorando le interazioni sociali e, se associati ad un programma termo/fotoperiodico adeguato, favoriscano la riproduzione spontanea di *O. vulgaris* in ambiente controllato.

BIBLIOGRAFIA

Amaratunga, T. 1980. Preliminary estimates of predation by the short-finned squid (*Illex illecebrosus*) on the Scotian Shelf. *Northwest Atlantic Fisheries Organization, Science Council Research Document* No. 80/II/31: 13 pp.

Bohus, B., Benus, R.F., Fokkema, D.S., Koolhaas, J.M., Nyakas, C., Van Oortmerssen, G.A., Steffens, A.B. 1987. Neuroendocrine states and behavioral and physiological stress responses. *Progress in Brain Research* 72, 57-70.

Borrelli, L., Gherardi, F., Fiorito, G. 2006. A Catalogue of Body Patterning in Cephalopoda. Firenze University Press, Stazione Zoologica A. Dohrn.

Boyle, P., Rodhouse, P. 2005. Cephalopods: Ecology and Fisheries. Blackwell Science LTD, Oxford.

Budelmann, B. U. 1998. Autophagy in octopus. *South African Journal of Marine Science* 20(1), 101-108.

Chapela, A., González, Á.F., Dawe, E.G., Rocha, F.J., Guerra, Á. 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Scientia Marina* 70, 121-129.

Cortez, T., Castro, B.G., Guerra, A. 1995. Reproduction and condition of female *Octopus mimus* (Mollusca, Cephalopoda). *Marine Biology* 123, 505–510.

Fiorito, G., Affuso, A., Basil, J., Cole, A., De Girolamo, P., D'Angelo, L., Dickel, L., Gestal, C., Grasso, F., Kuba, M., Mark, F., Melillo, D., Osorio, D., Perkins, K., Ponte, G., Shashar, N., Smith, D., Smith, J., Andrews, P. 2015. Guidelines for the Care and welfare of Cephalopods in research. A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group, *Laboratory Animals*, Vol. 49(S2) 1-90.

- Guerra, A. 1978. Sobre la alimentacio`n y el comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Inv. Pesq.* 42, 351-364.
- Hanlon, R., Messenger, J.B. 1988. Adaptive coloration in young cuttlefish (*Sepia officinalis* L.): the morphology and development of body patterns and their relation to behaviour. *Phil. Trans. Roy. Soc.* 320, 437-487.
- Hanlon, R.T., Forsythe, J.W. 2008. Sexual cannibalism by *Octopus cyanea* on a Pacific coral 242 reef. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 41, 19-28.
- Hartwick, E.B., Breen, P.A., Tulloch, L. 1978. A removal experiment with *Octopus dofleini* (Wülker). *Journal of the Fisheries Research Board Canada*, 35, 1492-1495.
- Ibáñez, C.M., Keyl, F. 2010. Cannibalism in cephalopods. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20, 123-136.
- Iglesias, J., Fuentes, L., Villanueva, R. 2014. *Octopus vulgaris*. Paralarval Culture, Ch. 23, in *Cephalopod Culture* (José Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 427-450.
- Mangold, K., Boletzky, S.V. 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7-12.
- Messenger, J.B. 2001. Cephalopod chromatophores: neurobiology and natural history. *Biological Reviews* 76, 473-528.
- Nixon, M. 1987. Cephalopod diets. In *Cephalopod Life Cycles. Volume I: Comparative Reviews*, P.R. Boyle (ed.). London: Academic Press, 201-219.
- Packard, A. 1963. The behaviour of *Octopus vulgaris*. *Bull. Inst. Oceanogr. (Monaco)* 1D, 35-49.
- Packard, A., Sanders, G.D. 1971. Body patterns of *Octopus vulgaris* and maturation of the response to disturbance. *Animal Behaviour* 19, 780-790.

Packard, A., Trueman, E.R., Clarke, M.R. 1988. The skin of cephalopods (coleoids): general and special adaptations. P. 37 in *The Mollusca*, Vol. 11, *Form and Function*, K.M. Wilbur, ed. Academic Press, New York.

Smale, M.J., Buchan, P.R. 1981. Biology of *Octopus vulgaris* off the east coast of South-Africa. *Marine Biology* 65, 1-12.

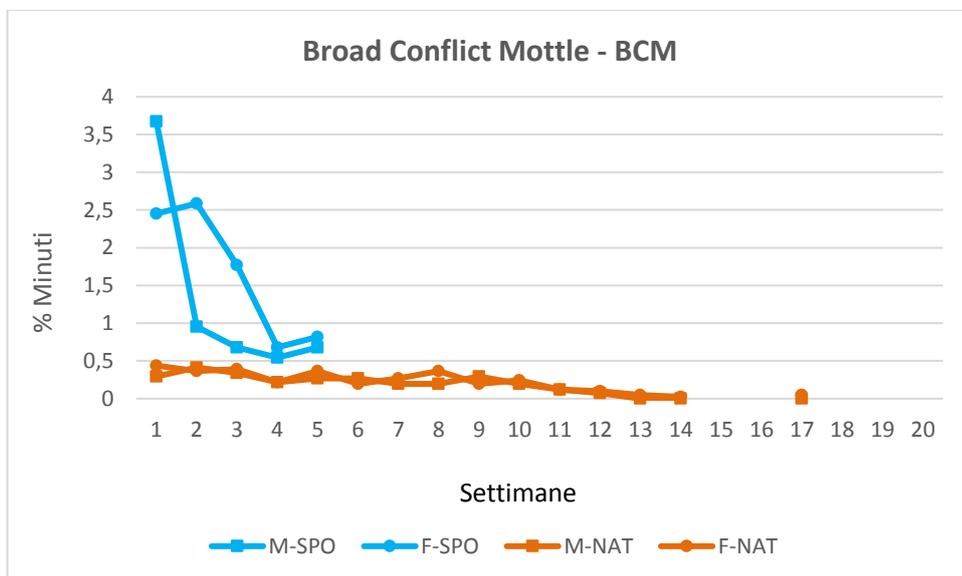
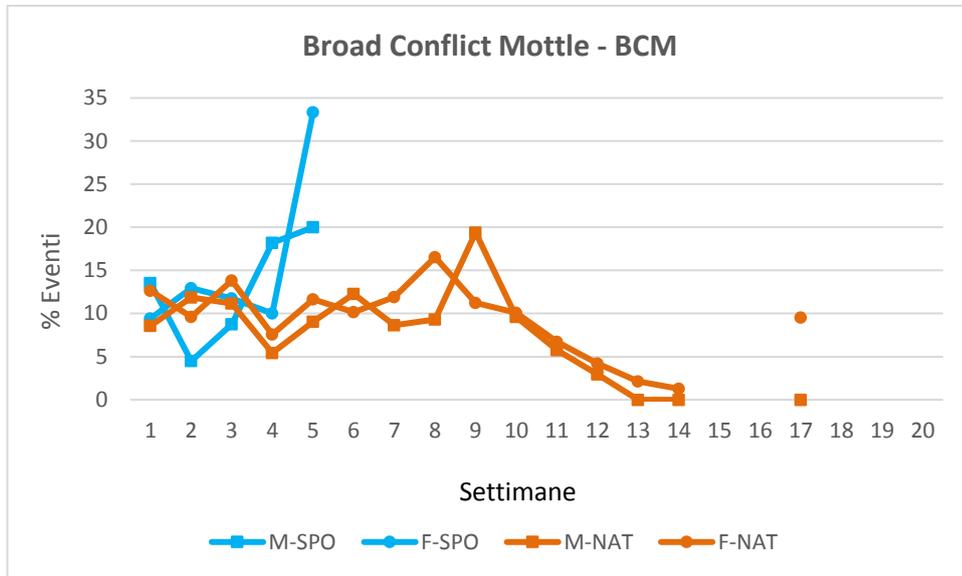
Smith, C.D. 2003. Diet of *Octopus vulgaris* in False Bay, S 260 outh Africa. *Marine Biology* 143, 1127-1133.

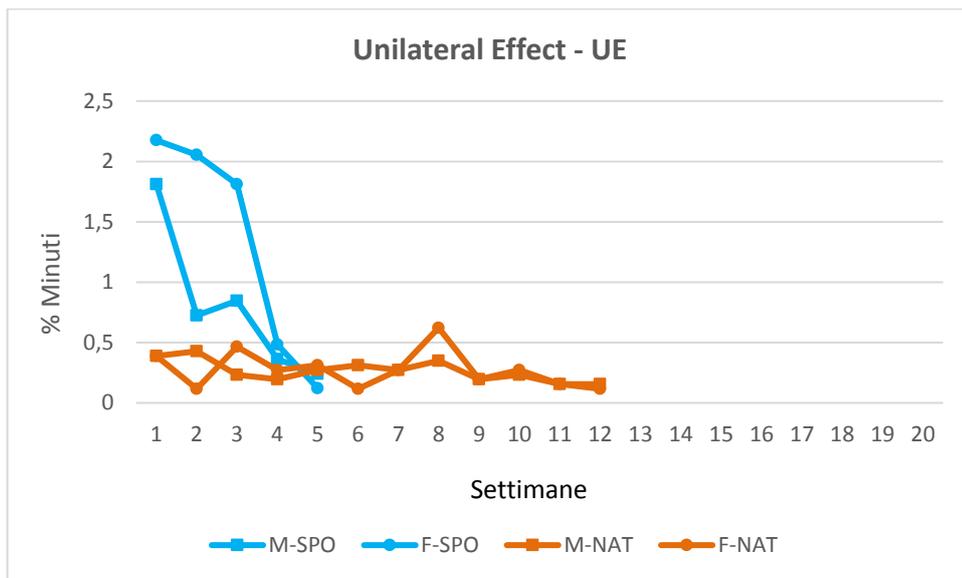
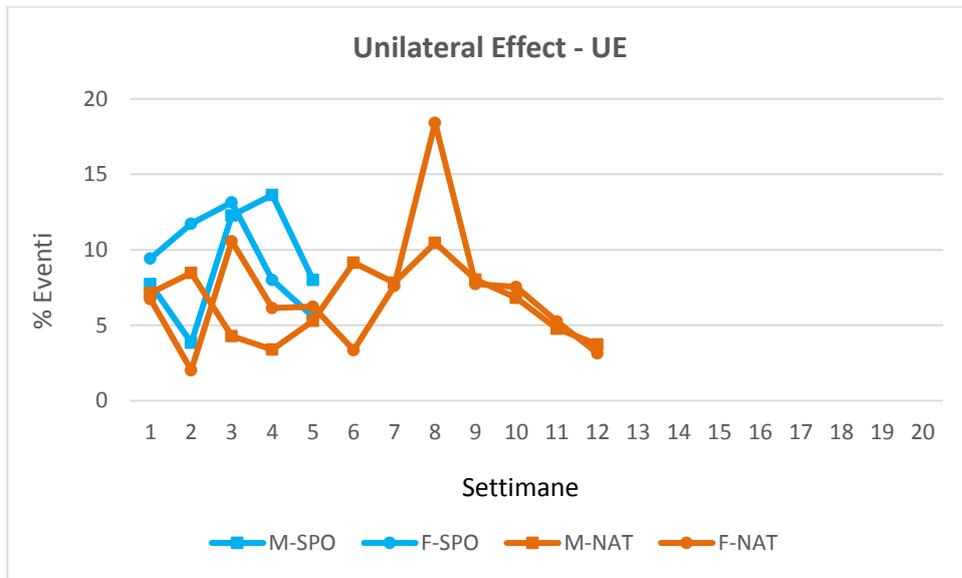
Villanueva, R. 1993. Diet and mandibular growth of *Octopus magnificus* (Cephalopoda). *South African Journal of Marine Science* 13, 121-126.

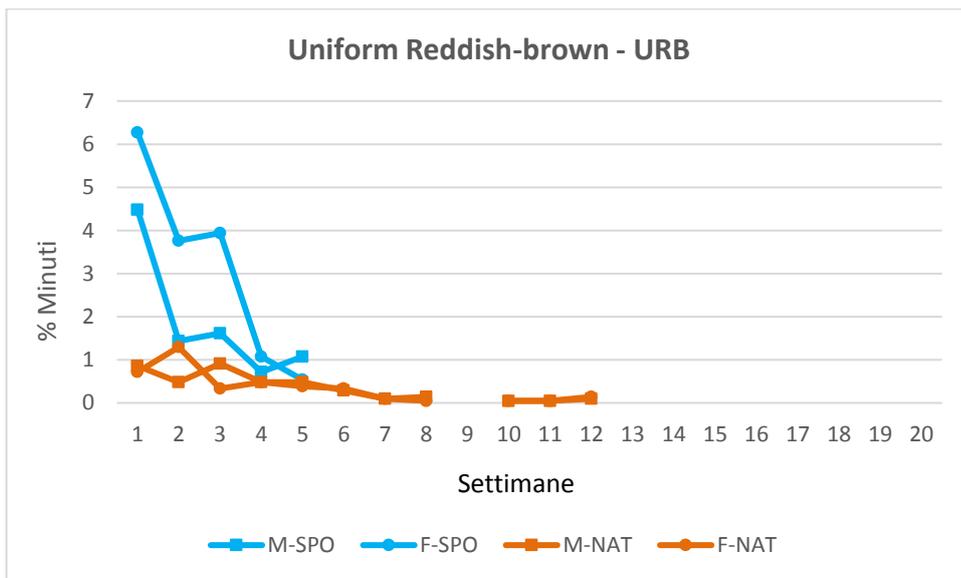
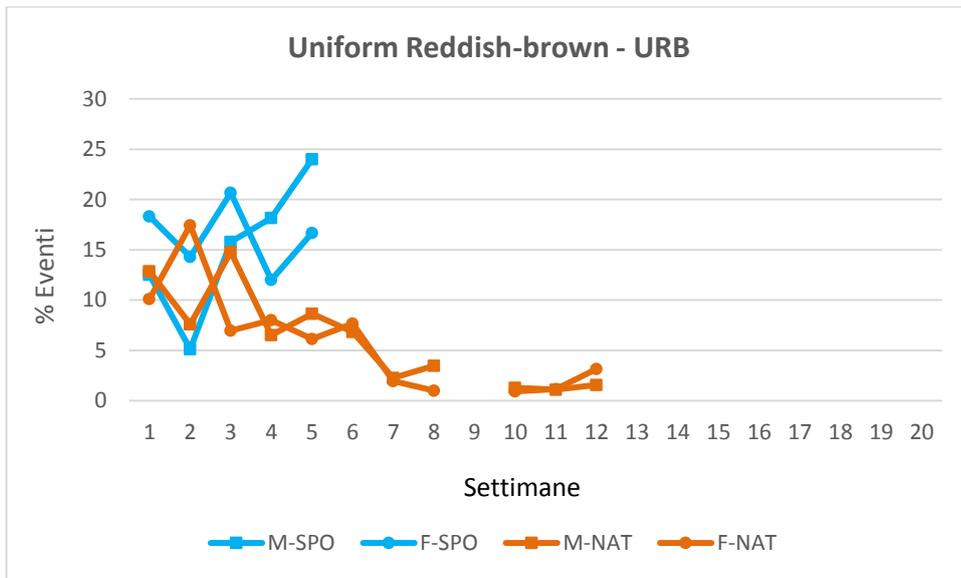
Wells, M. 1978. OCTOPUS, Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate, Chapman e Hall Ltd, London.

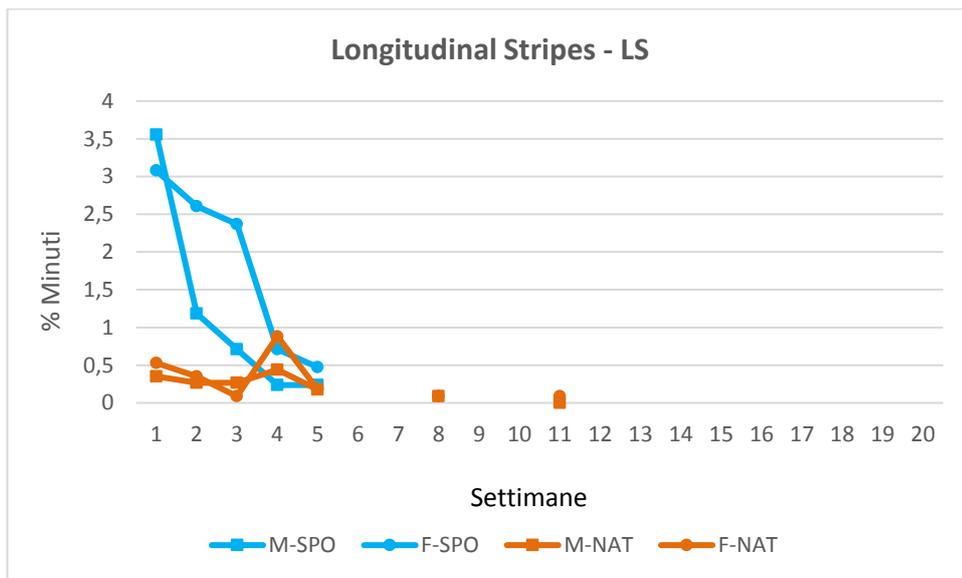
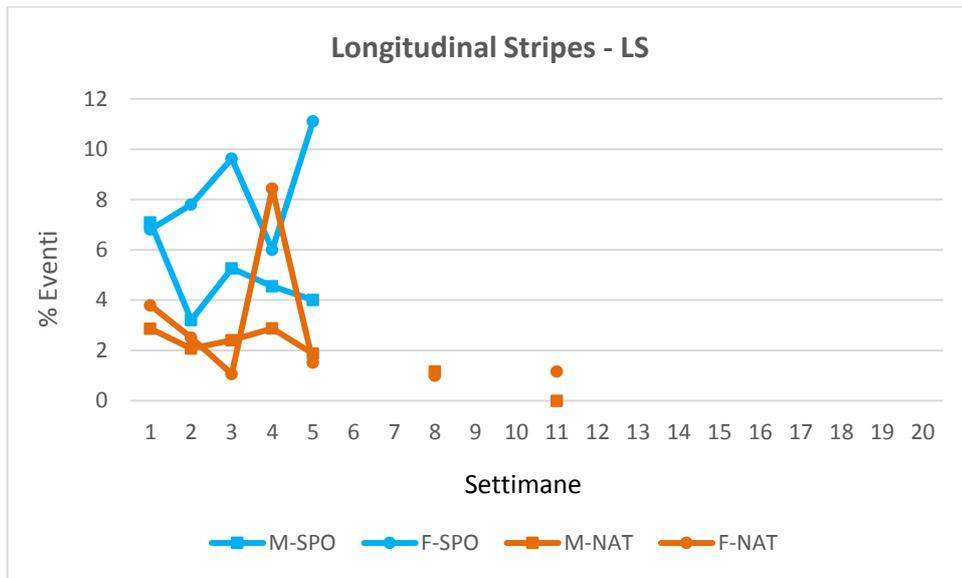
ALLEGATO

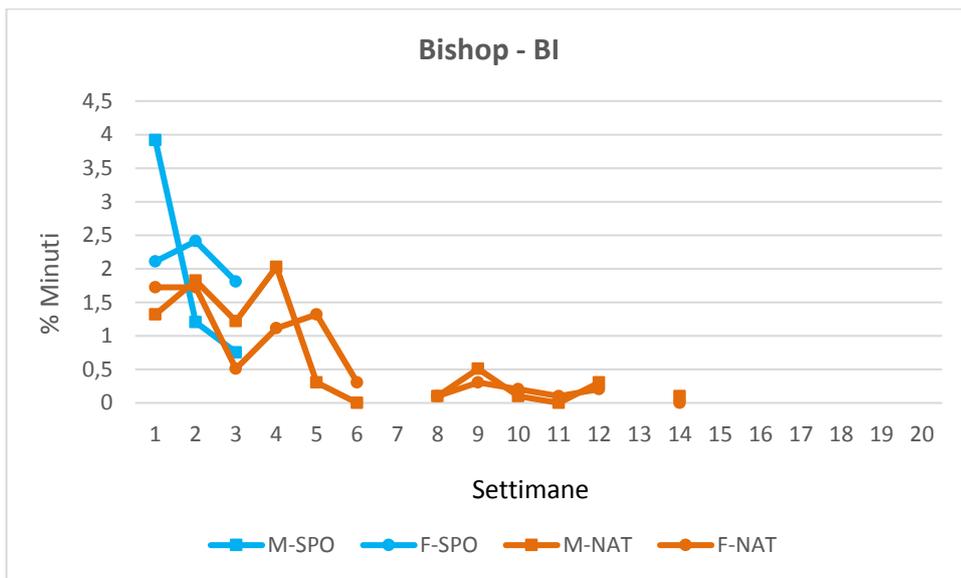
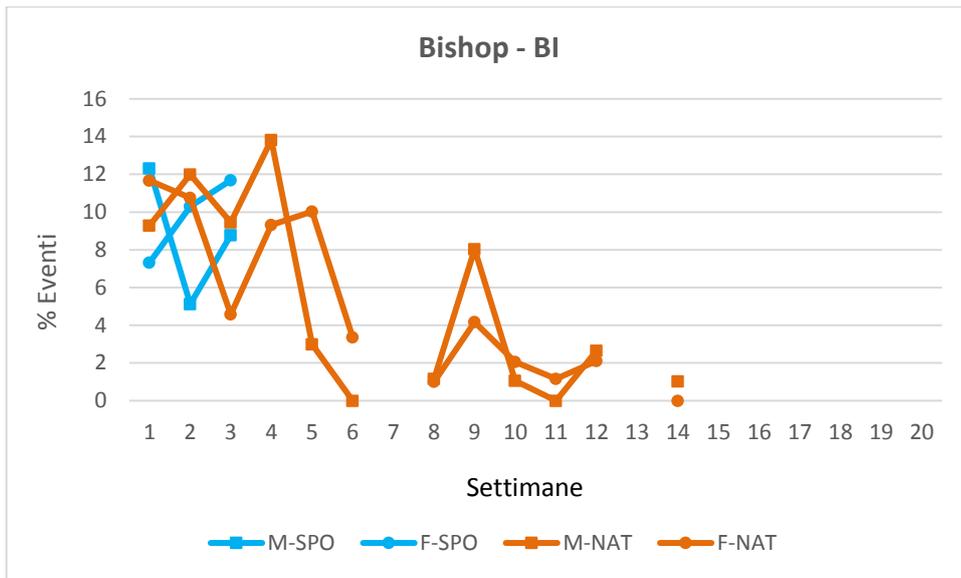
INTRASPECIFICI – REAZIONE AL DISTURBO



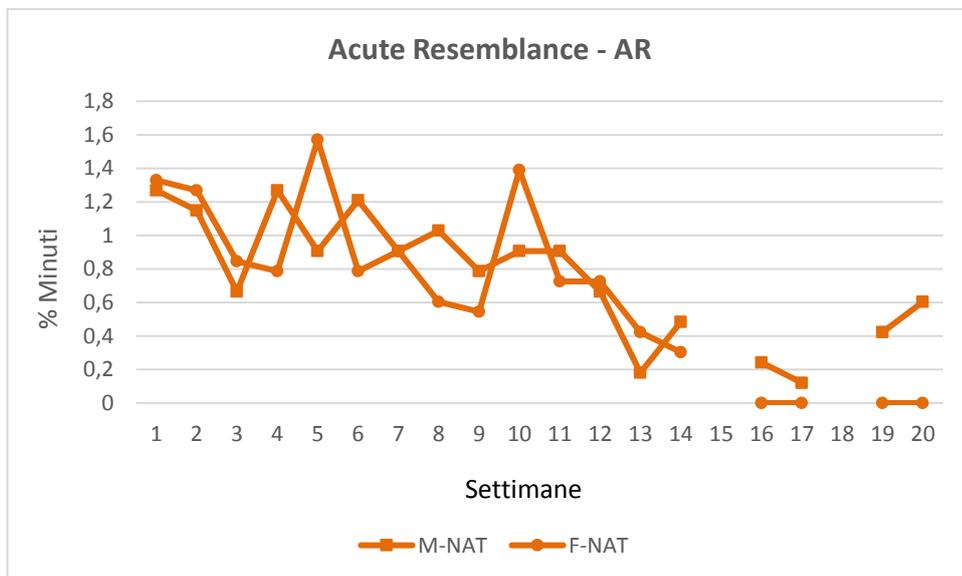
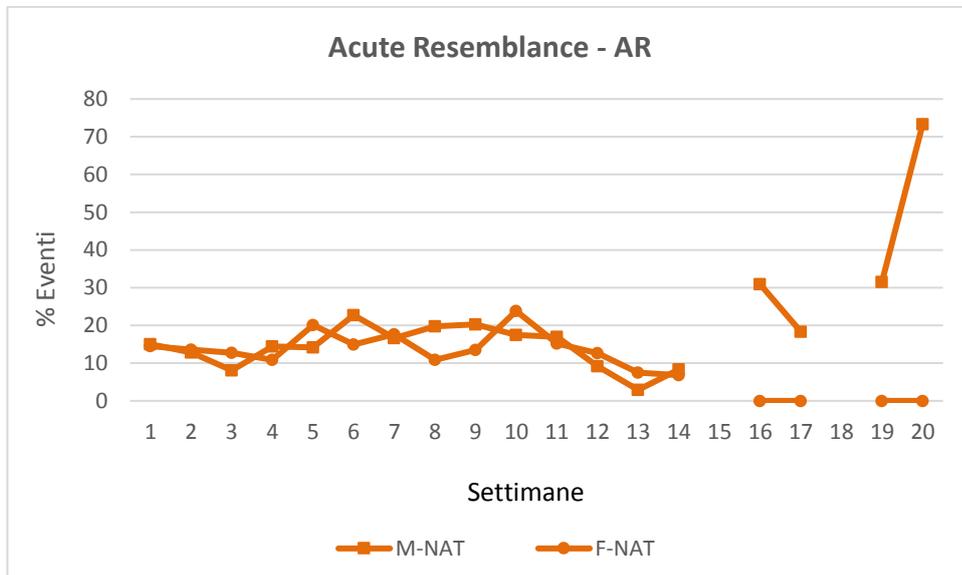


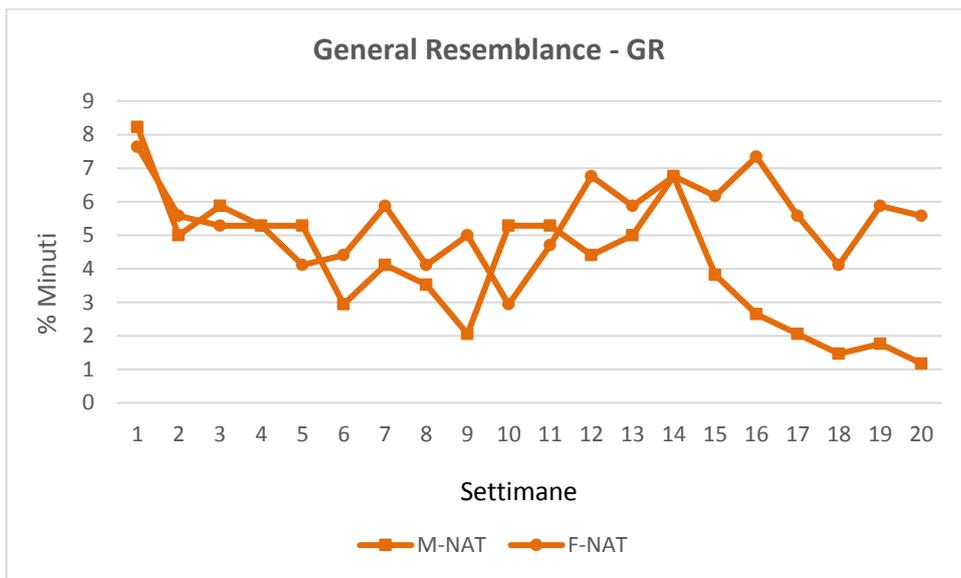
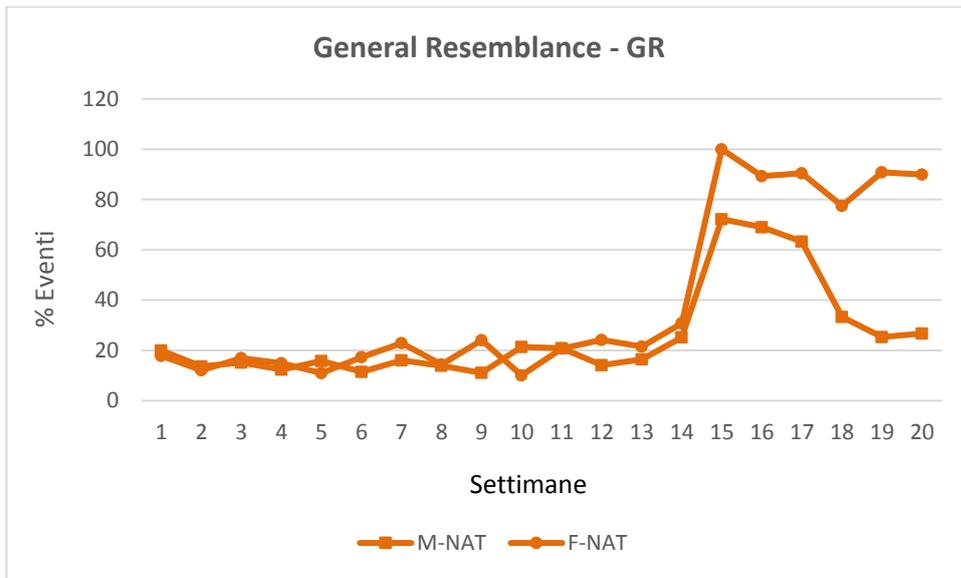


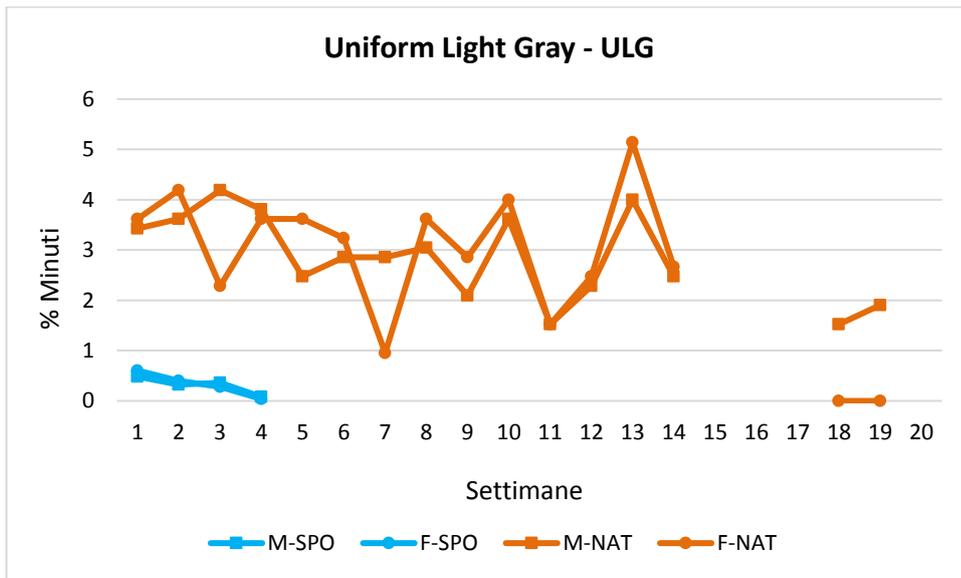
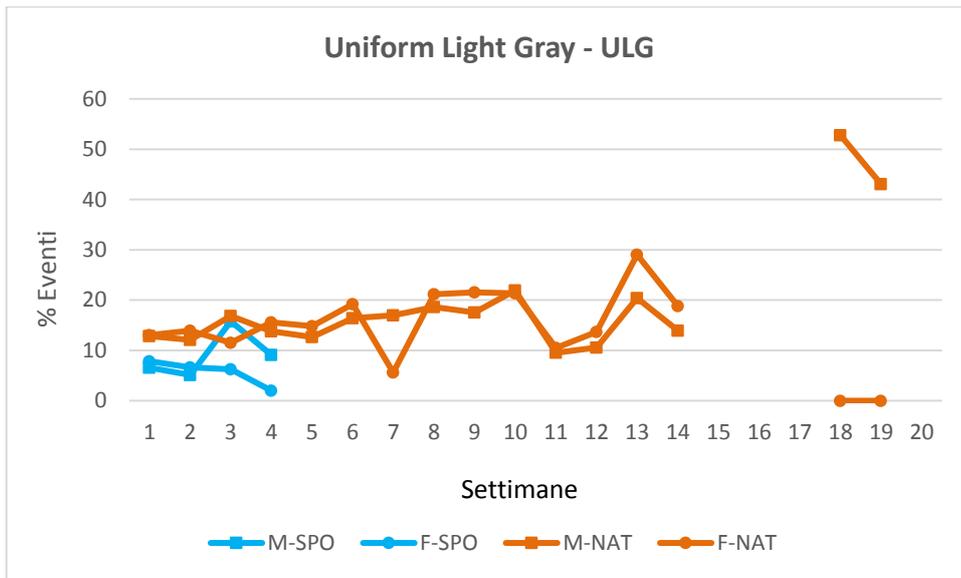




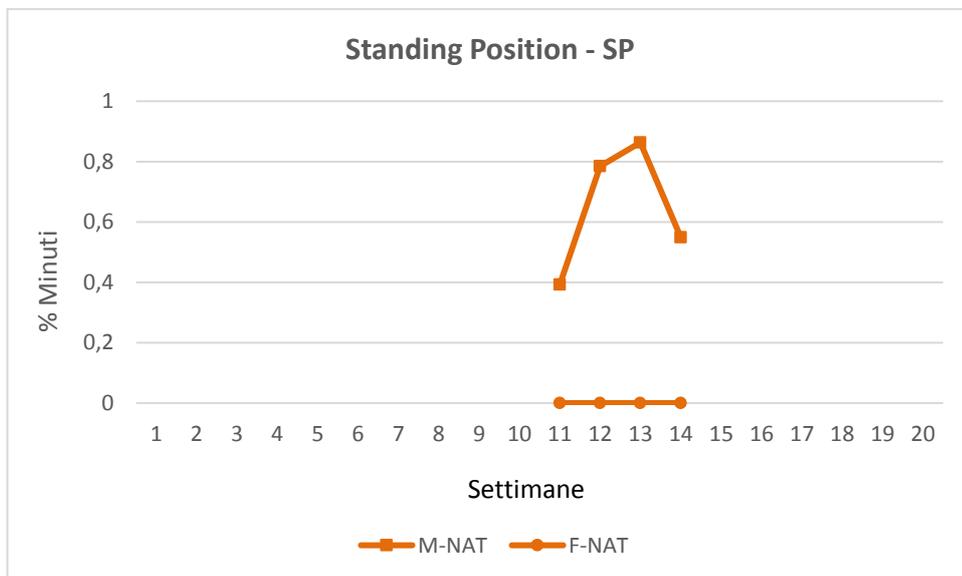
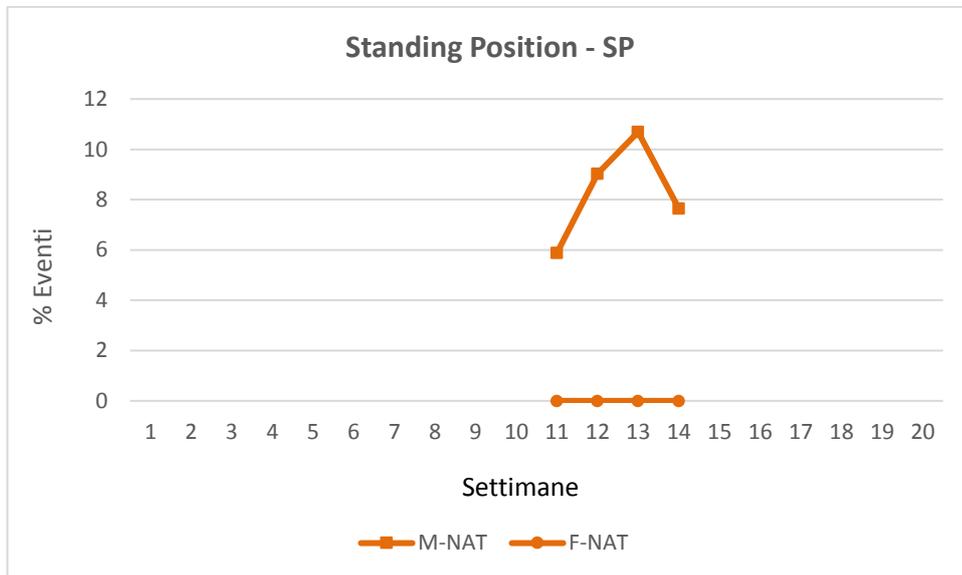
CAMUFFAMENTO – RIPOSO

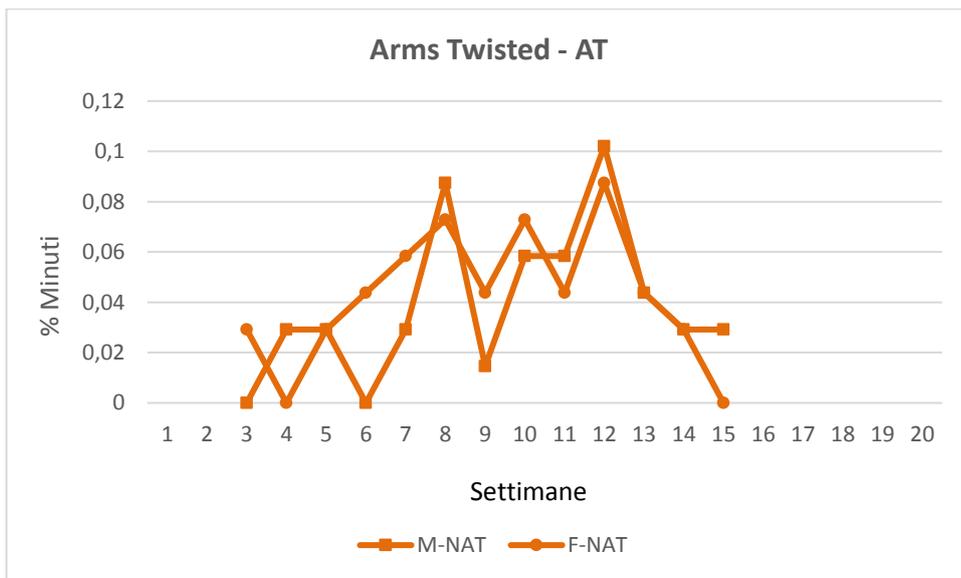
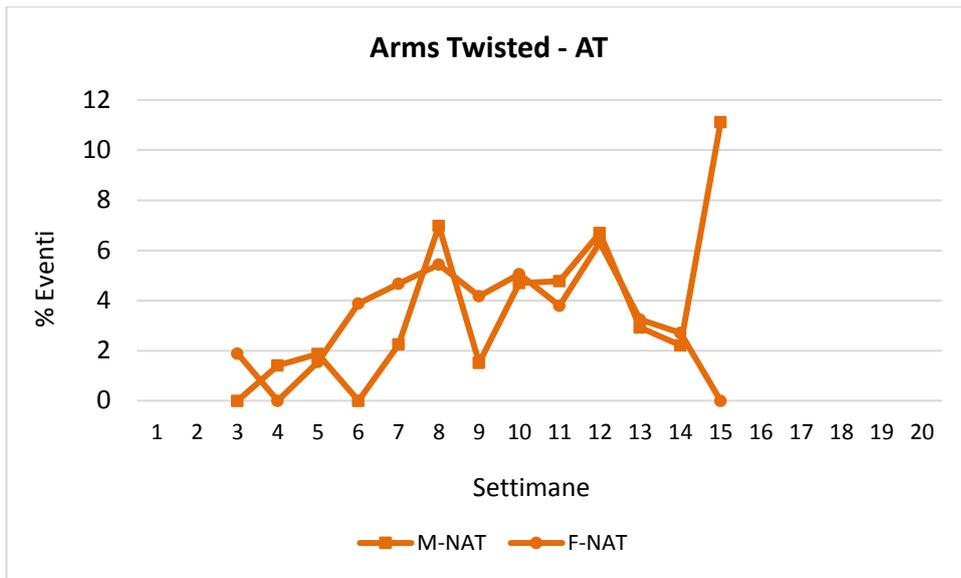




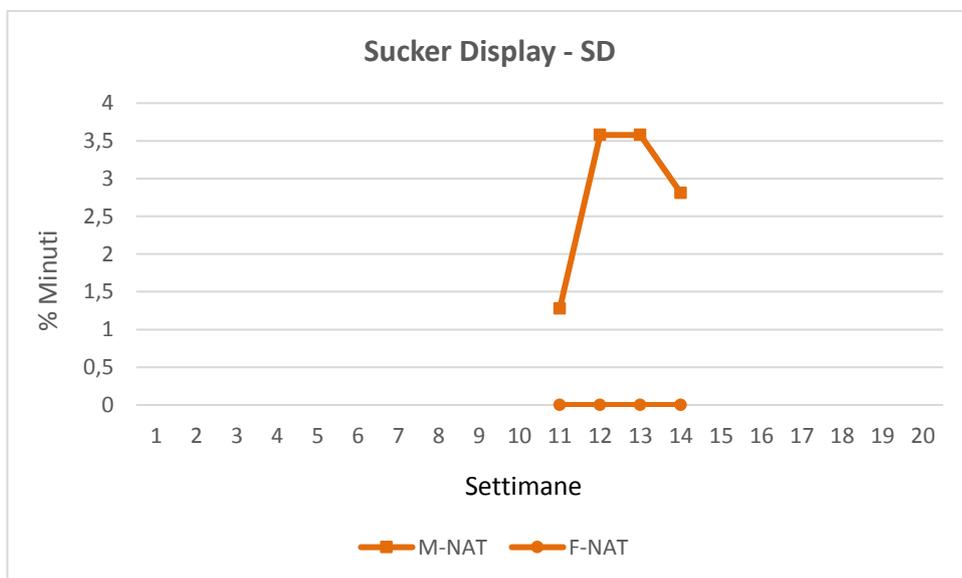
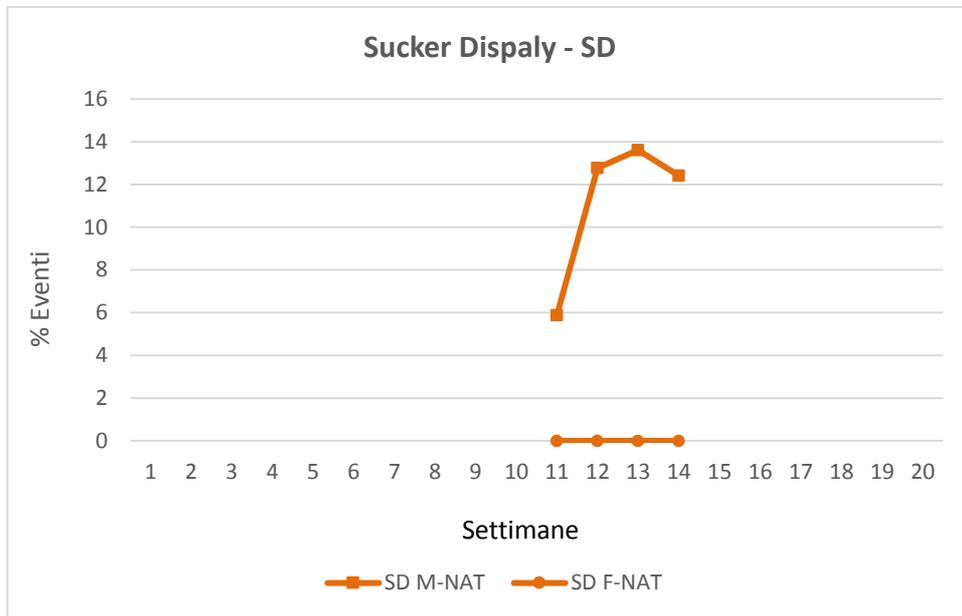


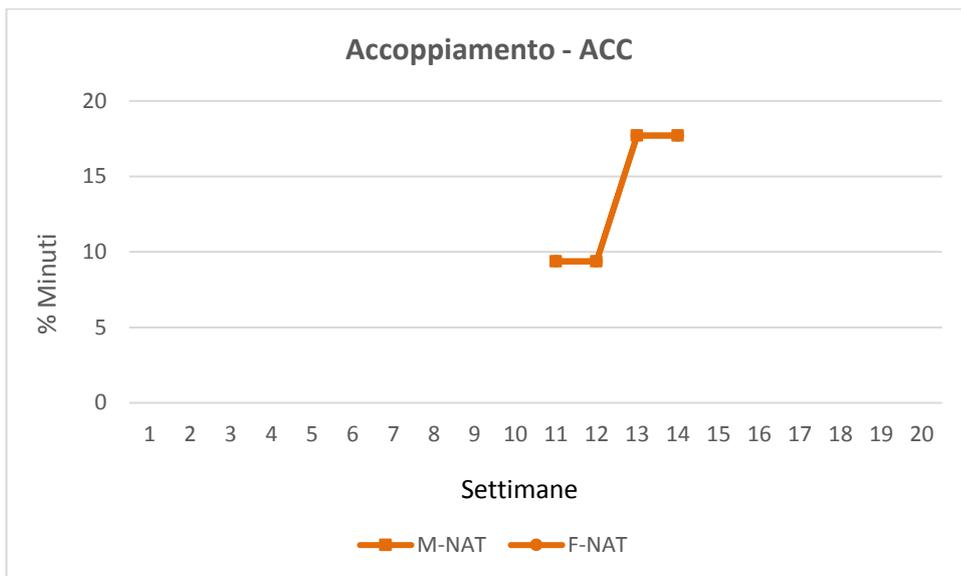
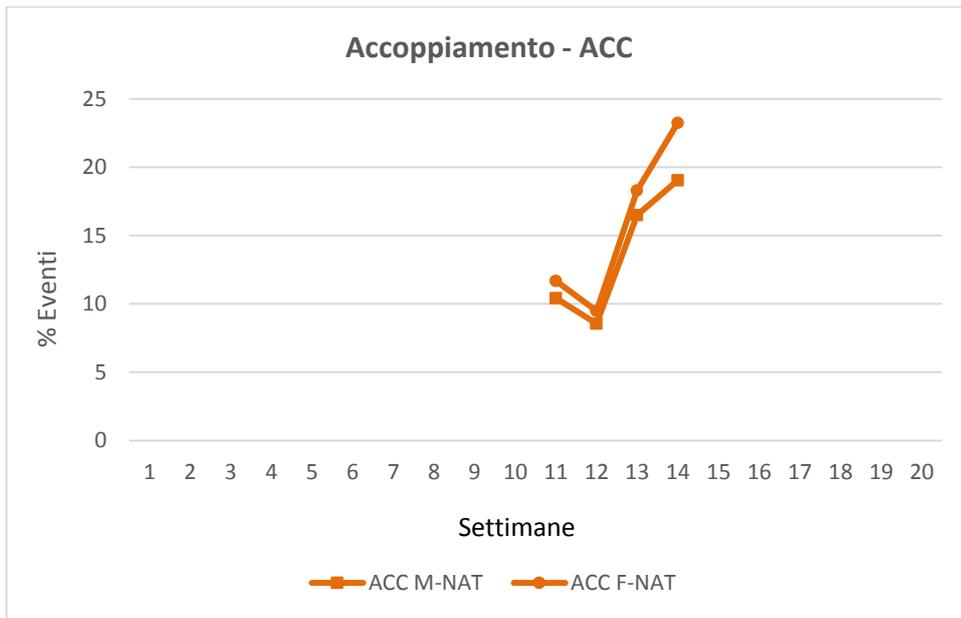
POSTURALI



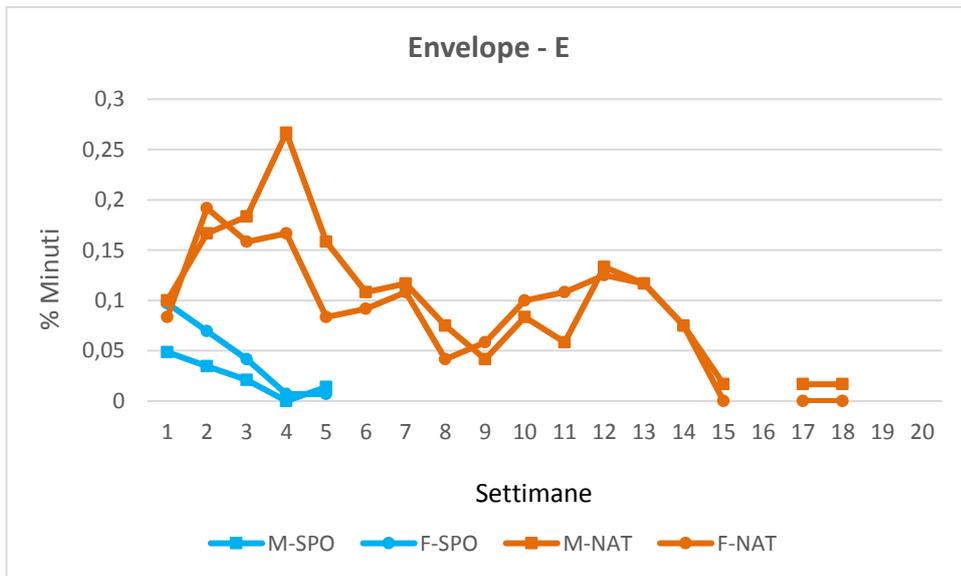
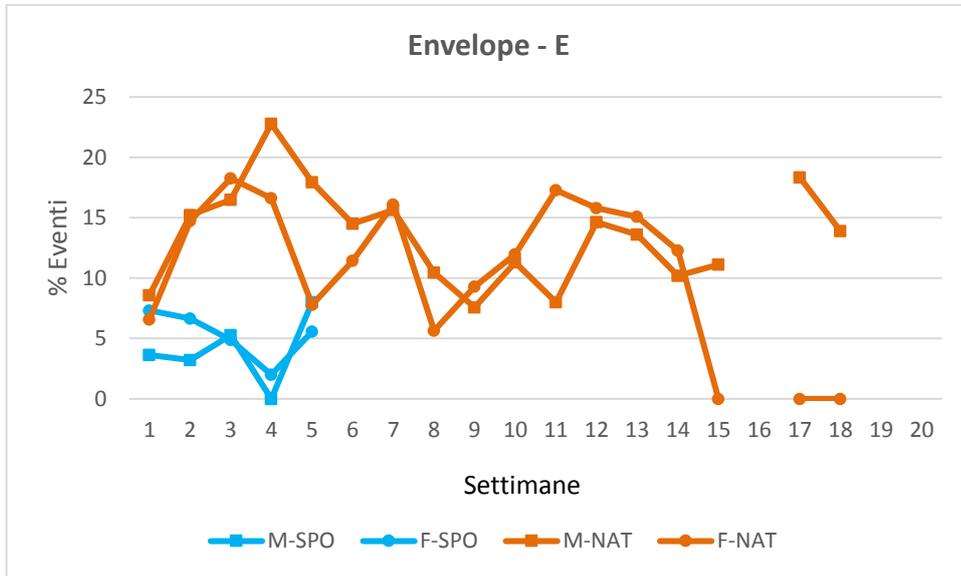


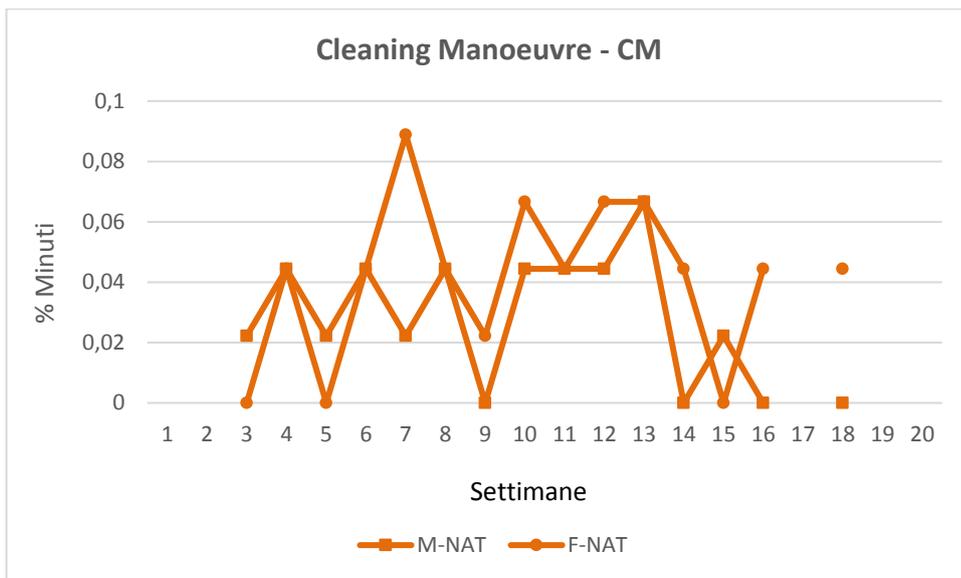
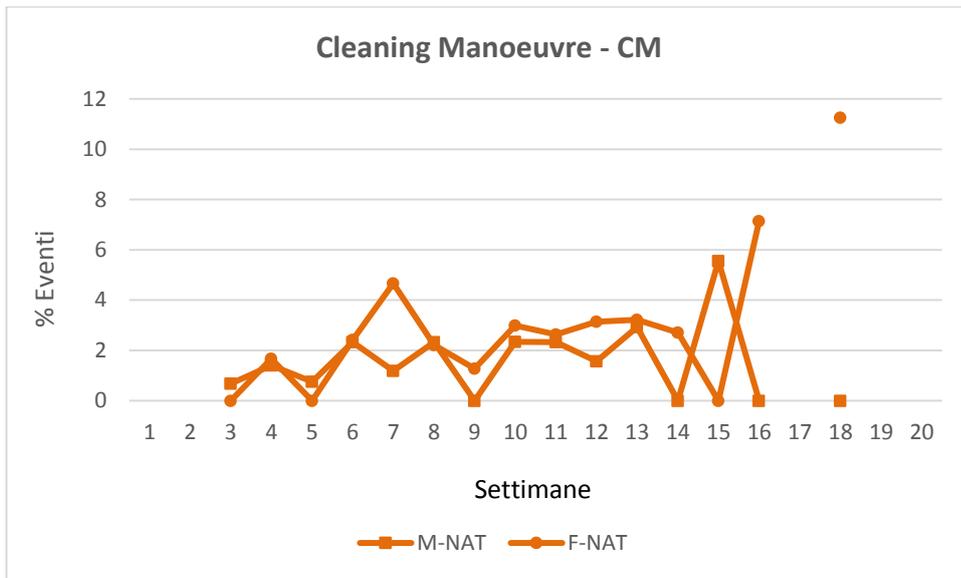
RIPRODUTTIVI

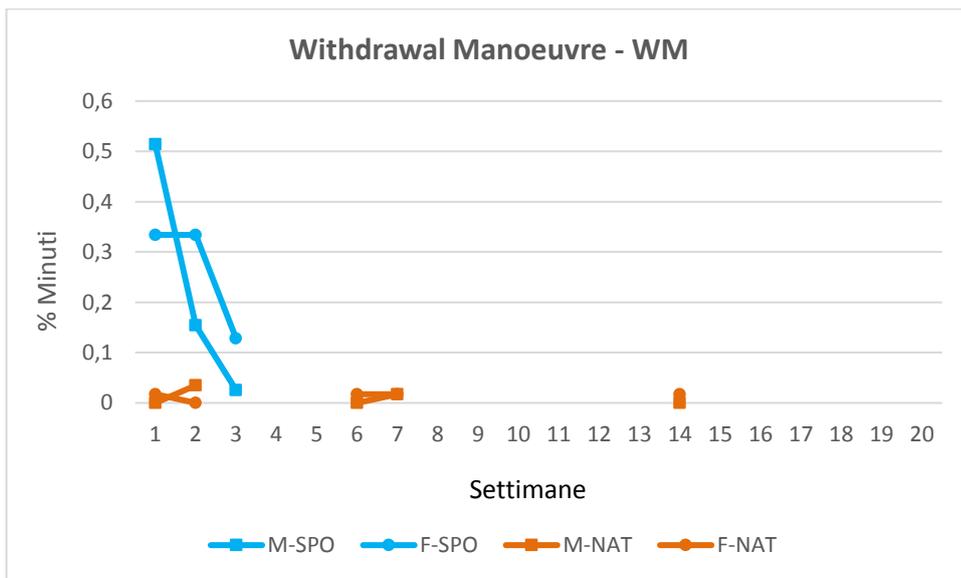
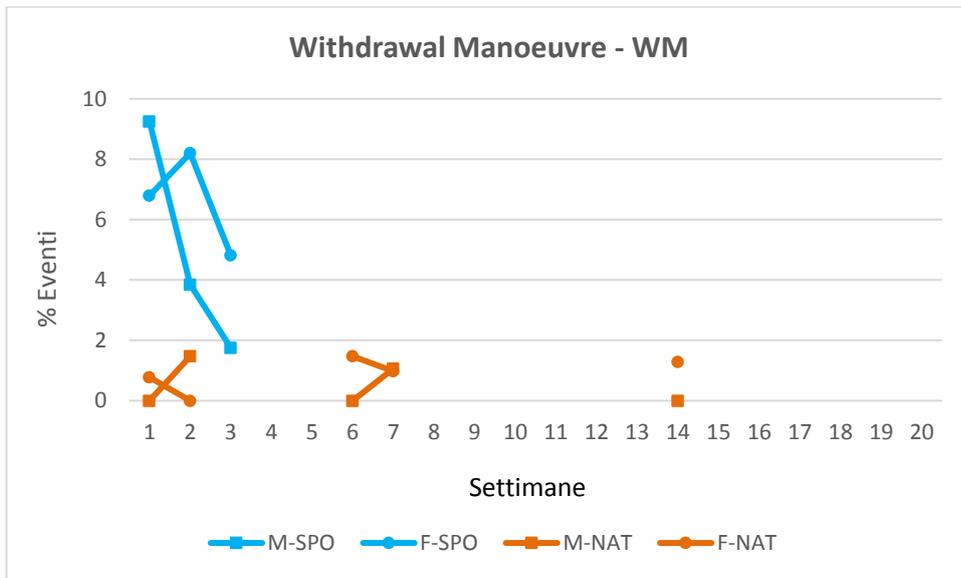


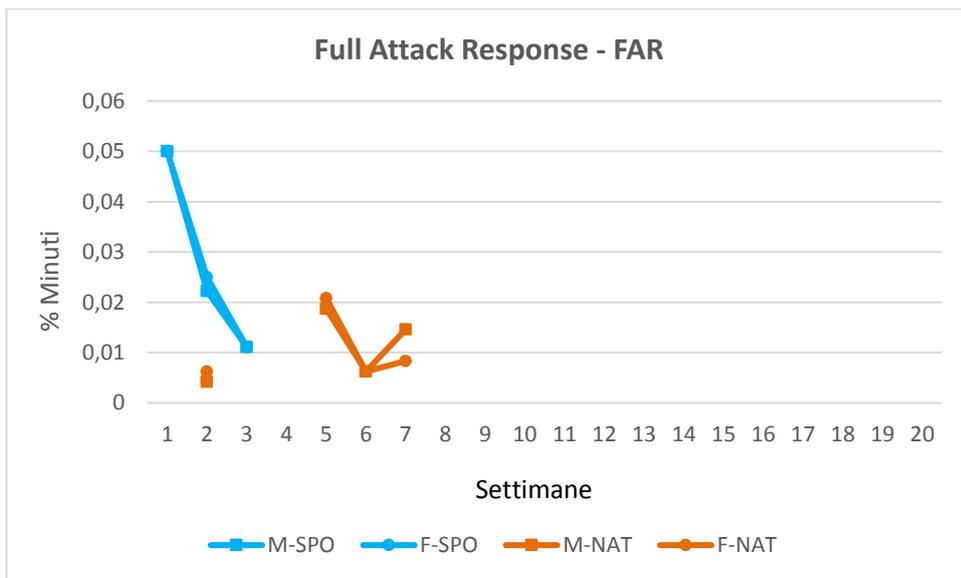
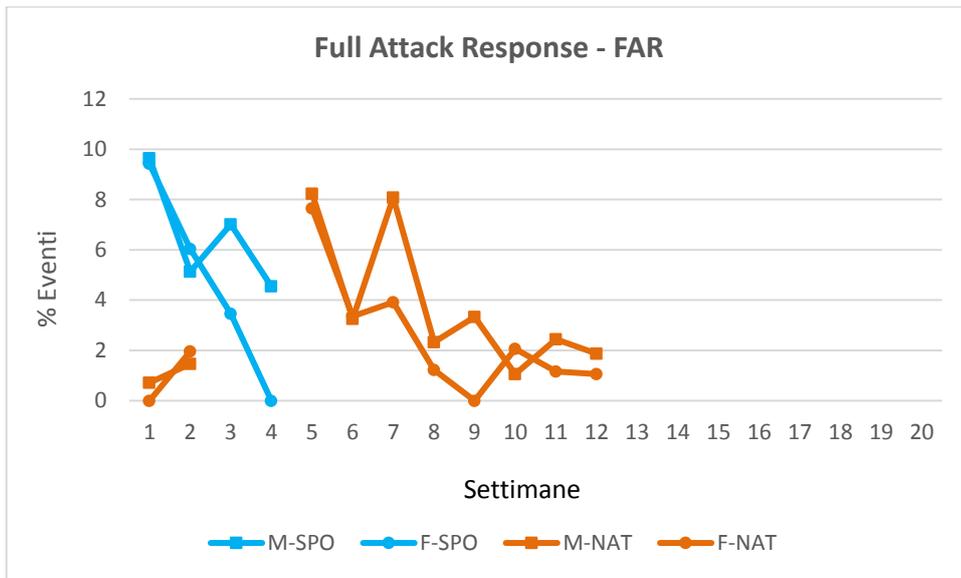


LOCOMOTORI

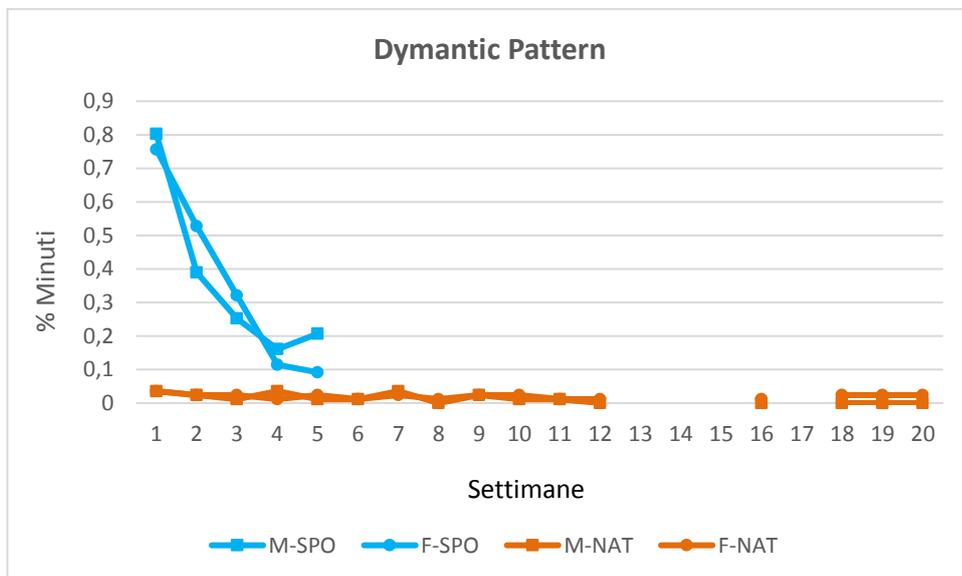
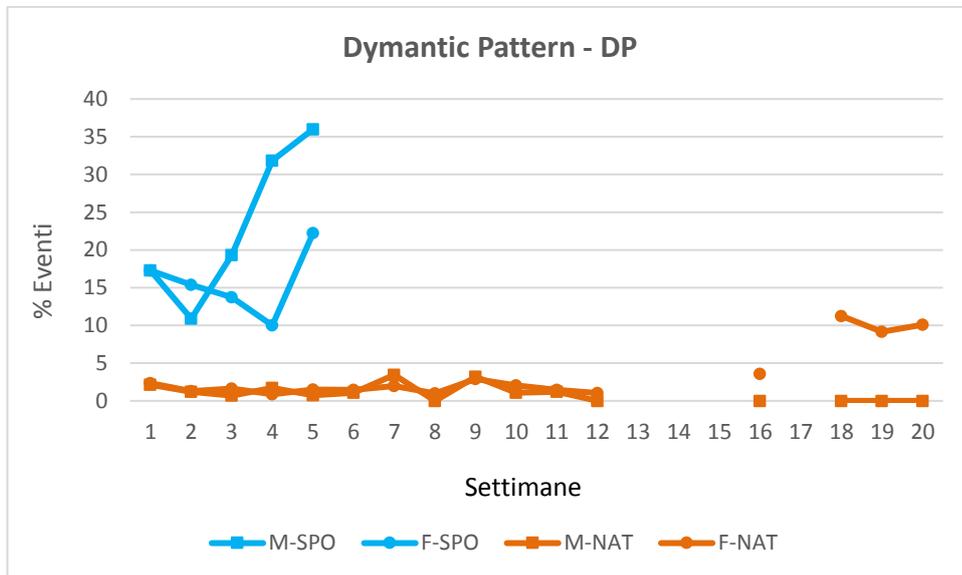


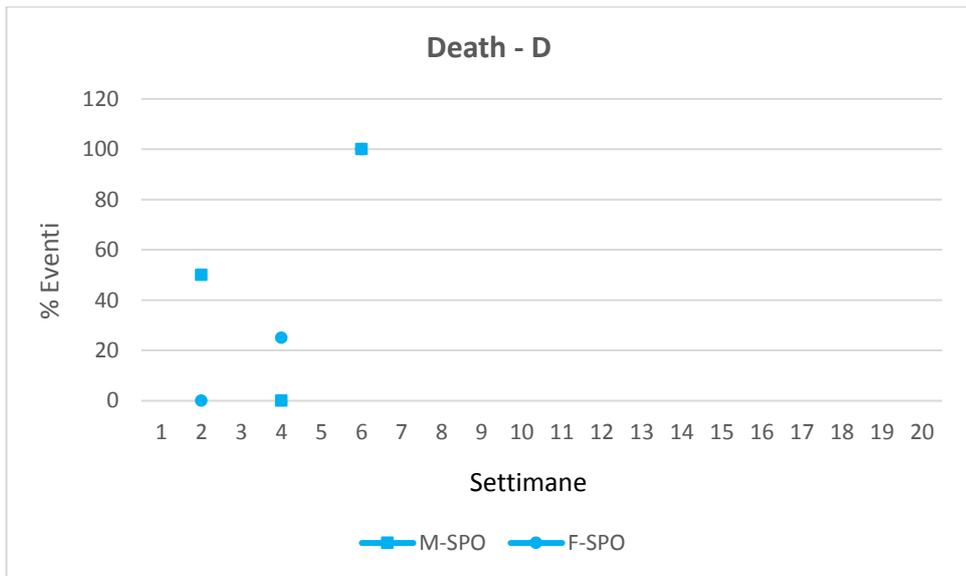
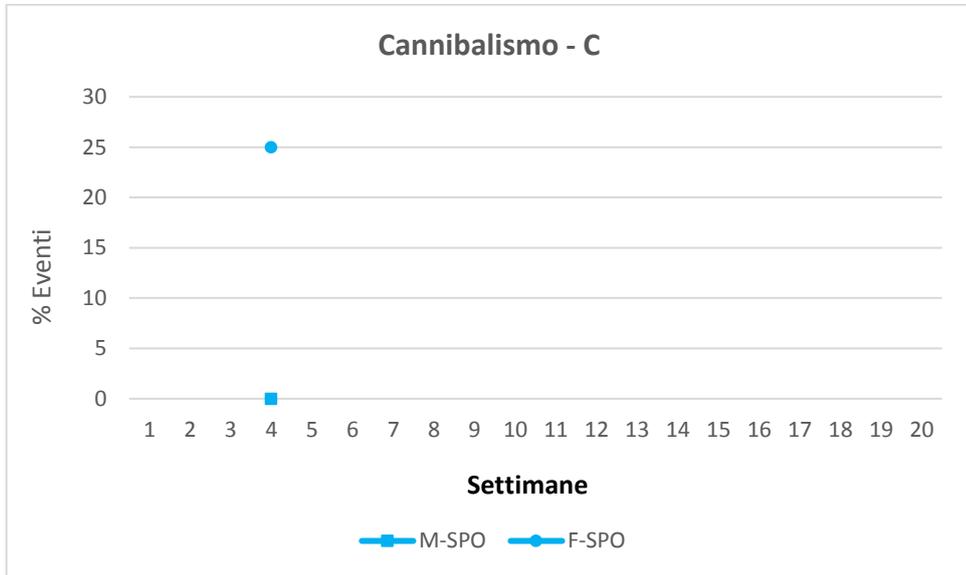
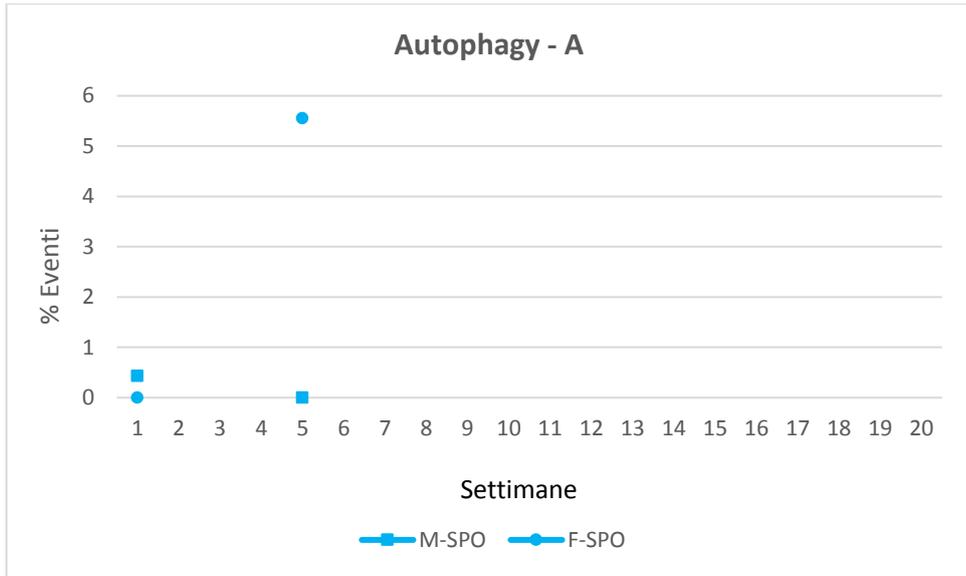






NEGATIVI





CAPITOLO III

IMPLEMENTAZIONE DI UN NUOVO IMPIANTO PER LA RIPRODUZIONE IN CATTIVITÀ DI *Octopus vulgaris*

3.1 INTRODUZIONE

L'interesse commerciale per lo sviluppo dell'allevamento del polpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797), nasce dal fatto che questo mollusco cefalopode ricopre un'importantissima nicchia nell'ambito del mercato ittico italiano ed Europeo, essendo particolarmente amato dai consumatori in qualsiasi periodo dell'anno. Questa continua domanda di prodotto si scontra però con la sua scarsa disponibilità in natura, a causa di uno sforzo di pesca eccessivo e poco controllato, con conseguente intensa fluttuazione dei prezzi nei periodi di abbondanza o carenza dell'offerta. Al momento il polpo è considerato una specie innovativa per l'acquacoltura, in quanto presenta alcune caratteristiche biologiche molto interessanti quali: ciclo di vita breve (1–2 anni), elevato tasso di accrescimento (>15% del peso corporeo al giorno), elevato indice di conversione alimentare, elevato tasso di fecondità e facile adattamento alla cattività con accettazione di alimento di basso valore commerciale (Iglesias *et al.*, 2000; Mangold e Boletzky, 1973; Mangold, 1983; Navarro e Villanueva, 2003).

Vi è infatti un grande interesse in tutta Europa per lo sviluppo di nuove tecniche di riproduzione artificiale, svezzamento e ingrasso sia in vasche a circuito chiuso che in strutture galleggianti. I risultati fino ad ora ottenuti in termini di svezzamento e sopravvivenza delle paralarve risultano tuttavia ancora insoddisfacenti per considerare il polpo come una vera nuova specie da allevare.

Alcuni autori hanno osservato che la dieta dei riproduttori a base di alimenti naturali produce risultati di crescita con alta variabilità a seconda delle specie utilizzate (Garcia e Gimenez, 2002; Cagnetta e Sublimi, 2000). Inoltre, la dieta materna può influenzare la qualità della deposizione (Politis *et al.*, 2014) in quanto fornisce i nutrienti necessari da utilizzare durante lo sviluppo embrionale e paralarvale (Tocher, 2003).

In questo lavoro viene descritto uno studio sulla messa a punto di un nuovo impianto per il mantenimento in cattività di adulti di *Octopus vulgaris* con lo scopo di creare le condizioni ambientali ottimali per favorire la riproduzione ed ottenere uova e paralarve vitali.

3.2 MATERIALI E METODI

3.2.1 DESCRIZIONE DELL'IMPIANTO DI RIPRODUZIONE

Il sistema testato per la riproduzione dei polpi presenta una configurazione di tipo verticale ed è ispirato a quello originariamente sviluppato da Okamura *et al.* (2009) per il mantenimento dei leptocefali di anguilla, più tardi modificato da Mordenti *et al.* (2014) per la riproduzione dell'anguilla.

L'impianto di riproduzione (Fig. 3) consiste in due vasche identiche (**Tank1 e Tank2**) (0,47 m³/vasca; volume dell'acqua 0,43 m³/vasca) le quali sono collegate ad un gruppo tecnico per il trattamento delle acque a ciclo chiuso costituito da:

- quadro elettrico di controllo;
- pompa di circolazione;
- biofiltro;
- skimmer;
- generatore di ozono;
- scambiatore di calore;
- sistema di sterilizzazione a raggi UV;
- aeratore.

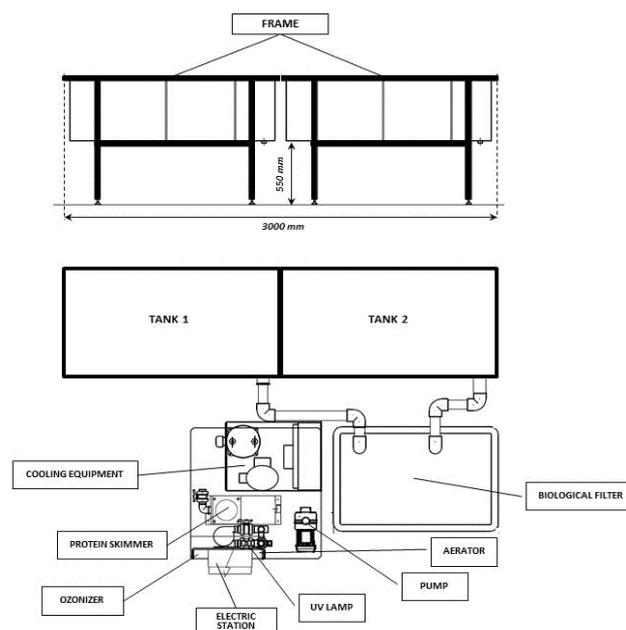


Figura 3 Impianto di riproduzione

La quantità d'acqua movimentata in questo sistema (1,12 m³) viene messa in circolo attraverso una pompa di circolazione (1,1 kW; ricambio idrico massimo 16.000 L/h) e prosegue il suo percorso all'interno del biofiltro e dello skimmer attraverso un sistema a caduta. Il biofiltro ha la capacità di trattenere le particelle più grossolane e di trasformare le sostanze tossiche, prodotte dal metabolismo degli animali, in sostanze meno nocive. La parte interna è infatti riempita di sacchi contenenti materiale inerte (palline di plastica porose e graniglia calcarea) che rappresentano un substrato idoneo per la proliferazione di batteri nitrossidanti (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*); è presente inoltre una spugna che copre la superficie interna del filtro che funge da filtro meccanico. Lo skimmer (0,15 m³) permette di estrarre fisicamente le particelle organiche di natura proteica dall'acqua, grazie all'azione di forze elettrostatiche e di intrappolarle in una schiuma. Il generatore di ozono (250 mg O₃/h) permette di sterilizzare l'acqua ossidando contaminanti organici e inorganici. Lo scambiatore di calore (1,4 kW) è un sistema di termoregolazione collegato direttamente all'impianto che permette di mantenere la temperatura entro un range preventivamente impostato. Se il sensore percepisce una temperatura diversa dal *range* impostato lo scambiatore si attiva portando l'acqua a temperatura desiderata. Il sistema di sterilizzazione ai raggi UV (36 Watt) è una ulteriore componente per sterilizzare l'acqua, che sfrutta i raggi ultravioletti con funzione germicida. Infine, l'aeratore permette di mantenere l'acqua con un buon livello di ossigeno per evitare che gli animali vadano incontro ad ipossia. Il cuore del sistema è la vasca di riproduzione, la quale è costituita da quattro componenti (Fig. 3.1):

- camera di deposizione (1) (240 L);
- zona di transizione (2) (80 L);
- camere di incubazione (3) (52 L/cad);
- camera di uscita (4) (90 L).

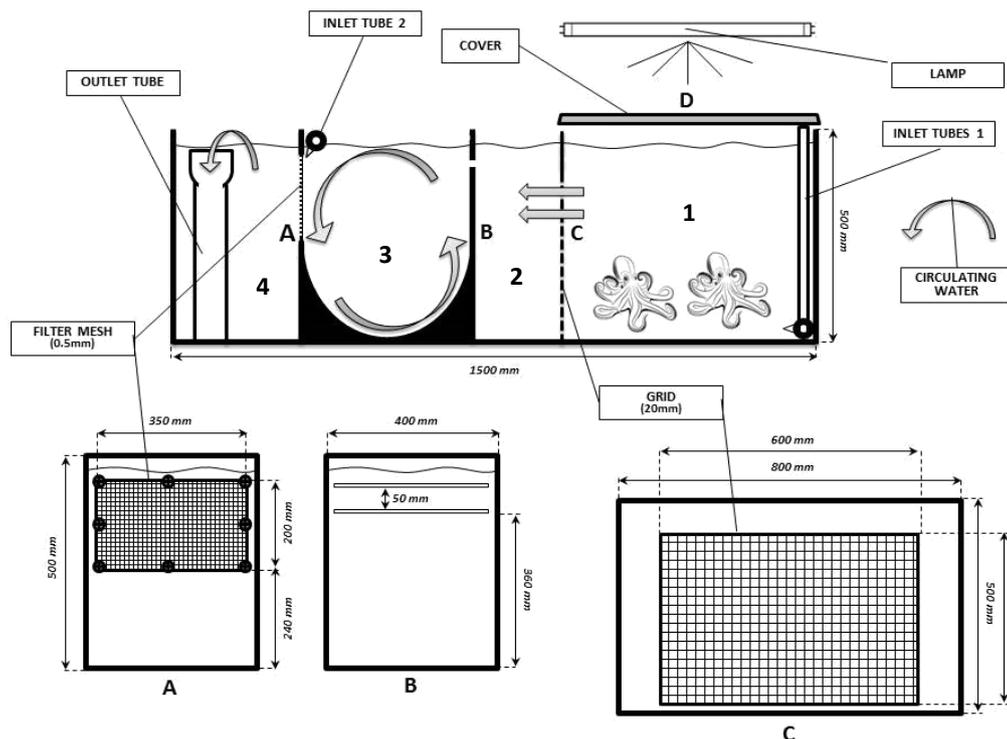


Figura 3.1 Componenti dell'impianto di riproduzione

La camera di deposizione (1) è dotata di un tubo (inlet tubes 1), posto sul lato più corto, che garantisce il ricambio idrico. Il flusso d'acqua tangenziale permette lo spostamento delle paralarve verso lo scompartimento successivo. Un setto forato (C) (20×20 mm) separa la camera di deposizione dalla zona di transizione, nella quale il materiale organico si accumula. Alcuni pannelli dotati di due fenditure longitudinali di 5 mm (B) favoriscono l'entrata dell'acqua all'interno delle camere di incubazione (3) a base cilindrica munite di un tubo posto sulla sommità (inlet tube 2) con bocchette di mandata che assicurano una costante circolazione rotatoria dell'acqua. I getti che fuoriescono dal tubo spingono l'acqua contro il setaccio a maglie (200×200 mm; 300 µm di diametro sostituibile) localizzato sul pannello (A) che separa la camera di incubazione da quella d'uscita (4). Il flusso d'acqua e la velocità della corrente sono calibrati dalla valvola della camera di deposizione (valve 1) e dalla valvola della camera di incubazione (valve 2) in modo da garantire un flusso idrico pari a 0,5 l/s per la prima e di 0,11 l/s per la seconda (Fig. 3.1). Il livello complessivo d'acqua nella vasca dipende dall'altezza alla quale il tubo di scarico (outlet tube) viene posizionato. Una fonte di luce artificiale (lamp) situata sopra la vasca di deposizione permette di agevolare le operazioni durante le fasi di pulizia e alimentazione. Il tetto ricoprente la camera di deposizione è dotato di

due finestre, in vetro trasparente, apribili che permettono il passaggio della luce naturale e artificiale (D) (Fig. 3.1). All'interno della vasca di deposizione sono state posizionate delle griglie rimovibili (20×20 mm) che avevano lo scopo di favorire il contatto degli animali solamente attraverso l'allungamento delle braccia (E). Tali griglie venivano rimosse una volta osservate le prime fasi di corteggiamento. Infine, in ogni vasca è stata posizionata una tana costituita da un tubo in PVC (F) Fig. 3.2).

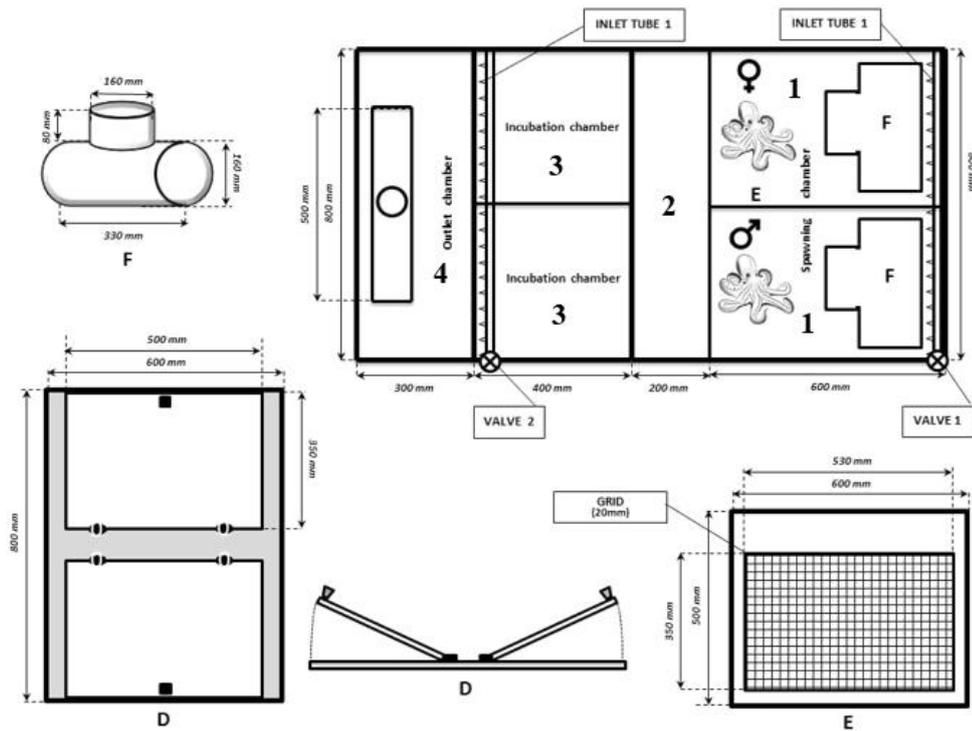


Figura 3.2 Impianto di riproduzione visto dall'alto

Ogni vasca di deposizione è stata naturalizzata attraverso i seguenti interventi (Fig. 3.3):

- cambio di colorazione della superficie delle pareti da blu in grigio;
- costituzione di un fondo (granulometria 4mm);
- inserimento di oggetti tridimensionali come tane, sassi e gusci di conchiglie.



Figura 3.3 Interventi di naturalizzazione dell'impianto di riproduzione

3.2.2 PRELIEVO, TRASPORTO E STOCCAGGIO DEGLI ESEMPLARI

I polpi utilizzati per la sperimentazione sono stati prelevati dalla marineria di Gallipoli (LE,) attraverso il metodo tradizionale di pesca con la lenza a mano o “polpara” (Fig. 3.4). Tale metodo, del tutto incruento, prevede l'uso di una lenza madre in nylon del diametro di 1 mm alla quale viene legata, tramite un moschettone, un terminale. Dal terminale dipartono dei braccioli ai quali vengono legati dei pesci (solitamente pesce azzurro). La parte inferiore del terminale è agganciata ad un piombo, dal peso variabile (300–1000 gr) in base alla profondità di pesca e stagione, necessario affinché il terminale tocchi il fondale. Sulla parte superiore del terminale viene legata anche una busta in plastica, per attirare maggiormente l'attenzione del polpo. Non appena il polpo si avvinghia all'esca la lenza viene recuperata a bordo e il polpo viene catturato a mano, in prossimità della superficie. Ciò è necessario poiché non appena il polpo emerge tende a lasciare la presa e fuggire. Non appena il polpo è stato recuperato viene inserito in una rete di nylon per essere stoccato temporaneamente all'interno di un secchio (Fig. 3.4).



Figura 3.4 Polpara per la pesca dei polpi ed esemplare appena catturato

Il trasporto degli esemplari è avvenuto attraverso una vasca coibentata del volume di 300 litri (Fig. 3.5). Ogni polpo è stato inserito all'interno di una retina di nylon, per evitare fenomeni di aggressività. La vasca è stata dotata di un sistema di aereazione tramite compressore, per mantenere un buon livello di ossigenazione. Inoltre, più ricambi d'acqua sono stati effettuati affinché la temperatura rimanesse intorno ai valori del periodo di prelievo (16°C). Infine, la vasca di trasporto è stata sigillata con un coperchio per mantenere gli animali al buio ed evitare perdite di acqua. Non appena gli esemplari sono giunti in



Figura 3.5 Vasca di trasporto

laboratorio sono stati stoccati provvisoriamente nelle vasche di stabulazione della Serra Ittiologica del corso di Laurea in Acquacoltura e Igiene delle Produzioni Ittiche di Cesenatico. L'impianto di stabulazione consiste in due vasche rettangolari della stessa dimensione (3x0.62x0.50), le quali sono collegate ad un gruppo tecnico dotato di tutte le componenti essenziali per il controllo ed il trattamento delle acque a circuito chiuso. Il volume totale dell'acqua, ad impianto operativo, è di 1.700 litri. Ciascuna vasca ha subito delle modifiche strutturali e degli interventi di naturalizzazione per ospitare la specie oggetto di studio (Fig. 3.6). In entrambe sono stati creati 4 scomparti, in grado di ospitare un singolo polpo. La separazione è avvenuta tramite delle griglie in plastica dotate di fori, per consentire l'interazione tra gli individui e contemporaneamente salvaguardare l'istinto territoriale e l'incolumità degli animali. Ogni animale disponeva di uno spazio di 216 cm³ (72x50x60). In questo impianto gli animali sono rimasti per 2 settimane di ambientamento, dopodiché, in relazione al comportamento dei polpi in

vasca, sono stati selezionati gli esemplari più attivi da destinare alle prove nell'impianto di riproduzione.



Figura 3.6 Interventi di naturalizzazione dell'impianto

3.2.3 PESO E SESSAGGIO

Una volta in laboratorio, gli animali sono stati sottoposti alla determinazione del peso ed all'identificazione del sesso (Fig. 3.7). Il peso dei soggetti è avvenuto utilizzando una bilancia di marca BEL ($\pm 0,1$ gr). Il sessaggio è stato effettuato osservando la parte terminale del 3° braccio di destra e la dimensione/disposizione delle ventose su entrambe le prime due braccia. Nel primo caso, si osserva la parte apicale del braccio, che nella femmina risulta essere sottile e appuntita, mentre nel maschio è arcuata e tozza, prendendo il nome di ectocotile. Tale forma “a cucchiaio” è dovuta al fatto che durante l'accoppiamento il maschio utilizza questo braccio per trasferire le spermatofore all'interno del mantello della femmina. Nel secondo caso, se le ventose sono tutte regolari e di dimensioni omogenee si tratta di un esemplare femminile, mentre se sono presenti ventose irregolari e di dimensioni notevolmente maggiori rispetto a quelle circostanti, allora si ha la conferma che si tratti di un esemplare maschile.



Figura 3.7 Esemplare maschile (a) – Esemplare femminile (b) – Particolare dell'ectocotile (c)

3.2.4 CONDIZIONAMENTO DEI RIPRODUTTORI

Per la prova sono stati utilizzati 12 esemplari di polpo divisi in 2 gruppi:

GRUPPO P	GRUPPO C
$\left. \begin{array}{l} \text{♀ P1} \\ \text{♀ P3} \\ \text{♀ P5} \end{array} \right\} \text{ p.m } 1132.9 \pm 100.1 \text{ gr.}$	$\left. \begin{array}{l} \text{♀ C3} \\ \text{♀ C5} \\ \text{♀ C7} \end{array} \right\} \text{ p.m } 1061.4 \pm 73.3 \text{ gr.}$
$\left. \begin{array}{l} \text{♂ P2} \\ \text{♂ P4} \\ \text{♂ P7} \end{array} \right\} \text{ p.m } 949.3 \pm 188.6 \text{ gr.}$	$\left. \begin{array}{l} \text{♂ C4} \\ \text{♂ C6} \\ \text{♂ C8} \end{array} \right\} \text{ p.m } 938.9 \pm 68.2 \text{ gr.}$

Gli animali sono stati mantenuti all'interno dell'impianto di riproduzione dal termine del periodo di stabulazione fino al momento della riproduzione e schiusa delle paralarve. Tale periodo è previsto essere compreso in un *range* tra 20 – 22 settimane. Durante la sperimentazione i polpi sono stati alimentati con 2 diete differenti:

- ai soggetti del **GRUPPO P** veniva somministrata una razione alimentare costituita per il 90% di pesce e per il restante 10% di crostacei;
- ai soggetti del **GRUPPO C** veniva somministrata una razione alimentare costituita per il 90% di crostacei e per il restante 10% di pesce.

Il pesce utilizzato era costituito da suri (*Trachurus trachurus*), boghe (*Boops boops*) e cefali (*Mugil cephalus*), mentre la componente crostacei era formata da canocchie (*Squilla mantis*), granchi (*Carcinus sp*) e gamberi (*Panaeus kerathurus*) (Fig. 3.8).

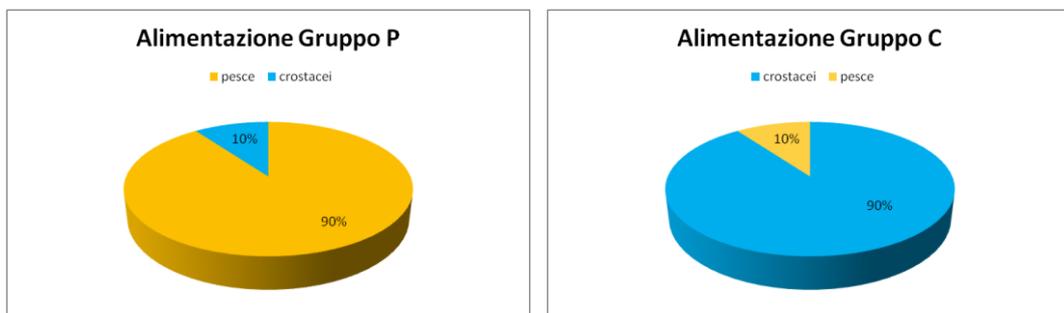


Figura 3.8 Differente alimentazione dei polpi durante la prova

L'alimentazione è avvenuta manualmente 2 volte al giorno *ad libitum* utilizzando alimento vivo e/o congelato. Ogni 4 settimane veniva registrato il peso di ogni esemplare.

Gli animali per tutta la durata della prova sono stati sottoposti ad un condizionamento eco-fisiologico, che prevedeva:

- un fotoperiodo controllato passato dalle 10 alle 15 h/luce;
- un trattamento termico controllato passato da 15 a 20°C.

A questo riguardo sono state tenute in considerazione le indicazioni di Iglesias *et al.* (2014), dove ad un allungamento delle ore di luce corrisponde un innalzamento della temperatura dell'acqua. La salinità è stata mantenuta su valori pari a $35 \pm 2\text{‰}$; i valori sono stati misurati con il rifrattometro Milwaukee (sensibilità 0,1‰ – portata 100‰). Il parametro è stato controllato quotidianamente e regolato all'esigenza con aggiunta di sale o acqua dolce. Il pH è stato monitorato settimanalmente per verificare che i valori rimanessero all'interno del range 7.9-8.2 ottimale per *O. vulgaris* (Fiorito *et al.*, 2015). Tali valori sono stati misurati per mezzo del pH test 30 Waterproof (sensibilità 0.01 – portata 1.00-15.00). I valori di ammoniaca e nitriti sono stati osservati ogni tre giorni attraverso l'uso dello spettrofotometro NOVA 60 e mantenuti nei valori tollerabili per la specie (Fig. 3.9).



Figura 3.9 Rifrattometro, pHmetro e spettrofotometro per il controllo dei parametri dell'acqua

3.2.5 PERFORMANCE RIPRODUTTIVE

Durante la sperimentazione è stata osservata la funzionalità della nuova vasca e sono state registrate le principali *performance* zootecniche delle 6 coppie di polpi in relazione anche della dieta utilizzata. In particolare, sono stati osservati:

- accrescimento degli esemplari;
- numero delle paralarve;
- numero di paralarve/Kg p.v;
- numero dei grappoli deposti;
- lunghezza media dei grappoli (cm);
- lunghezza complessiva dei grappoli (m);
- numero di grappoli/Kg p.v;
- numero totale delle uova;
- numero di uova/Kg p.v;
- percentuale di schiusa.

Il numero delle paralarve è stato calcolato come media del n°paralarve/2 litri di acqua (x 5 campioni).

Il numero delle uova è stato calcolato come media del n° di uova non schiuse/2 cm di grappolo per la lunghezza complessiva (x 10 campioni).

3.2.6 ANALISI STATISTICA

Le performance riproduttive sono state analizzate statisticamente eseguendo l'analisi della Varianza con SSP (Smith's statistical Package) e ponendo $P < 0.05$ come soglia per significatività statistica. Va per altro tenuto conto del fatto che il numero ridotto di animali utilizzato, può introdurre un *bias*, alterando potenzialmente la reale significatività statistica. Ciononostante, le differenze riscontrate sono anche numericamente evidenti e possiamo quindi ritenere che il *bias* introdotto sia piccolo.

3.3 RISULTATI E DISCUSSIONI

L'impianto progettato per il mantenimento in cattività dei polpi è risultato avere caratteristiche tecniche e idrodinamiche ottimali per favorirne la riproduzione.

La vasca di deposizione si è dimostrata sufficientemente spaziosa da consentire agli esemplari di muoversi agevolmente e svolgere le proprie attività vitali. Inoltre, il sistema di filtrazione biologica dell'impianto di riproduzione si è dimostrato adeguato a sopportare la biomassa introdotta mantenendo sotto controllo la componente azotata; i parametri di pH e salinità sono stati sempre all'interno dei *range* ottimali per la specie. Da un punto di vista tecnico il sistema di griglie ha permesso alle coppie di poter interagire ed accoppiarsi tra loro senza che potessero verificarsi fenomeni di aggressività. Il flusso tangenziale utilizzato (0,5 l/s) ha favorito il trasferimento dei residui alimentari nella zona di transizione, facilitando le operazioni di pulizia. Il flusso ha inoltre favorito il naturale passaggio delle paralarve nelle camere di incubazione, evitando stress meccanici ed allo stesso tempo impedendo la fuoriuscita delle stesse dalle camere di incubazione. Nessuna paralarva è stata infatti trovata all'interno delle camere di deposizione al termine della prova. Il flusso circolare generato nella camera di incubazione ha consentito di mantenere pulita la rete di scarico ed ha mantenuto in sospensione le paralarve, mentre lo scarico longitudinale della camera esterna ha garantito un'equa divisione delle paralarve nel volume d'acqua.

L'aver individuato soluzioni tecniche e idrodinamiche per il mantenimento in cattività di questi cefalopodi è risultato molto importante anche ai fini riproduttivi. Infatti è ormai ampiamente dimostrato che la riproduzione dei pesci in cattività è determinata non solo dalle manipolazioni ambientali come fotoperiodo, temperatura e salinità dell'acqua (Kelley *et al.*, 1991; Bromage *et al.*, 1993; Carrillo *et al.*, 1995; Brooks *et al.*, 1997; Angius e Canavate, 2005; Mylonas *et al.*, 2010), ma anche da altri fattori come la dimensione della vasca, il volume dell'acqua e/o la profondità, le condizioni idrodinamiche, la portata dell'acqua, la densità di allevamento e la tipologia di substrato (Tsadik e Bart, 2007; Mylonas *et al.*, 2010; Oca e Masalo, 2013).

È stato ampiamente dimostrato che lo stress indotto da manipolazioni frequenti per ottenere l'emissione di gameti, può influire negativamente sulle performance dei riproduttori e condurli a morte (Campbell *et al.*, 1992; Bromage, 1995; Brooks *et al.*, 1997; Schreck *et al.*, 2001).

In particolare, in acquacoltura, la manipolazione dei riproduttori e delle uova può determinare il deterioramento della qualità delle uova (Hilomen-Garcia, 1998; Kjorsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997; Mylonas *et al.*, 2004) e, nel caso di specie che non depongono spontaneamente, è difficile determinare il periodo di latenza ottimale per la raccolta dei gameti.

Le buone condizioni ambientali che sono state create in vasca di riproduzione sono evidenziate anche dal fatto che non sono stati osservati comportamenti aggressivi e/o stressori rilevanti. Gli animali hanno interagito fra di loro e con l'operatore manifestando un'ampia serie di *patterns*. Inoltre, tutti gli esemplari sono giunti a maturazione sessuale e si sono riprodotti. A conferma di ciò, Iglesias *et al.* (2007) affermano che quando i riproduttori vengono mantenuti in cattività in condizioni idonee, il 100% delle femmine riesce a maturare e a deporre i classici grappoli ovarici. L'alimento è risultato ben accetto da parte di tutti gli esemplari sia vivo che congelato e con quantità sempre crescenti all'aumentare del termo-fotoperiodo.

Per quanto riguarda l'accrescimento degli esemplari alimentati con due diete differenti, i risultati migliori sono stati ottenuti nel gruppo C alimentato con crostacei. Le femmine P hanno raggiunto un peso medio al momento dell'intanamento di $3061,5 \pm 915,9$ gr, mentre quelle del gruppo C sono arrivate a $3856,7 \pm 380,8$ gr di peso (Fig. 3.10). Le femmine P tra la 1° e la 5° settimana hanno avuto un incremento ponderale basso, appena $261,4 \pm 245,6$ gr, poi nel corso delle settimane successive hanno iniziato ad accrescersi con picchi di crescita di $711,9 \pm 444,3$ gr. alla 9° settimana e $955,2 \pm 467,8$ grammi alla 13° settimana, raggiungendo un peso medio superiore ai 3 Kg. Le femmine del gruppo C, invece, hanno avuto fin da subito una crescita elevata e regolare, superiore al gruppo P, raggiungendo già alla 5° settimana il peso di $1822,5 \pm 46,6$ gr. con un incremento di $761,1 \pm 119,4$ gr. Le femmine C hanno continuato ad alimentarsi ottenendo incrementi ponderali elevati ($1004,8 \pm 26,8$ gr. alla 9° sett.) e superiori alle femmine P, arrivando a raggiungere un peso medio di $3856,7 \pm 380,8$ gr. alla 14° settimana (Fig. 3.10).

Per quanto riguarda i maschi invece, quelli alimentati con crostacei hanno avuto una crescita e degli incrementi ponderali sempre superiori a quelli alimentati con pesce; alla 13° settimana i maschi C sono arrivati ad un peso medio di circa $3464,6 \pm 234,2$ gr con incrementi medi di $841,9 \pm 194,8$ gr, mentre i maschi P hanno raggiunto nello stesso periodo un peso di $3037,5 \pm 322,7$ gr, con incrementi medi di $696,1 \pm 140,6$ gr (Fig. 3.11). Cagnetta e Sublimi (2000) hanno osservato come i tassi di accrescimento dei polpi

alimentati con diete naturali possono variare ampiamente in funzione delle specie utilizzate come cibo mettendo in evidenza l'importanza dei crostacei nell'alimentazione in natura di questi cefalopodi. Nigmatullin e Ostapenko (1976) e Guerra (1978), hanno osservato che negli esemplari selvatici di *Octopus vulgaris*, la dieta è composta dal 62–80% da granchi, mentre il pesce può rappresentare solo il 12–30%. Parimenti anche in condizioni controllate il polpo mostra una preferenza per i crostacei piuttosto che per i pesci (Guerra, 1978).

In cattività il miglior tasso di crescita e di sopravvivenza è stato ottenuto usando diete composte interamente da crostacei o comunque quando questi rappresentavano una parte importante nelle diete miste (Garcia e Gimenez, 2002). Anche Garcia e Valverde (2006) hanno ottenuto risultati positivi con diete basate in gran parte di granchi (*Carcinus mediterraneus*).

Inoltre, molti ricercatori hanno messo in evidenza l'importanza della componente lipidica sull'accrescimento dei polpi. Garcia e Gimenez (2002) hanno ottenuto risultati migliori sulla crescita e sull'indice di conversione alimentare in polpi che si nutrivano di boga (*Boops boops*) (6% lipidi) rispetto a quelli che si nutrivano di sarda (*Sardina pilchardus*) (20% lipidi). Anche Petza *et al.* (2006), hanno ottenuto accrescimenti insoddisfacenti utilizzando come alimento acciughe (*Engraulis encrasicolus*).

La dieta P, utilizzata nella nostra sperimentazione, era caratterizzata dalla presenza di pesce azzurro (*T.trachurus*) e da boga, specie caratterizzata da un discreto contenuto lipidico e questo può aver influito negativamente sull'accrescimento degli animali. Inoltre, la digeribilità lipidica è bassa nei cefalopodi (O'Dor *et al.*, 1984; Lee, 1994), poiché la loro capacità di metabolizzarli è limitata (Mommsen e Hochachka, 1981). Tuttavia, alcuni cefalopodi immagazzinano quantità significative di lipidi nella ghiandola digestiva che possono essere metabolizzati in situazioni di digiuno (Castro e Lee, 1994). Cerezo Valverde *et al.* (2008), suggeriscono che anche la componente minerale nella dieta in crostacei può favorire l'accrescimento e lo stato di salute dei polpi. Ghiretti e Violante (1964), hanno collegato la crescita del polpo con il contenuto in rame delle prede naturali. Il rame è necessario per la sintesi dell'emocianina, il pigmento che trasporta l'ossigeno nel sangue dei cefalopodi e dei crostacei. Sembra quindi che il polpo abbia bisogno di un certo livello di questo elemento e che i crostacei siano una buona fonte, mentre i pesci, che contengono ferro nella loro emoglobina, non forniscono i livelli minimi necessari. Per quanto riguarda la riproduzione le femmine P alla 13^o settimana, e le femmine C alla 14^o settimana, dopo ripetuti accoppiamenti e

l'allontanamento dei maschi dall'impianto di riproduzione, hanno cominciato ad intanarsi, cessando di alimentarsi per dedicarsi alla deposizione e cure parentali dei grappoli ovarici. Questo periodo, è durato in media 8 settimane, per terminare alla 21° e 22° settimana rispettivamente per le femmine P e C. A fine schiusa paralarvale gli animali erano notevolmente dimagriti; le femmine C hanno perso circa 1 Kg di peso arrivando a $2856,1 \pm 119,9$ gr, mentre le femmine P sono dimagrite di 800 gr arrivando a

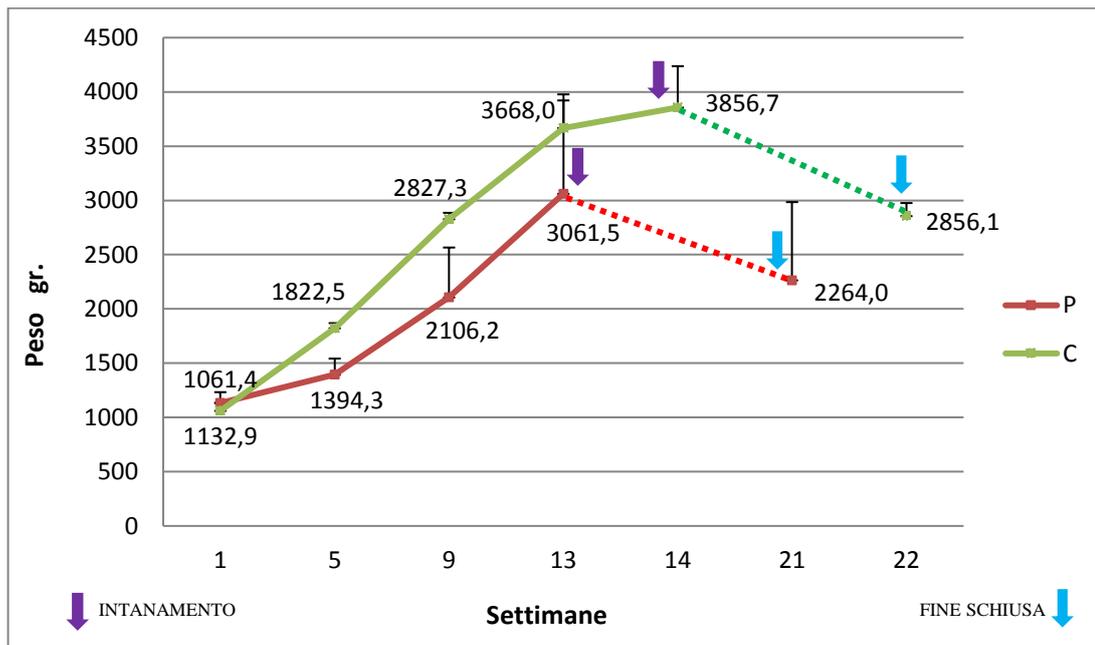


Figura 3.10 Accrescimento degli esemplari femminili

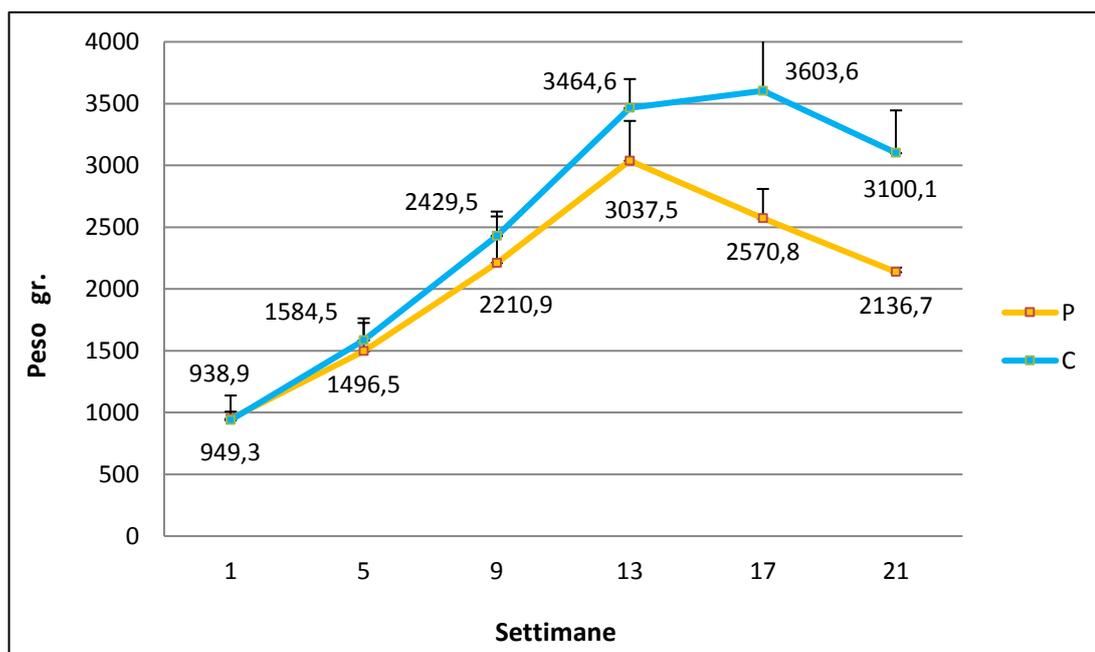


Figura 3.11 Accrescimento degli esemplari maschili

2264,0±720,8 gr (Fig. 3.10). In termini percentuali il calo ponderale è pressoché identico, con valori del 26% per il gruppo P e 25,9% per quello C. Questi valori sono in linea con quanto riscontrato da Iglesias *et al.* (1996) dove una femmina, dopo il periodo di schiusa, può perdere il 30% del proprio peso corporeo.

Per quanto riguarda i maschi, dopo la 13° settimana i soggetti P, in linea con il comportamento delle femmine e la fine degli accoppiamenti, hanno cessato l'attività alimentare perdendo peso e arrivando alla 21° settimana a pesare poco più di 2 Kg con un calo ponderale del 29,65%. I maschi C invece, hanno continuato ad alimentarsi sporadicamente fino alla 17° settimana, con un incremento ponderale di 139±654,2 gr, poi hanno smesso del tutto di nutrirsi, arrivando a pesare alla 21° settimana poco più di 3 Kg, con un calo ponderale del 14%, quasi la metà di quello registrato dai soggetti P (Fig. 3.11).

Alcuni autori hanno osservato che i maschi raggiungono un peso corporeo più elevato rispetto alle femmine (Mangold, 1983; Forsythe e Van Heukelem, 1987; Sánchez *et al.*, 1998) in quanto quest'ultime, a differenza dei soggetti di sesso maschile, sfruttano l'energia a disposizione maggiormente verso la maturazione gonadica rispetto alla crescita somatica (O'Dor e Wells, 1978) e diminuendo la loro attività trofica (Mangold e Von Boletzky, 1973). Tuttavia nel nostro studio i risultati contrastano con quanto osservato da questi ricercatori poiché è stata riscontrata una maggiore crescita degli esemplari femminili all'interno del gruppo C ed un peso pressoché uguale tra gli esemplari del gruppo P. Prendendo come riferimento la 13° settimana, prima che le femmine si intanassero, i maschi del gruppo P pesavano 3037,5±322,7 gr contro i 3061,5±915,9 gr delle femmine, mentre i maschi C erano arrivati a pesare 3464,6±234,2 gr contro 3668±253,4 gr delle femmine. In linea generale, nella nostra sperimentazione, il sesso sembra aver avuto un'influenza del tutto marginale sul tasso di crescita degli animali (Fig. 3.10 e 3.11).

Andando ad analizzare le performance riproduttive degli esemplari P e C si può notare come ci siano state differenze significative sulla quantità dei grappoli ovarici. Infatti, nel gruppo P sono stati depositi un numero significativamente inferiore di grappoli (97±63,8 grappoli per un totale di 5,48±3,1 m) rispetto al gruppo C (304±67,1 grappoli per un totale di 23,1±4,2 m) (Tab. 1). La differente produzione di grappoli è confermata statisticamente dal rapporto n°/Kg, dove l'alimentazione con crostacei ha contribuito nella deposizione di una maggior quantità di grappoli per Kg p.v. nel gruppo C, (77,5±5,9) rispetto a quella del gruppo P (29,1±15,6) grappoli (Tab. 1). In particolare,

nel gruppo P, l'esemplare P5 ha deposto il maggior numero di grappoli (142) per una lunghezza totale di quasi 8 metri, mentre il P1 è stato quello ad averne deposti di meno (24) per una lunghezza di 2 metri (Tab. 1).

Nel gruppo C al contrario, il numero inferiore di grappoli deposti è stato di 252 da parte del C2, con una lunghezza di 20 metri. L'esemplare C3, dal peso maggiore, è stato quello ad averne deposti il maggior numero, con 380 grappoli ed una lunghezza complessiva di quasi 28 metri (Tab. 1). Per quanto riguarda la lunghezza media di ciascun grappolo le differenze registrate fra i polpi C ($7,2\pm 1,97$ cm) ed i polpi P ($8,26\pm 2,41$ cm) non sono risultate statisticamente significative (Tab. 1).

Tabella 1 Performance riproduttive degli esemplari di *Octopus vulgaris*

FEMMINE			GRAPPOLI			
Gruppo	Peso Intanamento (gr)		N°	N°/Kg	Lunghezza Totale (m)	Lunghezza media (cm)
P1	2120,6		24	11,3	2,05	$8,26\pm 2,41$
P3	3113,7		125	40,1	6,45	$8,05\pm 2,11$
P5	3950,9		142	35,9	7,94	$8,11\pm 2,23$
MEDIA	3061,7±915,9		97±63,8	29,1±15,6	5,48±3,1	8,14±2,25
C3	4234,1		380	84,1	27,92	$7,32\pm 1,97$
C5	3472,2		252	75,6	20,10	$6,64\pm 1,91$
C7	3863,5		281	72,7	21,23	$6,74\pm 1,87$
MEDIA	3856,7±380,8		304±67,1	77,5±5,9*	23,1±4,2	6,9±1,91
UOVA			PARALARVE			
	N° Totale	N°/Kg p.v	N°	N°/Kg p.v	% Schiusa	
P1	21811	10300	21.616	10200	99,1	
P3	84123	27000	80.124	25740	95,2	
P5	100793	25500	92.258	23350	91,5	
M	68.909±41.631	20.933±9.239,2	64.666±37.772,8	19.763±8.367,9	95,3±3,8	
C3	604.376	133700	601.584	133100	99,5	
C5	377.027	108600	373610	107600	99,1	
C7	409.236	106000	407.113	105400	99,5	
M	463.546±123.020,7	116.100±15.297,4*	460.769±123.094,5	115.367±15.396,9*	99,4±0,2	

* Differenza significativa per $p < 0,01$

Per quanto riguarda la produzione totale di uova, le femmine del gruppo C ne hanno deposto $463.546 \pm 123.020,7$ contro i 68.909 ± 41.631 del gruppo P. Anche la quantità di uova/Kg p.v. è stata statisticamente più elevata nei polpi C (116.100 ± 15.297 uova/Kg p.v.) rispetto ai polpi P (20.933 ± 9.239 uova/Kg p.v.) (Tab. 1). Analizzando i singoli animali, l'esemplare P1 ha prodotto meno uova rispetto a tutti gli altri, ossia 21.811, mentre la maggior produzione è stata ottenuta dall'esemplare C3, con 604.376 uova (Fig. 3.12). Questi valori sono del tutto sovrapponibili ad una produzione di uova in natura come osservato da Mangold (1983), che ha registrato deposizioni di oltre 500.000 uova/femmina. Parimenti, per quanto riguarda la fecondità relativa, le femmine C sono risultate statisticamente più produttive ($116.100 \pm 15.297,4$) rispetto alle femmine P ($20.933 \pm 9.239,2$) (Tab. 1). In particolare, nel gruppo alimentato con crostacei la fecondità relativa è in linea con quella riscontrata da Iglesias *et al.* (1997).



Figura 3.12 Uova prodotte dal polpo C3

Per quanto riguarda la produzione di paralarve il gruppo C, alimentato con crostacei, ha ottenuto una produzione media più elevata, ($460.769 \pm 123.094,5$) rispetto alle femmine alimentate con pesce ($64.666 \pm 37.772,8$). Anche la quantità di paralarve/Kg p.v. è stata statisticamente più elevata nei polpi C ($115.367 \pm 15396,9$ paralarve/Kg p.v.) rispetto ai polpi P ($19.763 \pm 8367,9$ paralarve/Kg p.v.) (Tab. 1). La maggior produzione è stata accompagnata, di conseguenza, da un periodo di schiusa più lungo: per il gruppo C, il periodo di schiusa è durato mediamente 29 giorni, contro i 19 giorni del gruppo P (Fig. 3.14). All'interno del gruppo C, la maggior produzione è stata ottenuta dall'esemplare C3, con 601.584 paralarve e 31 giorni di schiusa. Questo esemplare è stato quello che in assoluto ha raggiunto le dimensioni maggiori, con un peso al momento dell'intanamento di 4,2 Kg. L'esemplare C7 con un peso di 3,8 Kg ha prodotto 407.113 paralarve in 30 giorni di schiusa, mentre il C5 ne ha ottenute 373.610 in 26 giorni di schiusa e con un peso all'intanamento di quasi 3,5 Kg (Tab. 1) (Fig. 3.14).

Per quanto riguarda invece il gruppo P, la maggior produzione è stata raggiunta dall'esemplare P5, con 92.258 paralarve in 21 giorni di schiusa (Fig. 3.14). Questo, pur essendo il secondo polpo di maggiori dimensioni con quasi 4 Kg raggiunti, ha ottenuto

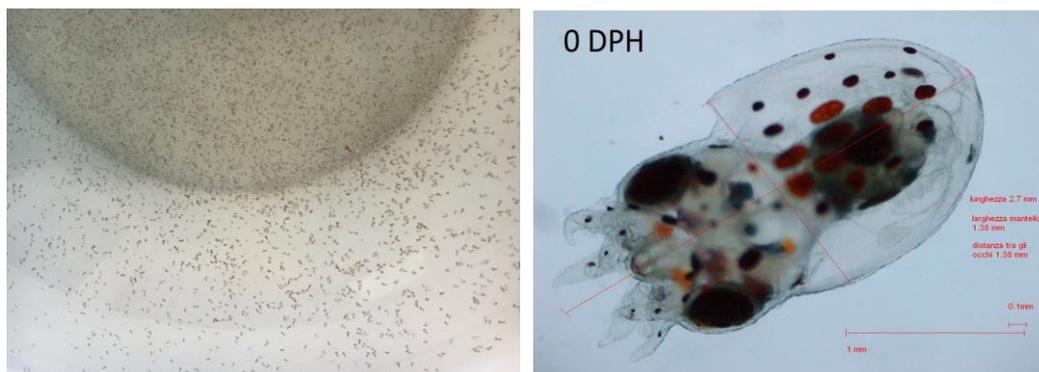


Figura 3.13 Paralarve in incubatoio e paralarva appena schiusa

un numero di paralarve di gran lunga più basso rispetto agli esemplari più piccoli del gruppo C (Fig. 3.13). L'esemplare P3 dal peso di 3,1 Kg, pur avendo un periodo di schiusa leggermente più lungo, 24 giorni, ha prodotto 80.124 paralarve, mentre il P1 è stato l'esemplare che in assoluto ha avuto le performance più basse, in termini di peso, produzione di paralarve e giorni di schiusa, rispettivamente con 2,1 Kg di peso, 21.616 nascite e 12 giorni (Tab. 1) (Fig. 3.14).

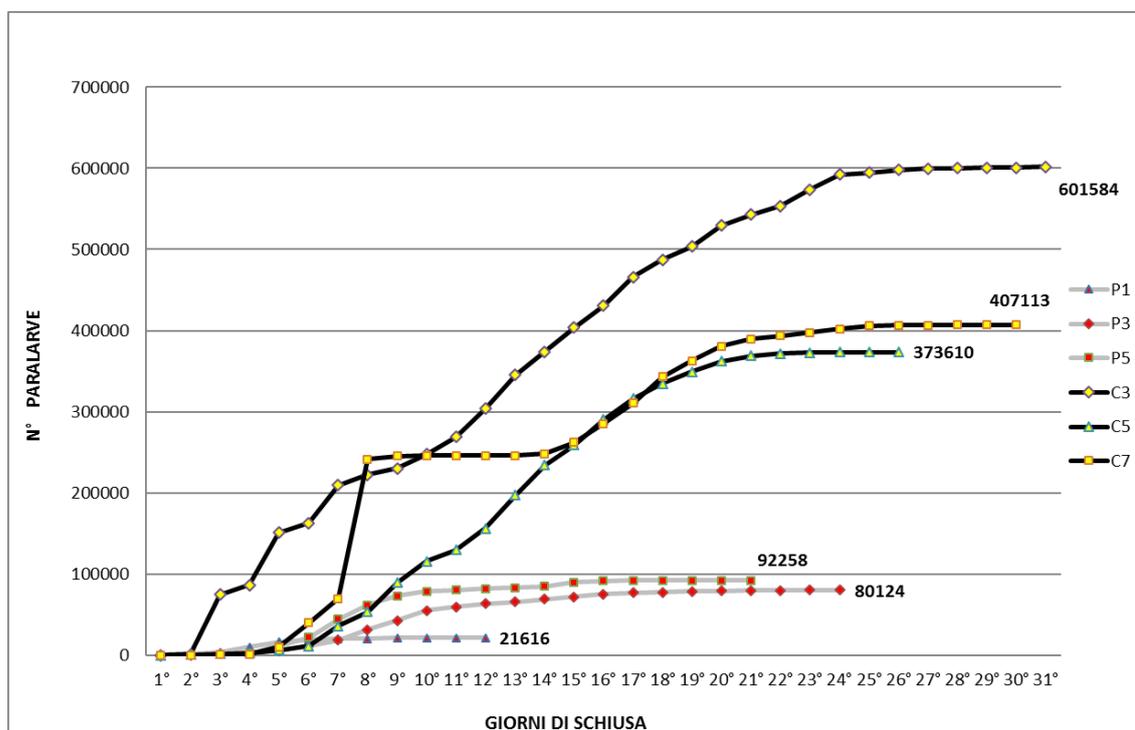


Figura 3.14 Schiusa totale delle paralarve

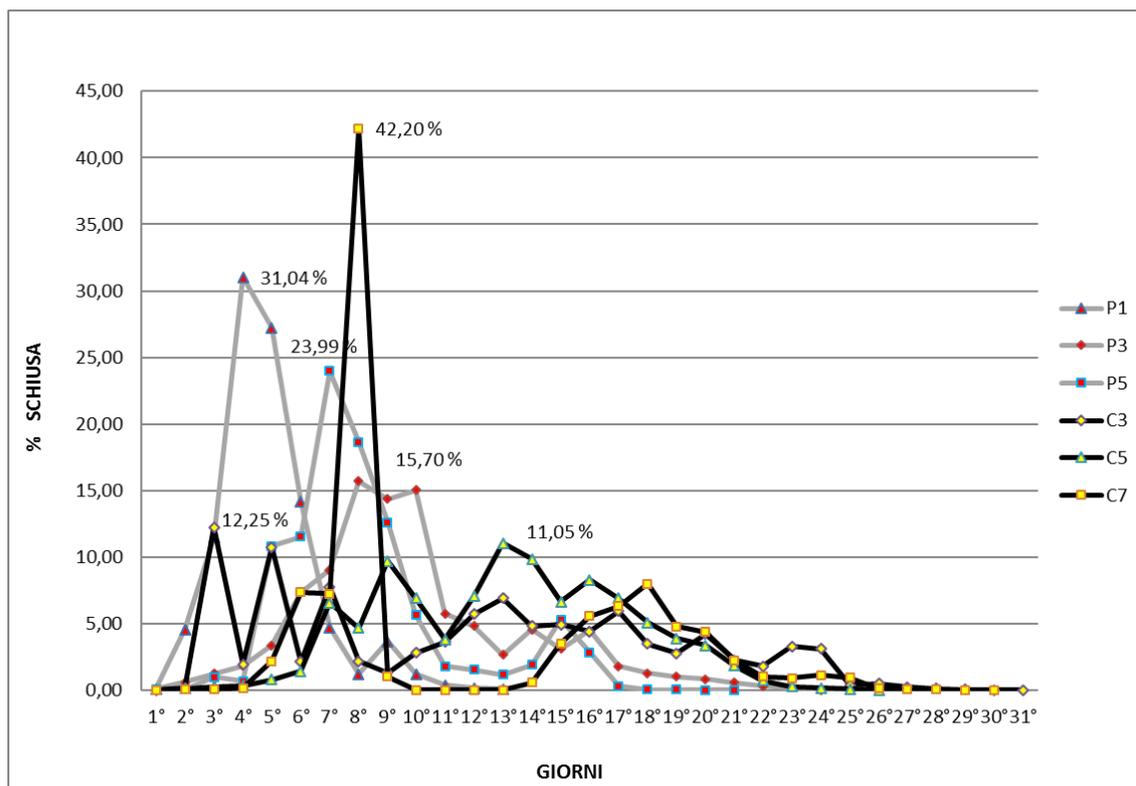


Figura 3.15 Schiusa giornaliera delle paralarve

Nonostante il numero esiguo di soggetti testati i risultati ottenuti confermano l'influenza della dieta alimentare sulle performance riproduttive e la necessità della presenza di crostacei nell'alimentazione di questi cefalopodi.

La percentuale di schiusa è stata elevatissima per entrambi i gruppi, con valori medi del 95,3% per il gruppo P e addirittura del 99,4% per quello C (Tab. 1).

Il gruppo P, pur avendo una produzione di paralarve molto più bassa ha avuto una percentuale media di schiusa giornaliera superiore rispetto al gruppo C (5,54% P - 3,47% C) giustificato dal fatto che il periodo di schiusa è risultato più breve. Nel gruppo C il picco produttivo è stato raggiunto dall'esemplare C7 all'8° giorno di schiusa, con il 42,20% della produzione totale, corrispondente a 171.807 paralarve (Fig. 3.15). È interessante far notare, che nei giorni seguenti (10°– 13° giorno) non ha schiuso nessuna paralarva, come se la femmina durante la deposizione delle uova avesse avuto una pausa di alcuni giorni. Dal 14° giorno in poi hanno ripreso le schiuse, con un secondo picco produttivo al 18° giorno, corrispondenti a 32.500 paralarve (8% del totale).

Nel gruppo P invece, il livello di schiusa più elevato è stato ottenuto dall'esemplare P1 al 4° giorno (31,04 % della produzione) (Fig. 3.15) con una produzione di 6.709 paralarve.

In linea generale, le 6 femmine riprodotte hanno manifestato differenze significative sulle quantità di uova prodotte espressa da un più elevato numero di grappoli prodotti dai polpi C e di conseguenza di paralarve (non da una maggiore lunghezza dei grappoli), favorito probabilmente da una alimentazione a base di crostacei. Altri aspetti riguardanti la percentuale e la modalità (distribuzione e tempistica) di schiusa sembrano non essere influenzati dal tipo di alimento somministrato. Parimenti le paralarve ottenute sia dei polpi C che dai polpi P hanno evidenziato una elevata vitalità che si è prolungata per diversi giorni anche a condizioni di digiuno.

Questi risultati sembrano non essere in linea con recenti studi dove hanno dimostrato che la dieta materna può influenzare lo sviluppo embrionale delle uova influenzandone le caratteristiche biologiche (Marquez *et al.*, 2013). Una serie di fattori come la dieta dei riproduttori, la genetica, e l'età della femmina possono influenzare la qualità della deposizione (Izquierdo *et al.*, 2001; Politis *et al.*, 2014; Tocher, 2003). In particolare, la dieta dei riproduttori potrebbe essere una delle più importanti, in quanto fornisce i nutrienti necessari da utilizzare durante lo sviluppo embrionale dei pesci e delle paralarve. (Almansa *et al.*, 1999; Bobe e Labbé, 2010; Fernández-Palacios *et al.*, 1997; Furuita *et al.*, 2000, 2002; Izquierdo *et al.*, 2001; Watanabe e Vasallo-Agius, 2003).

3.4 CONCLUSIONI

L'impianto di riproduzione testato all'interno di questo studio ha presentato tutti i requisiti necessari per indurre l'accoppiamento e consentire la riproduzione spontanea in cattività di *Octopus vulgaris*. Le condizioni idrodinamiche dell'impianto ed il flusso d'acqua adottato non hanno ostacolato le attività riproduttive degli esemplari, hanno favorito il trasferimento spontaneo delle paralarve nelle camere di incubazione evitando qualsiasi tipo di manipolazione e fenomeni di stress meccanici, agevolandone il mantenimento in sospensione attraverso il flusso circolare dell'acqua.

Per quanto riguarda l'impiego delle due diete differenti, prevalentemente a base di crostacei (C) e di pesce (P), i tassi di accrescimento migliori per i riproduttori, sono stati ottenuti con la dieta C. La dieta materna a base di crostacei ha inoltre avuto effetti positivi sulle performance riproduttive, soprattutto in termini di quantità di uova prodotte (maggiore numero di grappoli ovarici) e di conseguenza di paralarve ottenute.

BIBLIOGRAFIA

- Almansa, E., Pérez, M.J., Cejas, J.R., Badía, P., Villamandos, J.R., Lorenzo, A. 1999. Influence of broodstock Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture* 170, 323-336.
- Angius, V., Canavate, J.P. 2005. Spawning of captive Senegal sole (*Solea senegalensis*) under a naturally fluctuating temperature regime. *Aquaculture* 243, 133-145.
- Bobe, J., Labbé, C. 2010. Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 535-548.
- Bromage, N.R. 1995. Broodstock management and seed quality – general consideration. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science, Oxford, pp. 1-24.
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Fish Biology and Fisheries* 7, 387-416.
- Cagnetta, P., Sublimi, A. 2000. Productive performance of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. Recent advances in mediterranean aquaculture finfish species diversification. *Cah. Opt. Medit.* 47, 331-336.
- Campbell, P.M., Pottinger, T.G., Sumpter, J.P. 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction* 47, 1140-1150.
- Carrillo, M., Zanui, S., Prat, F., Cerda, J., Ramos, J., Mananos, E., Bromage, N. 1995. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science, Oxford, pp. 138-168.

- Castro, B.G., Lee, P.G. 1994. The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L (Mollusca: Cephalopoda). *Comparative Biochemistry & Physiology* 109A, 1007-1016.
- Cerezo-Valverde, J., Hernández, M., Aguado-Giménez, F., García, G.B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275, 266-273.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M., Montero, D. 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 148, 233-246.
- Fiorito, G., Affuso, A., Basil, J., Cole, A., De Girolamo, P., D'Angelo, L., Dickel, L., Gestal, C., Grasso, F., Kuba, M., Mark, F., Melillo, D., Osorio, D., Perkins, K., Ponte, G., Shashar, N., Smith, D., Smith, J., Andrews, P. 2015. Guidelines for the Care and welfare of Cephalopods in research. A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group, Laboratory Animals, Vol. 49(S2) 1-90.
- Forsythe, J. W., Van Heukelem, W. F. 1987. Growth. Pages 135–156 in P. R. Boyle and G. J. Pierce, editors. Cephalopod life cycles. Comparative reviews, Volume 2.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Shiraishi, M., Takeuchi, T. 2000. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187, 387-398.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Suzuki, N., Takeuchi, T. 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 210, 323-333.
- García, G.B., Giménez, A.F. 2002. Influence of diet on ongrowing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211, 173-184.
- García, G.B., Valverde, C.J. 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) ongrowing. *Aquaculture* 253, 502-511.

Ghiretti, F., Violante, V. 1964. Ricerche sul metabolismo del rame in *Octopus vulgaris*. *Bolletino di Zoologia Torino* 31, 1081-1092.

Guerra, A. 1978. Sobre la alimentaci3n y el comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Investig. Pesq.* 42, 351-364.

Hilomen-Garcia, G.V. 1998. Sensitivity of fertilized milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) eggs to mechanical shock and simulated transport. *Aquaculture* 159, 239-247.

Iglesias, J., S3nchez, F.J., Otero, J.J. 1996. The octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier): a candidate for aquaculture? International Council for the Exploration of the Sea. Council Meeting. ICES 1996/F:10. Mariculture Committee.

Iglesias, J., S3nchez, F.J., Otero, J.J. 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier) en el I.E.O. In: Costa, J., Abell3n, E., Garc3a, B., Ortega, A., Zamora, S. (Eds.), *Actas del VI C. Nacional de Acuicultura*. Cartagena 1997. ISBN: 84-491-0323-1, pp. 221-226.

Iglesias, J., Fuentes, L., Villanueva, R. 2014. *Octopus vulgaris*. Paralarval Culture, Ch. 23, in *Cephalopod Culture* (Jos3 Iglesias, Lidia Fuentes, Roger Villanueva). Springer, New York, pp. 427-450.

Iglesias, J., Sanchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C. 2000. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*): present knowledge, problems and perspectives. In Seminar of the Centre International des Hautes 3tudes Agronomiques M3diterran3ennes, Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean on "Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification". *Cahiers Options M3diterran3ennes* 47, 313-322.

Iglesias, J., Sanchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Munoz, J.L., Okumura, S., Roo, J., Van der Meeren, T., Vidal, E.A.G., Villanueva, R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266, 1-15.

Izquierdo, M., Fernández-Palacios, H., Tacon, A. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42.

Kelley, C.D., Tamaru, C.C., Lee, C.S., Moriwake, A., Miyamoto, G. 1991. Effects of photoperiod and temperature on the ovarian cycle of the striped mullet, *Mugilcephalus*. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds.), *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Fish Symp'91*. Sheffield, pp. 142-144.

Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. *Advances Marine Biology* 26, 71-113.

Lee, P.G. 1994. Nutrition of cephalopods: fuelling the system. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 25(1-3), 35-51.

Mangold, K. 1983. Food, feeding and growth in cephalopods. *Mem. Natl. Mus. Vic.* 44, 81-93.

Mangold, K., Boletzky, S.V. 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Marine Biology* 19, 7-12.

Màrquez, L., Quintana, D., Lorenzo, A., Almansa, E. 2013. Biometrical relationships in developing eggs and neonates of *Octopus vulgaris* in relation to parental diet. *Helgol. Mar. Res.* 67, 461-470.

Mommsen, T.P., Hochachka, P.W. 1981. Respiratory and enzymatic properties of squid heart mitochondria. *Eur. J. Biochem.* 120, 345-350.

Mordenti, O., Casalini, A., Mandelli, M., Di Biase, A. 2014. A closed recirculating aquaculture system for artificial seed production of the European eel (*Anguilla anguilla*): Technology development for spontaneous spawning and eggs incubation, *Aquaculture Engineering*, 58, 88-94.

- Mylonas, C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165, 516-534.
- Mylonas, C.C., Papadaki, M., Pavlidis, M., Divanach, P. 2004. Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons. *Aquaculture* 232, 637-649.
- Navarro, J.C., Villanueva, R. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613-631.
- Nigmatullin, Ch.M., Ostapenko, A.A. 1976. Feeding of *Octopus vulgaris* from the North West African coast. ICES C.M. 1976/K 6, 1-15.
- Oca, J., Masalo, I. 2013. Flow pattern in aquaculture circular tanks: influence of flowrate, water depth and water inlet & outlet features. *Aquacultural Engineering* 52, 65-72.
- O'Dor, R.K., Wells, M.J. 1978. Reproduction versus somatic growth: hormonal control in *Octopus vulgaris*. *Journal of Experimental Biology* 77, 529-540.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J., Wells, J. 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behaviour and Physiology* 11, 239-258.
- Okamura, A., Yamada, Y., Mikawa, N., Horie, N., Utoh, T., Kaneko, T., Tanaka, S., Tsukamoto, K. 2009. Growth and survival of eel leptocephali (*Anguilla japonica*) in low-salinity water. *Aquaculture* 296, 367-372.
- Petza, D., Katsanevakis, S., Verriopoulos, G. 2006. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed ad libitum on a high-lipid diet. *Mar. Biol.* 148, 827-832.

Politis, S.N., Dahlke, F.T., Butts, L.A.E., Peck, M.A., Trippel, E.A. 2014. Temperature, paternity and asynchronous hatching influence early development characteristics of larval Atlantic cod, *Gadus morhua*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 459, 70-79.

Sánchez, F.J., Iglesias, J., Moxica, C., Otero, J.J. 1998. Growth of octopus (*Octopus vulgaris*) males and females under culture conditions. ICES CM 1998/M:47.

Schreck, C.B., Contreras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M.S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* 197, 3-24.

Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fisher Sci.* 11, 107-184.

Tsadik, G.G., Bart, A.N., 2007. Effects of feeding, stocking density and water-flow rate on fecundity, spawning frequency and egg quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 272, 380-388.

Watanabe, T., Vasallo-Agius, R. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227(1-4), 35-61.

CAPITOLO IV

SOPRAVVIVENZA DI PARALARVE DI

Octopus vulgaris:

TEST DI ALIMENTAZIONE

4.1 INTRODUZIONE

Octopus vulgaris è uno dei cefalopodi più noti e studiati al mondo. Ci sono studi completi sulla sua biologia, fisiologia, comportamento, riproduzione e crescita. (Wells, 1978; Mangold, 1983; O'Dor e Wells, 1987; Portner *et al.*, 1994; Hanlon e Messenger, 1996; Vaz-Pires *et al.*, 2004).

Il polpo è stato indicato come una nuova specie per la diversificazione dell'acquacoltura grazie al suo ciclo di vita breve, la rapida crescita e l'alto indice di conversione alimentare (Vaz-Pires *et al.*, 2004). Tuttavia, la sopravvivenza dello stadio planctonico rimane il collo di bottiglia principale nell'allevamento di questa specie, a causa degli alti tassi di mortalità che si verificano durante questa fase della vita (Iglesias *et al.*, 2007; Villanueva e Norman, 2008).

Similarmente a quanto è stato segnalato per altre specie di cefalopodi (ad es. seppia, Sykes *et al.*, 2006), la scelta di una particolare dieta che soddisfi i requisiti nutrizionali delle paralarve, sarà il fattore chiave per superare il problema dell'allevamento del polpo durante questo stadio (Iglesias *et al.*, 2007).

In Giappone, Itami *et al.* (1963) furono pionieri nell'allevamento di paralarve di *O. vulgaris*, riuscendo ad ottenere degli esemplari bentonici e dimostrando il potenziale e la fattibilità della produzione in massa del polpo.

Fu anche durante gli anni '90 che i ricercatori spagnoli avviarono gli studi sull'allevamento di *O. vulgaris*, concentrandosi sia sull'allevamento paralarvale sia sulla crescita di individui sub-adulti catturati in natura.

Secondo Roura *et al.* (2012) la paralarva planctonica può predare più di 12 famiglie diverse di crostacei, pertanto alcune specie di questi vengono utilizzati come alimento per l'allevamento delle paralarve di *O. vulgaris* (Itami *et al.*, 1963; Villanueva, 1994, 1995; Moxica *et al.*, 2002; Carrasco *et al.*, 2006; Iglesias *et al.*, 2013). Grazie ad un maggiore contenuto di importanti componenti nutrizionali come DHA, EPA e acido arachidonico (ARA) (Navarro e Villanueva 2000; Sargent *et al.*, 1999; Bell e Sargent, 2003; Helland *et al.*, 2003) negli ultimi anni è diventata una pratica comune associare all'artemia altre prede vive per migliorare la crescita e la sopravvivenza delle paralarve di polpo (Villanueva, 1995; Moxica *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 2004; Carrasco *et al.*, 2006).

Nonostante lo sforzo di ricerca intrapreso finora, l'allevamento di *O. vulgaris* è generalmente caratterizzato da alti tassi di mortalità e scarsa crescita durante la fase planctonica, che ostacolano l'intero ciclo di allevamento di questa specie.

L'obiettivo del presente studio è quello di eseguire alcuni test di alimentazione sulle paralarve di *Octopus vulgaris* al fine di individuare una dieta in grado di garantirne la sopravvivenza. Prima di dare avvio alle prove alimentari sono state, inoltre, individuate le condizioni ambientali più favorevoli alla vita delle paralarve.

4.2 MATERIALI E METODI

4.2.1 PRODUZIONE DELLE PARALARVE

Le paralarve sono state ottenute da riproduttori stabulati nel nuovo impianto di riproduzione predisposto *ad hoc* per questa specie (vedi capitolo 3) e sottoposti ad un condizionamento eco-fisiologico presso la Serra Ittiologica del Corso di Laurea in Acquacoltura e Igiene delle Produzioni Ittiche di Cesenatico (Fig. 4).

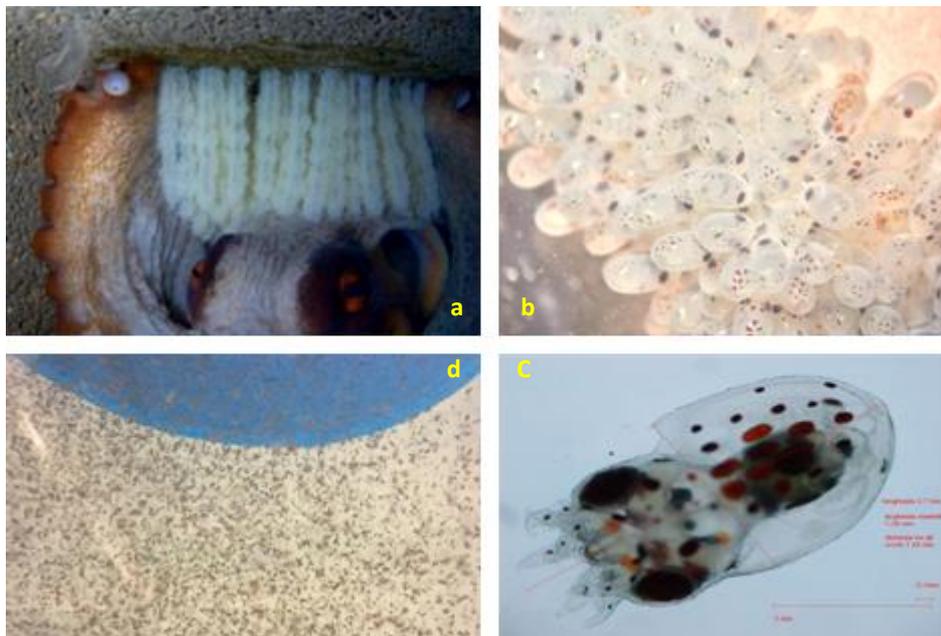


Figura 4 Grappoli ovarici (a); Sviluppo embrionale (b); Paralarva appena schiusa (c) ed in incubatoio (d)

4.2.2 DISEGNO SPERIMENTALE

Il disegno sperimentale prevede di individuare le condizioni ambientali ed alimentari più idonee al mantenimento delle paralarve. Più precisamente, lotti di paralarve della stessa produzione sono stati utilizzati per effettuare **3 prove**, consistenti nella valutazione della sopravvivenza delle paralarve attraverso:

I° PROVA: comparazione tra flusso circolare e flusso statico dell'acqua (triplicato);

II° PROVA: determinazione degli effetti di diverse densità di allevamento (triplicato);

III° PROVA: somministrazione di varie tipologie di alimenti (duplicato).

4.2.2.1 I° PROVA: *FLUSSO CIRCOLARE* – *FLUSSO STATICO*

Sono state utilizzate due tipologie di vasca aventi lo stesso volume d'acqua (18 litri). **FLUSSO CIRCOLARE:** vasca sferica di colore nero, munita sulla sommità di un tubo di mandata con bocchette che assicurano una costante circolazione rotatoria dell'acqua. I getti che fuoriescono dal tubo spingono l'acqua contro il setaccio a maglie (100×30 mm; 500 µm di diametro), che separa la camera di incubazione da quella di scarico. Il flusso dell'acqua è calibrato da una valvola regolabile, in modo da garantire un flusso idrico pari a 0,11 l/s. La vasca fa parte di un impianto dotato di 3 vasche gemelle, tutte collegate ad un gruppo tecnico per il trattamento delle acque a ciclo chiuso (Fig. 4.1).



Figura 4.1 Impianto con il flusso circolare

FLUSSO STATICO: vasca quadrata trasparente, dotata di un ingresso e scarico dell'acqua posti in alto, collegata ad un impianto a ricircolo per il controllo dei parametri chimico-fisici dell'acqua comprendente 8 vasche gemelle. Grazie a delle valvole in ingresso ed in uscita, è stato possibile mantenere un flusso statico nella vasca durante la prova. Una volta al giorno veniva garantito un ricambio del 50% per il mantenimento della qualità dell'acqua. Inoltre, è stata inserita una leggera aereazione centrale per assicurare un'omogenea distribuzione delle paralarve (Fig. 4.2).

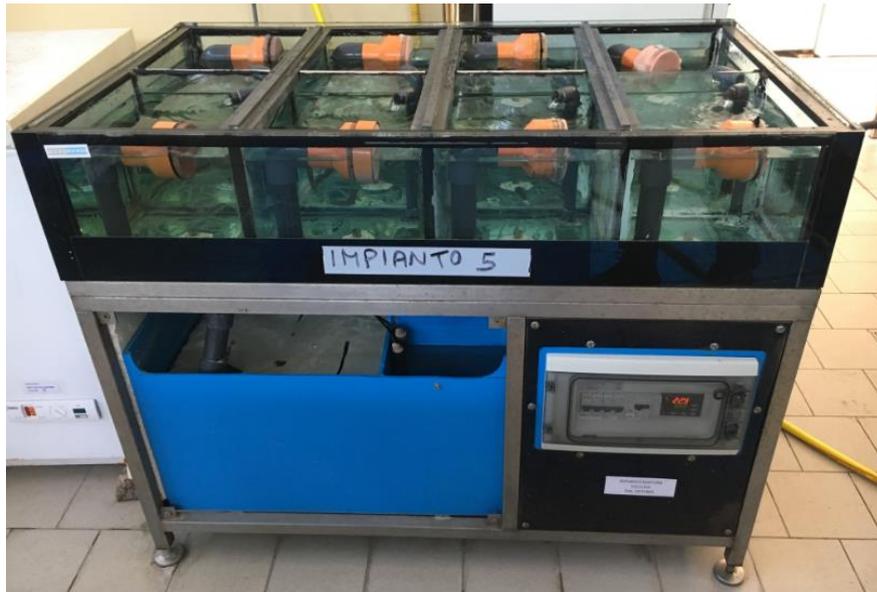


Figura 4.2 Impianto con il flusso statico

Per entrambe le vasche è stata mantenuta una temperatura dell'acqua di $20 \pm 1^\circ\text{C}$, salinità del 37‰, pH di 8.2 e fotoperiodo naturale. La prova ha avuto una durata di 10 giorni durante i quali le paralarve sono state tenute in condizioni di digiuno e con una densità di allevamento di **5 paralarve/litro**. Giornalmente è stata registrata la sopravvivenza mediante stima volumetrica (n° paralarve/1 litro d'acqua su 5 campioni).

4.2.2.2 II° PROVA: DENSITÀ DI ALLEVAMENTO

Sono state testate **3 densità di allevamento**:

- 5
 - 50
 - 250
- } **paralarve/litro**

Le prove sono state effettuate in un impianto a ricircolo dotato di 6 camere circolari identiche, del volume di 18 litri con sfondo di colore nero (Fig. 4.3). Il flusso dell'acqua era circolare e le paralarve sono state alimentate con nauplii di artemia a partire dal secondo giorno di allevamento. La prova ha avuto una



Figura 4.3 Impianto per la prova a diverse densità

durata di 10 giorni; inoltre i parametri ambientali e la determinazione della sopravvivenza sono stati mantenuti identici alla I° prova (flusso circolare-statico).

4.2.2.3 III° PROVA: ALIMENTAZIONE

Per i test di alimentazione sono state stabilite 3 diete:

- **AC** → nauplii di artemia + crostacei (*Palaemon sp.*) vivi e/o decongelati pescati;
- **K** → idrolizzato di gambero in polvere ACTIPAL HP1 – AQUATIV, France;
- **UP** → mix di uova di pesce di specie marine (congelate) ad uso commerciale.

La densità delle paralarve è stata determinata in **5 paralarve/litro**, con inizio dell'alimentazione dal 2° giorno di schiusa. Tutte le vasche sono state alimentate *ad libitum*. La sopravvivenza è stata determinata ogni 5 giorni. Per i test è stato utilizzato un impianto a circuito chiuso dotato di 3 coppie di vasche indipendenti con sfondo di colore nero. Ogni modulo è dotato di filtro meccanico, filtro biologico, gruppo



Figura 4.4 Impianto per i test di alimentazione

climatizzatore dell'acqua e lampada UV. La capacità di ogni vasca è di 18 litri. I parametri chimico-fisici dell'acqua sono stati: temperatura di $20\pm 1^\circ\text{C}$, salinità 37‰, pH 8.2, fotoperiodo naturale e composti azotati mantenuti nei *range* ottimali per la specie (Fig. 4.4).

4.2.3 ANALISI STATISTICA

Le sopravvivenze ottenute nelle 3 prove sperimentali sono state analizzate statisticamente eseguendo l'analisi della Varianza con SSP (Smith's statistical Package) e ponendo $P < 0.05$ come soglia per significatività statistica.

4.3 RISULTATI E DISCUSSIONI

▪ 4.3.1 FLUSSO

Per quanto riguarda la sopravvivenza delle paralarve sottoposte a condizioni di flusso diversificato, il risultato migliore è stato raggiunto nell'impianto che utilizzava il flusso circolare. In questa situazione sono stati raggiunti 9 giorni di allevamento con una sopravvivenza paralarvale del $7,23 \pm 1,23\%$ (Fig. 4.5) mentre, nell'impianto con flusso statico, è stata raggiunta una sopravvivenza massima del $5,09 \pm 1,58\%$ al 7° giorno post-schiusa (Fig. 4.5).

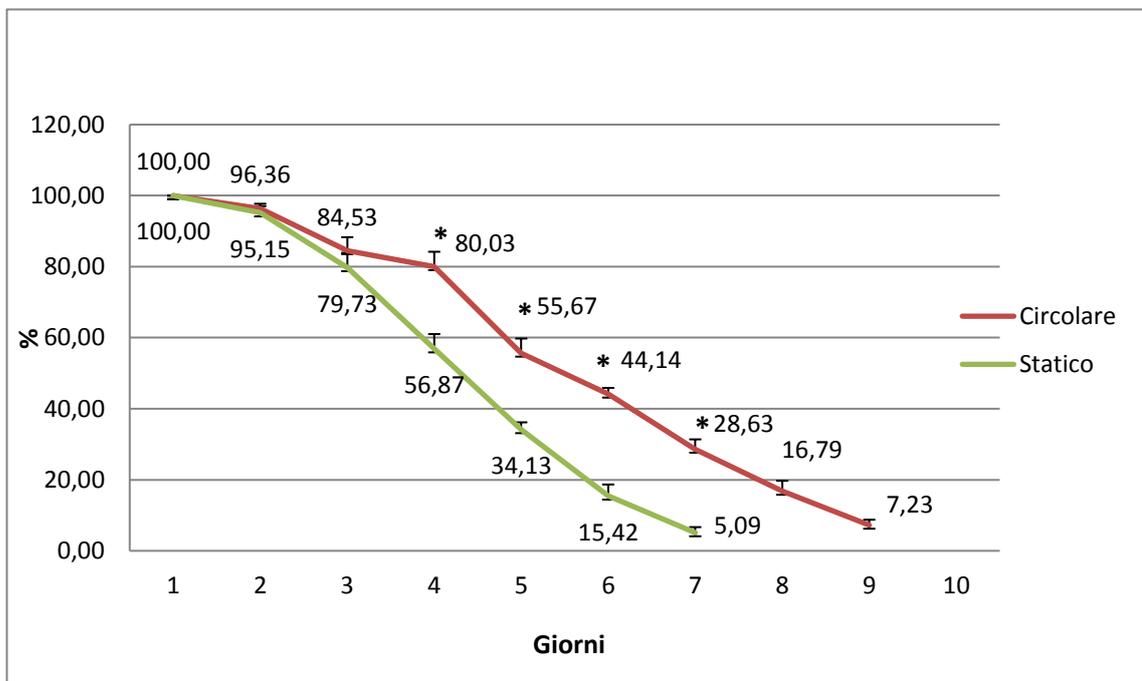


Figura 4.5 Sopravvivenza delle paralarve sottoposte a condizioni di flusso diversificato

* Differenza significativa per $p < 0,01$

Durante i primi 3 giorni di allevamento tra i due flussi, non sono state riscontrate differenze significative; infatti la curva di sopravvivenza mostra un andamento pressoché sovrapponibile, con l' $84,5 \pm 3,77\%$ e il $79,7 \pm 4,17\%$ di sopravvivenza al 3° giorno, rispettivamente per il flusso circolare e quello statico. Dal 3° giorno in poi, nell'impianto a flusso statico, la mortalità è cresciuta fino a raggiungere il 64,3% fra il 3° ed il 6° giorno (Fig. 4.5).

Per quanto riguarda il flusso circolare la sopravvivenza è risultata statisticamente superiore a quella del flusso statico a partire dal 4° giorno di prova. Dal 5° giorno è

stato registrato un aumento della mortalità che tuttavia è risultata più contenuta rispetto alle paralarve mantenute nel flusso statico (Fig. 4.5).

La migliore sopravvivenza osservata nelle paralarve a flusso circolare può essere attribuita alla movimentazione dell'acqua, che può avere favorito un minor dispendio energetico delle paralarve nel mantenere il proprio assetto nella colonna d'acqua. Inoltre, la scelta di adottare un ricambio idrico pari a 0,11 l/s è risultato idoneo al mantenimento delle paralarve in quanto ha evitato contatti con le pareti della vasca e le reti di scarico riducendo in tal modo il rischio di danni alla cute ed erosione delle braccia ed un aumento della mortalità delle paralarve (Vidal *et al.*, 2002).

Nella vasca con flusso statico viceversa, le paralarve sono state sottoposte ad un maggior sforzo energetico per muoversi nella colonna d'acqua che si è tradotto in una minor vitalità nel tempo. Peraltro, le paralarve nonostante la lieve aerazione, come suggerito da Iglesias *et al.* (1997), tendevano ad accumularsi negli angoli della vasca, aree solitamente caratterizzate da un minor tenore di ossigeno e col rischio di formazioni di sacche anossiche. Pertanto, aree con elevata densità possono provocare un aumento dello stress, fenomeni di cannibalismo ed incidere sulla sopravvivenza delle paralarve (Villanueva *et al.*, 1996). Inoltre, è fondamentale prevenire la produzione di piccole bolle d'aria che possono rimanere intrappolate nel mantello delle paralarve. Per ovviare a questo problema alcuni autori utilizzano particolari sistemi di distribuzione dell'acqua, come diffusori a goccia (Villanueva, 1995), diffusori superficiali e tangenziali (Vidal *et al.*, 2002), oppure una circolazione verticale dell'acqua dal fondo della vasca (Carrasco *et al.*, 2005).

Al momento, la bibliografia scientifica non suggerisce alcun modello impiantistico standardizzato, ed ogni *team* di ricerca usa volumi, colori e sistemi di circolazione differenti. Le combinazioni tra forma della vasca e volume, aerazione e posizione del flusso di ingresso dell'acqua, possono produrre una vasta gamma di configurazioni e idrodinamicità a cui sono esposte le paralarve durante l'allevamento (Iglesias *et al.*, 2007).

A nostro avviso l'utilizzo di vasche a flusso circolare sembra essere un modello vincente, in quanto consente una distribuzione omogenea delle paralarve nella colonna d'acqua ed evita qualsiasi tipo di collisione e fenomeni di stress.

▪ 4.3.2 DENSITÀ

In linea generale, fin dai primi giorni di sperimentazione, le paralarve mantenute a bassa densità (5/l) hanno fatto registrare una sopravvivenza statisticamente superiore alle paralarve mantenute a media intensità (50 par/l) (Fig. 4.6). Parimenti le paralarve mantenute a media densità hanno fatto registrare sopravvivenze statisticamente superiori alle paralarve mantenute ad elevata densità (250 par/l). Più precisamente nella prova a 5 par/l, la sopravvivenza è risultata molto alta fino al 6° giorno (89,80±4,20%) ed a fine prova oltre i 2/3 delle paralarve risultavano ancora vive (Fig. 4.6).

Le paralarve mantenute a media intensità hanno fatto registrare un picco di mortalità fra il 6° e l'8° giorno con una perdita di circa il 30% dei soggetti (dal 64,5% al 35,8%), mentre ad alta densità è stata registrata una mortalità di oltre il 30% (dal 61,9% al 29,5%) fra il 5° ed il 6° giorno (Fig. 4.6).

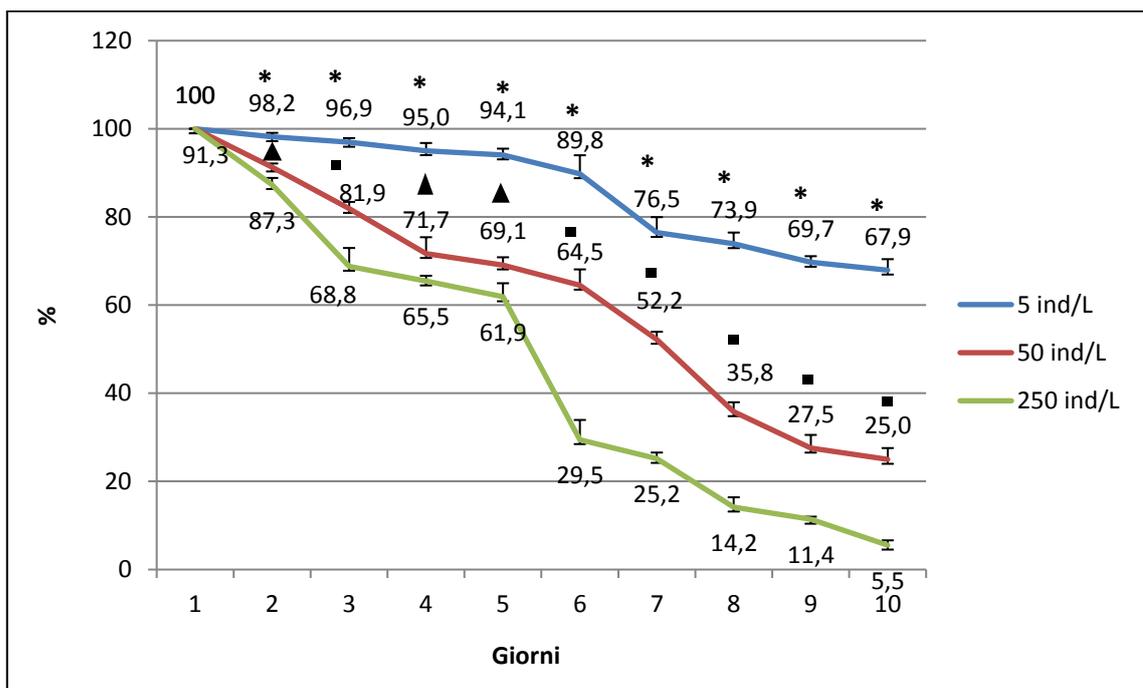


Figura 4.6 Sopravvivenza delle paralarve sottoposte a differenti densità di mantenimento

- * Differenza statistica ($p < 0,01$) fra 5-50 e 5-250 ind/L
- Differenza statistica ($p < 0,01$) fra 50-250 ind/L
- ▲ Differenza statistica ($p < 0,05$) fra 50-250 ind/L

I risultati ottenuti dimostrano che l'adozione in vasca di densità elevate (250 par/l), influenza in modo significativo la sopravvivenza delle paralarve. Come osservato da Vidal *et al.* (2002), anche nel nostro caso si può ipotizzare che in piccoli volumi, elevate densità possono generare maggiore stress da contatto con altri individui e danni da

sfregamento contro le pareti, provocando una mortalità più elevata. Inoltre, le sostanze paralizzanti che vengono rilasciate durante questi contatti potrebbero uccidere le paralarve colpite. Altri ricercatori hanno osservato che a parità di densità di allevamento, la percentuale di sopravvivenza risulta più alta in paralarve mantenute in grandi volumi. Questo potrebbe essere correlato alle variazioni di temperatura che sono più elevate nei piccoli volumi (De Wolf *et al.*, 2011).

A questo riguardo la densità intermedia (50 par/l) da noi utilizzata, ha prodotto una sopravvivenza del 25% al 10° giorno. Iglesias *et al.* (2007) a questa densità, ma con volumi maggiori (100 l) hanno ottenuto dall'11 – 27% di sopravvivenza fino al 30° giorno. Altri ricercatori hanno raggiunto un buon tasso di sopravvivenza in vasche da 500 a 1000 litri. Sánchez *et al.* (2010) affermano che la sopravvivenza e l'accrescimento sia strettamente legato al volume della vasca, ottenendo risultati migliori in vasche da 1000 litri.

Il tasso di sopravvivenza più alto raggiunto con la densità più bassa (5 par/litro) è risultato essere la condizione migliore di allevamento nella nostra prova e non sembra dipendere dalla quantità di alimento, essendo questo disponibile in abbondanza in tutte e tre le prove effettuate. Inoltre, questa densità è riconosciuta come presupposto di partenza per ottenere sopravvivenze elevate nell'allevamento delle paralarve di *O. vulgaris* (De Wolf *et al.*, 2011).

▪ 4.3.3 ALIMENTAZIONE

Durante le prove di alimentazione i risultati hanno evidenziato una sopravvivenza massima di 15 giorni per le paralarve alimentate con dieta UP (2,8% di paralarve sopravvissute), di 25 giorni per le paralarve K (3,9% di paralarve sopravvissute) e di 45 giorni per le paralarve AC (8,1% di paralarve sopravvissute) (Fig. 4.7).

Già a partire dal 5° giorno di alimentazione le 3 diete testate hanno evidenziato sopravvivenze statisticamente differenti. Più precisamente la dieta a base di crostacei e artemia (AC) è risultata statisticamente superiore alle diete K e UP, e la dieta K è risultata statisticamente superiore alla dieta UP (Fig. 4.7).

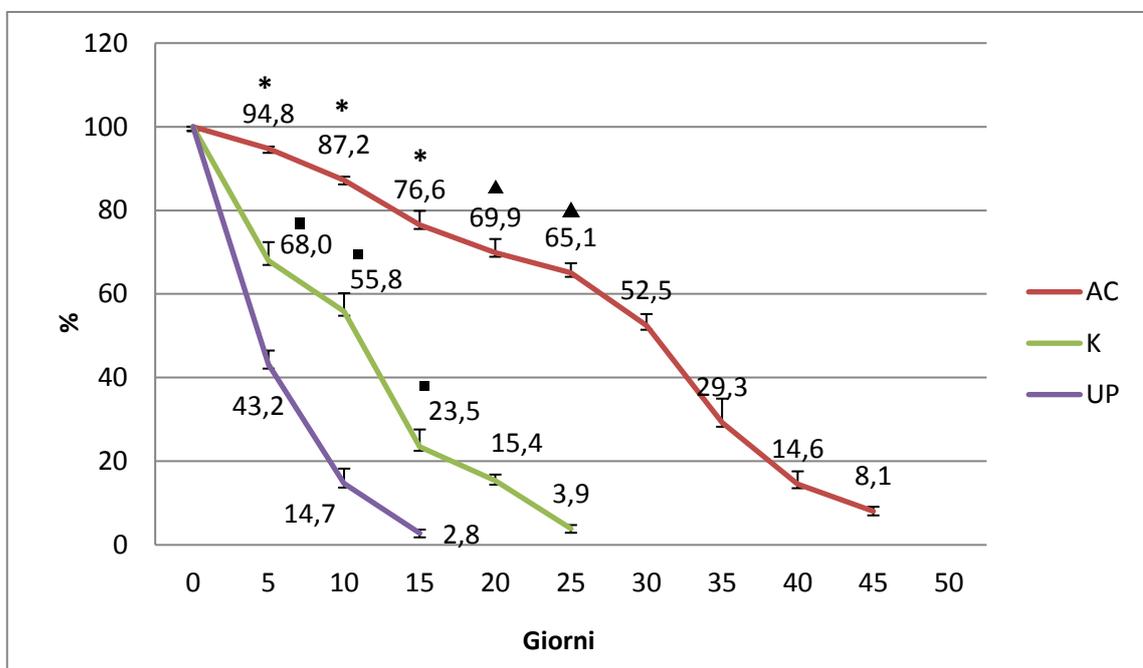


Figura 4.7 Sopravvivenza delle paralarve sottoposte a differenti tipologie di alimento

* Differenza statistica ($p < 0,01$) fra AC-K e AC-UP

■ Differenza statistica ($p < 0,05$) fra K-UP

▲ Differenza statistica ($p < 0,01$) AC-K

Analizzando ogni singola dieta si può osservare come le paralarve alimentate con uova di pesce (UP) già dopo 5 giorni si erano ridotte di oltre il 50%, mentre le paralarve K hanno fatto registrare il picco di mortalità fra il 10° ed il 15° giorno con quasi 1/3 di paralarve decedute (Fig. 4.7).

Nelle paralarve AC alimentate con nauplii di artemia e di crostacei, sono stati registrati i maggiori livelli di sopravvivenza sia come numero di giorni che in termini percentuali. In questo gruppo al 30° giorno di alimentazione oltre il 50% delle paralarve era ancora in vita e si alimentava regolarmente (Fig. 4.7).

Appare chiaro che il problema principale che ostacola il successo dell'allevamento commerciale del polpo è l'alto tasso di mortalità osservato durante i primi 2 mesi di allevamento delle paralarve. Anche se il tasso di sopravvivenza durante lo stadio planctonico è stato incrementato considerevolmente negli ultimi anni, il raggiungimento dello stadio di bentonico rimane molto difficile da raggiungere. La mancanza di impianti idonei e standardizzati e l'assenza di fonti alimentari appropriate che soddisfino le richieste nutrizionali, sono stati identificati come due possibili fattori responsabili per questa mortalità (Iglesias *et al.*, 1997; 2007).

È generalmente accettato che l'artemia, costituisce una preda attraente e ben accetta per le paralarve di polpo. Tuttavia, non tutti i ricercatori concordano sulle forme dimensionali (larve e/o adulti) da utilizzare nella prima fase alimentare. Iglesias *et al.* (2006) riportano che l'artemia di dimensioni maggiori ($1,4 \pm 0,4$ mm) è preferita rispetto a quelle di dimensioni minori ($0,8 \pm 0,1$ mm) come primo alimento. Alcuni autori (Vidal *et al.*, 2002; Navarro e Villanueva, 2003) hanno usato naupli di artemia ($450\text{--}750$ μm) durante la prima settimana di allevamento. Altri autori (Moxica *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 2004; Carrasco *et al.*, 2005) utilizzano fin da subito artemia di circa 2 mm di lunghezza e ritengono che questa dimensione potrebbe essere adatta fin dal primo mese di allevamento.

Purtroppo, questo crostaceo se viene usato come unico alimento, nel lungo periodo fornisce scarsi risultati di allevamento. Navarro e Villanueva (2003) e Villanueva e Norman (2008) suggeriscono che l'artemia ha una composizione lipidica inadeguata, soprattutto una bassa quantità di acido docosaesaenoico (DHA) e acido eicosapentaenoico (EPA), che potrebbero essere una delle principali cause per la scarsa crescita e sopravvivenza delle paralarve di *O. vulgaris*. Negli ultimi anni sono state condotte ricerche sul miglioramento del profilo nutrizionale dell'artemia, al fine di promuovere una maggiore crescita e sopravvivenza delle paralarve di polpi. L'impiego di nuove specie di microalghe per arricchire l'artemia ha migliorato la sua composizione complessiva in acidi grassi, come EPA e DHA (Seixas *et al.*, 2008; 2009), ma ciò nonostante non ha migliorato in modo evidente la crescita e la sopravvivenza delle paralarve (Seixas *et al.*, 2010; Fuentes *et al.*, 2011).

Numerosi ceppi di zooplanctonici marini sono risultati un alimento migliore rispetto all'artemia, grazie ad un maggiore contenuto di EPA, DHA e ARA (acido arachidonico) (Navarro e Villanueva, 2000; Sargent *et al.*, 1999; Bell e Sargent, 2003; Helland *et al.* 2003). Lo zooplancton naturale ha anche solitamente livelli di fosfolipidi e

concentrazioni di aminoacidi liberi più elevati, che risultano facilmente assorbibili (Bell e Sargent, 2003). Pertanto, negli ultimi due decenni, è diventata una pratica comune associare all'artemia altre prede vive per migliorare la crescita e la sopravvivenza delle paralarve di polpo (Villanueva, 1995; Moxica *et al.*, 2002, Iglesias *et al.*, 2004; Carrasco *et al.*, 2006). Villanueva (1995) usando artemia e *zoeae* di *Liocarcinus depuratus* e *Pagurus prideaux* come alimento, ha ottenuto una sopravvivenza del 34,6% a 30 DAH. Successivamente Moxica *et al.* (2002) usando artemia adulta di 2 mm e *zoeae* di grancevola (*Maja brachydactyla*) come alimento, hanno ottenuto l'8,3% di sopravvivenza dopo 1 mese e lo 0,2% dopo 56 giorni. Non a caso nella nostra sperimentazione la dieta a base di nauplii di artemia e *Palaemon* sp. è risultata la migliore (sopravvivenza finale dell'8,1±1,06% a 45 DAH – Fig. 4.8) anche se non ha portato a forme bentoniche di *O. vulgaris*. Evidentemente sono necessari ulteriori approfondimenti riguardanti sia la dimensione delle prede più idonee da somministrare sia il loro miglioramento sul profilo nutrizionale (arricchitori di microalghe e/o in acidi grassi).



Figura 4.8 Paralarva a 45 DPH e fase di alimentazione con crostacei

Allo stato attuale il miglior tasso di sopravvivenza e di accrescimento di paralarve di polpo comune in condizioni di allevamento è stato ottenuto usando solo crostacei e/o in associazione con artemia. Tuttavia, questa metodica non è facilmente applicabile a livello commerciale a causa della difficoltà di reperimento di *zoeae* in natura. Risulta quindi essenziale la ricerca di una preda viva e/o di un arricchitore in grado soddisfare il fabbisogno nutrizionale delle paralarve di polpo.

Anche il tentativo di sostituire una preda viva con una dieta inerte, completa da un punto di vista nutrizionale, non ha portato nella nostra sperimentazione ad un miglioramento del tasso di sopravvivenza delle paralarve. L'idrolizzato di gambero è un prodotto in polvere ottenuto per mezzo di un processo di idrolisi dai sottoprodotti di gamberi allevati in acquacoltura (Aquativ, 2015). Gli idrolizzati proteici presentano

numerose applicazioni in una grande varietà di industrie, come quella farmaceutica, nell'alimentazione umana, animale e cosmetica. In particolare, l'idrolizzato di gambero contiene acidi grassi omega-3, carotenoidi, chitina, chitosano e astaxantina (Bueno-Solano *et al.*, 2009 e Khosravi *et al.*, 2015a) ed è una ricca fonte di proteine con un adeguato equilibrio di amminoacidi e peptidi bioattivi, solitamente a basso peso molecolare (Bui *et al.*, 2014). Questi ultimi due componenti agiscono direttamente come immunomodulatori, antimicrobici e sulla produzione dell'ormone della crescita (Aquativ, 2015). Un'altra proprietà importante dell'idrolizzato di gamberi è quella di stimolare il sistema immunitario (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2013). Nel pesce è stato dimostrato che i peptidi di peso molecolare tra 500 e 3000 dalton potenziano l'attività di macrofagi, lisozima, superossido dismutasi, proteine del complemento e produzione di immunoglobuline (Bui *et al.*, 2014 e Khosravi *et al.*, 2015a).

Studi in acquacoltura hanno dimostrato che amminoacidi e peptidi presenti nell'idrolizzato di gamberi sono responsabili del miglioramento della crescita, del consumo alimentare e della sopravvivenza dei pesci, grazie alla sua facilità di assorbimento e digestione sin dalla prima alimentazione (Bui *et al.*, 2014).

Purtroppo, il nostro test di alimentazione con idrolizzato di gambero pur presentando un buon grado di accettazione da parte delle paralarve, non ha garantito livelli di sopravvivenza soddisfacenti.



Figura 4.9 Alimentazione delle paralarve con idrolizzato di gambero

Questo prodotto ha presentato delle problematiche in fase di preparazione in quanto è stato difficoltoso trovare la giusta forma fisica dell'idrolizzato da somministrare alle paralarve (Fig. 4.9). Particelle troppo grosse restavano pochi secondi in sospensione nel flusso circolare e tendevano a sedimentare velocemente sul fondo, mentre particelle troppo fini tendevano a galleggiare non entrando nel flusso di corrente causando un peggioramento della qualità dell'acqua. Il giusto compromesso è stato raggiunto

agitando dell'idrolizzato di gambero in un *baker* con acqua e poi somministrato in vasca. In questo modo è stato possibile ottenere una giusta dimensione dell'idrolizzato che rimanesse in sospensione il tempo necessario per essere attaccato dalle paralarve. In linea generale la somministrazione di una dieta secca come prima alimentazione per le paralarve di polpo risulta inadatta. Anche altri studi di ricerca che utilizzavano alimenti inerti come i fiocchi di pesce (Kurihara *et al.*, 2006; Okumura *et al.*, 2005) o millicapsule (Villanueva *et al.*, 2002) non hanno permesso di raggiungere ad alcun esemplare la fase bentonica.

Per quanto riguarda la prova alimentare con uova di pesce i risultati ottenuti sono stati del tutto insoddisfacenti. Le uova una volta scongelate tendevano a rimanere impaccate, formando blocchi grandi e pesanti che affondavano facilmente. Per ovviare a questa situazione è stata aumentata la velocità del flusso dell'acqua, ma questa condizione ha alterato le condizioni idrodinamiche in vasca influenzando negativamente sulla sopravvivenza delle paralarve

(Fig. 4.10). Altri ricercatori hanno utilizzato uova di pesce non come fonte primaria di alimento per le paralarve, ma come arricchitore per l'artemia. Kurihara *et al.* (2006) hanno arricchito l'artemia con polvere di uova di pesce e fiocchi



Figura 4.10 Paralarve alimentate con uova di pesce

di *Ammodytes personatus* ottenendo un tasso di sopravvivenza del 10% al 42° giorno. Hamasaki e Takeuchi (2001) hanno usato artemia di 2 mm arricchita con polvere di uova di squalo ottenendo un tasso di sopravvivenza del 24% al 20° giorno. I risultati fino ad oggi ottenuti in termini di sopravvivenza delle paralarve sono incoraggianti per considerare il polpo come nuova specie per l'acquacoltura marina. Uno degli aspetti fondamentali di indagine per le prossime ricerche, sarà quello di riuscire a formulare una dieta alimentare in grado di soddisfare completamente le esigenze nutrizionali delle paralarve del polpo favorendo il passaggio dalla fase planctonica a quella bentonica.

4.4 CONCLUSIONI

Le prove di allevamento delle paralarve di *Octopus vulgaris* hanno consentito di individuare le condizioni ambientali più favorevoli al loro mantenimento in ambiente controllato. In particolare, è stata riscontrata una maggiore sopravvivenza delle paralarve attraverso:

- il flusso circolare che, grazie alla circolazione rotatoria dell'acqua, ha consentito una distribuzione omogenea delle paralarve nella colonna d'acqua ed un minor dispendio energetico delle stesse lasciandosi trasportare passivamente del flusso;
- la densità di allevamento di 5 paralarve/litro, che si è dimostrata la condizione migliore di allevamento evitando fenomeni stressori di contatto tra le paralarve o le pareti della vasca;
- la dieta alimentare che prevedeva la co-alimentazione di naupli di artemia e crostacei, che è risultata essere la più performante.

BIBLIOGRAFIA

Aquativ. 2015. *HP 1 - s1 Shrimp Hydrolysate Powder*. Elven, Francia: Autor.

Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T., Shirai-Matsumoto, K., Pérez-Zavaleta, Á., Barriga-Sosa, I. D. L. Á., Ruiz Luna, A. 2013. Effects of including shrimp protein hydrolysate in practical diets on the growth and survival of redclaw crayfish hatchlings *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). *Aquaculture Research* 44(6), 966-973.

Bell, J.C., Sargent, J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture* 218, 491-499.

Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N., Sánchez-Machado, D. 2009. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chemistry*, 112(3), 671-675.

Bui, H. T. D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M., Lee, K.J. 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture* 418-419, 11-16.

Carrasco, J.F., Rodríguez, C., Rodríguez, M. 2005. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier) utilizando como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. Libro de Actas. IX Congreso Nacional de Acuicultura, Octubre 2005, Sevilla, Spain, pp. 219-222.

Carrasco, J.F., Arronte, J.C., Rodríguez, C. 2006. Paralarval rearing of the common octopus, *Octopus vulgaris* (Cuvier). *Aquac. Res.* 37, 1601-1605.

De Wolf, T., Lenzi, S., Lenzi, F. 2011. Paralarval rearing of *Octopus vulgaris* (Cuvier) in Tuscany, Italy. *Aquaculture Research* 42, 1406-1414.

Fuentes, L., Sanchez, F.J., Lago, M.J., Iglesias, J., Pazos, G., Linares, F. 2011. Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three *Artemia* based diets complemented with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. *Scientia Marina* 75, 771-777.

Hamasaki, K., Takeuchi, T. 2001. Dietary value of *Artemia* eriche with ω -yeast or shark eggs as feed for planktonic larvae of *Octopus vulgaris*. *Sabai-Giken* 28, 13-16.

Hanlon, R.T., Messenger, J. 1996. *Cephalopod Behaviour*. University Press, Cambridge. 278 pp.

Helland, S., Terjesen, B., Berg, L. 2003. Free amino acid and protein content in the planktonic copepod *Temora longicornis* compared to *Artemia franciscana*. *Aquaculture* 215, 213-228.

Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J. 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier) en el I.E.O. In: Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A., Zamora, S. (Eds.), *Actas del VI C. Nacional de Acuicultura*. Cartagena 1997. ISBN: 84-491-0323-1, pp. 221-226.

Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J. 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481-487.

Iglesias, J., Fuentes, L., Sánchez, J., Otero, J.J., Moxica, C., Lago, M.J. 2006. First feeding of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 paralarvae using *Artemia*: effect of prey size, prey density and feeding frequency. *Aquaculture* 261(2), 817–822.

Iglesias, J., Pazos, G., Fernandez, J., Sanchez, F.J., Otero, J.J., Domingues, P., Lago, M.J., Linares, F. 2013. The effects of using crab zoeae (*Maja brachydactyla*) on growth and biochemical composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae. *Aquacult. Int* 22, 1041-1051.

Iglesias, J., Sanchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Munoz, J.L., Okumura, S., Roo, J., Van der Meeren, T., Vidal, E.A.G., Villanueva, R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 1-15.

Itami, K., Izawa, Y., Maeda, S., Nakai, K. 1963. Notes on the laboratory culture of octopus larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 29, 514-520.

Khosravi, S., Bui, H. T. D., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Jeong, J. B., Lee, K.J. 2015a. Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Nutrition* 21(3), 321-331.

Kurihara, A., Okumura, S., Iwamoto, A., Takeuchi, T. 2006. Feeding Pacific sandeel enhances DHA level in common octopus paralarvae. *Aquac Sci* 54, 413-420.

Mangold, K. 1983. *Octopus vulgaris*. In *Cephalopod Life Cycles. Volume I. Species Accounts*, P.R. Boyle (ed.). London: Academic Press, 335-364.

Moxica, C., Linares, F., Otero, J.J., Iglesias, J., Sánchez, F.J., 2002. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en tanques de 9 m³. *Bol. Inst. Esp.Oceanogr.* 18(1-4), 31-36.

Navarro, J., Villanueva, R. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183, 161-177.

Navarro, J.C., Villanueva, R. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613-631.

O'Dor, R.K., Wells, M.J. 1987. Energy and nutrient flow. In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*, vol. 2. Academic Press, pp. 109-133.

- Okumura, S., Kurihara, A., Iwamoto, A., Takeuchi, T. 2005. Improved survival and growth in *Octopus vulgaris* paralarvae by feeding large type *Artemia* and Pacific sandeel, *A. personatus*. *Aquac.* 244, 144-157.
- Portner, H.O., O'Dor, R.K., D.L. 1994. Physiology of cephalopod molluscs. In: Macmillan (Ed.), Lifestyle and Performance Adaptions. Gordon and Breach Publishers, Basel. 214 pp.
- Roura, A., Gonzalez, A.F., Redd, K., Guerra, A. 2012. Molecular prey identification in wild *Octopus vulgaris* paralarvae. *Mar. Biol.* 159, 1335-1345.
- Sánchez, F.J, Fuentes, L., Otero, J.J., Lago, M.J., Linares, F., Pazos, G., Iglesias, J. 2010. Effect of tank volume on the growth and survival of reared *Octopus vulgaris* paralarvae. In: Aquaculture Europe, CD abstracts, Porto, pp 1170-1171.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217-229.
- Seixas, P., Rey-Mendez, M., Valente, L.M.P., Otero, A. 2008. Producing *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture* 283, 83-91.
- Seixas, P., Coutinho, P., Ferreira, M., Otero, A. 2009. Nutritional value of the cryptophyte *Rhodomonas lens* for *Artemia* sp. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 381, 1-9.
- Seixas, P., Rey-Mendez, M., Valente, L.M.P., Otero, A. 2010 High DHA content in *Artemia* is ineffective to improve *Octopus vulgaris* paralarvae rearing. *Aquaculture* 300, 156-162.
- Sykes, A.V., Domingues, P.M., Correia, M., Andrade, J.P. 2006. Cuttlefish culture – state of the art and future trends. *Vie Milieu* 56, 129-137.

- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A., 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238(1-4), 221-238.
- Vidal, E.A.G., Di Marco, F.P., Wormuth, J.H., Lee, P.G. 2002. Influence of temperature and food availability on survival, growth and yolk utilization in hatchling squid. *Bulletin of Marine Science* 71, 915-931.
- Villanueva, R. 1994. Decapod crab zoeae as food for rearing cephalopod paralarvae. *Aquaculture* 128, 143-152.
- Villanueva, R. 1995. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, 2639-2650.
- Villanueva, R., Norman, M.D. 2008. Biology of The Planktonic Stages of Benthic Octopuses, Ch. 46, in *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* (Gibson, R., N., Atkinson, R., J., A., e Gordon, J., D., M.). Taylor & Francis, pp. 105-202.
- Villanueva, R., Nozais, C., Boletzky, S.V. 1996. Swimming behavior and food searching in planktonic *Octopus vulgaris* Cuvier from hatching to settlement. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 208, 169-184.
- Villanueva, R., Koueta, N., Riba, J., Boucaud-Camou, E. 2002. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia* nauplii and compound diets. *Aquaculture* 205, 269-286.
- Wells, M.J. 1978. *Octopus — Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate*. London: Chapman & Hall.