

“ Studio sul ritmo free-running nell’anfipode semi-terrestre *Talitrus saltator* ”.

- Maria Cipollini -

INTRODUZIONE GENERALE

• I ritmi

La vita si è evoluta sotto la spinta di condizioni cicliche e le differenze evolutive che si registrano nelle varie fasi dei cicli sono, spesso, così tanto pronunciate da risultare quelle adattate in modo migliore a quella specifica fase.

I cicli sono dovuti ai movimenti della Terra, del Sole, della Luna e, quindi, anche alle influenze che questi astri hanno sulle maree. Dunque è vantaggioso per gli esseri viventi evolvere un’attività peculiare per poter sfruttare un momento specifico riguardante un certo aspetto ritmico dell’ambiente (Goodenough et al., 1999).

L’abilità nel misurare il tempo è infatti comune a molti animali; orologi biologici sono stati rinvenuti negli eucarioti (Dunlap, 1999) così come nei cianobatteri (Golden et al., 1998) e si sono in essi evoluti come adattamento ai cicli ambientali. La loro presenza funziona da sveglia per allertare in anticipo di uno specifico evento in quella nicchia e, anche se difficile da valutare sperimentalmente, tale sincronizzazione con gli eventi ambientali permetterebbe all’individuo di aumentare la propria fitness facendo sì che l’animale possa esibire un determinato comportamento (riproduzione, locomozione, alimentazione, migrazione) nel momento più opportuno (De Coursey, 1983).

Negli esseri viventi esistono molti esempi di processi ritmici:

1. giornaliero (24 h): molte specie animali restringono il loro campo d’azione in una specifica porzione del giorno; per esempio, i rapaci sono attivi la notte, così come i chiroteri, mentre molti uccelli canori e la specie umana stessa sono attivi durante il giorno.
2. tidale (12,4 h): questo tipo di ritmo è seguito da molti organismi acquatici che lo sfruttano in particolar modo per orientarsi sul limite entro il quale nidificare. Variazioni cicliche di funzioni biologiche con questo periodo sono in sincronia con i due picchi di alta e bassa marea (maree semidiurne con ritmo di 12,4 h) che si verificano durante il giorno lunare (24,8 h).
3. mese lunare (ca.29,5g): in questo tipo di ritmo rientrano sia la marea di *quadratura* sia quella di *sigizia*. La marea di *quadratura* si ha quando la luna e il sole si trovano a 90° e non si ha la sommazione delle attrazioni; la marea di *sigizia*, data dall’attrazione lunare sovrapposta a quella solare, è più alta della marea normale e caratteristica del ritmo semilunare, che ha periodo di 14,8 giorni. Crostacei come *Euridice pulchra*, mostrano picchi di attività natatoria particolarmente pronunciati durante le alte maree sigiziali (AA.VV., 1992). Il ritmo lunare va dalla fine della fase di luna piena fino al ritorno ad una nuova fase di luna piena ed è quindi in sincronia con il mese

lunare (29,5 g). Un esempio di animale caratterizzato da detta ritmicità è il polichete marino, *Eunice viridis*, il quale ha parzialmente sincronizzato la sua attività riproduttiva con questo ciclo ambientale; infatti, la riproduzione avviene in ottobre e novembre poco dopo il tramonto dell'ultimo quarto di luna (Burrows,1945). E' stato dimostrato che i talitri atlantici, poiché abitano una zona dove l'escursione mareale è molto più marcata che negli ambienti mediterranei, si orientano seguendo i ritmi dell'alta marea di sigizia (durante la quale escono dalle tane) e della bassa marea (quando, invece, si retraggono dal mare). I *Talitrus saltator* che popolano le nostre zone, invece, si orientano secondo il ciclo nicti-emerale; essi sono più attivi durante la notte per poi rintanarsi all'arrivo del giorno e non seguono l'andamento delle maree.

4. annuale (365 gg.): questo tipo di orologio biologico è essenziale per le specie animali che migrano al verificarsi del cambiamento di stagione in modo da passare il periodo più rigido in ambienti idonei da un punto di vista climatico. L'orologio annuale ha dunque una funzione fisiologica nel guidare gli animali, soprattutto molte specie di uccelli, nei territori per lo svernamento e nella riproduzione ed è in diretta correlazione con la stagione.

Molti dei processi appena descritti rimangono ritmici anche se l'individuo preso in esame viene isolato da fattori esterni. Per esempio, animali che in laboratorio vengono privati della ciclicità attraverso condizioni di sola luce o solo buio, continuano a mostrare la persistenza di un ciclo giornaliero, motivo per cui si può asserire che questi ritmi non sono esogeni, ma dettati da un orologio biologico interno.

In condizioni di laboratorio, il periodo del ritmo può subire degli scostamenti da quello mostrato in natura e questo è il motivo per cui alla definizione del ritmo viene di norma aggiunto il prefisso *circa*, indicante il fatto che il periodo si aggira attorno a un dato periodo, ma non è *esattamente* quello.

Gli esperimenti in cui gli animali sono tenuti in condizioni costanti vengono condotti per verificare la presenza del *ritmo free-running* (in natura poco frequente), conosciuto anche come *ritmo a libero corso*. Esso mostra la frequenza spontanea con cui si palesa il ritmo di un certo animale quando esso è sottoposto, appunto, a condizioni costanti di luce o temperatura; generalmente, il *ritmo free-running* non subisce scostamenti dalle 24 ore e ciò è indice dell'accuratezza dell'orologio biologico.

- **Scopo dell'esperimento**

Nell'esperimento descritto in questo articolo abbiamo voluto osservare il *ritmo free-running* dell'anfipode *Talitrus saltator* e la precisione con cui esso lo manifesta confrontando il comportamento di singoli animali con quello di animali raggruppati insieme (4 individui per celletta). In questo modo, si è voluto anche capire se esiste una differenza tra l'attività e il periodo mostrato dagli animali in gruppo rispetto ai singoli e se quindi, pur non trattandosi di animali sociali, sia però presente un'influenza degli individui gli uni sugli altri.

L'esistenza dell'orologio endogeno dei talitri è stata dimostrata attraverso esperimenti in cui gli animali, mantenuti in condizioni costanti di buio, manifestavano un ritmo circadiano di attività locomotoria che perdurava per alcune settimane (Bregazzi e Naylor, 1972; Williams, 1979).

- **La specie *Talitrus saltator***



Fig.1: individuo adulto di *Talitrus saltator* (fonte: Wikipedia)

Il *Talitrus saltator* appartiene alla famiglia dei Talitridi (ordine anfipodi, subordine grammaridi); è un piccolo crostaceo che popola la zona sopralitorale compresa tra la battigia e la duna retrostante, normalmente essi stanno infossati nella sabbia umida durante il giorno per uscirne alla sera. Da un punto di vista morfologico i talitri presentano un corpo compresso lateralmente, privo di carapace, e una grande varietà di appendici. Tra il torace e l'addome si conteggiano 14 paia di appendici e, più precisamente, per ogni lato del corpo si osservano: 1 massillipede, 2 gnato-podi prensili, 2 zampe dirette anteriormente, 3 zampe dirette posteriormente, 3 appendici natatorie, 3 uropodi diretti posteriormente. Attraverso questa conformazione corporea questi anfipodi possono nuotare, camminare, correre, abbarbicarsi a vari substrati, saltare (da cui il loro nome) e manipolare un'enorme quantità diversa di cibi (essendo detritivori). Per la respirazione gli animali impiegano un apparato tegumentale oltre alle branchie, le quali sono posizionate alla base delle zampe dove, nelle femmine, si trovano anche gli osteogiti, sporgenze atte a formare il marsupio per il contenimento delle uova (Barnes, 1985). I gonodotti maschili si aprono a livello dell'ultimo segmento toracico, mentre gli ovidotti si trovano sulle quinte coxe toraciche. La riproduzione, come in tutti i crostacei, avviene dopo la muta, una volta al mese, e il maschio riversa i suoi spermatozoi, velocemente, dentro il "marsupio" della femmina dove avviene lo sviluppo delle uova. Nei talitri delle coste del Mar Mediterraneo la riproduzione è continua con due picchi a marzo e a settembre, quando il clima non è dei più caldi. La vita media di un talitride si aggira attorno all'anno, motivo per cui diversi individui di diversa età svernano insieme.

Per quanto concerne l'attività mostrata da questi animali, essa è prevalentemente notturna sia durante la ricerca di cibo sia durante la ricerca del partner (nel periodo riproduttivo); il ritorno verso la zona di battigia avviene all'alba, momento in cui essi si infossano nella sabbia umida per riemergere al seguente imbrunire. Passare tutto il giorno infossati e riparati dalla sabbia umida consente a questi animali di non andare incontro a fenomeni di disidratazione (Scapini et al., 1992). Durante le loro escursioni, al momento di tornare alla battigia, gli individui sono in grado di scegliere il percorso più breve per raggiungere di nuovo la zona di elezione (Pardi e Ercolini, 1986).

MATERIALI E METODI

- **Raccolta degli animali**

Gli animali usati in questo esperimento sono stati raccolti il giorno 21 aprile 2010 sulla spiaggia di Collelungo a Marina di Alberese (Parco Naturale della Maremma), dove è presente una popolazione di talitridi abbondante.

Il reperimento degli individui, tutti di età adulta e senza distinzione fra femmine e maschi, è avvenuta nella zona della battigia dove, attraverso l'ausilio di una sonda di termometro elettrico, si sono registrati valori della temperatura esterna pari a 23° C; temperatura della sabbia (nel punto in cui sono stati presi gli animali) pari a 25°C con un'umidità intorno al 55%; il cielo era prevalentemente sereno (3/8 di copertura).

La spiaggia di Collelungo si estende per ca.7 km lungo la costa meridionale della Toscana. E' un ecosistema sabbioso ben preservato e caratterizzato da scarso impatto antropico proprio perché all'interno di una riserva naturale. La zona eulitorale è piuttosto larga (40m) e non soggetta ad elevate escursioni di marea (in media 20-30 cm).

Per non stressare i talitridi e compromettere così l'esperimento, essi sono stati raccolti con un apposito aspiratore da entomologia ricavato da un biberon alle cui estremità, da una parte, è presente un tappo di sughero nel cui centro si trova un cannellino di plastica che, posizionato sopra l'animale ne permette il risucchio all'interno del biberon e, dalla parte opposta, invece, si trova un altro cannellino di plastica, dotato di retina interna, grazie al quale, l'operatore può aspirare aria, risucchiando così gli animali.

PROCEDURA SPERIMENTALE

- **Registrazione dell'attività e del periodo degli animali**

In laboratorio, il protocollo approntato ha previsto la disposizione all'interno di 21 cellette toroidali in PVC (diametro 12 cm, altezza 16 cm), di individui di *Talitrus saltator* singoli e, in altre 21 sono stati introdotti 4 esponenti della medesima specie. Le cellette di cui ci siamo serviti sono così costituite: hanno un cilindro cavo centrale ed un sensore di rilevamento ad una estremità; da esso passa un raggio infrarosso che viene interrotto ogniqualvolta l'animale stazioni o vi passi davanti, questo permette di registrare l'attività dell'individuo nel corso dell'intero esperimento, infatti ogni celletta è collegata ad un logger al quale viene assegnato un tempo di registrazione dall'operatore (nel nostro caso è stato ogni 20').

Per fornire agli animali un ambiente quanto più possibile simile a quello naturale, abbiamo riempito le cellette con della sabbia umida prelevata nel luogo di reperimento dei talitri; dalla parte opposta al sensore, inoltre, abbiamo posizionato frammenti di carta e del cibo per pesci che potessero funzionare come nutrimento per i crostacei. Al termine dell'allestimento, le cellette, contenenti gli animali, sono state ricoperte con parti di sacchetti di plastica nera, fermati con un apposito elastico all'apparato

sperimentale in modo da mantenere una condizione di umidità e di buio costante e registrare quindi l'attività *free-running*.

L'esperimento è partito alle ore 16:00 (ora solare) del 21 aprile ed è stato interrotto 21 gg dopo, alle ore 8:10 (ora solare) del 12 maggio. All'apertura delle cellette è stata controllata una serie di parametri per poter valutare, in seguito, l'attendibilità dei risultati. E' stato quindi controllato se l'animale era sempre vivo o no e, in quest'ultimo caso, se il corpo era intatto o si era decomposto; se il sensore era funzionante; se la sabbia era ancora umida; se il cibo era ammuffito o meno, e se si erano verificate condizioni extra come, ad esempio, la nascita di piccoli.

ANALISI DEI DATI

I dati ottenuti dal logger sono presentati come file di testo ed ognuno di essi rappresenta una singola celletta. Per convertire questi dati di testo in immagini di cui possano essere identificati i dettagli abbiamo quindi usato il programma CHART 35 che lavora in DOS; l'immagine ottenuta, in seguito, impiegando VTHIEF (che converte DOS in un file BITMAP), è stata resa leggibile, sotto forma di attogramma, in Windows.

Per quanto riguarda i periodogrammi, essi sono stati prodotti con il foglio di lavoro Microsoft Office Excel per Windows attraverso l'utilizzo del programma TIME SERIES. Quest'ultimo crea un foglio di lavoro sul quale possono essere determinate le variabili specifiche di ogni celletta, in modo particolare il *periodo* e l'*SNR (signal to noise ratio)*, ovvero la precisione con cui l'animale mantiene il ritmo.

Le analisi statistiche sul confronto dell'attività dell'*SNR* e del discostamento dal periodo di 24h sono state condotte attraverso il *Mann-Whitney Test* utilizzando il software Past, grazie al quale sono stati effettuati anche i relativi grafici.

Gli istogrammi frequenza-periodo sono stati invece ottenuti con il foglio di lavoro Microsoft Office Excel per Windows.

RISULTATI

- **Individui singoli**

Dei 21 individui di *Talitrus saltator* testati singolarmente, quelli effettivamente presi in considerazione sono stati 19 in quanto in una celletta (precisamente la n°2) è stato rinvenuto un esemplare della specie *Orchestia grammarellus*, immesso inavvertitamente nell'apparato sperimentale e un'altra celletta non ha registrato per problemi tecnici del logger. Inoltre, dei 19 animali considerati, dopo un'attenta analisi degli attogrammi, 10 di essi sono stati esclusi dalla valutazione statistica perché caratterizzati da un'attività limitata (inferiore ai 5/7 del tempo di registrazione); per cui le osservazioni e l'analisi statistica sono state condotte effettivamente su soli 9 animali.

In generale possiamo affermare che l'attività degli individui singoli non è stata elevata né ha presentato un periodo definito. In particolare, come mostrato dall'attogramma sottostante (Fig.2), riportato come

esempio, si nota come gli animali mostrino un'attività irregolare nei primi giorni (6gg) dell'esperimento. Infatti essi, in quanto animali notturni, in questo caso tendono a muoversi tutto il giorno con uno shift nell'orario diurno verso il 9°-10° giorno. Nella fase finale dell'esperimento gli animali mostrano un chiaro ritmo *free-running* con ritardo nell'inizio dell'attività la quale ha periodo superiore alle 24 h.

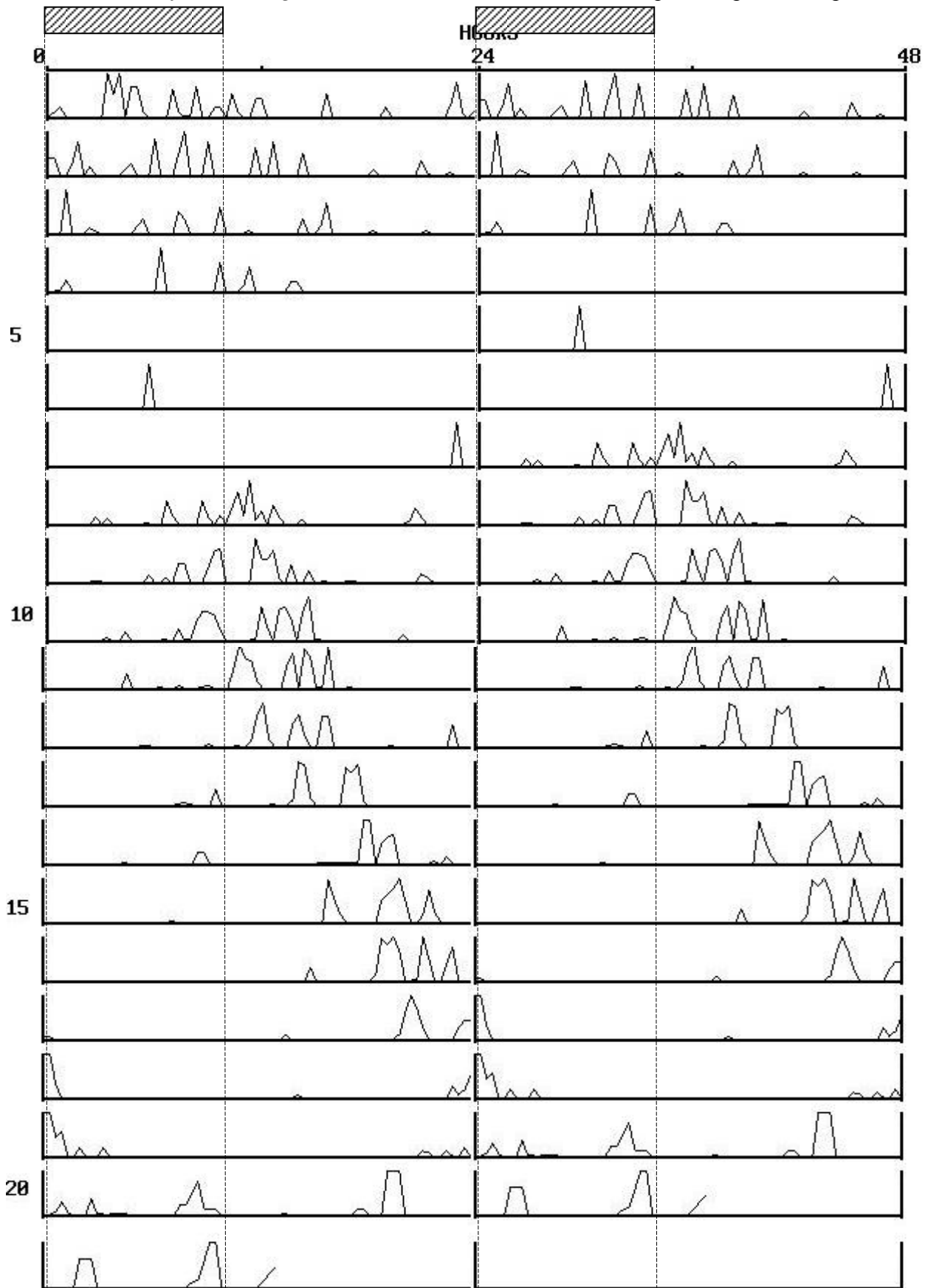


Fig.2: attogramma esemplificativo di quanto esposto sopra.

Osservando i *periodi* espressi dai *Talitrus saltator* testati singolarmente, si nota che essi sono ben definiti ma la media presenta una deviazione standard alta, indice di variabilità tra i periodi individuali (MEDIA= 1455,556 min; D.S= $\pm 73,333$) e che l'SNR non è alto ed ha, anch'esso, elevata deviazione standard (MEDIA= 0,691584; D.S.= $\pm 0,512579$). Effettuando inoltre un grafico frequenza-periodo, la nostra aspettativa era di trovare una gaussiana che descrivesse l'andamento del periodo mostrato dagli animali, ovvero avere un picco di individui con un periodo ben definito intorno alle 24h e pochi animali caratterizzati da un periodo inferiore o maggiore alle 24h; invece il risultato è stato piuttosto una distribuzione che potremmo definire quasi bimodale, con un picco a 24h (1440') 24h20' (1460') e uno a 25h (1500').

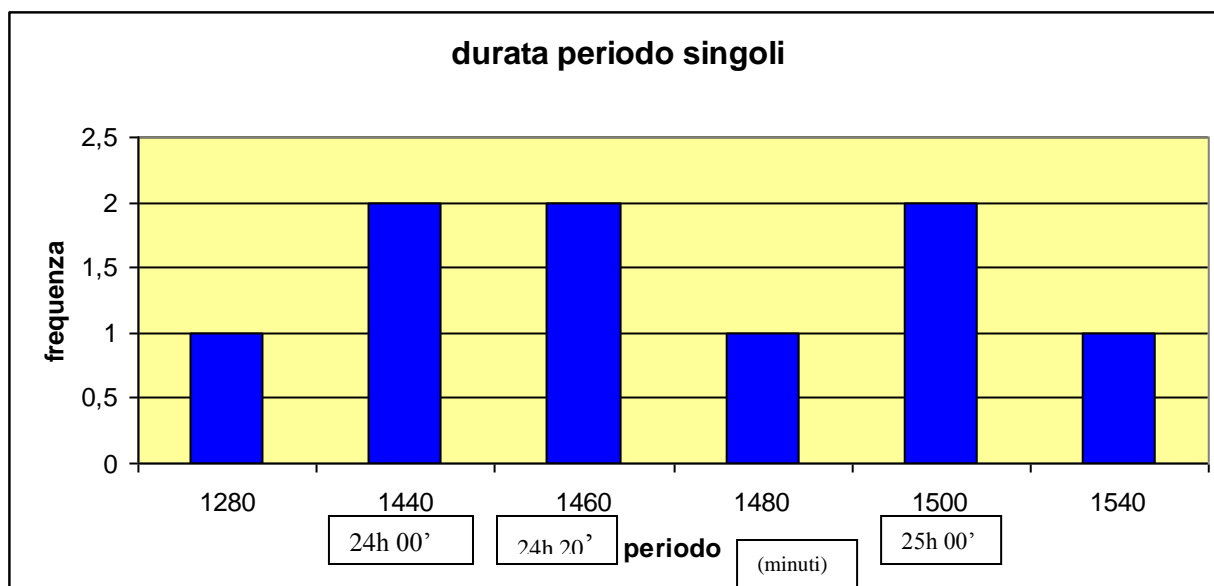


Fig. 3: grafico frequenza-periodo nel quale non si riscontra l'andamento di una gaussiana.

- **Gruppi**

Delle 21 cellette, ognuna delle quali contenente 4 individui, ne sono state prese in esame effettivamente 18, in quanto 3 hanno mostrato un'attività molto bassa (inferiore ai 5/7).

In generale, possiamo affermare che l'attività registrata dai gruppi, in confronto a quella registrata dai singoli, è stata maggiore (cosa che ha portato ad escludere meno cellette) e ciò può essere facilmente compreso tenendo presente che in ogni cella vi erano 3 animali in più. Gli animali, infatti, si sono mossi sia durante la notte sia durante il giorno, come si evince dall'attogramma esemplificativo di Fig.4. Nei primi giorni, anche in questo caso, si nota un'attività irregolare ma,

nella seconda parte delle registrazioni, a partire da 5 giorni, si assiste ad una certa periodicità e, nelle fasi finali dell'esperimento, il gruppo risulta sincronizzato con un periodo superiore alle 24 h.

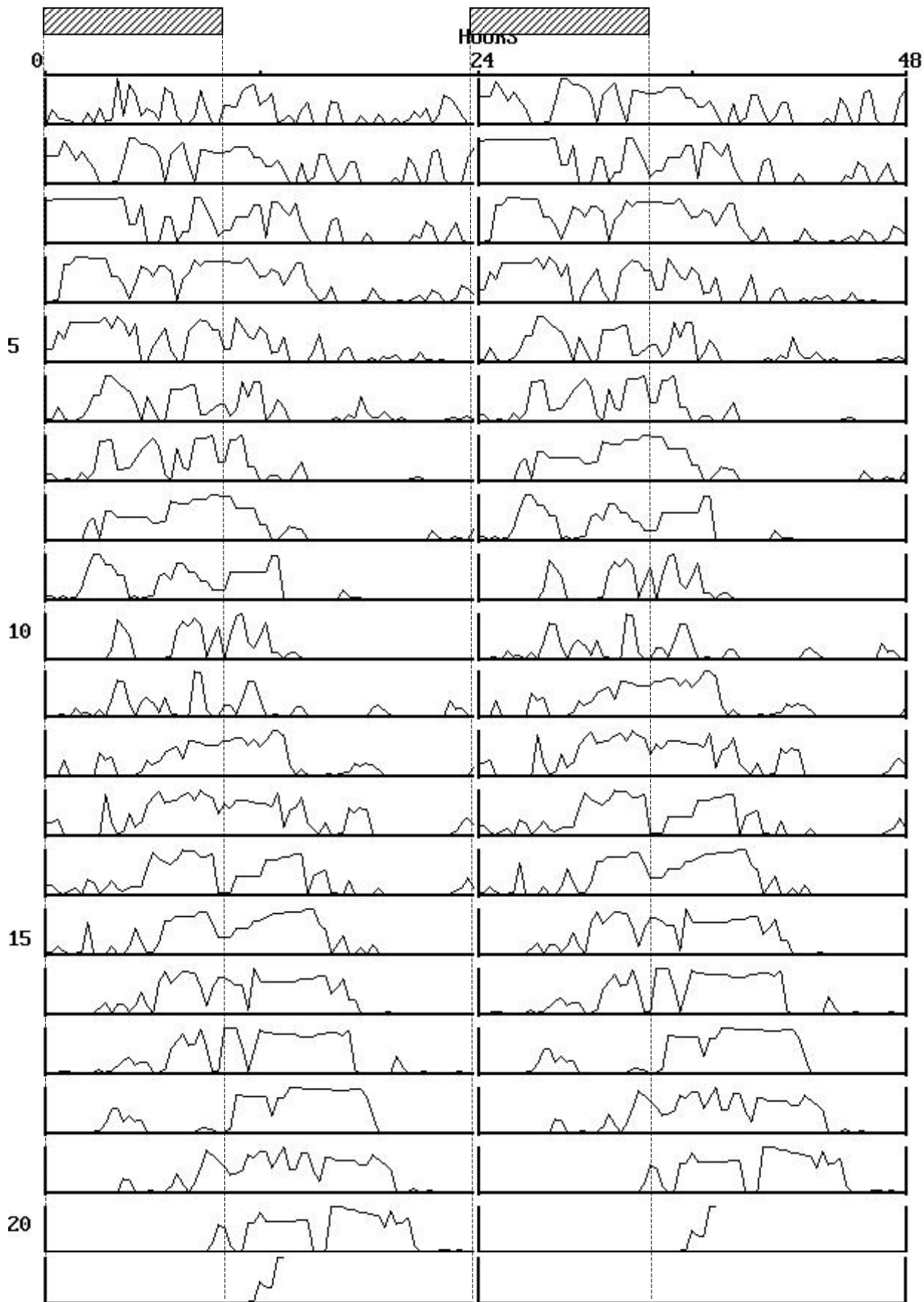


Fig.4: attogramma che mostra la grande attività di una celletta contenente 4 individui di *Talitrus saltator* ma nel quale non è ravvisabile una periodicità definita.

La tendenza alla sincronizzazione degli animali con un periodo superiore alle 24h e la manifestazione di un ritmo *free-running* è ancora più evidente dall'attogramma di Fig.5 dove il ritardo della fase di attività comincia già dal giorno 9.

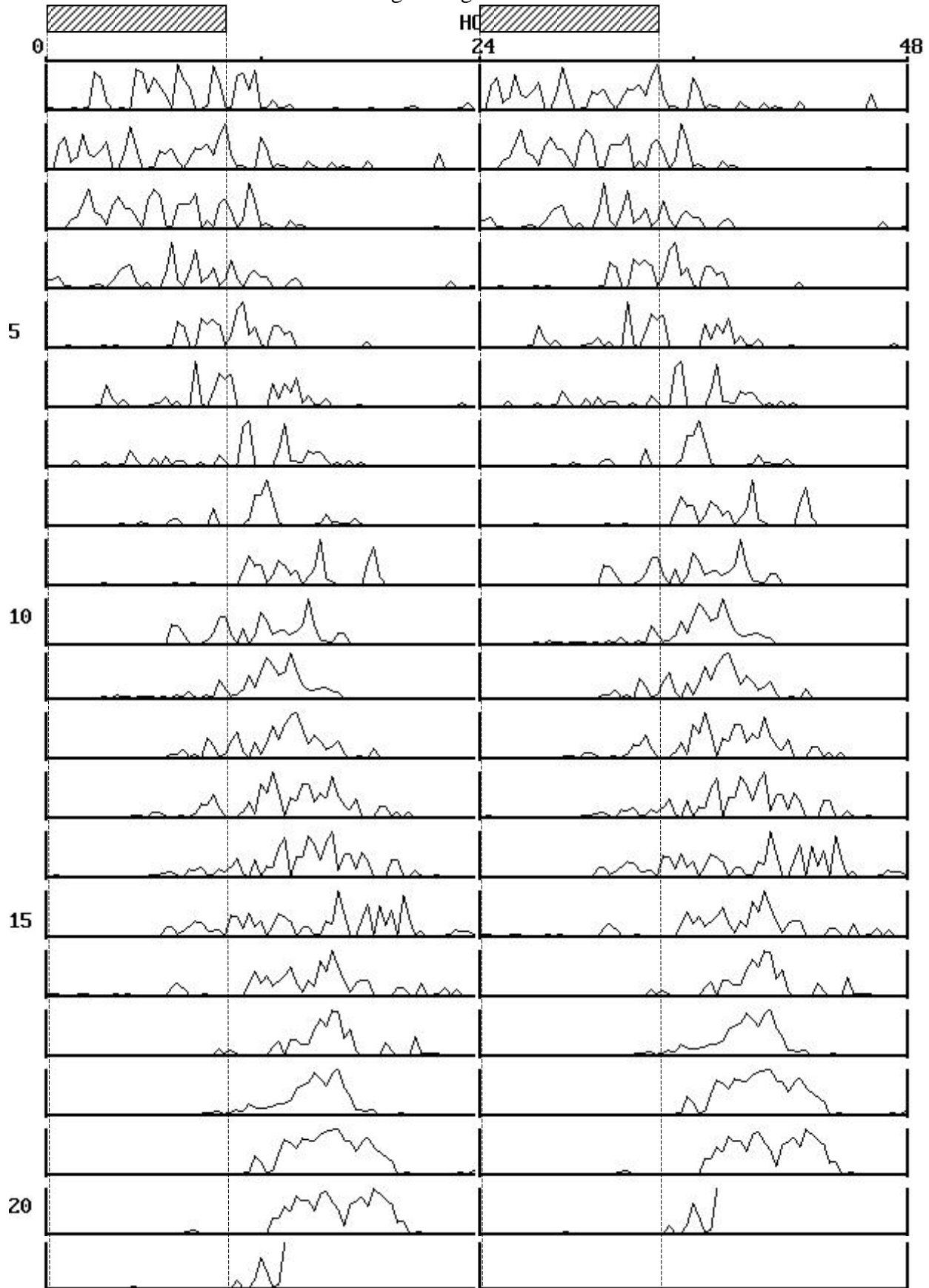


Fig. 5: attogramma nel quale, dal giorno 9°, si osserva una tendenza al manifestarsi di un periodo definito con sfasamento verso un'attività diurna che si fa ancora più marcato e definito negli ultimi giorni di registrazione.

Analizzando il periodo espresso dai gruppi, anche in questo caso, la media dei periodi ha un'elevata deviazione standard (MEDIA= 1454,444 min D.S.= ±34,84794) così come l'*SNR* è basso e non preciso (MEDIA= 27,7777 D.S.= ±24,86565). Dal grafico frequenza-periodo non si ottiene, come da aspettativa, una gaussiana, ma si osservano essenzialmente due picchi: uno in corrispondenza delle 24h (1440') (registrato da 5 cellette) e il secondo in corrispondenza di un periodo di 24h 40'(1480') (registrato da 6 cellette) (Fig.6).

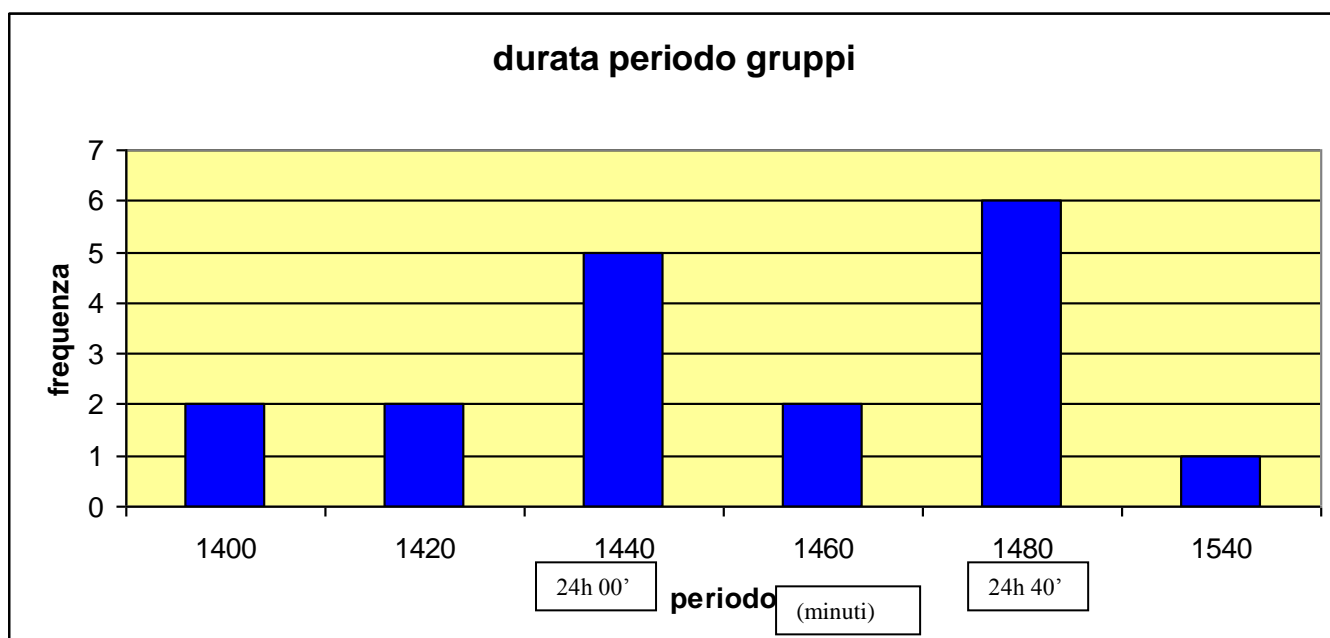


Fig. 6: grafico frequenza-periodo che mostra i due picchi in corrispondenza di un periodo di 24h (1440') e di 24h 40'(1480'). Anche in questo caso non si riscontra l'andamento di una distribuzione gaussiana ma si osserva una distribuzione bimodale con concentrazioni di animali che mostrano un periodo vicino alle 24h.

- **Confronto individui singoli-gruppi**

I risultati ottenuti per i *Talitrus saltator* testati singolarmente ed in gruppo sono stati confrontati al fine di evidenziare la presenza di differenze nella manifestazione del ritmo *free-running* imputabili a fenomeni di influenza reciproca negli animali testati assieme (Figg.7-8).

E' stato dunque eseguito un *Mann-U-Whitney Test* sul *periodo* e sull'*SNR*. E' risultato che non esiste alcuna differenza nella manifestazione del ritmo fra gli animali saggiati singolarmente e quelli in gruppo:

1. **Mann-U-Whitney per il periodo:** gruppi N°18-singoli N°9 $p= 0,3036$ (non significativo)

2. Box-plot relativi al *periodo*:

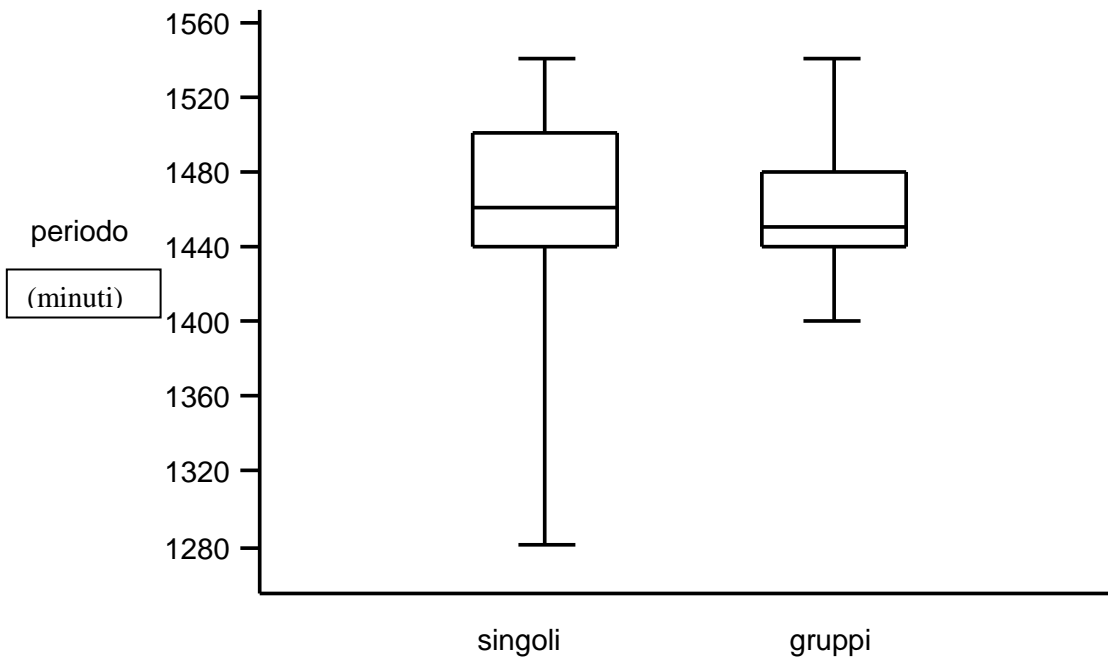


Fig.7: il box-plot mostra come le mediane del periodo dei singoli e dei gruppi non differiscano, sostanzialmente, le une dalle altre. Perciò non si può affermare che esista una differenza tra il ritmo *free-running* degli animali testati singolarmente o in gruppi di 4 individui. Si rileva come la D.S. per i singoli sia superiore a quella dei gruppi.

1. **Mann-U-Whitney per l'SNR:** gruppi N°18-singoli N°9 p : 0,9385 (non significativo)

2. Box-plot relativo all'SNR:

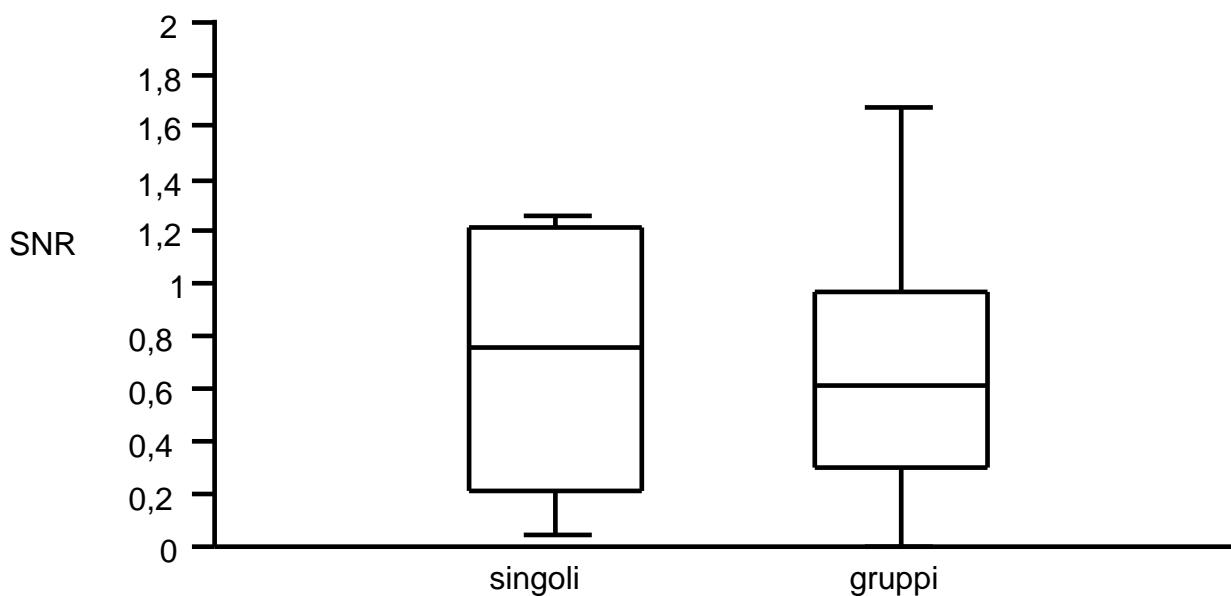


Fig.8: il box-plot mostra le mediane calcolate sul valore dell'SNR espresso dai due gruppi confrontati, anche in questo caso non si ha differenza fra gli individui di *Talitrus saltator* testati singolarmente e quelli testati in numero di 4 per celletta nella precisione con cui manifestano il ritmo.

Un'ulteriore analisi effettuata è stata l'osservazione di quanto il *periodo* degli animali saggiati si discostasse dalle 24h (1440'). Per conteggiarlo è stato calcolato il valore assoluto della differenza tra il *periodo* registrato e i 1440' (MEDIA PER I SINGOLI= 51,11min. D.S.= ±52,06833; MEDIA PER I GRUPPI= 27,77 min. D.S.= ± 24,86565) (Fig.9).

Ancora una volta, applicando il Mann-U-Whitney Test per il confronto tra individui singoli e gruppi, esso non ha dato significatività. Non si può quindi affermare che esista una differenza tra il discostamento dalle 24h nel periodo mostrato dai gruppi e in quello che si è evidenziato nei singoli:

1. **Mann-U-Whitney Test:** gruppi N°18-singoli N°9 $p= 0,3036$ (non significativo)

2. **box-plot relativi al discostamento del periodo dalle 24h:**

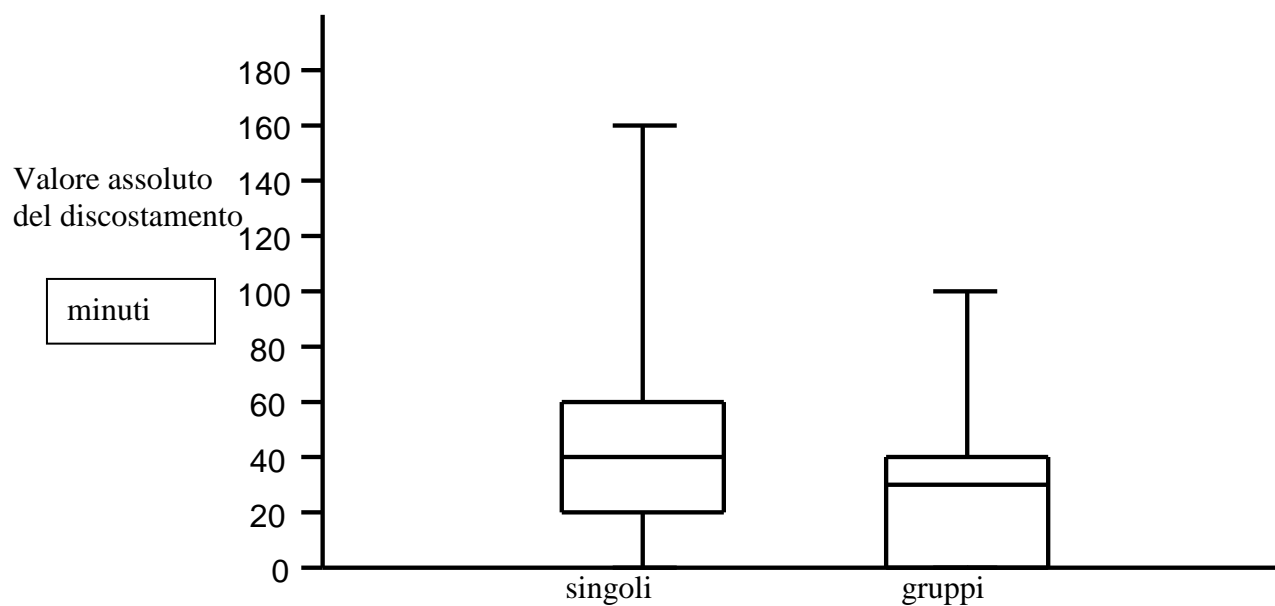


Fig.9: grafico che mostra la deviazione dal periodo di 24h (1440') negli individui di *Talitrus saltator* singoli e nei gruppi. Non si ha differenza significativa fra i due gruppi sperimentali.

Tutti i confronti non hanno dato risultati atti ad affermare una differenza netta tra il ritmo presentato dagli individui testati singolarmente e quelli saggiati in gruppo. Considerata la superiorità numerica delle cellette prese in esame per i gruppi di talitri (18 vs 9) è stato effettuato il test del CHI QUADRO per confrontare, con un test non parametrico, le distribuzioni e l'effetto del trattamento sull'attività (ricordo che il test di *Mann-U-Whitney* è stato impiegato per valutare l'effetto sul *periodo*).

Il test del CHI QUADRO è risultato significativo con un $p= 0,00971$ (minore dell'intervallo di confidenza del 5%, cioè 0,05); ciò dimostra che gli individui singoli hanno una maggior sensibilità alle condizioni sperimentali rispetto ai gruppi ma che il test statistico applicato può aver risentito di questa asimmetria numerica.

INFLUENZA DELLA TEMPERATURA SULL'ESPERIMENTO

Molto probabilmente i risultati dell'esperimento non hanno verificato l'ipotesi di partenza in quanto, come è stato appurato dopo un attento controllo, il refrigeratore che serve a mantenere costante la temperatura all'interno della stanza delle cellette, onde evitare che essa diventi un fattore esterno condizionante, questa volta, non è entrato in funzione. Come si evince dal grafico giorni-temperatura (ottenuto dall'andamento delle medie delle temperature registrate ogni 8 ore- per cui per ogni giorno ci sono 3 registrazioni-), si sono verificati degli sbalzi termici conseguenti all'andamento della temperatura esterna. Rispetto a quest'ultima, tuttavia, la temperatura all'interno della stanza è variata più lentamente grazie al fatto che, proprio per evitare condizionamenti esterni, essa è dotata di pareti spesse che ne causano l'isolamento. L'andamento della temperatura è pressoché continuo e non ciclico e rispecchia quello registrato durante le 3 settimane. Dal grafico si nota che la temperatura, per i primi 9-10 gg cresce costantemente fino a raggiungere un picco massimo ($>27^{\circ}$) verso la parte centrale dei giorni di esperimento (Fig. 10):

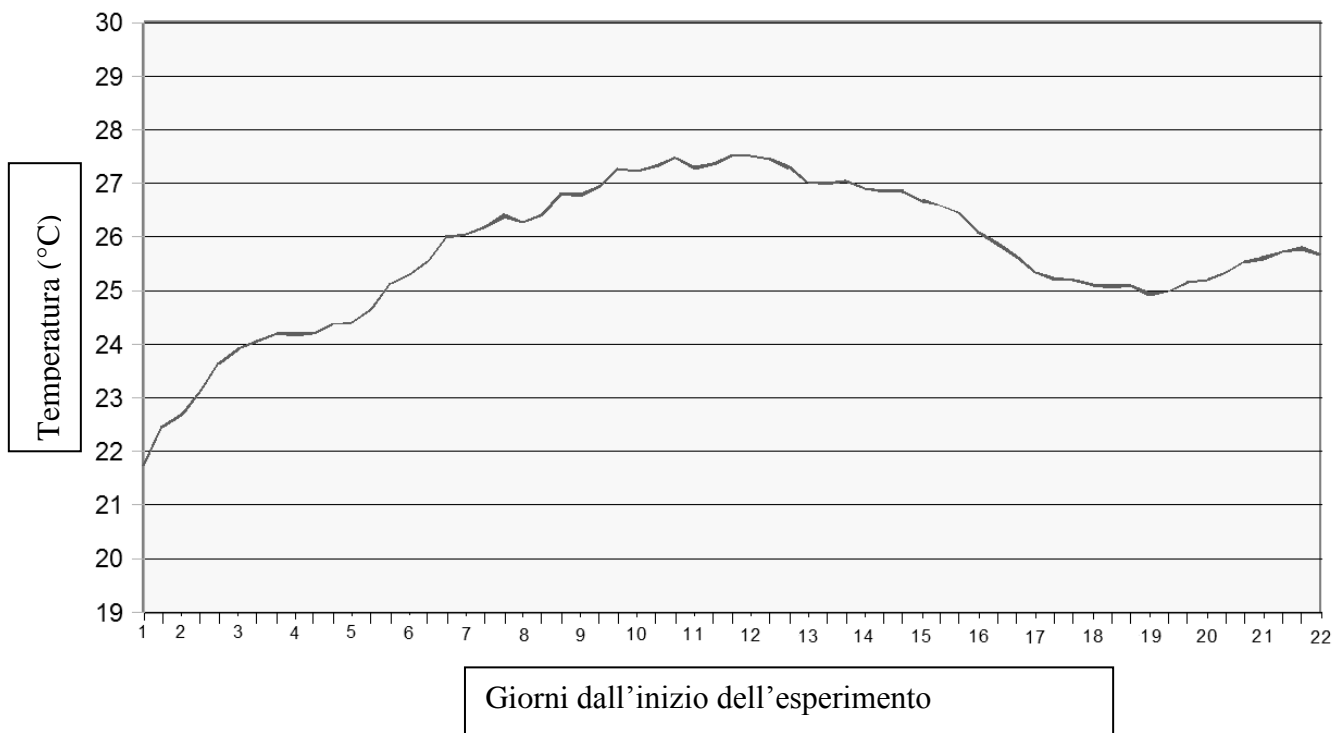


Fig. 10: grafico che mostra l'andamento della temperatura nel corso dell'esperimento; il picco massimo si registra nelle fasi centrali del periodo di registrazione.

Si può supporre che l'anomalia della temperatura sia la causa dell'esclusione di molti individui singoli dall'analisi statistica, infatti, essi, sembrano averne risentito molto di più rispetto ai gruppi. Alcuni attogrammi, relativi all'attività dei singoli, presentano una normale attività iniziale che cessa in concomitanza dell'aumento della temperatura per poi riprendere, più rarefatta verso la fine dell'esperimento (Fig.11). In altri casi, gli animali non mostrano più segni di motilità rimanendo rintanati nella sabbia fino alla morte o fino alla fine dell'esperimento. Ciò coincide con la loro etologia: attivi nei periodi serali e più freschi e insabbiati nelle ore più calde del giorno.

L'attogramma di Fig.2, sempre relativo all'attività di un singolo (considerato nell'analisi statistica), mostra l'inizio dello shift del periodo proprio in concomitanza dell'aumento della temperatura.

I gruppi, invece, come già detto, non mostrano negli attogrammi diminuzione dell'attività a parte 1 o 2 casi; si faccia riferimento alle Figg.4-5, nelle quali, l'attività degli animali è sempre presente, anche in concordanza all'innalzamento della temperatura e dove, in corrispondenza del giorno 10 (in cui si è superata la soglia dei 27°), si verifica il ritardo della fase di attività (particolarmente evidente nella Fig.5).

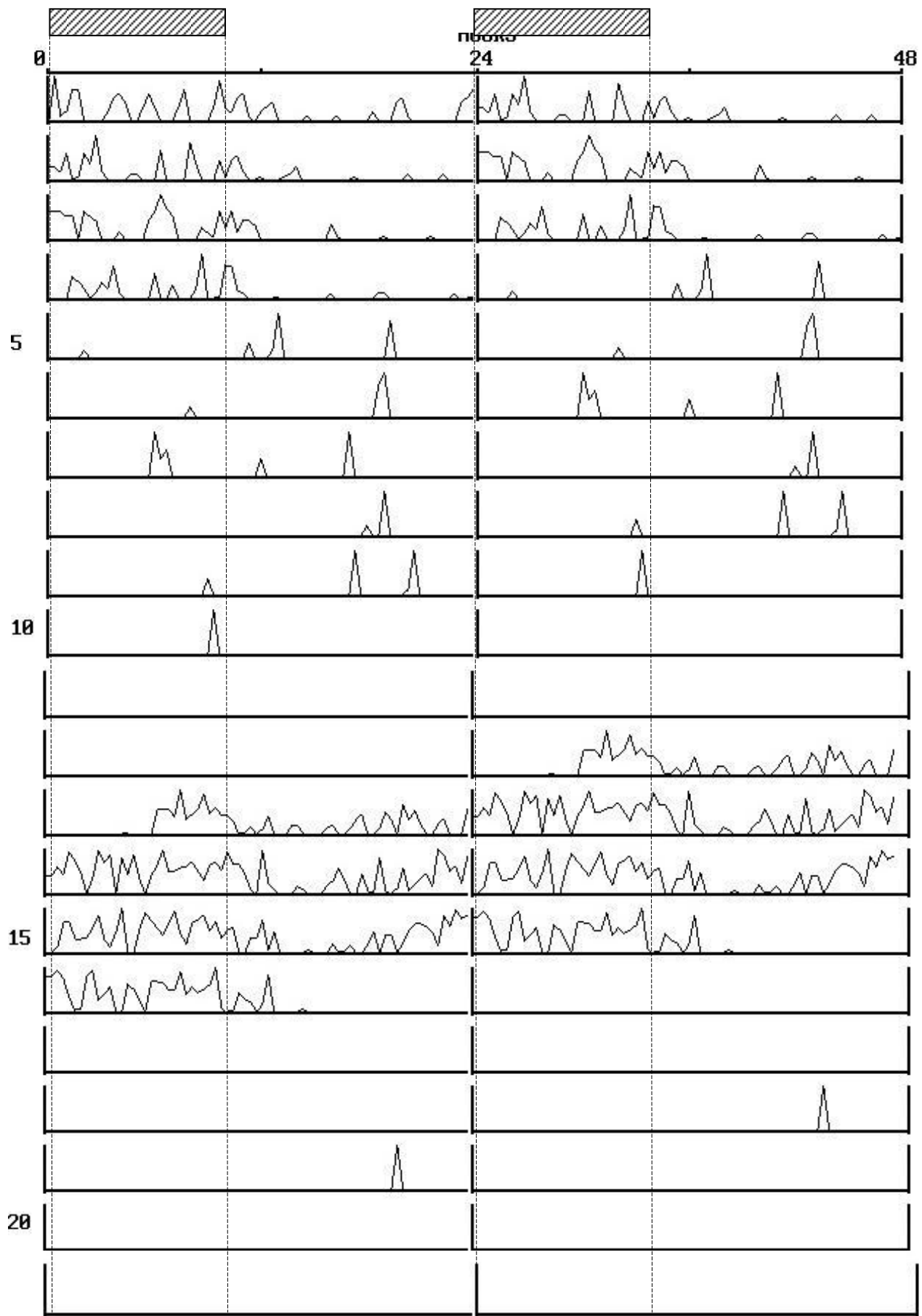


Fig. 11: attogramma relativo all'attività di un *Talitrus saltator* testato singolarmente e successivamente escluso dall'analisi statistica in quanto attivo meno di 5/7 del tempo di registrazione. Si nota una normale attività iniziale che subisce una diminuzione già a partire dal 5° giorno ed arrestarsi, poi, in corrispondenza del 10°-11° giorno quando la temperatura ha raggiunto i valori più alti. L'attività è stata poi ripresa quando la temperatura è tornata a calare.

CONCLUSIONI

Dall'esperimento effettuato si evince che, in condizioni costanti di laboratorio, gli anfipodi hanno mostrato un ritmo *free-running* anche se molti erano aritmici e si sono mossi indifferentemente sia nelle ore notturne sia in quelle diurne, benché, dalla letteratura (Scapini et al., 1992), la loro attività sia prevalentemente crepuscolare.

Nelle cellette dove sono stati inseriti più individui di *Talitrus saltator* l'attività registrata è stata superiore a quella presentata dagli animali saggiati singolarmente e questo è spiegabile con la superiorità numerica dei primi rispetto ai secondi. In seguito a queste osservazioni, dunque, ci aspettavamo di riscontrare una periodicità ben definita nei gruppi in quanto, pur non essendo animali sociali, i talitridi compiono insieme migrazioni per il foraggiamento. Dunque si riteneva che più animali, chiusi insieme in una celletta, riuscissero ad influenzarsi vicendevolmente sfasandosi in modo minore che non i singoli. I test effettuati hanno evidenziato la fallacità di questa ipotesi confermando una sostanziale omologia tra il comportamento rilevato dai crostacei singoli e quello ottenuto dai crostacei in gruppo ma, se guardiamo la discrepanza della lunghezza del periodo rispetto alle 24h e l'errore, notiamo che la media dei singoli (51 ± 52) è maggiore rispetto a quella dei gruppi (28 ± 25), quindi, si ha una tendenza ad un periodo più lungo e ad una maggiore variabilità nei singoli rispetto ai gruppi.

Proprio per il riscontro di questa tendenza, non ci sentiamo di abbandonare totalmente l'idea iniziale per sviluppare la quale, è ovvio, occorrerebbe reiterare l'esperimento con un numero maggiore di animali e, magari, allungare anche la durata di registrazione poiché, come è stato visto da alcuni attogrammi, gli animali necessitano di un periodo di adattamento, superato il quale è più probabile la manifestazione del loro ritmo *free-running*. Non va inoltre dimenticato il mancato funzionamento del refrigeratore che può aver avuto un ruolo importante nel mancato risultato sperimentale, in particolare, le fluttuazioni termiche sembrano essere state patite più dagli individui singoli che non dai gruppi poiché i primi hanno mostrato un'attività più dispersa o un arresto della stessa al momento dell'innalzamento della temperatura. Nell'eventualità di una riproposizione del medesimo esperimento il fattore temperatura dovrà essere una delle prime variabili da controllare.

BIBLIOGRAFIA

AA.VV., 1992. Dizionario di etologia. Einaudi, 650-651

Barnes, R. 1985. Zoologia: Gli invertebrati. Piccin

Bregazzi, P. K. Naylor, E. 1972. The locomotor activity rhythm of *Talitrus saltator* (Montagu) (Crustacea, Amphipoda). *Journal of Experimental Biology*, 57: 375-391.

DeCoursey, P.J. 1983. Biological timing. In: Bliss, D.E. The biology of crustacea. Ed.

Vernberg&Vernberg, Vol. 7, Behavior and ecology.

Dunlap, J.C. 1999. Molecular bases for circadian clocks. *Cell*, Vol 96,271-290 January 22,1999.

Golden, S.S., Johnson, C.H., Kondo, T. 1998. Circadian clock mutants of cyanobacteria. *Science*, Vol. 266 Issue 5188, 1233-1236.

Goodenough, J., McGuire, B. Wallace R. 1993. Biological clocks. In: *Perspective on Animal Behaviour*. New York Wiley, 9: 283-319.

Pardi, L., Ercolini, A. 1986. Zonal recovery mechanisms in talitrid crustaceans. *Boll. Zool.* 53:139-160.

Scapini, F., Chelazzi, L., Colombini, I., Fallaci, M.,1992. Surface activity zonation and migration of *Talitrus saltator* on an Mediterranean beach. *Marine Biology*, 112: 573-581

Williams, P.J. 1972. A semilunar rhythm of locomotor activity and moult synchrony in the sand beach amphipod *Talitrus saltator*. In: *Cyclic Phenomena in Marine Plants and Animals*. Naylor E. Hartnoll, R. G. eds. 407-414. Pergamon, New York.

