

PROVE DI RIPRODUZIONE ARTIFICIALE DI *APHANIUS FASCIATUS* MEDIANTE CONDIZIONAMENTO ECOFISIOLOGICO ED INDUZIONE ORMONALE

REPRODUCTION OF *APHANIUS FASCIATUS* INDUCED BY ECOPHYSIOLOGICAL CONDITIONING AND HORMONAL TREATMENT

O. Mordenti¹, D. Scaravelli², M. Trentini², A. Zaccaroni², M. Gamberoni¹

¹Dipartimento di Morfo-Fisiologia degli Animali Domestici e Produzioni animali e ²Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Univ. di Bologna
^{1,2} Corso di laurea in Acquacoltura e Ittiopatologia, Polo scientifico-didattico di Cesena, sede di Cesenatico, via Vespucci 2



Femmina adulta di *A. fasciatus*

INTRODUZIONE - Il nono (*Aphanius fasciatus*), è un piccolo pesce a livrea rigata che abita pochi ambienti residuali delle aree costiere del Mediterraneo. Oggi è considerata una specie a rischio e inclusa nelle principali liste di protezione europee. La sua alimentazione si basa soprattutto su larve di zanzara e una sua diffusione sarebbe un ottimo controllo delle stesse (Frenkel e Menachem, 2000). Inoltre, come specie autoctona e in pericolo, la sua diffusione negli ambienti di costa sarebbe assolutamente da considerarsi di ottimo livello ambientale al contrario dell'alloctona gambusia (Caiola e Sostoa, 2005). Scopo della ricerca è quello di predisporre un protocollo di riproduzione di nono in ambiente controllato per un eventuale utilizzo su acque libere costiere per il controllo dei culicidi.



Maschi adulti di *A. fasciatus*

MATERIALI E METODI - Il reperimento degli esemplari adulti è avvenuto lungo i canali perimetrali delle saline di Cervia (RA). Si è quindi proceduto al sessaggio e al rilievo dei principali parametri biometrici (peso e lunghezza). 7 soggetti di sesso femminile sono stati sottoposti a biopsia ovarica per la determinazione dell'IGS e l'osservazione dello stato di maturazione gonadica (Foto 1).

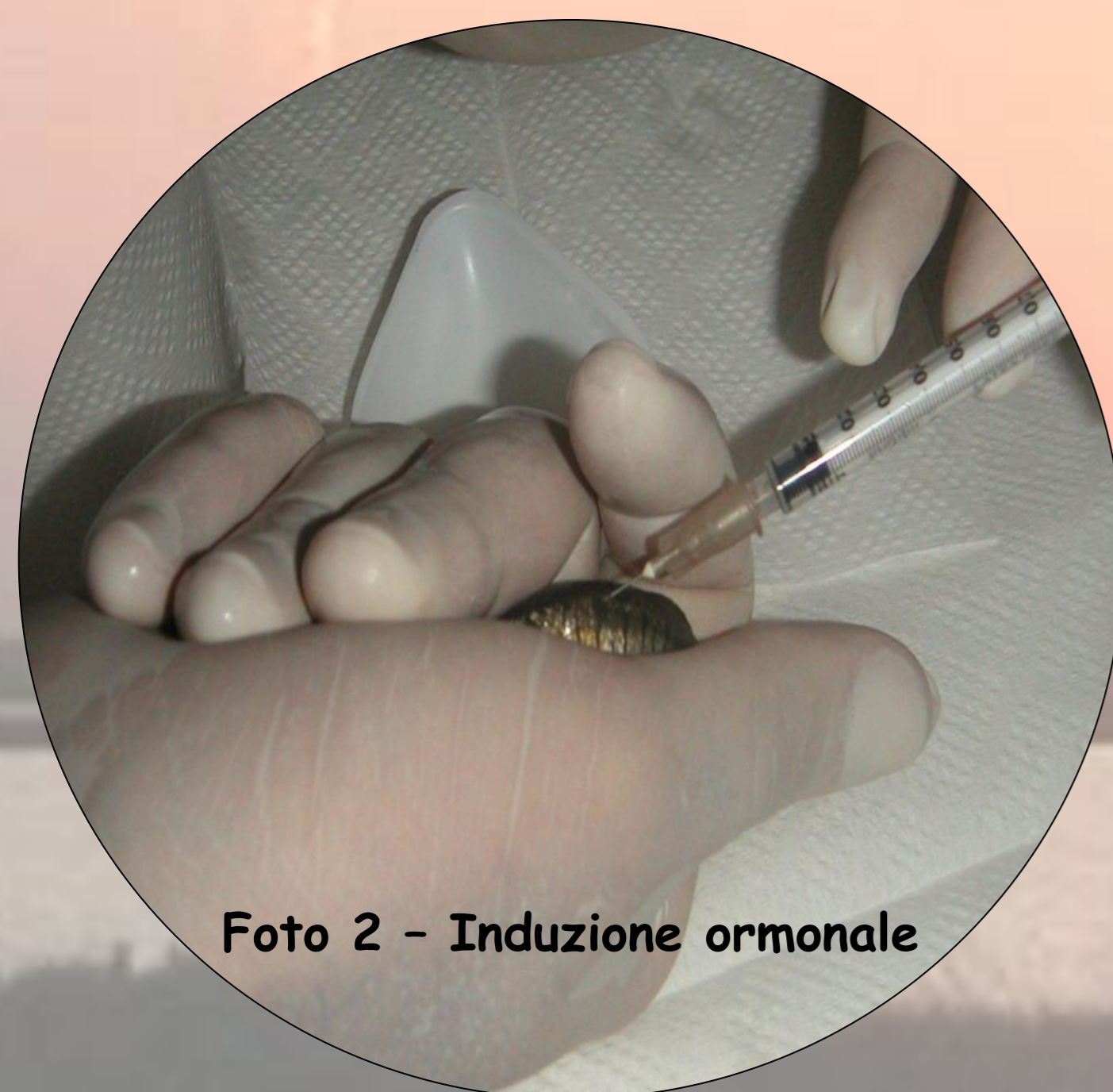


Foto 2 - Induzione ormonale

Dopo una fase iniziale di acclimatazione (10d) e di svezzamento con mangime commerciale, sono stati selezionati 18 noni (6 femmine e 12 maschi) stoccati in acquario (capacità 30l), operante a ciclo chiuso, provvisto di un sistema di filtrazione meccanica e biologica e di un dispositivo per la termoregolazione delle acque.

Gli animali sono stati sottoposti ad un programma di condizionamento (durata 10d) che prevedeva il mantenimento del fotoperiodo a regime naturale (15h luce/9h buio), una salinità dell'acqua pari a 38‰ e l'aumento della temperatura dell'acqua dai 20°C iniziali fino a 26°C mantenuti per la durata della prova.

Al termine del condizionamento i pesci sono stati sottoposti a 1 trattamento ormonale con ipofisi di carpa disidratata (10µg/g p.v. per le femmine e 3µg/g p.v. per i maschi) (Foto 2).

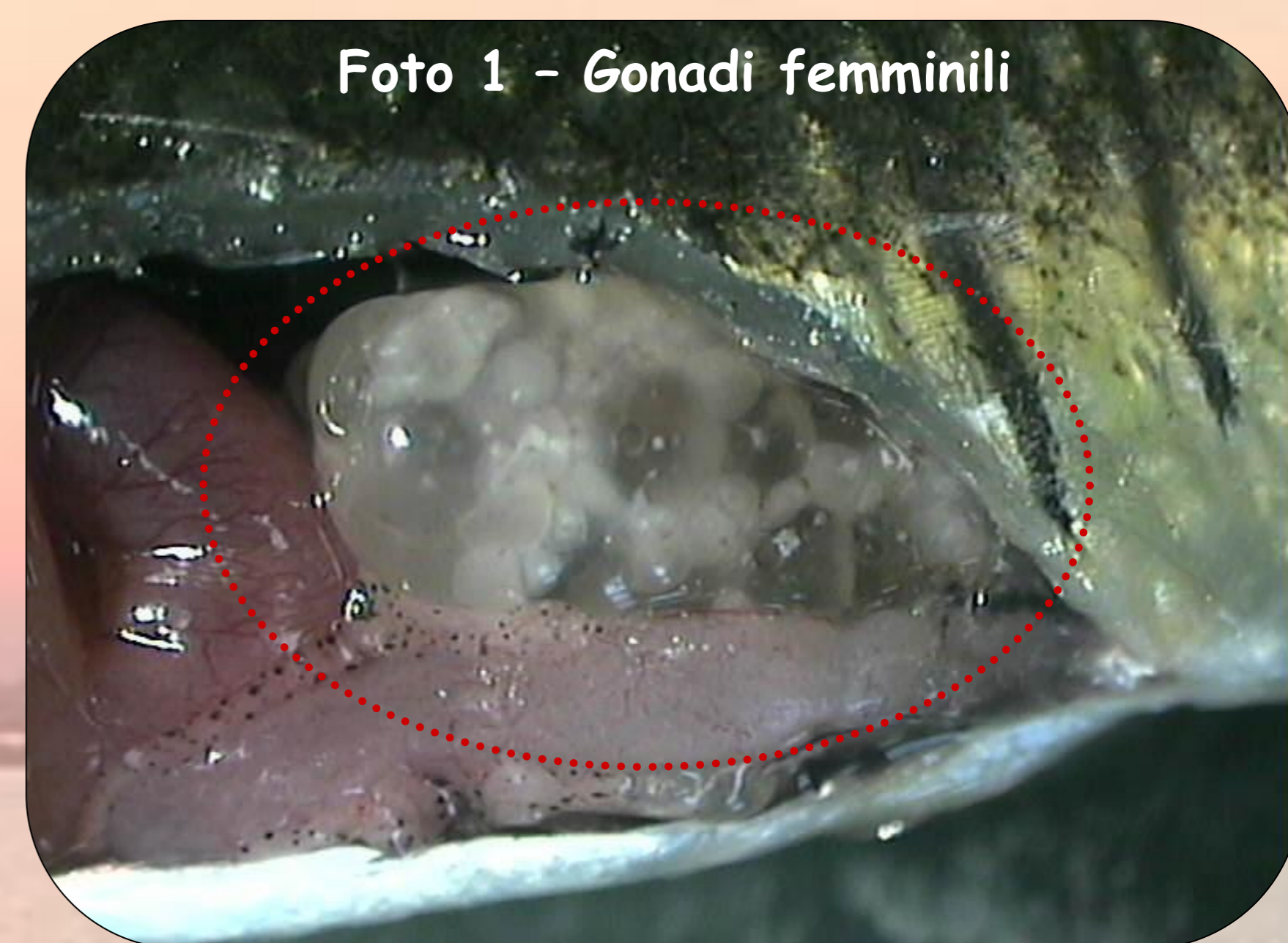


Foto 1 - Gonadi femminili

RISULTATI - Tutte le femmine presentavano i primi 3 stadi di maturazione ovarica: presenza di oogoni (I), oociti primari (II) e buona presenza di oociti secondari (III) mentre del tutto assente è risultata la presenza di oociti maturi (IV) (Foto 3). Parimenti, Frenkel e Menachem (1997) su *A. iberus* hanno osservato oociti II e III solo su femmine mantenute sopra i 18 °C e oociti maturi (IV) a partire dai 27 °C. La presenza contemporanea di più stadi ovocitari è tipico delle specie a maturazione asincrona in grado di garantire periodi di riproduzione lunghi che, nel caso di *Aphanius fasciatus*, può protrarsi per parecchi mesi (Leonardos e Sinis, 1999).

L'IGS delle femmine è risultato pari a 9,46±1,02 evidenziando il buono stato di maturazione ovarica dei soggetti esaminati.

Per quanto riguarda la riproduzione, tutte le femmine hanno raggiunto l'ovulazione mentre, nei maschi, solamente 3 pesci sono risultati fluenti in seguito a pressione addominale. L'esigua emissione ottenuta dai maschi ha, inoltre, reso impraticabile la raccolta del liquido seminale e la fecondazione artificiale a secco.

La fecondità assoluta (n°uova/femmina) registrata è risultata di 10,33±1,70 (Foto 4). I dati si presentano in linea con quelli ottenuti da Oltra e Todoli (2000) con *A. iberus* mantenuto in acquario. Il risultato, inoltre, è incoraggiante in considerazione del fatto che in ambiente naturale solitamente le femmine di *A. iberus* rilasciano 2-4 uova/giorno mentre in *A. dispar* il numero sale fino ad un massimo di 20 (Hass, 1982) e che *A. fasciatus* è facilmente soggetto ad interruzione dei processi riproduttivi in caso di condizioni ambientali non favorevoli (Leonardos e Sinis, 1998). Il diametro degli ovociti è risultato di mm 1,618±0,028 in linea con quanto osservato da Leonardos e Sinis (1998).

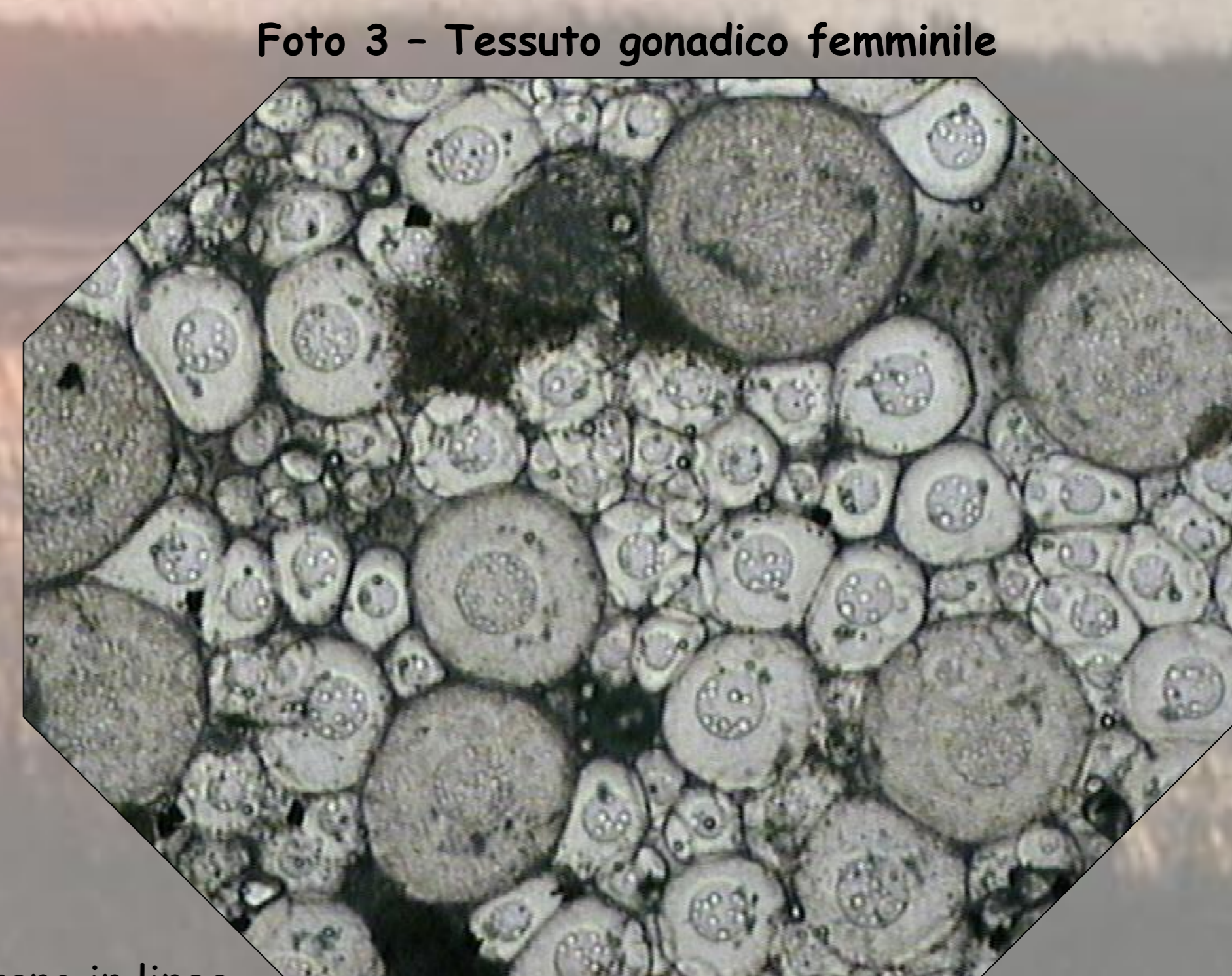


Foto 3 - Tessuto gonadico femminile



Foto 4 - Uova di *A. fasciatus*

CONCLUSIONI - La specie ha mostrato una buona capacità di adattamento alla cattività.

La manipolazione della temperatura associata al trattamento ormonale ha portato all'ovulazione di tutte le femmine mentre, nei maschi, la risposta non è risultata altrettanto positiva.

La riproduzione artificiale a secco ha, inoltre, evidenziato una certa difficoltà nella manipolazione di soggetti di taglia ridotta soprattutto in fase di raccolta dei gameti maschili. A tal proposito risulta necessario favorire, nei riproduttori trattati, l'emissione spontanea dei gameti direttamente in vasca evitando in tal modo la spremitura manuale.

La sperimentazione ha, infine, evidenziato, a causa della ridotta fecondità relativa dei noni, la necessità di disporre di un numero abbondante di riproduttori per una buona produzione di uova in termini numerici.

Bibliografia - CAIOLA N., SOSTOA A. (2005) - Possible reasons for decline of two native toothcarps in the Iberian Peninsula: evidence of competition with the introduced Eastern mosquitofish. *J. Appl. Ichthyol.*, 21:358-363. - FRENKEL V., MENACHEM G. (1997) - Some environmental factors affecting the reproduction of *Aphanius dispar* (Ruppel, 1828). *Hydrobiologia*, 347: 197-207. - FRENKEL V., MENACHEM G. (2000) - Factors affecting growth of killifish, *Aphanius dispar*, a potential biological control of mosquitoes. *Aquaculture*, 184: 255-265. - HASS R. (1982) - Notes on the ecology of *Aphanius dispar* (Pisces: Cyprinodontidae) in the Sultanate of Oman. *Freshwat Biol.*, 12: 89 - 95. - LEONARDOS I., SINIS A. (1998) - Reproductive strategy of *Aphanius*

fasciatus Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, 35: 171-181. - LEONARDOS I., SINIS A. (1999) - Population age and sex structure of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, 40: 227-235. - OLTRA R., TODOLI R. (2000) - Reproduction of the endangered killifish *Aphanius iberus* at different salinities. *Environmental Biology of Fishes*, 57: 113-115.

PROVE DI RIPRODUZIONE ARTIFICIALE DI *APHANIUS FASCIATUS* MEDIANTE CONDIZIONAMENTO ECOFISIOLOGICO ED INDUZIONE ORMONALE

REPRODUCTION OF *APHANIUS FASCIATUS* INDUCED BY ECOPHYSIOLOGICAL CONDITIONING AND HORMONAL TREATMENT

O. Mordenti¹, D. Scaravelli², M. Trentini², A. Zaccaroni², M. Gamberoni¹

¹Dipartimento Morfo-Fisiologia degli Animali Domestici, Univ. di Bologna - ² Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Univ. di Bologna



Femmina adulta di *A. fasciatus*

INTRODUZIONE - Il nono (*Aphanius fasciatus*), è un piccolo pesce a livrea rigata che abita pochi ambienti residuali delle aree costiere del Mediterraneo. Oggi è considerata una specie a rischio e inclusa nelle principali liste di protezione europee. La sua alimentazione si basa soprattutto su larve di zanzara e una sua diffusione sarebbe un ottimo controllo delle stesse (Frenkel e Menachem, 2000). Inoltre, come specie autoctona e in pericolo, la sua diffusione negli ambienti di costa sarebbe assolutamente da considerarsi di ottimo livello ambientale al contrario dell'alloctona gambusia (Caiola e Sostoa, 2005). Scopo della ricerca è quello di predisporre un protocollo di riproduzione di nono in ambiente controllato per un eventuale utilizzo su acque libere costiere per il controllo dei culicidi.



Maschi adulti di *A. fasciatus*

MATERIALI E METODI - Il reperimento degli esemplari adulti è avvenuto lungo i canali perimetrali delle saline di Cervia (RA). Si è quindi proceduto al sessaggio ed al rilievo dei principali parametri biometrici (peso e lunghezza). 7 soggetti di sesso femminile sono stati sottoposti a biopsia ovarica per la determinazione dell'IGS e l'osservazione dello stato di maturazione gonadica (Foto 1).

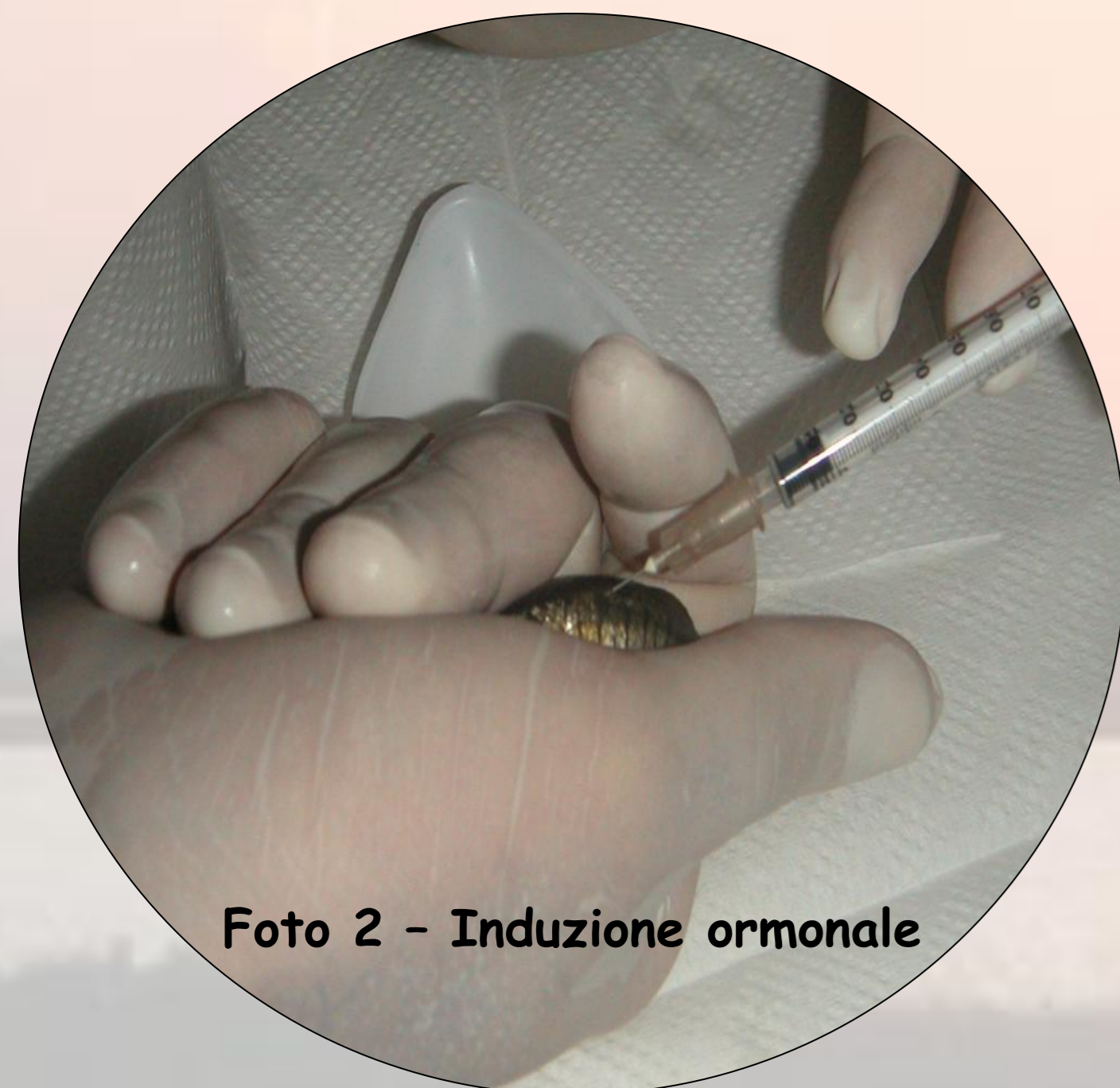


Foto 2 - Induzione ormonale

Dopo una fase iniziale di acclimatazione (10d) e di svezzamento con mangime commerciale, sono stati selezionati 18 noni (6 femmine e 12 maschi) stoccati in acquario (capacità 30l), operante a ciclo chiuso, provvisto di un sistema di filtrazione meccanica e biologica e di un dispositivo per la termoregolazione delle acque.

Gli animali sono stati sottoposti ad un programma di condizionamento (durata 10d) che prevedeva il mantenimento del fotoperiodo a regime naturale (15h luce/9h buio), una salinità dell'acqua pari a 38‰ e l'aumento della temperatura dell'acqua dai 20°C iniziali fino a 26°C mantenuti per la durata della prova.

Al termine del condizionamento i pesci sono stati sottoposti a 1 trattamento ormonale con ipofisi di carpa disidratata (10µg/g p.v. per le femmine e 3µg/g p.v. per i maschi) (Foto 2).

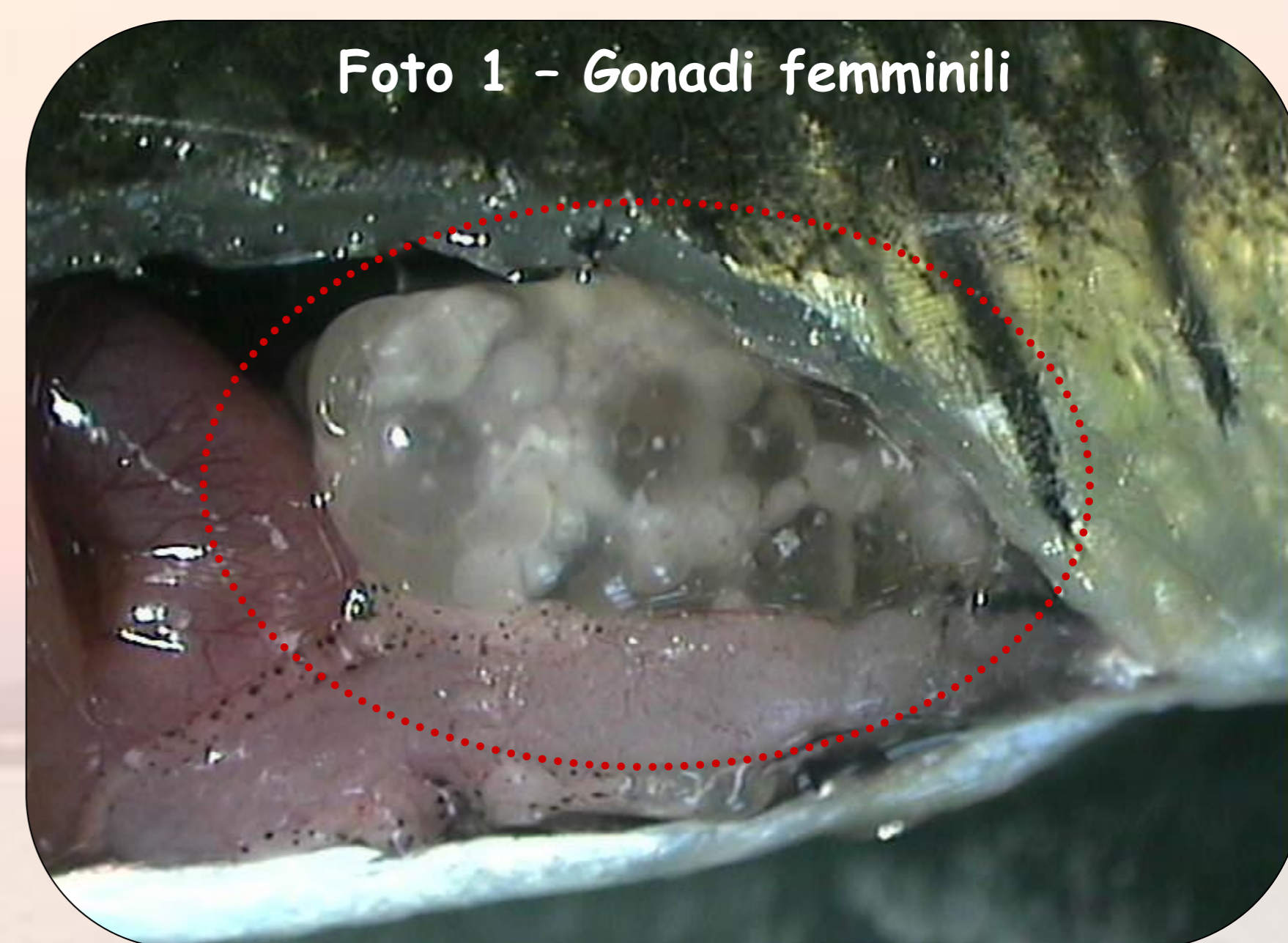


Foto 1 - Gonadi femminili

RISULTATI - Tutte le femmine presentavano i primi 3 stadi di maturazione ovarica: presenza di oogoni (I), oociti primari (II) e buona presenza di oociti secondari (III) mentre del tutto assente è risultata la presenza di oociti maturi (IV) (Foto 3). Parimenti, Frenkel e Menachem (1997) su *A. iberus* hanno osservato oociti II e III solo su femmine mantenute sopra i 18 °C e oociti maturi (IV) a partire dai 27 °C. La presenza contemporanea di più stadi ovocitari è tipico delle specie a maturazione asincrona in grado di garantire periodi di riproduzione lunghi che, nel caso di *Aphanius fasciatus*, può protrarsi per parecchi mesi (Leonardos e Sinis, 1999).

L'IGS delle femmine è risultato pari a 9,46±1,02 evidenziando il buono stato di maturazione ovarica dei soggetti esaminati.

Per quanto riguarda la riproduzione, tutte le femmine hanno raggiunto l'ovulazione mentre, nei maschi, solamente 3 pesci sono risultati fluenti in seguito a pressione addominale. L'esigua emissione ottenuta dai maschi ha, inoltre, reso impraticabile la raccolta del liquido seminale e la fecondazione artificiale a secco.

La fecondità assoluta (n°uova/femmina) registrata è risultata di 10,33±1,70 (Foto 4). I dati si presentano in linea con quelli ottenuti da Oltra e Todoli (2000) con *A. iberus* mantenuto in acquario. Il risultato, inoltre, è incoraggiante in considerazione del fatto che in ambiente naturale solitamente le femmine di *A. iberus* rilasciano 2-4 uova/giorno mentre in *A. dispar* il numero sale fino ad un massimo di 20 (Hass, 1982) e che *A. fasciatus* è facilmente soggetto ad interruzione dei processi riproduttivi in caso di condizioni ambientali non favorevoli (Leonardos e Sinis, 1998). Il diametro degli ovociti è risultato di mm 1,618±0,028 in linea con quanto osservato da Leonardos e Sinis (1998).

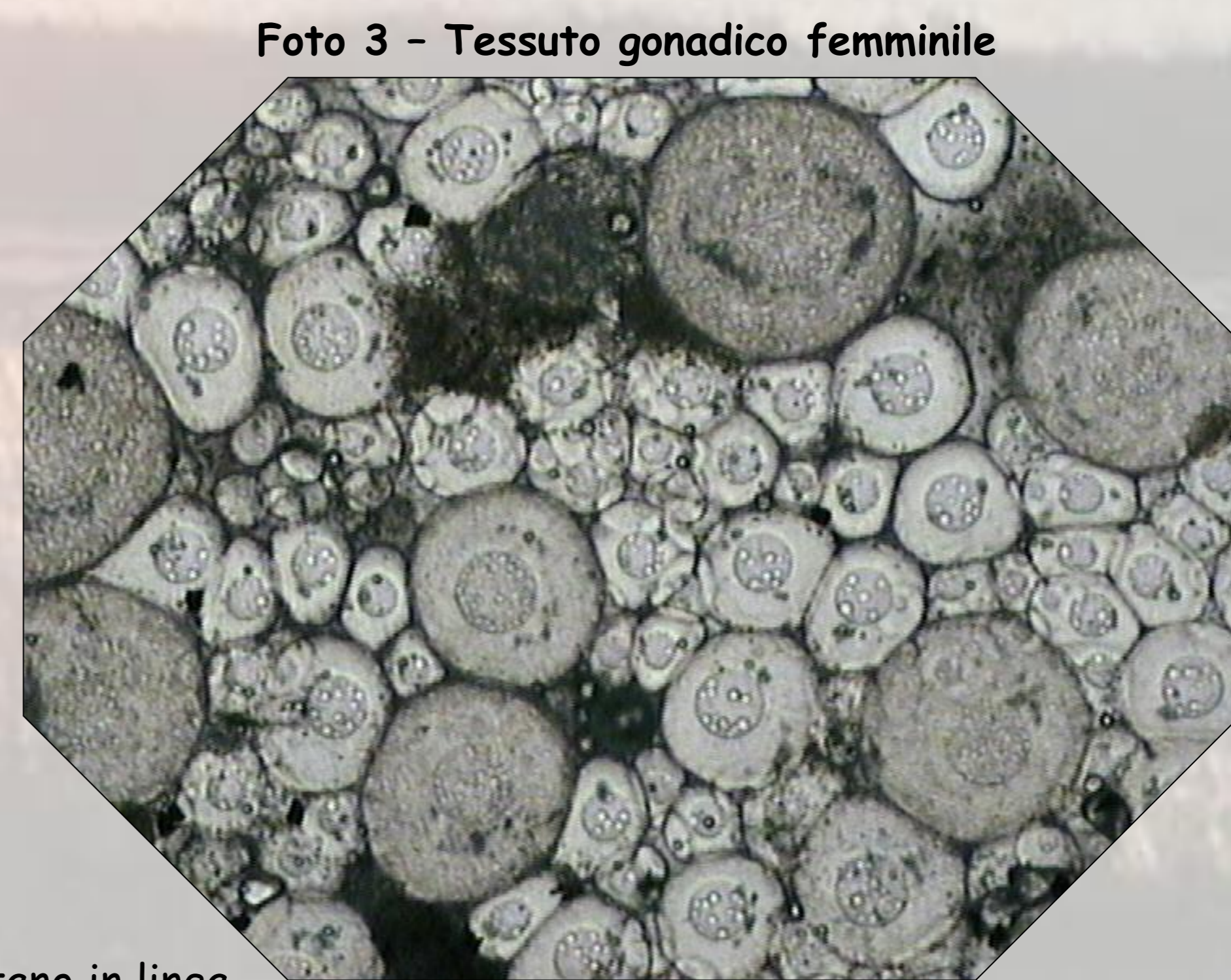


Foto 3 - Tessuto gonadico femminile



Foto 4 - Uova di *A. fasciatus*

CONCLUSIONI - La specie ha mostrato una buona capacità di adattamento alla cattività.

La manipolazione della temperatura associata al trattamento ormonale ha portato all'ovulazione di tutte le femmine mentre, nei maschi, la risposta non è risultata altrettanto positiva.

La riproduzione artificiale a secco ha, inoltre, evidenziato una certa difficoltà nella manipolazione di soggetti di taglia ridotta soprattutto in fase di raccolta dei gameti maschili. A tal proposito risulta necessario favorire, nei riproduttori trattati, l'emissione spontanea dei gameti direttamente in vasca evitando in tal modo la spremitura manuale.

La sperimentazione ha, infine, evidenziato, a causa della ridotta fecondità relativa dei noni, la necessità di disporre di un numero abbondante di riproduttori per una buona produzione di uova in termini numerici.

Bibliografia - CAIOLA N., SOSTOA A. (2005) - Possible reasons for decline of two native toothcarps in the Iberian Peninsula: evidence of competition with the introduced Eastern mosquitofish. *J. Appl. Ichthyol.*, 21:358-363. - FRENKEL V., MENACHEM G. (1997) - Some environmental factors affecting the reproduction of *Aphanius dispar* (Ruppel, 1828). *Hydrobiologia*, 347: 197-207. - FRENKEL V., MENACHEM G. (2000) - Factors affecting growth of killifish, *Aphanius dispar*, a potential biological control of mosquitoes. *Aquaculture*, 184: 255-265. - HASS R. (1982) - Notes on the ecology of *Aphanius dispar* (Pisces: Cyprinodontidae) in the Sultanate of Oman. *Freshwat Biol.*, 12: 89 - 95. - LEONARDOS I., SINIS A. (1998) - Reproductive strategy of *Aphanius*

fasciatus Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, 35: 171-181. - LEONARDOS I., SINIS A. (1999) - Population age and sex structure of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, 40: 227-235. - OLTRA R., TODOLI R. (2000) - Reproduction of the endangered killifish *Aphanius iberus* at different salinities. *Environmental Biology of Fishes*, 57: 113-115.