# FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale

Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche

Indirizzo: Ecosistemico marino

Ciclo annuale di riproduzione sessuale del corallo Astroides calycularis (Scleractinia, Dendrophylliidae) a Palinuro, Mar Tirreno Meridionale. Risultati preliminari.

Tesi di Laurea di: PUTIGNANO MARIA TERESA

Relatore: Prof. FRANCESCO ZACCANTI

**Correlatore:** 

**Dott. STEFANO GOFFREDO** 

Sessione II

Anno Accademico 2005 - 2006

# Indice

Introduzione	pag. 1
Capitolo 1 – Scopo della ricerca	pag. 4
Capitolo 2 – Materiali e metodi	pag. 5
Capitolo 3 – Risultati	pag. 8
3.1 Sessualità	pag. 8
3.2 Gametogenesi maschile	pag. 8
3.3 Gametogenesi femminile	pag. 9
3.4 Sviluppo embrionale	pag. 10
Capitolo 4 – Discussione	pag. 11
Capitolo 5 – Immagini e tabelle	pag. 12
Riferimenti bibliografici	pag. 22

Regno: Animalia, Linneo, 1758
Phylum: Cnidaria, Hatschek, 1888
Classe: Anthozoa, Ehrenberg, 1834
Sottoclasse: Hexacorallia, Haeckel, 1866
Ordine: Scleractinia, Bourne, 1900
Sottordine: Dendrophylliina, Vaughan and Wells, 1943
Famiglia: Dendrophylliidae, Gray, 1847
Genere: Astroides, Quoy and Gaimard, 1827
Specie: Astroides calycularis, Pallas, 1766



Astroides calycularis. Esemplari fotografati a Palinuro, nella zona di campionamento.

### Introduzione

La riproduzione sessuale, grazie alla generazione di nuovi individui e alla trasmissione di materiale genetico, gioca un ruolo cruciale nel ciclo vitale degli organismi, garantendo la sopravvivenza e l'evoluzione della specie (Harrison e Wallace 1990; Huges et al. 1992). La conoscenza della biologia riproduttiva è fondamentale quindi per la comprensione della dinamica di popolazione degli organismi marini (Santangelo et al. 2003). Dati basilari sono la sessualità (se ermafrodita o gonocorica), il tipo di fecondazione (se interna o esterna) e lo sviluppo (Goffredo et al. 2005). Sino agli anni 70 i dati sulla riproduzione delle scleractinie risultavano molto scarsi ed erano per lo più basati su studi condotti su popolazioni in allevamento o su osservazioni sporadiche e di breve durata in ambiente naturale (Fadlallah 1983; Richmond e Hunter 1990). Successivi studi hanno permesso di incrementare le informazioni sulla riproduzione sessuale dei coralli, soprattutto delle specie coloniali delle fasce tropicali e sub-tropicali (Fadlallah 1983; Willis et al. 1985; Babcock et al. 1986; Szmant 1986; Harrison e Wallas 1990; Richmond e Hunter 1990; Richmond 1997; Lam 2000; Heltzel e Babcock 2002; Neves e Pires 2002); sono invece ancora scarsi gli studi sulle specie solitarie e su quelle della fascia temperata (Szmant-Froelich et al. 1980; Tranter et al. 1982; Stoddart e Black 1985; Ward 1992; Beachamp 1993). In particolare, per l'area del Mediterraneo gli unici dati provengono da alcune osservazioni di oltre un secolo fa di Lacaze-Duthiers (1873, 1897) sulle specie solitarie Caryophyllia smithi, Balanophyllia regia, Leptopsammia pruvoti e coloniali Astroides calycularis e Cladopsammia rolandi, e da alcuni lavori recenti condotti nel nostro laboratorio sulle specie Balanophyllia europaea e Leptopsammia pruvoti (Goffredo e Telò 1998; Goffredo e Zaccanti 2004; Goffredo et al. 2000,2002,2004a, b, c).

La maggior parte delle scleractinie studiate risultano ermafrodite e la loro riproduzione è caratterizzata da un ciclo annuale di gametogenesi che culmina in un breve periodo di rilascio

delle cellule germinali nell'ambiente esterno, dove avviene la fecondazione (Oliver at al. *1988*; Harrison e Wallas *1990*; Richmond e Hunter *1990*). La regolazione del ciclo riproduttivo è stata correlata a vari fattori ambientali (Harrison et al. *1984*; Babcock et al. *1986*; Harrison e Wallas *1990*; Penland et al. *2004*) quali la temperatura dell'acqua, il fotoperiodo, le fasi lunari e le maree. Le condizioni ambientali possono anche influenzare la riproduzione agendo a lungo termine come elementi di pressione selettiva sulla sessualità delle popolazioni (Giese e Pearse *1974*; Bacci *1975*; Rossi *1975*; Loya *1976*; Van Moorsel *1983*; Smart *1992*; Ward *1992*; Fan e Dai *1995*; Acosta e Zea *1997*).

Secondo Harrison (1985) la condizione sessuale delle scleractinie è un carattere che si mantiene costante all'interno della stessa famiglia, pertanto definisce taxon gonocorico la famiglia dei Dendrophylliidae a cui appartiene *Astroides calycularis*, la specie oggetto di questo studio. La famiglia Dendrophylliidae è cosmopolita, raggruppa sia coralli solitari sia coloniali e comprende 148 specie viventi divise in 19 generi (Avian et al.1995; Cairns 1999; Cairns et al. 1999). In Mediterraneo la famiglia è presente con 7 specie appartenenti a 5 generi. *Astroides calycularis* è ben riconoscibile in natura, grazie al colore arancio vivo dei suoi polipi. Conosciuta sin dal XIX° secolo (Zibrowius 1995), questa specie era presente nel Pleistocene in tutto il Mediterraneo occidentale, dalle coste francesi fino a quelle africane (dallo stretto di Gibilterra alla Tunisia), come testimoniano alcuni fossili rinvenuti nelle zone di Monaco, Nizza e sulla costa nord della Corsica (Fig. 1; Seguenza 1864, 1880; Zibrowius 1991). Successivamente la distribuzione geografica di *Astroides calycularis* ha subito una regressione: la specie infatti è sparita nel settore Nord, probabilmente a seguito di variazioni climatiche generali che hanno portato al raffreddamento delle acque del mare di questa zona (Peres 1967).

Attualmente è segnalata nel sud del bacino del Mediterraneo nelle seguenti località: in Spagna, dallo stretto di Gibilterra a Capo di Palos; nel Nord Africa, dallo stretto di Gibilterra a Capo Bon (Tunisia); a Pantelleria e a Linosa; a Malta; attorno alla Sicilia; nelle isole Eolie; lungo le coste tirreniche dell'Italia, dallo stretto di Messina al Golfo di Napoli; a Ventotene fuori dal Golfo di Gaeta (Fig. 2; Zibrowius 1995). Inoltre Astroides calycularis è presente anche lungo le coste del Marocco, a sud di capo Spartel, ad ovest di Tanger, nell'Oceano Atlantico (Zibrowius 1983). Astroides calycularis vive tipicamente nell'infralitorale superiore (0-15 m di profondità), ma può raggiungere anche i 30 m di profondità; è comune su pareti verticali o all'entrata delle grotte e ricerca luoghi con idrodinamismo accentuato (Cinelli et al. 1977; Zibrowius 1978; Zibrowius 1995). È una forma azooxantellata, cioè priva di dinoflagellati simbionti (zooxantelle; Cairns 1999) e, infatti, la luce non è un fattore limitante la sua distribuzione. Le colonie, generalmente ellissoidali possono essere massicce con polipi addensati o cespugliose con polipi separati, a seconda della profondità e soprattutto dell'idrodinamismo (Fig. 3, 4; Zibrowius 1980). In prossimità della superficie, infatti, dove le acque sono generalmente più mosse, le colonie di forma massiccia presentano polipi con calice poligonale; mentre, se sono di profondità, dove le acque sono generalmente più calme, le colonie appaiono di aspetto cespuglioso e presentano polipi con calice circolare (Zibrowius 1980).

## Capitolo 1- Scopo della ricerca

Questo studio ha per oggetto la riproduzione sessuale del corallo *Astroides calycularis* nel Mar Tirreno Meridionale, a Palinuro in provincia di Salerno, Campania (40°01,81'N 15°16,74'E) e contribuisce ad arricchire le conoscenze sulla biologia delle scleractinie nel Mediterraneo (Goffredo e Telò *1998*; Goffredo et al. *2000*, *2002*, *2004*a, *2004*b; Goffredo e Zaccanti *2004*). Nell'elaborato sono riportati i risultati preliminari sul ciclo annuale di riproduzione sessuale.

### Capitolo 2- Materiali e Metodi

**Campionamento.** I polipi di *Astroides calycularis* (Pallas, *1766*) sono stati raccolti a Palinuro in 17 campionamenti mensili, eseguiti da Aprile 2004 a Ottobre 2005, ad una profondità costante compresa fra i 7 e i 10 metri, mediante immersioni effettuate con l'ausilio dell'autorespiratore ad aria. Ogni mese venivano prelevate 10 colonie, raccolte ad una distanza di circa 2 metri l'una dall'altra seguendo una linea orizzontale immaginaria. Alla fine di ogni immersione gli operatori hanno compilato una scheda di rilevamento con i dati di luogo, data, ora, temperatura dell'acqua, misurata direttamente con un termometro a mercurio alla profondità di riferimento al momento del campionamento, e la lunghezza dell'asse maggiore e minore di ogni singola colonia. Il fotoperiodo è stato calcolato attraverso almanacchi astronomici. Le colonie prelevate venivano poi immerse in una soluzione fissativa a base di formalina tamponata e inviate nei laboratori del Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale dell'Università di Bologna.

Analisi biometriche. Utilizzando un calibro sono state misurate la lunghezza (L, asse maggiore del disco orale), la larghezza (l, asse minore del disco orale) e l'altezza (h, asse oroaborale del polipo) di ogni singolo polipo all'interno delle colonie. Il volume (V) del polipo è stato calcolato usando la formula  $V = h^*(L/2)^*(l/2)^*\pi$  (Goffredo et al. 2002).

Analisi istologiche. Sono stati prelevati almeno 2 polipi da ogni colonia, uno dalla zona periferica e uno dalla zona centrale, ciascuno dei quali è stato messo in un contenitore contrassegnato con i dati dell'individuo (ACLx00/00/00Px). Dopo essere stati almeno una notte sotto acqua corrente, i campioni sono stati post-fissati per 48 ore in soluzione di Bouin e successivamente immersi in alcol etilico 50% per 24 ore, ripetendo l'operazione fino all'eliminazione di ogni traccia della soluzione fissativa. Nel passaggio successivo sono stati stoccati in alcol 70%. Si è proceduto poi con la decalcificazione in EDTA (acido

etilendiamminotetracetico) per un tempo di circa 7 o più ore, a seconda delle dimensioni del polipo; in seguito i campioni sono stati messi sotto acqua corrente per una notte e poi mantenuti in alcol 70%. Si è passati quindi alla disidratazione, immergendo il campione in una serie di alcoli con gradazione progressivamente crescente, dall'alcol 80% all'alcol 100% per circa 24 ore (si usa l'alcolimetro per raggiungere la gradazione giusta). Prima dell'inclusione in paraffina, i polipi hanno subito 3 passaggi di circa 1 ora ognuno in Histolemon, quindi sono stati inclusi. Affinché la paraffina raggiungesse la temperatura ideale, è stata posta nella stufa già calda (temperatura non superiore ai 56°C) almeno 12 ore prima dell'inclusione. È importante che le inclusioni in paraffina siano fatte con la stufa sotto vuoto per evitare la formazione di bolle d'aria, e che il corallo sia posto con il polo orale rivolto verso il fondo della vaschetta. Successivamente ciascun individuo è stato sezionato trasversalmente (il taglio è stato eseguito con un microtomo) a 7µm di spessore, secondo una sequenza seriale dal polo orale al polo aborale, ottenendo nastri di paraffina di lunghezza variabile. Le fette ricavate dai nastri sono state posizionate su vetrini porta-oggetto precedentemente lavati in alcol 100% e unti con albumina glicerinata usata come collante. Una volta asciugati sulla piastra calda sotto cappa, i preparati sono stati colorati con emallume di Mayer ed eosina; terminato un ciclo di colorazione, che dura circa 4 ore, si è proceduto con la chiusura dei vetrini, utilizzando balsamo del Canada e vetrini copri-oggetto.

Analisi citometriche. Sui preparati istologici sono stati eseguiti i rilevamenti citometrici mediante un analizzatore di immagini LEICA Q500IW. Sono stati misurati l'asse maggiore e minore degli ovociti in sezione nucleata e degli spermiari. Per quanto riguarda la dimensione di ciascun elemento riproduttivo, è stata considerata la media tra i due diametri. Gli spermiari sono stati classificati secondo cinque stadi di maturazione, riconosciuti su base morfologica (Rinkevich e Loya *1979*; Szmant-Froelich et al. *1980*; Fadlallah e Pearse 1982a; Stoddart e Black *1985*; Beachamp *1993*; Kramarsky-Winter e Loya *1998*; Kruger e Schleyer *1998*;

Glynn et al. 2000; Goffredo et al. 2002). La presenza degli embrioni nella cavità celenterica è stata registrata e il loro stadio di maturazione è stato identificato (Goffredo e Telò 1998; Goffredo et al. 2004c). Di ciascun embrione è stato misurato l'asse maggiore e minore, e la sua dimensione è stata considerata la media tra i due elementi.

Analisi statistiche: indice gonadico, maturità sessuale e fertilità. La forma degli ovociti e degli spermiari è risultata essere ellissoidale in sezione, perciò è stata eseguita una stima del loro volume usando la formula dell'ellissoide di rotazione  $V_0=4/3*D/2*(d/2)^2$ , dove  $V_0$  è il volume dell'ovocita o dello spermiario, D è l'asse maggiore e d quello minore. L'indice di sviluppo gonadico è stato espresso come percentuale di volume corporeo occupato dalle gonadi (Hall e Hughes *1996*; Goffredo et al. *2002*). La fecondità è stata espressa come numero di ovociti maturi prodotti per polipo per stagione riproduttiva. La formula utilizzata per calcolare il numero di ovociti maturi è stata la seguente: F=(A\*B)/C, dove F è la fecondità, A è la lunghezza dell'"ovario" (stimata dal numero di sezioni in cui erano presenti ovociti), B è la frequenza osservata di ovociti maturi e C è la dimensione degli ovociti maturi (Kruger e Schleyer *1998*, Goffredo et al. *2002*).

### **Capitolo 3- Risultati**

#### 3.1 Sessualità

Sino ad oggi sono stati osservati 34 polipi prelevati da 22 colonie diverse (Tabella 1 e 2). I polipi sessualmente maturi presentavano o solo cellule germinali maschili (spermiari) o solo cellule germinali femminili (ovociti); nessuno aveva entrambi i tipi di cellule. 10 polipi sono risultati di sesso maschile, (dimensioni corporee comprese tra 3,35 e 6,50 mm di lunghezza), 11 di sesso femminile, (dimensioni corporee comprese tra 3,20 e 6,65 mm di lunghezza) e 13, non mostrando cellule germinali differenziate, sono stati considerati come sessualmente immaturi (dimensioni corporee comprese tra 2,80 e 5,70 mm di lunghezza). I polipi maturi provenienti da una stessa colonia presentavano la stessa condizione sessuale indicando una sessualità di tipo gonocorico anche a livello di colonie.

#### 3.2 Gametogenesi maschile

Il numero di polipi esaminato ha permesso di riconoscere 4 dei 5 stadi di maturazione degli spermiari noti in bibliografia:

Stadio II - lo spermiario era costituito da un ammasso di spermatociti impegnati nel processo di meiosi. Si nota come il gastroderma sia gonfio e granuloso (Fig. 5A). Il diametro medio degli spermiari era di 75  $\mu$ m (ES = 6,63; N = 22).

Stadio III – lo spermiario, formato da una massa di spermatociti impegnati nel processo di meiosi, era circondato da una parete che ha preso origine dalla mesoglea (Fig. 5B, C). Il diametro medio degli spermiari era di 140  $\mu$ m (ES = 1,19 ; N = 2845).

Stadio IV – gli spermiari presentavano sia spermatociti sia spermatidi: i primi, formati da cellule meno mature e di dimensione maggiore rispetto ai secondi, si trovavano alla periferia degli spermiari; gli spermatidi, invece, formati da cellule più mature, si trovavano nella parte

centrale. In questo modo le code degli spermatidi sono protette nella cavità centrale dello spermiario (Fig. 5D). Il diametro medio di tali spermiari era di 195  $\mu$ m (ES = 1,25; N = 4299).

Stadio V – durante questo stadio si formavano gli spermatozoi veri e propri; qui si è notata la formazione del cosiddetto "bouquet" (Fadlallh e Pearse *1982*; Glynn et al. *1991*, *1996*, *2000*; Fan e Day *1998*; Neves e Pires *2002*) detto così per la colorazione che lo spermiario assume quando è completamente maturo. Le code degli spermatozoi formavano un colore rosato orientandosi tutte nella stessa direzione, mentre le teste risultavano essere più scure. Al massimo stadio di maturazione degli spermiari, si notava la fuoriuscita degli spermatozoi maturi nel celenteron e tutt'attorno si potevano trovare spermiari ormai totalmente vuoti (Fig. 5E, F). Il diametro medio degli spermari era 206  $\mu$ m (ES = 2,40; N = 1165).

I dati quantitativi preliminari sulla presenza dei diversi stadi di maturazione degli spermiari indicavano nei mesi di Aprile e Maggio una dominanza degli stadi IV e V (Tabelle 1).

#### 3.3 Gametogenesi femminile

Gli ovociti riconosciuti fino ad oggi sono ovociti vitellogenetici localizzati nello strato mesogleale dei mesenteri. Il diametro degli ovociti variava da un minimo di 36 µm a un massimo di 1529 µm. Quelli di stadio più precoce presentavano un nucleo sferico localizzato centralmente con un elevato rapporto fra nucleo e citoplasma (Fig. 6A). Negli stadi intermedi si è notata una notevole riduzione del rapporto nucleo/citoplasma per l'accumulo del vitello (Fig. 6C). Negli stadi più avanzati il nucleo assumeva una forma a "U" e migrava alla periferia della cellula aderendo strettamente alla membrana plasmatica dell'ovocita (Fig. 6F). Durante l'ovogenesi il nucleolo si trovava sempre alla periferia del nucleo (Fig. 6A, B e D). In tutti gli stadi è stata osservata nell'ovoplasma una cospicua presenza di vacuoli lipidici (Fig. 6B, D, E e F). Il materiale lipidico, di origine esogena veniva accumulato all'interno dell'ovocita mediante fagocitosi. Per la maggior parte degli ovociti esaminati, tali vacuoli si trovavano concentrati o alla periferia della cellula o attorno alla membrana nucleare.

#### 3.4 Sviluppo embrionale

A differenza degli ovociti, trovati sempre nei mesenteri, gli embrioni erano localizzati nel celenteron (Fig. 7A). Fino ad oggi è stato identificato solo lo stadio intermedio di gastrula. Lo stato di gastrula presentava uno strato esterno ectodermico chiaramente differenziato, separato dalla massa centrale endodermale da una lamina di mesoglea (Fig. 7A). Durante questo stadio di sviluppo, la gastrula evidenziava un'invaginazione dell'ectoderma, che ha portato alla formazione dello stomodeo (Fig. 7B, C, D). Il diametro degli embrioni variava da un minimo di 991 µm a un massimo di 1134 µm.

# **Capitolo 4- Discussione**

Le osservazioni che abbiamo eseguito sino ad oggi indicano una sessualità gonocorica sia a livello di polipo sia di colonia. La situazione gonocorica che si sta delineando è in contrasto con le osservazioni effettuate da Lacaze Duthiers (*1973*; riportate nella review di Fadlallah *1983*), il quale indica una condizione ermafrodita a livello di polipo, mentre è in accordo con la sessualità attesa per un membro della famiglia Dendrophylliidae, in quanto, in questo taxon, l'ermafroditismo è una condizione minoritaria (Goffredo et al. *2005*).

Mentre gli stadi della gametogenesi maschile, osservati sino ad oggi, sono morfologicamente corrispondenti a quelli di altre specie della famiglia Dendrophylliidae (Goffredo et al. *1998*, 2002, 2005), gli stadi della gametogenesi femminile si differenziano per la presenza di vacuoli lipidici. I vacuoli lipidici sono stati descritti in altre famiglie di scleractinie, ad esempio Pocilloporidae, Poritidae e Mussidae (Chornesky e Peters *1987*; Kruger E Scheleyer *1998*, Neves e Pires 2002, Vermeij et al. 2004). Nel genere ovoviparo *Madracis* (Pocilloporidae) è stato ipotizzato che il tuorlo ricco di vacuoli lipidici abbia una funzione trofica in grado di incrementare la capacità di dispersione larvale (Vermeij et al. 2004).

I dati quantitativi preliminari sulla gametogenesi maschile sembrano indicare una riproduzione primaverile, in quanto nei campioni raccolti nei mesi di Aprile e Maggio si evidenzia un trend maturativo con la dominanza degli stadi più avanzati di maturazione.

# Capitolo 5 – Immagini e tabelle



**Figura 1:** 3 colonie preservate dal Pleistocene, trovate vicino Monaco, della specie *Astroides calycularis* con i calici per lo più poligonali (immagine tratta da Zibrowius 1980).



Figura 2: Aree in cui è presente tuttora la specie Astroides calycularis:

- 1: Stretto di Gibilterra
- 2: Capo di Palos (Spagna)
- 3: Capo Bon (Tunisia)
- 4: Pantelleria
- 5: Linosa
- 6: Malta
- 7: Isole Eolie
- 8: Stretto di Messina
- 9: Golfo di Napoli
- 10: Ventotene
- 11: Capo Spartel (Marocco)
- **12:** Capo Palinuro (Campania); luogo in cui sono stati prelevati i campioni per questa ricerca.



**Figura 3:** Due scheletri di *Astroides calycularis*. Entrambe le colonie presentano una forma ellissoidale; la prima colonia ha coralli riuniti con calici prevalentemente poligonali, mentre la seconda presenta coralli separati con calici per lo più circolari.

**Figura 4:** Due esempi di colonie fotografate nel laboratorio del Dipartimento di Biologia Evoluzionistica dell'Università di Bologna e che mostrano



A: coralli separati con calici circolari

B: coralli riuniti con calici poligonali





**Figura 5 a-f:** *Astroides calycularis.* Alcuni stadi della spermatogenesi. (A) Stadio II: lo spermiario è costituito da un ammasso di spermatociti impegnati nel processo di meiosi. (B) Stadio III: lo spermiario è delimitato da una parete e contiene spermatociti impegnati nel processo di meiosi. (C) Stadio III: la parete esterna dello spermiario si origina dalla mesoglea. (D).Stadio IV: lo spermiario presenta un ampio strato esterno di spermatociti e un ammasso centrale di spermatidi. (E) Stadio V: lo spermiario è costituito da una massa di spermatozoi. (F) Stadio V: prima di lasciare lo spermiario, gli spermatozoi maturi formano un "bouquet" con le code tutte orientate nella stessa direzione. [c: code degli spermatozoi; g: gastroderma; scti: spermatociti; sdi: spermatidi; szoi: spermatozoi; II, III, IV, V: stadi dello sviluppo degli spermiari].



Figura 6 a-f: Astroides calycularis. Ovogenesi. (A) Stadio precoce: l'ovocita, localizzato nella mesoglea del mesentere, è caratterizzato da un alto rapporto nucleo-citoplasma. Si può notare il gastroderma granuloso che circonda l'ovocita. (B) Ovocita precoce localizzato nella porzione centrale del mesentere. Si nota la presenza di vacuoli lipidici nel citoplasma in prossimità del nucleo. (C) Stadio vitellogenetico intermedio: Ovocita vitellogenetico localizzato nella porzione centrale del mesentere. Il rapporto nucleocitoplasma è diminuito. Il nucleo è di forma sferica ed è ancora localizzato al centro della cellula. Il citoplasma appare omogeneo. (D) Stadio vitellogenetico avanzato: l'ooloplasma inizia a differenziarsi, sono presenti goccioline di tuorlo. Il nucleo dell'ovocita con il proprio nucleolo comincia a migrare verso la periferia della cellula. (E) Stadio vitellogenetico avanzato: ovocita maturo di grandi dimensioni nel mesentere; è caratterizzato dall'ooloplasma differenziato pieno di goccioline di tuorlo e da un nucleo periferico. (F) Stadio avanzato: dettaglio del nucleo di un ovocita maturo. Il nucleo a forma di "U" è localizzato alla periferia della cellula e comincia ad aderire all'invaginazione della membrana plasmatica dell'ovocita. L'ooloplasma è pieno di goccioline di tuorlo.[ N: nucleo; n: nucleolo; o: ovocita; m: mesoglea; g: gastroderma; vl: vacuolo lipidico; t: goccioline di tuorlo].



**Figura 7 a-d:** *Astroides calycularis.* Sviluppo embrionale. (A) gastrula nella cavità celenterica. Durante questo stadio di sviluppo, l'ectoderma si distingue chiaramente dall'endoderma. (B-D) Dettagli dell'invaginazione stomodeale della gastrula [ec: ectoderma; en: endoderma; s: invaginazione stomodeale; m: mesoglea].

**Tabella 1:** *Astroides calycularis.* Dimensione e stato riproduttivo dei polipi misurati. L: asse maggiore del disco orale; l: asse minore del disco orale; h: asse oro-aborale; V: volume del polipo; c: polipo centrale; p: polipo periferico; F: polipo femmina; M: polipo maschio; I: polipo immaturo; R: polipo rovinato, analisi citometrica non eseguita; s1, s2, s3, s4, s5: stadi di maturazione degli spermiari.

data del campionamento	codice polipo	posizione	L (mm)	l (mm)	h (mm)	V (mm^3)	sesso	numero totale ovociti	% ovociti fino a 390 µm	% ovociti oltre 390 µm	embrioni incubati	numero totale spermiari	% s1	% s2	% s3	% s4	% s5	Note
24 aprile 2004	Ac11-240404-P1	с	3.35	3.00	4.00	31.57	М	-			-	4	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	-
24 aprile 2004	Ac11-240404-P2	р	5.40	5.15	5.50	12.13	М	-			-	2168	0.00	0.00	21.45	65.18	1.38	-
24 aprile 2004	Ac13-240404-P1	с	4.75	4.50	4.90	82.26	F	-			-	-						R
24 aprile 2004	Ac13-240404-P2	р	3.20	3.15	3.10	24.54	F	-			-	-						R
24 aprile 2004	Ac16-240404-P1	с	5.75	5.55	5.60	140.36	М	-			-	2159	0.00	0.05	20.52	60.91	18.53	-
24 aprile 2004	Ac16-240404-P2	р	5.00	4.60	4.65	84.00	М	-			-	1037	0.00	0.00	27.97	59.21	12.83	-
24 maggio 2004	Ac11-240504-P1	с	4.55	4.00	4.40	62.89	М	-			-	100	0.00	0.00	0.00	5.00	95.00	-
24 maggio 2004	Ac11-240504-P2	р	5.10	4.95	2.75	54.53	М	-			-	134	0.00	0.00	0.00	2.99	97.01	-
24 maggio 2004	Ac14-240504-P2	р	6.00	5.75	4.30	116.51	F	19	100.00	0.00	si	-						-
1 luglio 2004	Ac11-010704-P1	с	5.35	5.30	4.10	91.31	F	49	93.88	6.12	no	-						-
1 luglio 2004	Ac11-010704-P2	р	3.10	2.95	2.90	20.83	Ι	-			-	-						-
25 luglio 2004	Ac12-250704-P1	с	5.70	5.60	4.30	107.80	Ι	-			-	-						-
25 luglio 2004	Ac12-250704-P2	р	5.30	5.00	2.45	50.99	Ι	-			-	-						-
25 luglio 2004	Ac19-250704-P2	р	4.55	4.45	4.50	71.56	Ι	-			-	-						-
30 agosto 2004	Ac11-300804-P1	с	4.35	2.80	3.70	35.39	Ι	-			-	-						-
30 agosto 2004	Ac11-300804-P2	р	4.35	4.25	4.50	65.34	Ι	-			-	-						-
30 agosto 2004	Ac17-300804-P2	р	5.50	4.85	4.15	86.94	Ι	-										-

data del campionamento	codice polipo	posizione	L (mm)	l (mm)	h (mm)	V (mm^3)	sesso	numero totale ovociti	% ovociti fino a 390 µm	% ovociti oltre 390 µm	embrioni incubati	numero totale spermiari	% s1	% s2	% s3	% s4	% s5	Note
3 ottobre 2004	Ac11-031004-P1	с	5.60	5.50	4.50	108.86	Ι	-			-	-						-
3 ottobre 2004	Acl1-031004-P2	р	5.05	5.05	3.80	76.11	Ι	-			-	-						-
3 ottobre 2004	Acl5-031004-P1	с	5.50	5.30	5.95	136.22	Ι	-			-	-						-
25 novembre 2004	Acl2-251104-P1	с	5.35	5.30	5.30	118.03	F	59	77.97	22.03	no	-						-
25 novembre 2004	Acl2-251104-P2	р	2.80	2.55	3.10	17.38	Ι	-			-	-						-
20 dicembre 2004	Acl4-201204-P1	с	5.35	4.95	4.75	98.80	М	-			-	1134	0.00	0.26	18.17	80.34	1.23	-
20 dicembre 2004	Acl4-201204-P2	р	4.30	4.05	5.30	72.49	М	-			-	46	0.00	13.04	86.96	0.00	0.00	-
27 febbraio 2005	Acl1-270205-P1	с	4.15	3.65	7.10	84.47	F	18	100.00	0.00	no	-						-
27 febbraio 2005	Acl1-270205-P2	р	4.35	4.10	5.10	71.44	F	19	100.00	0.00	no	-						-
26 marzo 2005	Acl2-260305-P1	с	5.85	5.00	6.15	141.28	М	-			-	1446	0.00	0.83	96.89	2.28	0.00	-
26 marzo 2005	Ac14-260305-P1	с	6.65	6.25	5.00	163.22	F	29	31.03	68.97	no	-						-
27 aprile 2005	Acl2-270405-P2	р	5.95	5.60	6.30	164.87	F	44	97.73	2.27	no	-						-
30 maggio 2005	Ac17-300505-P1	с	5.65	5.60	3.75	93.19	М	-				103	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	-
1 luglio 2005	Ac11-010705-P1	с	5.35	4.65	4.75	92.81	F	33	96.97	3.03	no	-						-
1 luglio 2005	Acl1-010705-P2	р	5.15	5.05	5.60	114.39	F	45	100.00	0.00	no	-						-
29 luglio 2005	Ac13-290705-P1	с	4.50	4.20	3.05	45.27	Ι											-
4 settembre 2005	Ac15-040905-P1	с	4.85	4.65	4.65	82.36	Ι											-

Tabella 1 continuazione: Astroides calycularis. Dimensione e stato riproduttivo dei polipi misurati.

**Tabella 2**: *Astroides calycularis*. Dimensione e stato riproduttivo delle colonie misurate. L: lunghezza asse maggiore della colonia; l: lunghezza asse minore della colonia; A: area della colonia; M: numero polipi maschili; F: numero polipi femminili; I: numero polipi immaturi.

data del campionamento	codice colonia	polipi per colonia	L (cm)	l (cm)	A (cm^2)	numero polipi analizzati per colonia	М	F	Ι
	Ac11-240404	33	4.00	3.00	9.42	2	2	0	0
24 aprile 2004	Ac13-240404	61	4.00	3.80	11.94	2	0	2	0
	Ac16-240404	54	4.50	3.80	13.43	2	2	0	0
24 maggie 2004	Ac11-240504	59	5.50	3.50	15.12	2	2	0	0
24 maggio 2004	Ac14-240504	104	4.50	4.50	15.90	1	0	1	0
1 luglio 2004	Ac11-010704	15	2.50	1.80	3.53	2	0	1	1
25 luglio 2004	Ac12-250704	8	2.00	1.30	2.04	2	0	0	2
	Ac19-250704	15	3.50	2.00	5.50	1	0	0	1
30 agosto 2004	Ac11-300804	16	3.50	1.80	4.95	2	0	0	2
	Ac17-300804	54	5.80	4.00	18.22	1	0	0	1
3 ottobre 2004	Ac11-031004	87	5.00	4.30	16.89	2	0	0	2
	Ac15-031004	101	5.30	4.80	19.98	1	0	0	1
25 novembre 2004	Acl2-251104	40	3.50	2.80	7.70	2	0	1	1
20 dicembre 2004	Acl4-201204	39	3.90	3.00	9.19	2	2	0	0
27 febbraio 2005	Acl1-270205	37	2.00	2.10	3.30	2	0	2	0
26 marza 2005	Ac12-260305	111	8.00	3.50	21.99	1	1	0	0
26 marzo 2005	Ac14-260305	89	5.50	3.50	15.12	1	0	1	0
27 aprile 2005	Ac12-270405	93	8.60	5.00	33.77	1	0	1	0
30 maggio 2005	Ac17-300505	73	6.30	5.10	25.23	1	1	0	0
1 luglio 2005	Acl1-010705	59	5.50	4.00	17.28	2	0	2	0
29 luglio 2005	Ac13-290705	91	6.40	4.90	24.63	1	0	0	1
4 settembre 2005	Ac15-040905	58	6.00	4.50	21.21	1	0	0	1

### **Riferimenti Bibliografici**

- Acosta a, Zea S (1997) Sexual reproduction of the reef coral *Montastrea cavernosa* (Scleractinia: Faviidae) in the Santa Marta area, Caribbean coast of Colombia. *Mar Biol* **128**: 141-148.
- Avian M, Boero F, Millis C, Rossi L, Rottini-Sandrini L (1995) Cnidaria, Ctenophora. In: Minelli A, Ruffo S, La Posta S (eds) Checklist delle specie della fauna italiana. Edizioni Calderoni, Bologna, pp 1-38.
- Babcock RC, Bull G, Harrison PL, Heyward AJ, Oliver JK, Wallace CC, Willis BL (1986)
  Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. *Mar Biol* **90**: 379-394.
- Bacci G (1975) Genetic and environmental control of sex determination in marine animals. *Pubbl Staz Zool Napoli* **39**: 366-376.
- Beachamp KA (1993) Gametogenesis, broading and planulation in laboratory population of a temperate scleractinian coral *Balanophyllia elegans* maintained under contrasting photoperiod regimes. *Invert Repr Dev* 23:171-182.
- Cairns SD (1999) Species richness of recent scleractinia. Atoll Ress Bull 459:1-12.
- Cairns SD; Hoeksema BW, van Der Land Jn (1999) Appendix: list of exant stony corals. *Atoll Ress Bull* **459**: 13-46.
- Cinelli F, Fresi E, Mazzella L, Pansini M, Pronzato R, Svoboda A (1977) Distribuition of benthic phyto- and zoocoenoses along a light gradient in a superficial marine cave. *Biology of benthic* organisms, 11<sup>th</sup> European symposium on marine biology, Galway, October 1976, ed. B.F.Keegam, P.O. Ceidigh e P.J.S. Boaden, pp 173-183, fig.4.
- Chornesky EA, Peters EC (1987) Sexual reproduction and colony growth in the scleractinian coral *Porites Astroydes*. *Biol. Bull.* **172:** 161-177.
- Fadlallah YH (1983) Sexual reproduction, development and larval biology in scleractinian corals: a review. *Coral Reefs* **2**:129-150.
- Fadlallah YH, Pearse JS (1982) Sexual reproduction in solitary corals: overlapping oogenic and brooding cycles, and benthic planulas in *Balanophyllia elegans*. *Mar Biol* **71**:223-231.
- Fan TH, Dai CF (1995) reproductive ecology of the scleractinian coral *Echinopora lamellosa* in northern and southern Taiwan. *Mar Biol* **123**: 565-572.
- Fan TH, Dai CF (1998) Sexual reproduction of scleractinian coral Merulina ampliata in southern Taiwan. *Bull Mar Sci* **62**: 897-904.
- Giese AG, Pearse JS (1974) Introduction: general principles. In: Giese AG, Pearse JS (eds) Reproduction of marine invertebrates. I. Acoelomates and pseudocoelomate metazoans. *Academic Press, New York*, pp 1-49.

- Glynn PW, Gassman NJ, Eakin CM, Smith DB, Gurman HM (1991) Reef coral reproduction in the estern Pacific: Costa Rica, Panama and Galapagos Islands (Ecuador).1. Pocilloporidae. *Mar Biol* 109: 355-368.
- Glynn PW, Colley SB, Gassman NJ, Black K, Cortés J, Maté JL (1996) Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama and Galapagos Islands (Ecuador). 3. Agariciidae (*Pavona gigantean* and *Gardineroseris planulata*). *Mar Biol* **125**:579-601.
- Glynn PW, Colley SB, Ting JH, Mate JL, Guzman HM(2000) Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama and Galapagos Island (Ecuador). IV. Agariciidae, recruitment and recovery of *Pavona varians and Pavona* s.p.a. *Mar Biol* **136**:785-805.
- Goffredo S, Arnone S, Zaccanti F (2002) Sexual reproduction I the Mediterranean solitary coral *Balanophyllia europea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). *Mar Ecol Prog Ser* **229**:83-94.
- Goffredo S, Mattioli G, Zaccanti F (2004a) Growth and population dynamics model of the Mediterranean solitary coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). *Coral Reefs* **23**:433-443.
- Goffredo S, Mezzomonaco L, Zaccanti F (2004b) Genetic differentiation among populations of the Mediterranean hermaphroditic brooding coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). *Mar Biol* 145:DOI 10.1007/S00227-004-1403-x.
- Goffredo S, Radetic J, Airi V, Zaccanti F (2004c) Sexual reproduction of the Mediterranean solitary sunset cup coral *Leptopsammia pruvoti* (Scleractinia, Dendrophylliidae) in the Mediterranean. 1. Morphological aspects of gametogenesis and ontogenesis. *Mar Biol submitted*.
- Goffredo S, Telò T (1998) Hermaphroditism and brooding in the solitary coral *Balanophyllia europaea* (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia). *Ital J Zool* **65**:159-165.
- Goffredo S, Telò T, Scanabissi F (2000) Ultrastructural observation of the spermatogenesis of the hermaphroditic solitary coral *Balanophyllia europaea* (Anthozoa, Scleractinia). Zoomorphology **119**:231-240.
- Goffredo S, Zaccanti F (2004) Laboratory observation of larval behavior and metamorphosis in the Mediterranean solitary coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). *Bull Mar Sci* **74**: 449-458.
- Goffredo S, Radetic' J, Airi V, Zaccanti F (2005) Sexual reproduction of the solitary sunset cup coral *Leptopsammia pruvoti* (Scleractinia, Dendrophylliidae) in the Mediterranean. Morphological aspects of gametogenesis and ontogenesis. *Marine Biology* 147: 485-495.
- Harrison PL, Babcock RC, Bull GD, Oliver JK, Wallace CC, Willis BL (1984) Mass spawning in tropical reef corals. *Science* **223**:1186-1189.
- Harrison PL, Wallace CC (1990) Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals.In: Dubinsky Z(ed) Ecosystem of the world. 25.*Coral Reefs. Elsevier, Amsterdam*, pp. 133-207.

- Heltzel PS, Babcock RC (2002) Sexual reproduction, larval development and benthic planulae of the solitary coral *Monomyces rubrum* (Scleractinia: Anthozoa). *Mar Biol* **140**:659-667.
- Huges JA, Randall D, Shapiro D (1992) Faltering from ethnography to design, in: "CSCW '92. ACM 1992 Conference of Computer-Supported Cooperative Work: Sharing Perspectives," ACM Press, New York, pp. 115-123.
- Kramarsky-Winter E, Loya Y (1998) Reproductive strategies of two fungiid corals from the northern Red Sea: environmental constraints? *Mar Ecol Prog Ser* **174**:175-182.
- Kruger A, Schleyer MH (1998) Sexual reproduction in the coral *Pacillopora verrucosa* (Cnidaria, Scleractinia) in KwaZulu-Natal, South Africa. *Mar Biol* **132**: 703-710.
- Lacaze-Duthiers H (1873) Développment des coralliaires. Actinaires à Polypiers. Arch Zool Exp Gén 2 :269-348.
- Lacaze-Duthiers H (1897) Faune du Golfe du Lion. Coralliaires, Zooanthaires, Sclérodermés. *Arch Zool Exp Gén* **5**:1-249.
- Lam KKY (2000) Sexual reproduction of a low-temperature tolerant coral *Oulastrea crispate* (Scleractinia, Faviidae) in Hong Kong, China. *Mar Ecol Prog Ser* **205**:101-111.
- Loya Y (1976) The red sea coral Stylophora pistillata is an r strategist. Nature 259: 478-480.
- Neves EG, Pires DO (2002) Sexual reproduction of Brasilian coral *Mussimilia hispida* (Verril, 1902).*Coral reefs* **21**:161-168.
- Oliver JK, Babcock RC, Harrison PL ,Willis BL (1988) Geographic extent of mass coral spawning: clues to ultimate causal factors. *Proc* 6<sup>th</sup> *Int Coral Reefs Symp Townsville* 2: 803-810.
- Penland L, Kloulechad J, Idip D, van Woesik R (2004) Coral spawning in the western Pacific Ocean is related to solar insolation: evidence of multiple spawning events in Palau. *Coral Reefs* 23:133-140.
- Peres JM (1967) The Mediterranean benthos. *Oceanography and marine biology, an annual review*, **5**, pp 449-533.
- Richmond RH, Hunter CL (1990) reproduction and recruitment of coral: comparisons among the Caribbean, the tropical Pacific, and the red Sea. *Mar Ecol Prog Ser* **60**:185-203.
- Richmond RH (1997) Reproduction and recruitment in corals: critical links in the persistence of reef. In: Birkeland C (ed) Life and death of coral reef. *Chapman and Hall Inc.*, pp 175-197.
- Rinkevich B, Loya Y(1979) The Reproduction of the Red Sea coral *Stylophora pistillata*. I. Gonads and Planulae. *Mar Ecol Prog Ser* **1**:133-144.
- Rossi L (1975) Sexual races in Cereus pedunculatus (Boad). Publ Staz Zool 39: 462-470.
- Santangelo G, Carletti E, Maggi E, Bramanti L (2003) Reproduction and population sexual structure of the overexploited Mediterranean red coral *Corallium rubrum*. *Mar Ecol Prog Ser* **248**: 99-108.

Sequenza G (1864) Disquisizioni paleontologiche intorno ai coralli fossili delle rocce terziarie del distretto di Messina. *Memorie della Reale accademia delle scienze di Torino*, **21**:399-560.

- Sequenza G (1880) Le formazioni terziarie nella provincia di Reggio (Calabria). *Atti della Reale accademia dei Lincei* **6**: 446.
- Stoddart JA, Black R (1985) Cycles of gametogenesis and planulation in the coral *Pocillopora damicornis. Mar Ecol Prog Ser* **23**:153-164.
- Szmant AM (1986) reproductive ecology of Caribbean reef coral. Coral Reefs 5:43-54.
- Szmant-Froelich A, Yevich P, Pilson MEQ (1980) Gametogenesis and early development of the temperate coral *Astrangia danae* (Anthozoe: Scleractinia). *Biol Bull* **158**:257-269.
- Tranter PRG, Nicholson Dn, Kinchinton D (1982) A description of the spawning and postgastrula development of the cool temperate coral *Caryophyllia smithii* (Stokes and Broderip). *J Mar Biol Assoc UK* 62: 845-854.
- Van Moorsel GWNM (1983) Reproductive strategies in two closely related stony corals (Agaricia, Scleractinia). *Mar Ecol Prog Ser* **13**: 273-283.
- Ward S (1992) Evidence for broadcast spawning as well as brooding in the scleractinian coral *Pocillopora domicornis. Mar Biol* **112:**641-646.
- Willis BL, Babcock RC, Harrison PL, Oliver JK, Wallace CC (1985) Patterns in the mass spawning of corals on the great barrier reef from 1981 to 1984. *Proc* 5<sup>th</sup> *Int Coral Reef Symp Tahiti* **4**:343-348.
- Vermeij MJA; Sampayo E; Broker K, Bak RPM (2004) The reproductive biology of closely related coral species: gametogenesis in *Madracis* from the southern Carribean. *Coral Reefs*.
- Zibrowius H(1978) Les scléractiniaires des grottes sous-marines en Méditerranée et dans l'Atlantique nord- oriental (Portugal, Madér, Canaries, Açores). *Pubblicazioni della stazione zoologica di Napoli* **40**, (2) :516-545,8 fig.
- Zibrowius H (1980) Les scléractiniaires de la Méditerranée et de l'Atlantique nord- oriental. *Mem Inst Oceanogr (Monaco)* **11** :1-284.
- Zibrowius H (1983) Nouvelles donneés sur la distribution del quelques scléractiniaires « méditerranéens » à l'Est et à l'Ouest du détroit de Gibraltar. Rapprts et procés-verbaux des réunion- *Commision internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée*, 28 (3) :307-309.
- Zibrowius H (1991) Les scléractiniaires du Miocéne au Pléistocène de Sicile et de Calabre de Giuseppe Seguenza (1864,1880) (Cnidaria, Anthozoa). Atti della Accademia peloritana dei pericolanti, Messina 67, Supplemento 1, (1) : 75-135.
- Zibrowius H(1995) The « southern » *Astroides Calycularis* in the Pleistocene of the northern Mediterranean- an indicator of climatic change (Cnidaria, Scleractinia).*GEOBIOS* **28**,1: 9-16.