

MARCO ARCULEO, SABRINA LO BRUTTO,  
TERESA MAGGIO & MARGHERITA SIRNA TERRANOVA

IDENTIFICAZIONE DI STOCK MEDIANTE ANALISI DEL DNA  
NUCLEARE E MITOCONDRIALE NELLE SPECIE ITTICHE  
*MERLUCCIUS MERLUCCIUS* (NASELLO),  
*MULLUS BARBATUS* (TRIGLIA DI FANGO)  
E *SERIOLA DUMERILI* (RICCIOLA)  
CATTURATE LUNGO LE COSTE SICILIANE

RIASSUNTO

Vengono riportati i risultati di una ricerca condotta sulla variazione genetica di tre specie ittiche (nasello, triglia di fango e ricciola) di elevato valore commerciale attraverso marcatori molecolari (DNA genomico e mitocondriale). In particolare la ricerca è stata effettuata nelle acque siciliane ed ha avuto come obiettivo principale quello di identificare la presenza di unità riproduttivamente isolate (*stock*). Il nasello e la triglia di fango sono stati studiati attraverso l'analisi di *loci* microsatelliti, mentre la ricciola è stata analizzata attraverso la sequenza di una porzione della regione di controllo del DNA mitocondriale. Il nasello e la triglia di fango hanno mostrato un livello di variazione genica alto per il numero di alleli presenti nei *loci* esaminati. Entrambe le specie presentano un *deficit* di eterozigoti attribuibile a fattori stocastici o deterministici. Gli indici di eterogeneità genetica (*F* di Wrigth) non hanno messo in evidenza particolari differenze tra i siti esaminati anche se bisognerà monitorare nel tempo eventuali cambiamenti. Per quanto riguarda la ricciola il dato di estremo interesse è quello di avere evidenziato che tutti gli individui possono essere separati in due linee evolutive denominate nel testo *Clade-1* e *Clade-2*. L'ipotesi più probabile, considerata la biologia di questa specie, è una possibile immigrazione occasionale di individui di diversa origine: atlantica oppure da altre aree del Mediterraneo dove popolazioni diverse possono essere state sottoposte a selezione o eccessivo sfruttamento. Anche in questo caso bisogna controllare nel tempo eventuali modificazioni della variazione genetica al fine di poter adottare piani gestionali adeguati.

SUMMARY

This paper discusses the results of research conducted into the genetic structure of three piscine species (European hake, red mullet and greater amberjack) using nuclear and mitochondrial markers. The main goal of the research was to identify reproductively isolated units and the sampling area

included the coasts of Sicily (southern Italy). The analysis of the hake and red mullet was performed throughout the assessment of variation in microsatellite *loci*, while the variation in the mitochondrial control region was analysed in the greater amberjack. The hake and the red mullet displayed a high level of variability in terms of the number of alleles per locus. Both species showed a deficit of heterozygotes, due to a Wahlund effect or a selection against heterozygotes. Moreover, the heterogeneity indices (Wright's *F*-statistics) did not reveal any differences among the samples. Regarding the population structure of the greater amberjack, all specimens were separated into two clusters, named *Clade-1* and *Clade-2*. The latter, respect the former *Clade-1* within which the larger number of individuals was present, was supposed to have originated in a different geographical area.

## INTRODUZIONE

Lo sfruttamento delle risorse ittiche in Mediterraneo ed in particolare nei mari siciliani ha subito, negli ultimi anni, un notevole incremento causando una costante e continua riduzione dei quantitativi catturati (ARCULEO *et al.*, 1985, 1987, 1988). È ormai dimostrato, a livello mondiale, che la maggior parte delle specie ittiche di interesse commerciale è attualmente sottoposta ad una eccessiva pressione di pesca (FAO, 1997; GARCIA & DE LEIVA MORENO, 2001). Le conseguenze del sovrasfruttamento si manifestano, in alcune aree, con la riduzione della biodiversità in termini di ricchezza specifica e variazione genetica (BOMBACE, 2002).

Tra tutte le risorse di pesca, le specie, oggetto della presente ricerca (il nasello, la triglia di fango e la ricciola), continuano a rappresentare una importante fonte alimentare ed economica per il nostro paese nonostante negli ultimi anni si sia registrato un calo dei rendimenti totali (AA.VV., 1988; ORSI RELINI *et al.*, 2002; OLIVER & MASSUTI, 1995; TSERPES *et al.*, 2002). L'attività di pesca effettuata sulle classi giovanili di queste specie sta contribuendo ad un impoverimento generale, che non garantisce un sufficiente recupero della biomassa sottratta con le catture (AA.VV., 1988; ANDALORO *et al.*, 1998; ANDALORO *et al.*, 2002; ARCULEO *et al.*, 1988; CANNIZZARO *et al.*, 2002; LEVI *et al.*, 1994). In particolare, le catture di ricciola sono sempre più abbondanti grazie al crescente interesse che questa specie riveste per l'acquacoltura (allevamento in gabbie *off-shore*), per la quale viene scelta grazie al rapido tasso di crescita (PORRELLO *et al.*, 1993; LAZZARI, 1991).

Negli ultimi anni ricercatori ed amministratori hanno rivolto maggiore attenzione verso gli studi condotti sulla identificazione e gestione di *stock* ittici al fine di poter adottare ed effettuare strategie ottimali per un uso razionale delle risorse ittiche e per rispondere alle esigenze sempre più crescenti del comparto pesca.

L'identificazione di *stock* ittici, anche se tradizionalmente associata allo

studio dei principali parametri utilizzati nella biologia delle popolazioni, si avvale, ormai, del contributo dei marcatori molecolari ricavati dall'analisi del DNA nucleare o del DNA mitocondriale (CARVALHO & HAUSER, 1995). L'utilizzo di tecniche molecolari negli studi applicati alla biologia della pesca si sono rilevati utili e di estremo interesse contribuendo così a chiarire alcuni aspetti che riguardano la gestione delle risorse ittiche. Conseguentemente, il concetto di *stock* o di unità gestionale ha subito negli anni diverse modifiche. Oggi la definizione più ricorrente tra i biologi della pesca è quella con la quale si definisce lo *stock* come una unità riproduttivamente isolata, geneticamente diversa dagli altri *stock*, cioè costituita da un gruppo di individui con caratteristiche genetiche omogenee.

Nell'ambito di un progetto finanziato dalla Regione Siciliana (Progetto POR- Sicilia 2000/2006, cod. 1999.IT.16.1.011./4.17b/8.3.7/0006, Assessorato Cooperazione, Commercio, Artigianato e Pesca) è stata effettuata una ricerca che ha avuto come obiettivo principale quello di studiare, attraverso l'impiego di differenti marcatori molecolari, la struttura di popolazione ed il grado di variazione genetica di tre importanti specie ittiche: il nasello (*Merluccius merluccius*), la triglia di fango (*Mullus barbatus*) e la ricciola (*Seriola dumerili*) catturate lungo le coste siciliane, al fine di stabilire se queste specie fossero rappresentate da differenti unità gestionali (*stock*).

Le caratteristiche geografiche della Sicilia, ovvero la differente natura dei fondali ed il profilo delle coste, permettono l'identificazione di aree che sono tradizionalmente vocate ad attività di pesca differenti (ARCULEO *et al.*, 1993). In particolare, le marinerie ubicate nel settore meridionale dell'isola dove la platea continentale ha un'ampia estensione e i fondali, che declinano lentamente, sono prevalentemente di natura sabbiosa o sabbio-fangosa, esercitano principalmente la pesca a strascico. Le marinerie della costa settentrionale ed orientale dell'isola, dove la natura dei fondali è prevalentemente rocciosa, conducono un'attività di pesca prevalentemente di tipo artigianale (tramaglio, nasse, palangresi, etc.).

Gli studi genetici condotti in Sicilia su queste tre specie sono scarsi tranne che per il nasello, del quale si hanno solo dati relativi al Canale di Sicilia (LO BRUTTO *et al.*, 1998; LEVI *et al.*, 2004). Questi studi condotti con l'uso di marcatori biochimici (alloenzimi) e morfometrici hanno evidenziato fondamentalmente che nello Stretto di Sicilia esiste un unico *stock*, rappresentato da un unico *pool* genico, e che la variabilità stimata dall'analisi degli alloenzimi, dei dati morfometrici e della lettura degli otoliti è imputabile alle diverse condizioni ambientali. Nel caso della ricciola i dati hanno messo in evidenza un basso grado di variazione genetica, probabilmente dovuto al marcatore utilizzato, e non hanno evidenziato nessun tipo di strutturazione di popolazione (ARCULEO *et al.*, 1997).

## CENNI DI BIOLOGIA DELLE SPECIE

*Merluccius merluccius* (nasello)

Il nasello è una specie demersale appartenente alla famiglia Merlucciidae e presenta un'ampia distribuzione geografica, essendo distribuita in tutto il Mediterraneo, il Mar Nero meridionale, l'Atlantico orientale, dalla Norvegia alla Mauritania. È una specie che di solito si cattura con la rete a strascico tra 50 e 700 metri e il suo limite inferiore può raggiungere circa 1000 metri (OLIVER, 1983; FNAM, 1984-86). Le uova planctoniche, deposte ad una profondità di 100-150 metri, sono disperse attraverso le correnti. Si ritiene anche che il nasello possieda elevate capacità adattative strettamente collegate ai parametri ambientali (ALHEIT & PITCHER, 1995). Per i biologi della pesca il nasello è una specie che ha subito in questi ultimi anni un eccessivo sfruttamento (FIORENTINO, 2000), anche se presenta, in alcune zone, una certa stabilità nei quantitativi catturati spiegata dalla "refuge theory" secondo la quale i riproduttori si rifugiano in aree poco accessibili agli attrezzi da pesca (CADDY, 1993). In Sicilia le catture di questa specie vengono effettuate anche con palangresi di fondo o con particolari tramagli in alcune aree come quella compresa tra S. Agata e Patti dove gli attrezzi vengono calati ad una profondità di circa 200 metri e catturano prevalentemente individui di grosse dimensioni con valori modali di lunghezza totale compresa tra 44 e 53 cm.

*Mullus barbatus* (triglia di fango)

La triglia di fango, appartenente alla famiglia Mullidae, ha un elevato valore economico ed è una tra le specie più importanti per tutte le marinerie italiane ed in particolare quelle siciliane (ARCULEO *et al.*, 1988; FIORENTINI *et al.*, 1997; RELINI *et al.*, 1999). È una specie demersale che vive in un range batimetrico compreso tra 10 e 300 m e viene catturata quasi esclusivamente dalla pesca a strascico (TORTONESE, 1975). Si trova prevalentemente su fondali fangosi, talvolta sabbiosi e differisce dall'altra specie congenerica *M. surmuletus* (triglia di scoglio) per l'habitat, il ciclo biologico e soprattutto per la colorazione (TORTONESE, 1975). È distribuita lungo le coste del bacino del Mediterraneo, incluso il Mar Nero, e lungo le coste dell'Oceano Atlantico dalla Scandinavia al Senegal (FISHER *et al.*, 1987). È una specie molto sfruttata soprattutto a carico delle classi giovanili e, come tante altre specie demersali oggetto della pesca a strascico, viene prevalentemente catturata nei primi due anni di vita con una pressione massima di pesca esercitata a carico della classe di età 0+ (CADDY, 1998). Entrambi i sessi si riproducono ad una taglia compresa tra 11 (maschi) e 12 (femmine) cm di L.T. (lunghezza totale). Dalle uova pelagiche dopo circa 3-4 giorni di incubazione si sviluppano delle larve

anch'esse pelagiche di 5 mm di lunghezza con livrea azzurra. Le larve vengono disperse dalle correnti e diventano bentoniche a circa 45-50 mm di L.T. assumendo la tipica livrea degli individui adulti. I giovani si accrescono fino a 12 cm di L.T. su fondali costieri ad una profondità inferiore ai 50 metri e successivamente si spostano, nel periodo autunnale-invernale, verso il largo al di sotto dei 100 metri. A differenza di altre regioni italiane, in Sicilia questa specie è molto vulnerabile soprattutto durante la fase di accrescimento che coincide con la stagione estiva in cui l'attività dello strascico si intensifica grazie anche ad una aumentata richiesta di mercato di prodotto fresco (ARCULEO *et al.*, 1988; RIGGIO & ARCULEO, 1986). Questa specie, in Mediterraneo, è stata largamente studiata per ciò che concerne, la riproduzione, l'accrescimento, l'alimentazione. La caratterizzazione genetica è stata condotta mediante l'identificazione di *loci* di isoenzimi (CAMMARATA *et al.*, 1991), ma poco si conosce, per le acque siciliane, sul grado di variazione genetica tra subpopolazioni.

#### *Seriola dumerili* (ricciola)

La ricciola appartiene alla famiglia Carangidae ed è una specie pelagica ed epibentonica che può raggiungere una lunghezza di circa 2 m e pesare oltre 50 kg (TORTONESE, 1975). È cosmopolita e si trova ampiamente distribuita, dal Mediterraneo al Golfo di Biscaglia, dalla Nuova Scozia al Brasile, in Sudafrica, nel Golfo Arabico, in Australia, in Giappone e nelle isole Hawaii (FISHER *et al.*, 1987). La ricciola è una specie gonocorica che non presenta dimorfismo sessuale e in cui la differenziazione sessuale si manifesta chiaramente nei giovani di 24-25 cm di lunghezza totale corrispondente ad un'età di 4-5 mesi. L'età di prima maturità sessuale viene raggiunta, per entrambi i sessi, a quattro anni anche se il 40% dei maschi sono maturi già all'età di tre anni (MARINO *et al.*, 1995). La riproduzione nel Mediterraneo avviene in primavera ed in estate (MARINO *et al.*, 1995; TORTONESE, 1975); la completa maturazione delle gonadi e l'emissione di uova e spermatozoi si osserva in tarda primavera-inizio estate quando le ricciole si spostano in superficie e la temperatura dell'acqua supera i 20°C (LAZZARI & BARBERA, 1988; ANDALORO *et al.*, 1992).

Questa specie, in Sicilia, ha una notevole richiesta di mercato e da qualche anno rientra tra le specie ittiche allevabili in Italia. La velocità di crescita, la notevole capacità di adattamento all'allevamento in gabbie galleggianti e la crescente richiesta di mercato hanno contribuito ad aumentare l'interesse da parte degli allevatori (PORRELLO *et al.*, 1993). Il limite nell'allevamento produttivo è legato alla riproduzione, che non riesce ancora a garantire una quantità sufficiente di avannotti (LAZZARI, 1991). Il suo ingrasso è quindi condizionato dalla possibilità di reperire un numero adeguato di esemplari dalla

pesca professionale che viene esercitata nel periodo riproduttivo (maggio-luglio) e in quello giovanile (agosto-settembre) (MARINO *et al.*, 1995) utilizzando differenti attrezzi da pesca (cannizzi, lenze trainate, reti da posta e da circuizione) (CANNIZZARO *et al.*, 2002).

## MATERIALI E METODI

### *Campionamento*

I campioni delle specie analizzate sono stati catturati in differenti siti siciliani ed, in particolare, il nasello e la triglia di fango a Castellammare del Golfo (Trapani), Porticello (Palermo), S. Agata (Messina), Catania, Siracusa, Licata (Agrigento), Marsala (Trapani), mentre la ricciola a Castellammare del Golfo (Trapani), Porticello (Palermo), S. Agata (Messina), Catania, Siracusa, Scoglitti (Ragusa) e Selinunte (Trapani). Il numero totale di individui analizzati è stato pari a 1241 così distribuito: 471 naselli, 490 triglie di fango e 280 ricciole.

### *Estrazione del DNA*

Il DNA è stato estratto da tessuto muscolare o da pinna caudale. Per ogni individuo sono stati prelevati 20 mg di tessuto da cui il DNA totale è stato estratto con il kit "DNeasy tissue" (Qiagen), che si avvale di una metodica nella quale una membrana di gel di silice consente una rapida ed efficiente purificazione del DNA totale senza estrazioni organiche o precipitati di etanolo.

### *Microsatelliti*

L'analisi dei microsatelliti è stata condotta mediante amplificazione dei *loci* (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) e successiva lettura dei frammenti mediante sequenziatore automatico. I *loci* sono stati amplificati con *Perkin-Elmer-Cetus Thermal cycler* partendo da una soluzione di 10 µl contenente 10 ng di DNA totale, 0.2 µM di dNTPs, 0.1 µM di ogni primer, Buffer 10x, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> e 2,5 unità di *Perkin-Elmer Ampli Taq* polimerasi. Il profilo termico della reazione di amplificazione del frammento dopo un *hot start* di tre minuti a 94°C, per consentire l'attivazione della *Taq*, è stato il seguente: 94°C per 1 minuto, 52°C per 1 minuto, 72°C per un minuto, ripetuto per 40 cicli e seguito da 7 minuti a 72°C per permettere l'elongazione finale.

Nel nasello sono stati utilizzati cinque *loci* di microsatelliti quattro dei quali (*Hk3b*, *Hk9b*, *Hk34b*, *Hk29*) sono stati sviluppati per la stessa specie (MORAN *et al.*, 1999) ed uno (*UEAW01*) sviluppato per *Merlangus merlangus* (RICO *et al.*, 1997), mentre per la triglia di fango i *loci* microsatelliti utilizzati

sono stati: *Mb6*, *Mb7*, *Mb15*, *Mb26*, *Mb31*, *Mb39* (GARROIA *et al.*, 2004), sviluppati per la stessa specie. Dopo l'amplificazione tramite PCR con *primer* e marcati (6-FAM, HEX e TAMRA) lettura al sequenziatore, i frammenti sono stati identificati con il software Genescan (Applied Biosystem).

### *DNA mitocondriale*

La struttura genetica di *Seriola dumerili* è stata studiata analizzando una porzione della regione di controllo del DNA mitocondriale. In particolare, è stato amplificato un frammento di 417 bp tramite PCR utilizzando i *primer* universali L15926 (5'-tcaagcttacaccagctctgtaaac-3') e H16498 (5'-cctgaagtaggaaccagatg-3') (KOCHER *et al.*, 1989; MEYER *et al.*, 1990).

Il frammento è stato amplificato con *Perkin-Elmer-Cetus Thermal cycler* partendo da una soluzione di 100 µl contenente 10 ng di DNA totale, 0.2 µM di dNTPs, 0.1 µM di ogni *primer*, Buffer 10x, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> e 2,5 unità di *Perkin-Elmer Ampli Taq* polimerasi.

Il profilo termico della reazione di amplificazione del frammento dopo un *hot start* di tre minuti a 94°C, per consentire l'attivazione della *Taq*, è stato il seguente: 94°C per 1 minuto, 56°-58°C per 1 minuto, 72°C per un minuto, ripetuto per 40 cicli e seguito da 7 minuti a 72°C per permettere l'elongazione finale. I frammenti amplificati sono stati visualizzati tramite elettroforesi di agarosio al 2% con etidio bromuro. La banda visualizzata è stata tagliata manualmente e il prodotto di PCR è stato estratto dalla banda mediante il kit "Qiacquik Gel Extraction" (Qiagen). Il frammento di DNA è stato sequenziato tramite sequenziatore automatico *ABI Prism 3700* (Applied Biosystem) con entrambi i *primer*.

### *Analisi statistica*

Le sequenze del DNA mitocondriale ottenute da tutti gli individui di ricciola sono state allineate utilizzando il programma CLUSTAL X (THOMPSON *et al.*, 1994). L'elaborazione statistica e la ricostruzione filogenetica è stata condotta utilizzando i *software* MEGA version 2.1 (KUMAR *et al.*, 2001) e DNAsp version 3 (ROZAS & ROZAS, 1999). Sono stati calcolati i siti conservati, variabili, le transizioni e le transversioni; sono stati ricavati il numero di aplotipi per ogni popolazione, la diversità aplotipica nonché la diversità nucleotidica. La divergenza nucleotidica tra le popolazioni è stata calcolata secondo il modello di Kimura 2-parametri. Dai valori ottenuti è stato costruito un albero secondo il metodo del Neighbor- Joining (NJ). Per verificare la differenziazione genetica tra le popolazioni, è stata condotta l'analisi della varianza molecolare (AMOVA, *Analysis of MOlecular VAriance*) tramite il *software* ARLEQUIN (EXCOFFIER *et al.*, 1992).

Le analisi statistiche, della triglia e del nasello, per il confronto tra le popolazioni sono state condotte con l'uso dei *software* GENETIX *ver* 4.04 (BONHOMME *et al.*, 1993) e ARLEQUIN (EXCOFFIER *et al.*, 1992). Sono state calcolate le frequenze alleliche, l'eterozigotità osservata ed attesa, e la deviazione dall'equilibrio di Hardy-Weinberg. Quest'ultima è stata testata utilizzando il  $\chi^2$  e applicando la procedura di Bonferroni. Il grado di differenziazione genetica e la verifica dell'omogeneità delle frequenze alleliche tra i campioni è stato calcolato sia con l'*exact test* di Fisher sia con *Fst* di WRIGHT (1951). Infine per analizzare la distribuzione della variazione genetica è stata effettuata l'analisi molecolare della varianza (AMOVA).

## RISULTATI

### *Merluccius merluccius* (nasello)

L'analisi dei cinque *loci* analizzati ha messo in evidenza che tutti i siti di campionamento presentano un livello di variazione genetica alto (Tab. 1). In particolare il *locus Hk9b* è risultato il più variabile con 45 alleli, mentre il *locus Hkb3*, il meno variabile, con 7 alleli. Il numero medio di alleli per *locus* è stato di 19.71. Tra tutti i siti esaminati, il campione con una variazione genetica più alta, intesa come numero di alleli per *locus*, è risultato Catania (21.4), mentre il valore più basso (18.2) è stato riscontrato nel sito di S. Agata.

L'eterozigotità media osservata è risultata sempre inferiore a quella attesa registrando valori

compresi tra 0.180 (Siracusa) e 0.978 (Catania) ed evidenziando un *deficit* di eterozigoti (Tab.1). L'analisi del differenziamento genetico tra i campioni condotto attraverso l'*Fst* di Wright e l'*exact test* di Fisher non hanno mostrato differenze signifi-



Fig. 1 — Siti di campionamento.



Tabella 1

Variatione genetica di cinque loci di microsatelliti nel *Merluccius merluccius* lungo le coste siciliane,  $H_o$  e  $H_e$  sono rispettivamente l'eterozigosità osservata e attesa.

La significatività per il test dell'equilibrio di HWE è indicata con \* ( $p < 0.05$ ) e \*\* ( $p < 0.001$ ).

Locus		Campioni						
		Catania	Castellammare	Porticello	Siracusa	S. Agata	Licata	Marsala
Hk3b	Allele Size	326-344	328-348	322-342	322-342	328-342	328-346	322-344
	$H_o$	0.279**	0.299**	0.212**	0.323**	0.273*	0.373**	0.206**
	$H_e$	0.399	0.510	0.407	0.453	0.340	0.535	0.377
Hk9b	Allele Size	106-198	110-200	106-196	106-190	106-216	106-192	106-198
	$H_o$	0.941**	0.871*	0.870*	0.942	0.945	0.899*	0.926**
	$H_e$	0.978	0.975	0.971	0.971	0.978	0.972	0.977
Hk34b	Allele Size	108-158	110-176	120-164	110-152	108-146	116-146	118-158
	$H_o$	0.180**	0.213**	0.203**	0.230**	0.278**	0.299**	0.190**
	$H_e$	0.935	0.931	0.936	0.922	0.893	0.918	0.928
Hk29	Allele Size	146-198	134-180	144-198	144-198	146-180	134-198	134-180
	$H_o$	0.333**	0.300**	0.300**	0.125**	0.136**	0.109**	0.422**
	$H_e$	0.899	0.898	0.923	0.897	0.870	0.882	0.904
UEAW01	Allele Size	202-238	200-232	156-234	202-236	202-232	202-232	202-238
	$H_o$	0.844*	0.838	0.957	0.730**	0.854	0.797*	0.809
	$H_e$	0.922	0.929	0.917	0.922	0.920	0.921	0.932

tive tra tutti i siti analizzati. In particolare, i valori ottenuti mostrano che sia il confronto a coppie (tra siti di campionamento) sia quello totale tra tutti i siti ( $F_{st} = 0.00009$ ,  $p > 0.05$ ) evidenziano una omogeneità genetica senza alcuna strutturazione di popolazione. Le uniche differenze significative sono state riscontrate nel confronto a coppie tra le stazioni di S. Agata e quella di Licata ( $F_{st} = 0.0051$ ,  $p < 0.05$ ) e tra S. Agata e Castellammare del Golfo ( $F_{st} = 0.0053$ ,  $p < 0.05$ ). Nel primo caso tale differenza viene supportata anche dai valori significativi di distanza genetica (0.064,  $p < 0.05$ ) ipotizzando una possibile separazione da distanza geografica, mentre nel secondo caso potrebbe essere dovuto a fattori del tutto casuali legati probabilmente alle modalità di campionamento.

#### *Mullus barbatus* (triglia di fango)

L'analisi dei sei loci esaminati in tutte le stazioni di campionamento ha rilevato un numero totale di alleli compreso tra 13 (locus Mb7) e 63 (locus Mb39), mentre il numero medio di alleli per locus è risultato pari a 13.8. Il numero di alleli per locus e per stazione di campionamento presentava delle differenze, il locus con il numero medio di alleli più elevato è risultato Mb39 (30.9), mentre quello con il numero medio più basso (8.28) era rappresentato dal locus Mb7.

L'eterozigosità media osservata su tutti i loci per i campioni analizzati era

Tabella 2  
 Valori di  $F_{st}$  calcolati a coppie tra i siti di campionamento di *Merluccius merluccius*,  
 con \* è indicata la significatività ( $p < 0.05$ )

	Catania	Castellammare	Porticello	Siracusa	S. Agata	Licata
Catania						
Castellammare	0.0007					
Porticello	-0.0024	0.0011				
Siracusa	-0.0009	-0.0011	0.0001			
S. Agata	-0.0030	0.0053*	-0.0012	-0.0019		
Licata	0.0007	-0.0005	0.0017	-0.0031	0.0051*	
Marsala	-0.0025	0.0025	-0.0014	-0.0011	-0.0024	0.0027

compresa tra 0.493 a 0.754, mentre quella attesa tra 0.699 a 0.843. I dati riportati in Tabella 3 evidenziano che tutti i *loci* deviano dall'equilibrio di Hardy-Weiberg presentando un generale *deficit* di eterozigoti. Tale *deficit* in alcuni *loci* si mantiene anche dopo correzione di Bonferroni.

L'indice  $F_{st}$  di Wright assieme all'*exact test* di Fisher sono stati utilizzati per valutare il grado di eterogeneità genetica tra i campioni analizzati. In particolare i valori ottenuti hanno evidenziato un differenziamento seppur basso ma

Tabella 3  
 Variazione genetica dei microsatelliti di *Mullus barbatus* lungo le coste siciliane;  
 $H_o$  e  $H_e$  sono rispettivamente l'eterozigosità osservata e attesa.  
 La significatività per il test dell'equilibrio di HWE è indicata con \* ( $p < 0.05$ ) e \*\* ( $p < 0.001$ ).

Locus		Campioni						
		Licata	Catania	Castellammare	S. Agata	Porticello	Siracusa	Marsala
Mb26	Allele Size	206-268	240-262	230-270	248-268	242-266	248-276	248-264
	$H_o$	0.789	0.737	0.627	0.400**	0.727*	0.523**	0.628*
	$H_e$	0.860	0.849	0.856**	0.860	0.859	0.868	0.597
Mb7	Allele Size	162-182	166-180	166-182	166-180	162-186	164-188	166-176
	$H_o$	0.794*	0.793	0.736	0.667*	0.717*	0.372**	0.458*
	$H_e$	0.843	0.855	0.864	0.827	0.861	0.772	0.633
Mb6	Allele Size	190-217	201-217	201-217	190-217	201-219	199-213	195-211
	$H_o$	0.635	0.579	0.571	0.538	0.609	0.555*	0.653
	$H_e$	0.670	0.711	0.674	0.672	0.704	0.639	0.666
Mb15	Allele Size	245-291	265-291	253-307	235-313	259-315	257-299	257-313
	$H_o$	0.648	0.491	0.736	0.372**	0.568**	0.566**	0.600**
	$H_e$	0.817*	0.793**	0.829*	0.943	0.850	0.836	0.827
Mb39	Allele Size	106-350	268-362	104-342	104-326	104-330	104-404	258-340
	$H_o$	0.855	0.768	0.500	0.474**	0.523**	0.395**	0.714**
	$H_e$	0.935*	0.921	0.948**	0.967	0.939	0.967	0.948
Mb31	Allele Size	90-116	90-114	90-116	92-116	90-110	92-112	90-110
	$H_o$	0.817	0.833	0.807	0.647**	0.652*	0.667*	0.422
	$H_e$	0.901*	0.895	0.892	0.910	0.887	0.801	0.599*

significativo per entrambi i test utilizzati. I valori degli indici *Fst* calcolati a coppie sono risultati significativamente alti nel confronto tra i siti di Siracusa e Marsala rispetto tutti gli altri siti analizzati (Tab. 4); questo risultato è simile a quello ottenuto dai valori di distanza genetica calcolata a coppie. Infine l'analisi della varianza molecolare (AMOVA) ha rilevato che la maggior parte della variazione (94.1%) è distribuita all'interno piuttosto che tra i campioni (5.9%).

Tabella 4  
Valori di *Fst* calcolati a coppie tra i siti di campionamento di *Mullus barbatus*, con \* è indicata la significatività ( $p < 0.05$ )

	Licata	Catania	Castellammare	S. Agata	Porticello	Siracusa
Licata						
Catania	0.0041					
Castellammare	0.0005	0.0018				
S. Agata	-0.0048	-0.0077	-0.0010			
Porticello	0.0080	0.0047	-0.0008	-0.0046		
Siracusa	0.0838*	-0.0663*	0.0778*	0.0893*	0.1043*	
Marsala	0.1558*	0.1423*	0.1561*	0.1700*	0.1860*	0.0353*

### *Seriola dumerili* (ricciola)

È stata amplificata una porzione della regione di controllo del DNA mitocondriale in circa 40 individui per ogni sito di campionamento. Su un totale di 417 paia di basi (bp), 36 sono risultati siti variabili determinando 22 aplotipi distribuiti nelle sette popolazioni analizzate. La diversità aplotipica totale è risultata pari a 0.818, mentre quella nucleotidica a 0.016. Il campione di Selinunte ha mostrato il numero più alto di aplotipi (8), nonché il valore di diversità aplotipica più alto (0.933), mentre il più alto valore di diversità nucleotidica (0.023) è stato riscontrato nel campione di Catania. Il numero di siti polimorfici per campione è risultato simile (20-27) in tutti i siti, tranne nel campione di S. Agata nel quale sono stati identificati soltanto 8 siti polimorfici, determinando i valori più bassi di diversità aplotipica (0.778) e diversità nucleotidica (0.005).

Nel dendrogramma ottenuto con il metodo del Neighbour-Joining (Fig. 2), gli individui analizzati si distribuiscono in due gruppi (*Clade-1* e *Clade-2*). Gli individui del *Clade-2* mostrano dei siti fissati unici, cioè basi nucleotidiche che non sono presenti negli individui del *Clade-1*. I due cladi monofiletici, mostrati nell'albero NJ, divergono di un valore molto alto in un confronto intraspecifico, la loro divergenza nucleotidica è pari al 5.5%. Per questo motivo, è stato deciso di calcolare l'AMOVA in due momenti diversi: il primo cal-

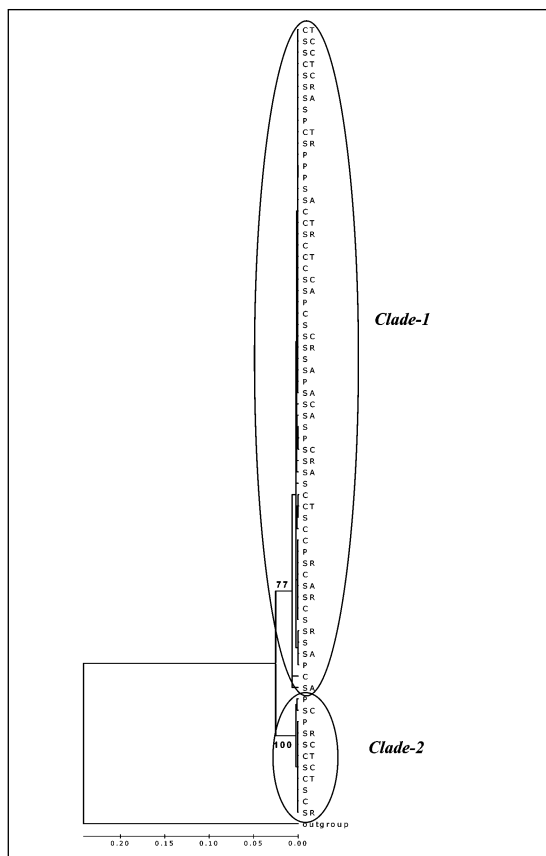


Fig. 1 — Cluster NJ costruito secondo il modello Kimura-2-parametri nel quale si evidenziano due cladi costituiti ognuno da individui provenienti dai diversi siti (C: Castellammare del Golfo; P: Porticello; SA: S. Agata; C: D'Orlando; CT: Catania; SR: Siracusa; SC: Scoglitti; S: Selinunte).

colando la distribuzione della diversità tra e all'interno dei campioni, così come erano stati prelevati; il secondo, strutturando i dati in modo tale da separare e confrontare i due gruppi/cladi ottenuti dalla ricostruzione filogeografica. Osservando la Tabella 5a, si nota che tutta la diversità genetica (100%) ricavata dai nostri dati ricade nel confronto tra gli individui all'interno delle popolazioni, mentre nessuna variazione è determinata dal confronto tra le località. Nella Tabella 5b, l'analisi

AMOVA evidenzia chiaramente che la porzione maggiore della variazione determinata dall'analisi mitocondriale ricade nel confronto tra i due cladi. Anche nel secondo calcolo, un valore molto basso è dato dal confronto tra le popolazioni all'interno di ogni clade, che mantiene il grado di diversità interpopolazione come la precedente analisi AMOVA.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Dai dati ottenuti dal nasello e dalla triglia di fango si possono per alcuni aspetti fare le stesse considerazioni. In particolare entrambe le specie hanno mostrato un *deficit* di eterozigoti che può essere attribuito a fattori stocastici come effetto Wahlund oppure a fattori deterministici come selezione contro genotipi eterozigoti piuttosto che omozigoti in alcuni *loci*. Altre possibili

Tabella 5

Dati sulla struttura di popolazione di *Seriola dumerili* ottenuti dall'analisi AMOVA considerando:  
 a) singolarmente i sette campioni e b) eliminando dai singoli campioni  
 e mettendo insieme gli individui appartenenti al Clade-2

		Gradi di libertà	Varianza	Variazione in percentuale
a)	Tra le popolazioni/siti	5	-0.117	-3.84
	All'interno delle popolazioni	54	3.172	103.84
b)	Tra i due cladi	1	9.94491	92.36
	Tra i campioni all'interno dei cladi	6	0.11420	1.06
	Tra i campioni	62	0.70872	6.58

spiegazioni come l'*inbreeding* (inincrocio) e la presenza di allele nullo sono state escluse perchè nel primo caso il *deficit* di eterozigoti sarebbe dovuto essere presente in tutti i *loci*, mentre nel secondo caso in nessuno dei *loci* analizzati è stato ritrovato l'omozigote per l'allele nullo.

Se consideriamo il livello di eterozigosità e il numero di alleli ottenuto in entrambe le specie possiamo dire che nella triglia sono stati riscontrati valori sensibilmente più elevati rispetto al nasello. Inoltre i valori del nasello se confrontati con quelli ottenuti da TINTI (2004) in Adriatico e da CASTILLO *et al.* (2004) in Mediterraneo e in Atlantico mostrano delle differenze. In particolare i valori del presente lavoro di eterozigosità e numero di alleli risultavano di poco superiore a quelli ottenuti da altre aree del Mediterraneo (TINTI, 2004; CASTILLO *et al.*, 2004), mentre erano inferiori a quelli dell'Atlantico. Infine i valori ottenuti dai *test* di eterogeneità hanno evidenziato che i campioni siciliani sono rappresentati da un unico *stock* o *pool* genico anche se il confronto a coppie tra il sito di S. Agata con quello di Licata è risultato significativo. Tale significatività potrebbe essere spiegata da eventi del tutto casuali legati anche al campionamento.

Per quanto riguarda la triglia di fango, i risultati ottenuti con l'analisi dei microsatelliti mostrano un lieve ma significativo differenziamento genico nei campioni siciliani; in particolare come si evince dai valori degli *Fst* e dalla distanza genetica a coppie si può dire che l'eterogeneità genetica dipende principalmente dai campioni di Marsala e Siracusa. In queste zone si potrebbe ipotizzare la presenza di subpopolazioni locali parzialmente isolate dal resto della Sicilia a causa di barriere al flusso genico, per cui le larve e, soprattutto, gli individui adulti sarebbero limitati nella migrazione lungo le coste siciliane. Il differenziamento genico osservato, inoltre, potrebbe essere spiegato

da un recente evento di riduzione della popolazione (*bottleneck*) cosa che dovrebbe essere verificata con campionamenti delle stesse aree in tempi diversi. I nostri dati risultano coerenti con quanto osservato da GAROIA *et al.* (2004) sulla triglia di fango dell'Adriatico, anche se nel nostro caso la variazione genetica è risultata molto alta e si è riscontrato un lieve ma significativo differenziamento genico.

Da un punto di vista gestionale, considerato che questi sono i primi dati esistenti per la Sicilia, i risultati ottenuti per il nasello e la triglia di fango meritano di essere verificati e confermati con indagini da effettuarsi nei prossimi anni allo scopo di evidenziare eventuali modifiche dell'eterozigosità e del numero di alleli considerati di fondamentale importanza per valutare eventuali cambiamenti dovuti a riduzione della dimensione effettiva della popolazione.

Per quanto riguarda la ricciola nessun lavoro finalizzato all'analisi della struttura di popolazione di questa specie è stato mai condotto nel bacino del Mediterraneo. Dati preliminari, ottenuti dall'analisi degli alloenzimi (ARCULEO *et al.*, 1997) lungo le coste siciliane non avevano riscontrato alcuna struttura di popolazione, probabilmente a causa del marcatore biochimico utilizzato che si è rilevato poco efficace per evidenziare differenze interpopolazionali. I dati ottenuti in questo lavoro possono considerarsi molto incoraggianti, poiché la scelta del *marker* (DNA mitocondriale), dal quale spesso dipendono i risultati, si è dimostrata appropriata. Anche se è stata campionata una piccola area del Mar Mediterraneo, nella quale si poteva ipotizzare una bassa differenziazione genetica, si è ottenuto un risultato filogeografico molto importante in cui è stato possibile mettere in evidenza che tutti gli individui possono essere raggruppati in due linee evolutive, denominate *Clade 1* e *Clade 2* (Fig. 2). In particolare sono stati identificati due raggruppamenti che riportano una divergenza nucleotidica del 5.5% e rappresentano, nell'albero NJ, due cladi monofiletici. Ogni clade è costituito da individui catturati nei diversi siti siciliani. La compresenza di individui caratterizzati geneticamente da sostituzioni nucleotidiche fissate (18 siti) fa pensare ad una probabile introgressione da parte di una linea filetica diversa da quella presente nei nostri campioni. Considerato che la ricciola è un ottimo nuotatore capace di percorrere lunghe distanze è logico pensare che questa specie abbia elevate possibilità di superare barriere oceanografiche come lo Stretto di Gibilterra. Per questo motivo si può supporre che gli individui del *Clade-2* possano avere un'origine atlantica. Ciò viene supportato dalla circolazione delle correnti superficiali del bacino del Mediterraneo, in cui è ipotizzabile che l'area siciliana risulti molto probabilmente il primo punto d'arrivo del flusso atlantico in entrata dallo Stretto di Gibilterra. Il basso numero di individui con genotipo "atlantico" potrebbe essere spiegato più da una immigrazione occasionale che dall'istaurarsi di uno scambio di migranti

costante e bidirezionale, che avrebbe altrimenti creato una popolazione panmittica, geneticamente omogenea, tra i due mari. È possibile anche che gli individui atlantici non si accoppino con gli individui mediterranei, mantenendo nel tempo la loro integrità genetica.

Un'altra possibile interpretazione della differenza nei due cladi potrebbe essere legata ad una immigrazione di popolazioni mediterranee, non molto lontane da quelle siciliane, in cui differenti fattori (selezione, eccessivo sfruttamento, ecc.) abbiano determinato un diverso assetto genico. Sicuramente l'analisi di campioni provenienti da altre aree del mediterraneo e soprattutto dall'atlantico potranno meglio chiarire i nostri dati.

Tali differenze, anche in questo caso, andrebbero monitorate nel tempo in modo da poter offrire ad amministratori ed operatori del settore gli strumenti necessari per una corretta programmazione gestionale di questa importante risorsa.

Riguardo la gestione di questa risorsa, poiché si conosce ben poco dei quantitativi catturati bisogna essere molto cauti ed evitare un eccessivo prelievo di giovani individui utilizzati sia per la commercializzazione sia per l'accrescimento in gabbie galleggianti poiché questa specie si riproduce a partire dal quarto anno e il mancato raggiungimento della maturità sessuale degli individui potrebbe ridurre drasticamente la dimensione degli stock naturali. In conclusione, una generale raccomandazione che possiamo fare è quella di cercare di conservare la diversità genetica di queste specie attraverso il monitoraggio continuo affinché la presenza di eventuali cambiamenti genetici possano essere valutati per la realizzazione tempestiva di misure gestionali adeguati.

*Ringraziamenti* - Ricerca finanziata con fondi della Regione Siciliana - Assessorato Cooperazione, Commercio, Artigianato e Pesca (POR - Sicilia 2000/06, progetto cod. 1999.IT.16.1.011/4.17b/8.3.7/0006). Si ringrazia la Dr.ssa M. Galante dell'Assessorato Cooperazione, Commercio, Artigianato e Pesca - Dipartimento Pesca, per la disponibilità ed assistenza dimostrata nel corso della presente ricerca. Si ringraziano inoltre G. Basciano (Marsala), F. Zizzo (Porticello), S. Massimino (Catania), F. Mancuso (S. Agata), N. Scarcella (Marsala), G. Cannizzo (Scoglitti), S. Di Maria (Balestrate), S. Orlando (Trappeto), A. Morello (Licata), G. Cappuccio (Siracusa), S. Barraco (Selinunte) che hanno contribuito alla raccolta dei campioni.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALHEIT J. & PITCHER T. J., 1995 — Hake. Biology, fisheries and markets. — *Chapman & Hall*, London
- ANDALORO F., VIVONO P., CAMPAGNUOLO S., PIPITONE C., POTOSCHI A., MANDICH A. & MARINO G., 1998 — Biologia, distribuzione e valutazione dello stock ricciola, *Seriola dumerili*, nei mari italiani. — *Biol. Mar. Medit.*, 5 (3): 270-279.
- ANDALORO F., CAMPAGNUOLO S., CAMPO D., CASTRIOTA L., FALAUTANO M., SINOPOLI M. & VIVONA P., 2002 — La pesca della ricciola (*Seriola dumerili*) nel tirreno meridionale e stretto di Sicilia: campagne 1990-2000. — *Biol. Mar. Medit.*, 9 (1): 720-721.

- ARCULEO M., 1987 — Prime osservazioni sulle caratteristiche della pesca a strascico lungo la costa compresa fra Cefalù e Capo Zafferano (Sicilia Settentrionale). — *Naturalista sicil.*, S.IV, XI, (1-4): 13-26.
- ARCULEO M., ABELLA A. & RIGGIO S., 1985 — Preliminary data on the fluctuation of catch composition and their relationship with seasonal fishing fleet displacement in a Southern Sicilian fishery. — *FAO-Fish.Rep.*, n. 336: 37-41.
- ARCULEO M., D'ANNA G. & RIGGIO S., 1988 — Valutazione delle risorse demersali nell'area compresa fra Capo Gallo e Capo San Vito (Sicilia Nord Occidentale): risultati delle campagne condotte nel 1985. — Atti Seminari UU.OO., *Pubbl. Min. Mar. Mercantile - C.N.R.*, Vol. III: 1413-1451.
- ARCULEO M., RIGGIO S. & ANDALORO F., 1993 — Un aperçu sur les relations entre la pêche artisanale et le milieu côtier en Sicile. Actes du Colloque Scientifique International: "Le système littoral Méditerranéen", Montpellier 22-23 Avril. — *Pubbl. Maison de l'Environnement de Montpellier*, pp. 24-32.
- ARCULEO M., LO BRUTTO S., CAMMARATA M., MAZZOLA A. & PARRINELLO N., 1997 — Lack of biochemical polymorphism in the Mediterranean amberjack (*Seriola dumerili*) (Pisces, Carangidae). — In: *Island Aquaculture and Tropical Aquaculture*. Martinique, May 1997: 28-29.
- AA.VV., 1988 — Atti Seminari UU.OO., *Pubbl. Min. Mar. Mercantile - C.N.R.*, Vol.III:1019-1797.
- BOMBACE G., 2002 — Riflessioni su pesca, biodiversità ed aree marine protette. — *Biol. Mar. Medit.*, 9 (1): 48-70.
- BONHOMME F., BELKHIR K., BORSA P., MATHIEU E. & ROUX M., 1993 — GENETIX : Logiciel d'analyse des données du groupe de génétique des populations de Montpellier. *Université de Montpellier II*.
- CADDY J. F., 1993 — Some future perspective for assessment and management of Mediterranean fisheries. — *Sc. Mar.*, 57: 121-130.
- CADDY J. F., 1998 — GFCM and its future relationship to marine science. In: Gaps in the Mediterranean Fishery Sciences. — *CIESM Workshop Series*, 5: 7-10.
- CAMMARATA M., PARRINELLO N. & ARCULEO M., 1991 — Biochemical taxonomic differentiation between *Mullus barbatus* and *Mullus surmuletus* (Pisces, Mullidae). — *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol.99B, N° 3: 719-722.
- CANNIZZARO L., BELTRANO A.M., VITALE S. & MILAZZO A., 2002 — Catture di *Seriola dumerili* (Risso, 1810) con reti da posta e mediante canonizzi e rete da circuizione. — *Biol. Mar. Medit.*, 9(1): 743-746.
- CARVALHO G. & HAUSER L., 1995 — Molecular genetics and the stock concept in fisheries. — Pp. 55-72 in: *Molecular genetics in Fisheries* (Eds G. Carvalho & Pitcher T.). *Chapman & Hall*, London.
- CASTILLO A. G. F., MARTINEZ J. L. & GARCIA-VASQUEZ E., 2004 — Fine spatial structure of Atlantic hake (*Merluccius merluccius*) stocks revealed by variation at microsatellite loci. — *Mar. Biotech.*, 6: 299-306.
- EXCOFFIER L., SMOUSE E. & QUATTRO J. M., 1992 — Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. — *Genetics*, 131: 479-491.
- FIORENTINI L., CADDY J. F. & DE LEIVA J. I., 1997 — Long and short term trends of Mediterranean fishery resources. — *Stud. Rev. C.G.P.M.*, 69:1-72.
- FIORENTINO F., 2000 — A compilation of information on stock assessment in the GFCM areas presented in the standard forms. — *ED/TN/FF/4/0600/REL*. 1:109 p.
- FISCHER W., BAUCHOT M. L., & SCHNEIDER M., 1987 — Fiches FAO d'identification des espèces pour le besoins de la peche. (Révision 1). Méditerranée et Mer Noire. Zone de peche 37. 2. Vertébrés.. — *FAO*, Roma.



- FNAM 1984-86 — Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Wittehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J. & Tortonese E. (eds), *Unesco*, Paris, Vol. I, II, III.
- GARCIA S. M. & DE LEIVA MORENO I., 2001 — Global overview of marine fishes. — *FAO-Iceland Conference on Responsible Fisheries in the Marine Ecosystem*. Reykjavik, 1-4 October 2001.
- GAROIA F., GUARNIERO I., PICCINETTI C. & TINTI F., 2004 — First microsattelites loci of red mullet (*Mullus barbatus*) and their application to genetic structure analysis of Adriatic shared stock. — *Marine Biotechnology*, DOI 10.1007/S10126.004-3045.
- KOCHER T. D., THOMAS W. K., MEYER A., EDWARDS S. V., PAABO S., VILLABLANCA F. X., & WILSON A. C., 1989 — Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 56: 6196-6200.
- KUMAR S., TAMURA K., JAKOBSEN I. B. & NEI M., 2001 — MEGA2 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. — *Bioinformatics*, 17: 1244-1245.
- LAZZARI A., 1991 — Some note to the aquaculture development of the new mediterranean species: the yellowtail (*Seriola dumerili*) case and strategy to come. — *European Aquaculture Society*, Bredene, Belgium, Special Publication, 14: 183-184.
- LAZZARI A. & BARBERA G., 1988 — First data on the fishing of yellowtail (*Seriola dumerili*) spawners in the Mediterranean basin. — *J. Aquatic. Prod.*, 2(1): 133-141.
- LEVI D., PATTI B., LO BRUTTO S., ARCULEO M., PARRINELLO N. & RIZZO P., 2004 — Genetic and morphometric variation of Mediterranean hake, *Merluccius merluccius*, in the Strait of Sicily (Central Mediterranean). — *It. J. Zool.*, 71: 165-170.
- LO BRUTTO S., ARCULEO M., MAURO A., SCALISI M., CAMMARATA M. & PARRINELLO N., 1998 — Allozymic variation in Mediterranean hake, *Merluccius merluccius*, (Gadidae). — *Ital. J. Zool.*, 65 (Suppl.): 49-52.
- MARINO G., MANDICH A., MASSARI A., ANDALORO F., PORRELLO S., FINORA M.G. & CEVASCO F., 1995 — Aspects of reproductive biology of Mediterranean amberjack (*Seriola dumerili* Risso, 1810) during the spawning period. — *J. Appl. Ichthyol.*, 11: 9-24.
- MEYER A., KOCHER T. D., BASASIBWAKI P. & WILSON A. C., 1990 — Monophyletic origin of lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. — *Nature*, 347: 550-53.
- MYERS R. A. & WORM B., 2003 — Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. — *Nature*, 423: 280-283.
- MORAN P., LUNDY C., RICO C. & HEWITT G. M., 1999 — Macrogeographic population differentiation in oceanic environments: a case study of European hake, *Merluccius merluccius* (Merlucciidae, Teleostei). — *Mol. Ecol.*, 8: 1889-1898.
- OLIVER P., 1983 — Los recursos pesqueros del Mediterraneo. Primera parte: Mediterraneo Occidental. — *Etud. Rev. Cons. Gén. Pêches Médit.*, 59: 139 p.
- ORSI RELINI L., PAPAConstantinou C., JUKIC-PELADIC S., COUPLET A., DE SOLA L. G., PICCINETTI C., KAVADAS S. & ROSSI M., 2002 — Distribution of the Mediterranean hake populations (*Merluccius merluccius smiridus* Rafinesque, 1810) (Osteichthyes: Gadiformes) based on six years monitoring by trawl-surveys: some implications for management. — *Sci. Mar.*, 66 (Suppl. 2) : 21-38.
- PORRELLO S., ANDALORO F., VIVONA P. & MARINO G., 1993 — Rearing trial of *Seriola dumerili* in floating cage. Pp. 299-307 in: G. Barnabè and P. Kestemint (eds), *European Aquaculture Society*, Special Publication, 18.
- RELINI G., BERTRAND J. & ZAMBONI A., 1999 — Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). — *Biol. Mar. Medit.*, 6 (suppl.1): 276-299.

- RICO C., IBRAHIM K. M., RICO I. & HEWITT G. M., 1997 — Stock composition in North Atlantic populations of whiting using microsatellite markers. — *J. Fish Biol.*, 51: 462-475.
- RIGGIO S. & ARCULEO M., 1986 — La pesca a strascico nell'area compresa fra Capo Gallo e Capo San Vito (Sicilia Nord-Occidentale): primi risultati delle campagne 1985. Atti 3 Seminario. Roma 1-2 dic.1986. — *Pubbl. Min. Mar. Mercantile - C.N.R.*. 15pp.
- ROZAS J. & ROZAS R., 1999 — DNAsp version 3: an integrated program for molecular populations genetics and molecular evolution analysis. — *Bioinformatics*, 15: 174-175.
- THOMPSON J. D., HIGGINS D. G. & GIBSON T. J., 1994 — CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight Matrix choice. — *Nucleic Acid Res.*, 22: 4673-4680.
- TINTI F., 2004 — Identificazione di unità di popolazione mediante analisi della struttura genetica nelle risorse ittiche in Adriatico (GENPOPADR). Relazione finale del progetto 6°24 del VI Piano triennale della pesca e dell'acquacoltura in acque marine e salmastre – Risorse Biologiche – Metodologie innovative di valutazione delle risorse. Finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, 83 pp.
- TORTONESE E., 1975 — Osteichthyes. Vol. X. — *Calderini*, Bologna.
- TSERPES G., FIORENTINO F., LEVI D., CAU A., MURENU M., ZAMBONI A. & PAPACONSTANTINOU C., 2002 — Distribution of *Mullus barbatus* and *Mullus surmuletus* (Osteichthyes: Perciformes) in the Mediterranean continental shelf: implications for management. — *Sci. Mar.*, 66 (Suppl. 2) : 39-54.
- WRIGTH S., 1951 — The genetical structure of populations. — *Ann. Eugen. London*, 15: 323-345.

*Indirizzo degli Autori.* — M. ARCULEO, S. LO BRUTTO, T. MAGGIO, M. SIRNA TERRANOVA, Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi 18 –90123 Palermo (I); e-mail:marculeo@unipa.it