

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL MOLISE  
FACOLTÀ DI SCIENZE MM. FF. NN. (ISERNIA)

DOTTORATO DI RICERCA IN  
***AMBIENTE E TERRITORIO***

XXIV CICLO

SSD BIO/05

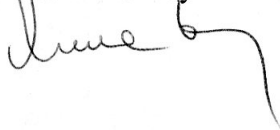
***TITOLO***

Variabilità intraspecifica in Delfino comune, *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758).

L'utilizzo della morfometria geometrica bi- e tridimensionale  
come strumento diagnostico e conoscitivo

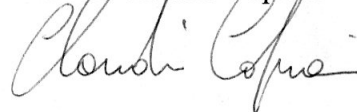
TUTOR/RELATORE:

Prof.ssa Anna Loy



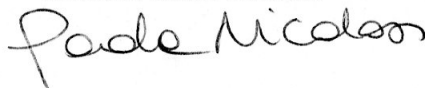
COORDINATORE

Prof. Claudio Caprari



CANDIDATO:

Dr.ssa Paola Nicolosi



Anno Accademico 2010 - 2011



*Ai miei genitori*

## INDICE

### 1. INTRODUZIONE

<b>1.1 I Cetacei</b>	9
1.1.1 Origine ed evoluzione	9
1.1.2 Adattamenti corporei alla vita in acqua	13
1.1.3 Trasformazione dello scheletro	16
<b>1.2 Il Delfino comune <i>Delphinus delphis</i></b>	19
1.2.1 Sistematica e distribuzione	19
1.2.2 Biologia della specie	22
1.2.3 Caratteristiche dello scheletro cefalico	23
1.2.4 Le sottopopolazioni mediterranee	26
<b>1.3 La morfometria geometrica</b>	29
<b>Scopo della tesi</b>	32

### 2. MATERIALI E METODI

<b>2.1 Raccolta campioni museali</b>	35
<b>2.2 Studio bidimensionale</b>	38
<b>2.3 Studio tridimensionale</b>	46
<b>2.4 Variabilità non geografica</b>	51
2.4.1 Dimorfismo sessuale	51
2.4.2 Definizione delle classi di età	52
2.4.3 Allometria ontogenetica	54
<b>2.5 Variabilità geografica</b>	55
2.5.1 Diagnosi specifica: <i>D. delphis</i> e <i>D. capensis</i>	55
2.5.2 Variabilità in <i>D. delphis</i>	57

## **3. RISULTATI**

<b>3.1 Variabilità non geografica</b>	59
3.1.1 Dimorfismo sessuale: forma e dimensioni	59
3.1.2 Definizione delle classi di età	64
3.1.3 Allometria ontogenetica	65
<b>3.2 Variabilità geografica</b>	69
3.2.1 Variazioni della forma ( <i>shape variation</i> )	69
3.2.2 Variazione di taglia ( <i>size variation</i> )	82
3.2.3 Variabilità in <i>Delphinus delphis</i>	86

## **4. DISCUSSIONE** 101

## **5. CONCLUSIONI** 111

### **Bibliografia** 115

### **Ringraziamenti** 121

APPENDICE 1 (Tabella con tutti gli esemplari studiati)

APPENDICE 2 (Cd-rom con foto degli esemplari studiati)

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 I Cetacei

Tra i Mammiferi, l'ordine dei Cetacei è quello che ha raggiunto un maggiore grado di specializzazione vivendo permanentemente in ambiente acquatico.

Pur conservando le caratteristiche peculiari dei mammiferi, i Cetacei hanno subito profonde trasformazioni morfologiche e anatomiche a favore di una forma del corpo idrodinamica.

La pelle è levigatissima e priva di pelo per ridurre l'attrito con l'acqua durante il nuoto, il capo è ben sviluppato ed ha assunto una forma allungata; esso inoltre è collegato al tronco senza una regione del collo morfologicamente e funzionalmente individuabile.

Gli arti anteriori sono trasformati in pinne (natatoie), con funzione direzionale, mentre gli arti posteriori sono scomparsi e persistono internamente solo parti vestigiali del bacino, inglobate nella massa dei tessuti addominali (rudimenti pelvici).

La pinna dorsale può essere o no presente ed ha una funzione stabilizzatrice nel nuoto, mentre la pinna caudale, sviluppata su un piano orizzontale, è l'organo propulsore per il movimento, insieme all'intero settore caudale del rachide, particolarmente sviluppato.

#### 1.1.1 Origine ed evoluzione

L'origine dei Cetacei va ricercata in Mammiferi che popolavano le terre all'inizio dell'Era Cenozoica (65 milioni di anni fa).

Le attuali ricerche paleontologiche e, più recentemente quelle genetiche, hanno offerto un'immagine abbastanza chiara del probabile processo evolutivo.

Le prime tappe della loro evoluzione si compiono, presumibilmente, alla fine del Paleocene (epoca che va da 65 a 55 milioni di anni fa), dato che fossili posteriori a quel periodo mostrano organismi già adattati alla vita acquatica, con le ingenti modificazioni morfologiche, anatomiche e fisiologiche che la risposta adattativa al nuovo ambiente aveva comportato.

I più antichi resti fossili concordemente assegnati ai Cetacei risalgono all'Eocene medio-inferiore (Gaskin, 1982; Barnes *et al.*, 1985) e appartengono tutti al sottordine estinto degli Archeoceti.

Gli Archeoceti sono un gruppo di Cetacei primitivi comparsi nei mari circa 50 milioni di anni fa, dopo la contemporanea estinzione dei Dinosauri e dei rettili marini (Ittiosauri, Plesiosauri, ecc.) e scomparvero circa 30 milioni di anni fa, sostituiti dagli Odontoceti e dai Mysticeti, i due gruppi di Cetacei ancora oggi viventi.

I più antichi Archeoceti conosciuti sono stati scoperti in Pakistan e risalgono a 52 milioni di anni fa. Si tratta dei rinvenimenti di *Pakicetus attocki*, West 1980 e di *Pakicetus inachus*, Gingerich e Russel, 1981 e dei recenti ritrovamenti di *Ambulocetus natans*, Thewissen et al., 1994 e *Rodhocetus kasrani*, Gingerich et al., 1994.

Grazie a questi eccezionali ritrovamenti è stato possibile ricostruire, sulla base di scheletri più o meno completi, la forma del corpo (Fig. 1), rilevando che tutti e tre presentavano degli arti ancora sviluppati, testimonianza di un adattamento ancora parziale alla vita acquatica.

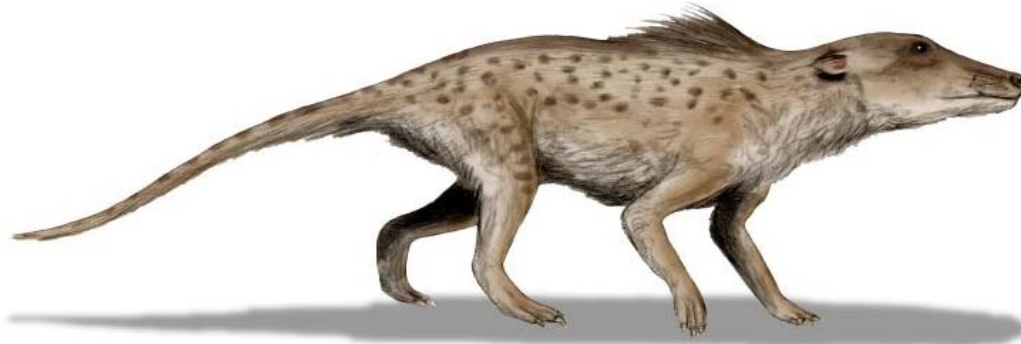


Figura 1. Ricostruzione di *Pakicetus*, il più antico Archeocete oggi noto.  
<http://www.squidoo.com/whale-evolution>.

Per migliorare l'adattamento alla vita acquatica lo scheletro degli Archeoceti si trasforma e cambia radicalmente aspetto in pochi milioni di anni. Gli arti posteriori si riducono progressivamente fino a scomparire, quelli anteriori si trasformano in pinne, il collo e la coda si accorciano.

La scoperta di *Ambulocetus natans* in Pakistan (Thewissen et al., 1994) ha permesso di fornire una visione della morfologia di transizione tra gli antenati quadrupedi dei Cetacei e i loro discendenti con pinne. La presenza di un lungo femore e di lunghi arti posteriori in *Ambulocetus* dimostra che era capace di muoversi sulla terraferma probabilmente adottando una postura simile a quella degli otaridi, ed inoltre era in grado di nuotare grazie ad ondulazioni dorsoventrali della colonna vertebrale. Ciò è risultato dall'analisi morfologica della vertebra lombare conservata: la forza di propulsione per la locomozione era fornita dagli arti posteriori modificati in pinne e dall'estensione e flessione dei muscoli spinali (Fig. 2).

Le caratteristiche scheletriche di resti di altri fossili tra cui *Rodhocetus kasrani* (Gingerich et al., 1994), testimoniano inoltre, in modo ancora più significativo, il graduale processo evolutivo nella locomozione dei Cetacei.

La presenza delle ossa pelviche articolate direttamente al sacro in *Rodhocetus*, indica che questo sosteneva ancora il proprio peso sulla terraferma. Allo stesso tempo, le vertebre

cervicali più appiattite, le vertebre sacrali di grosse dimensioni, ma non fuse tra di loro e quindi flessibili, e il femore ridotto, sono tutte caratteristiche di transizione tra locomozione a terra e locomozione acquatica. La fusione delle vertebre sacrali in *Indocetus*, la presenza di corpi vertebrali robusti nelle vertebre lombari e prossimali caudali e le spine neurali alte, indicano che gli Archeoceti, come i Cetacei attuali, nuotavano sfruttando la spinta fornita dalle ondulazioni della spina dorsale sul piano verticale ma non possedevano ancora la possente pinna caudale orizzontale, che deve essersi quindi evoluta successivamente.

I resti fossili testimoniano quindi in modo significativo la "fase anfibia" nel graduale processo evolutivo dei Cetacei a favore di un'origine da antenati terrestri.



Figura 2. Ricostruzione di *Ambulocetus*, testimonianza della fase anfibia degli Archeoceti <http://www.squidoo.com/whale-evolution>.

Queste scoperte hanno portato un contributo notevole alla conoscenza dell'origine dei Cetacei anche se risultano ancora da chiarire alcuni aspetti del loro incredibile cammino verso la riconquista dei mari. In particolare rimangono ancora alcuni punti oscuri riguardo ai loro progenitori.

Le numerose ipotesi formulate a proposito dei possibili progenitori di questi Cetacei primitivi, si sono basate prevalentemente sulla comparazione di caratteri del cranio e dei denti.

I reperti fossili di Archeoceti scoperti negli ultimi venti anni sembravano confermare le affinità tra Cetacei e Mesonichidi, un gruppo arcaico di Mammiferi carnivori, evoluti dai Condilartri, che hanno dato origine anche agli Artiodattili. Tuttavia recenti studi di biologia molecolare hanno inaspettatamente messo in luce strette affinità tra i Cetacei e gli Ippopotami (Thewissen et al., 2007; Geisler & Theodor, 2009), tanto da fare ipotizzare che questi due gruppi di Mammiferi, siano strettamente imparentati (Fig. 3). La questione è ancora alquanto



dibattuta e le evidenze fossili sostengono solo in parte questa ipotesi. I Mesonichidi si sono estinti circa 35 milioni di anni fa ed i più antichi fossili attribuiti a Hippopotamidi risalgono a circa 21 milioni di anni fa (Orliac et al., 2010) e sono stati rinvenuti in Africa.

In ogni caso il gruppo di Mammiferi viventi più affine ai Cetacei sarebbero gli Ippopotami.

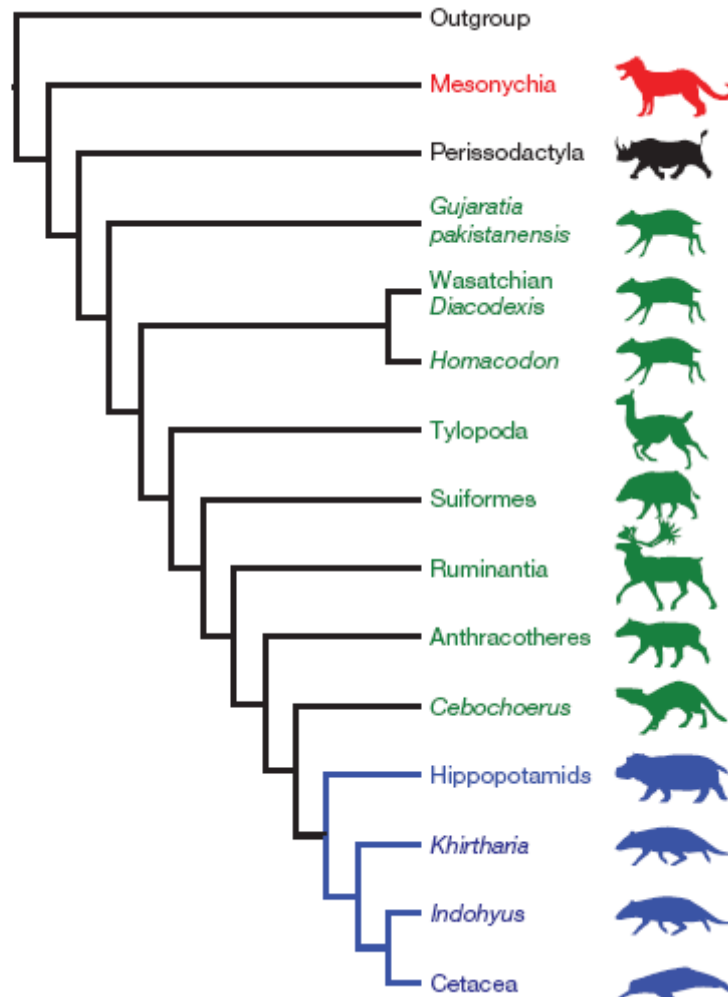


Figura 3. Effetto dei dati molecolari sulla filogenesi dei Cetacei e dei loro parenti terrestri (Geisler & Theodor, 2009).

La maggior parte degli studiosi concorda sul fatto che gli Archeoceti furono gli unici Cetacei eocenici, e che solo nell'Oligocene (da 35 a 25 milioni di anni fa) e nel Miocene (da 25 a 5 milioni di anni fa), fecero la loro comparsa i primi rappresentanti dei due sottordini viventi dei Cetacei: gli Odontoceti e i Mysticeti.

Le principali tendenze evolutive dei Mysticeti sono l'aumento delle dimensioni del corpo e soprattutto della testa, l'aumento della telescopica del cranio e la riduzione del collo. Le forme più primitive sono state ritrovate in rocce del tardo Oligocene, portano ancora denti e presentano altri caratteri che ne avvalorano l'origine dagli Archeoceti. Alla fine del Miocene (10-5 milioni di anni fa) si assiste alla comparsa di gran parte dei gruppi attuali e all'estinzione di molti tipi primitivi: compaiono gli attuali e più evoluti Balaenidae e Balaenopteridae che si

diffondono solo nel Pliocene. Con il Pliocene (5 milioni di anni fa) i popolamenti a Cetacei assumono una fisionomia moderna che prelude a quella attuale.

### 1.1.2 Adattamenti corporei alla vita in acqua

I Cetacei sono gli animali che raggiungono le maggiori dimensioni, i maggiori volumi ed i pesi più elevati. L'ambiente acquatico, e quello marino in particolar modo, ha favorito un tale sviluppo delle dimensioni non ponendo quei limiti dovuti alla forza di gravità a cui devono sottostare gli animali terrestri. Se la crescita corporea superasse tali limiti ciò andrebbe a scapito degli arti stessi e dell'efficienza locomotoria in genere; per i Cetacei il problema non sussiste poichè l'adattamento in ambiente acquatico consente di equilibrare la sollecitazione di gravità con la spinta di galleggiamento. Resta però il problema della locomozione: occorre muoversi in tale ambiente e vincere le forze d'attrito col mezzo le quali aumentano in modo proporzionale all'aumentare della superficie corporea.

L'evoluzione dei Cetacei in tal senso, è stata a favore di una linea idrodinamica che limitasse l'attrito, e di un efficiente sistema di nuoto che permettesse il movimento di una tal massa con il maggior risparmio energetico possibile. I processi evolutivi hanno trasformato così tutto il treno posteriore in organo propulsore, e dato che la potenza locomotoria è in rapporto diretto con la massa muscolare e con la corporatura (che cresce in ragione del cubo delle dimensioni), animali più grossi si muovono in proporzione con un minor dispendio di energia (per unità di volume) (Cagnolaro et al., 1983).

Il successo evolutivo e il significato biologico ed ecologico di una grossa mole non sono legati esclusivamente ai fattori finora analizzati ma dipendono anche da considerazioni di carattere metabolico.

Sebbene la fisiologia dei Cetacei abbia subito notevoli cambiamenti rispetto a quella degli altri Mammiferi, verranno trattati brevemente in questo ambito solo alcuni aspetti inerenti la fisiologia dell'immersione e soprattutto gli apparati respiratorio e circolatorio. E' proprio in seguito alla necessità di ottenere apnee prolungate per la ricerca del cibo e rapide emersioni per gli scambi gassosi, che diventa necessario "modificare" tali apparati in modo da adattarli alle peculiarità ambientali.

Per quanto riguarda l'apparato respiratorio, esso è separato dalle vie alimentari e ha uno sbocco esterno in posizione mediana superiore del capo, lo sfiatatoio, il quale è munito di sfintere che si chiude durante le immersioni. A livello polmonare gli alveoli sono in numero maggiore ed inoltre non presentano un epitelio come negli altri mammiferi bensì, in

sostituzione, due strati di capillari respiratori per favore il passaggio dell'ossigeno al sangue e ai muscoli, dove viene fissato maggiormente grazie alla presenza di mioglobina (41%). Questo forte accumulo è reso possibile dal grande volume di sangue e di muscolatura presenti in questi animali.

Per risolvere i problemi legati all'immersione non basta rendere più efficiente la respirazione, ma occorre economizzare il più possibile le riserve di ossigeno. Per favorire l'apporto di sangue agli organi vitali (o di primaria importanza) come cuore e cervello, si verifica una vasocostrizione periferica, che limita la circolazione nei tessuti meno sensibili alla scarsità di ossigeno; tali tessuti periferici cambiano il loro catabolismo che da aerobico diventa, temporaneamente anaerobico (glicolisi). Viene inoltre limitato il flusso venoso di ritorno al cuore e ciò avviene soprattutto grazie ad un rallentamento del battito cardiaco come risposta riflessa alla sensazione di immersione, e che torna normale una volta che il cetaceo giunge in superficie. Tale bradicardia non comporta comunque una diminuzione della pressione sanguigna, rimanendo essa costante grazie alla vasocostrizione periferica.

E' importante aggiungere come adattamento all'immersione e alle apnee, l'elevata tolleranza che i Cetacei hanno sviluppato nei confronti dei livelli di anidride carbonica ed acido lattico nei loro tessuti, potendone accumulare concentrazioni tali da provocare effetti pericolosi o letali negli altri Mammiferi.

Un altro importante adattamento, sempre a livello del sistema circolatorio, è la presenza di numerose "reti mirabili", fittissime diramazioni di arterie situate alla base del cranio e delle pinne, sotto la pleura, ai due lati della spina dorsale con funzione di serbatoi di sangue ossigenato.

I Cetacei, in qualità di Mammiferi immersi in un ambiente nuovo, hanno dovuto anche affrontare problemi di tipo osmotico e termoregolatorio.

Nel primo caso, essendo i loro liquidi ipotonici rispetto all'acqua di mare, si ha una perdita spontanea di acqua dal corpo e contemporaneamente assunzione di sali dall'ambiente circostante. L'alimentazione, basata essenzialmente su proteine animali, porta però alla formazione di grandi quantità di residui azotati come l'urea, che sono altamente tossici e vanno eliminati con acqua. Per evitare la disidratazione, i Cetacei limitano l'ingestione di acqua marina, che provoca rilascio di acqua da parte dei tessuti interni e accumulo di sali nell'organismo, e per espellere i rifiuti del metabolismo azotato, insieme ai sali in eccesso, producono un'urina molto concentrata, ipertonica sia rispetto all'acqua di mare, sia rispetto ai loro liquidi; sono così in grado di trattenere più acqua possibile a livello renale. L'assunzione di acqua avviene dagli alimenti e dal metabolismo delle sostanze alimentari.

Per la termoregolazione, essendo i Cetacei gli unici animali a sangue caldo che trascorrono tutta la vita in mare, hanno dovuto risolvere il grosso problema di mantenere costante la temperatura corporea. L'acqua ha la proprietà di condurre bene il calore e di sottrarlo alla superficie del corpo molto più rapidamente di quanto faccia l'aria. La condizione necessaria per mantenere costante la temperatura corporea è che la perdita di calore in acqua, sia bilanciata dal calore prodotto metabolicamente. Lo strato di grasso che copre il corpo dei Cetacei e li isola dal loro ambiente, limita la dispersione di calore che è invece favorita dalla circolazione sanguigna superficiale e dalla ricca vascolarizzazione delle espansioni corporee (pinna caudale e pinne pettorali). Nel caso di un eccesso di calore aumenta la circolazione del sangue in questi distretti periferici, dove viene ceduto calore all'acqua di mare. La circolazione sanguigna in queste aree viene invece limitata nel caso contrario, ovvero se l'animale deve conservare il più possibile calore.

Nei Cetacei di grosse dimensioni, essendo la superficie corporea inferiore, in relazione al volume, il problema maggiore è quello di non riuscire ad eliminare tutto il calore prodotto con lo sforzo fisico, cosa che si verifica in misura minore nei Cetacei più piccoli.

### Emissione di suoni

Un'altra caratteristica peculiare dei Cetacei è la loro capacità di emettere suoni, ma poichè essi non possiedono corde vocali, questi vengono prodotti da vibrazioni della laringe prodotte da contrazione di muscoli locali e amplificate dai seni del cranio e da altri diverticoli delle vie aeree superiori. Gli Odontoceti producono suoni a frequenza elevata, da 100 fino a un massimo di 200.000 Hz e possiedono un sistema di ecolocalizzazione, o biosonar, che permette di ricevere le onde sonore riflesse dai corpi che li circondano. Ciò consente loro di evitare ostacoli, individuare prede, ed eventuali predatori, oltre che a percepire suoni emessi da altri individui e quindi comunicare con essi.

I Mysticeti invece, non possiedono biosonar e producono soprattutto segnali a bassa frequenza (tra i 20-100 Hz). L'udito è sicuramente il senso più importante e sviluppato nei Cetacei, indispensabile in molte loro funzioni vitali e sociali.

### 1.1.3 Trasformazione dello scheletro

Lo scheletro dei Cetacei si discosta da quello degli altri mammiferi per diversi cambiamenti dovuti all'adattamento alla vita in mare (Fig. 4).

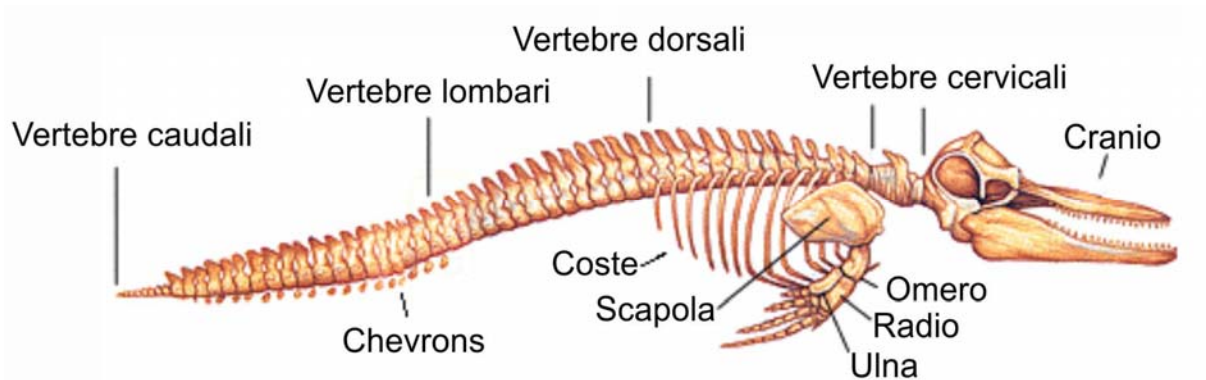


Figura 4. Scheletro di delfino.

A partire dal cranio, si osserva una disposizione modificata delle varie ossa per la perdita di certe parti, ma soprattutto per una profonda modificazione dei rapporti topografici tra di esse, oltre che alle loro proporzioni (Fig. 5).

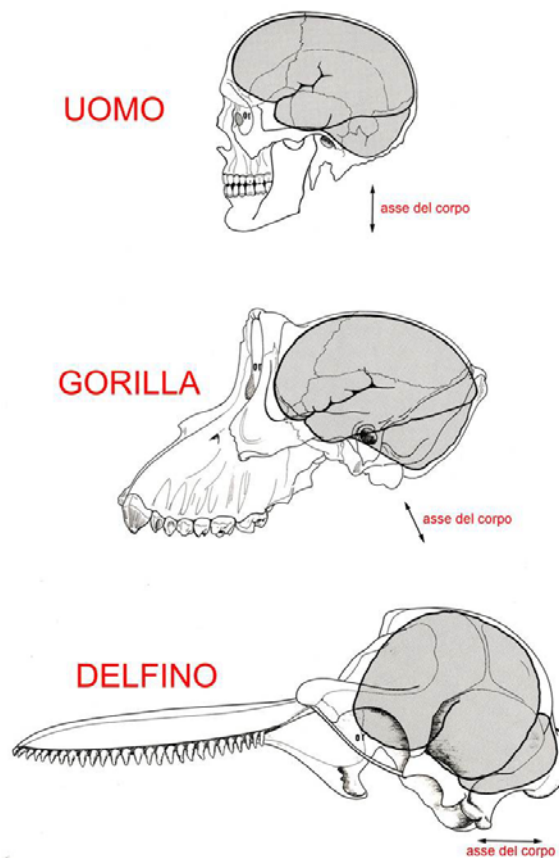


Figura 5. Diverse proporzioni delle componenti scheletriche del cranio e del cervello poste a confronto in tre diverse specie di mammiferi.

Si parla anzitutto di "telescopia" del cranio dei Cetacei. Lo splancnocranio, la parte anteriore del cranio, è formato essenzialmente da mascellari, intermascellari o premascellari, e vomere; tutte queste parti subiscono un allungamento considerevole, con la formazione di una struttura peculiare: il rostro (Fig. 6). Ne consegue che il cranio dei Cetacei può essere tipicamente suddiviso in una regione rostrale ed in una prerostrale.

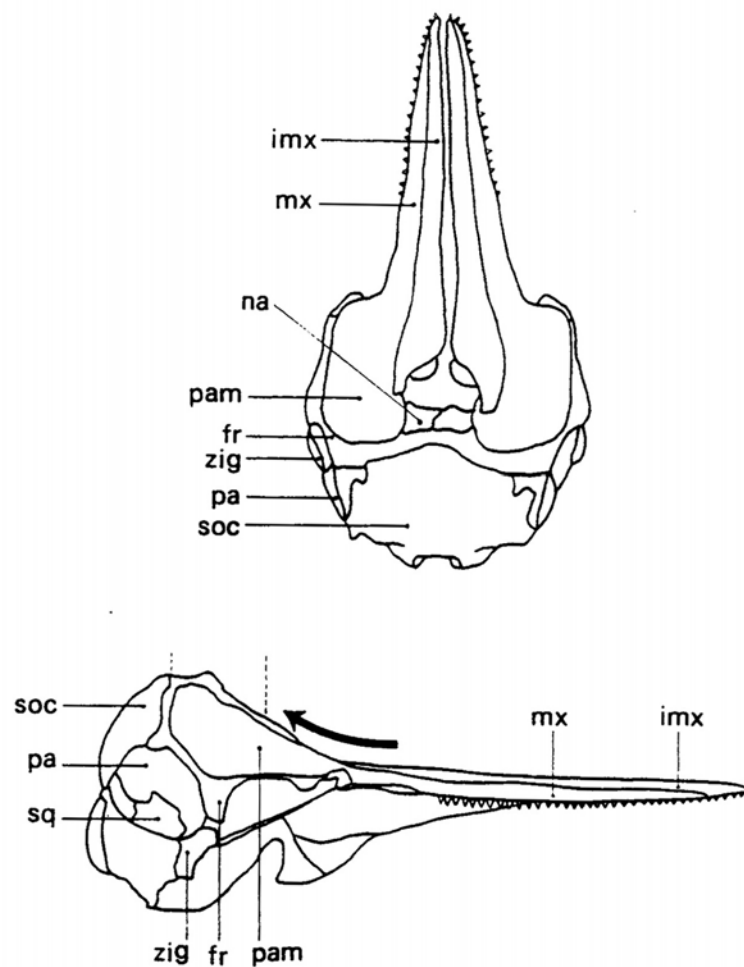


Figura 6. Effetto della telescopia e dello spostamento delle ossa craniche in un cranio di delfino (imx: intermascellare; mx: mascellare; na: nasali; pam: processo anteriore del mascellare; soc: sopraoccipitale; pa: parietali; sq: squamoso; fr: frontale; zig: zigomatico).

La scatola cranica o neurocranio, subisce un accorciamento che si sviluppa prevalentemente in larghezza e, soprattutto negli Odontoceti, in altezza; si verifica inoltre un cambiamento dei rapporti di contatto tra le varie componenti ossee che sembra risultare da uno scivolamento delle une sulle altre: il processo anteriore del sovraoccipitale raggiunge il margine prossimale

dei frontali, i parietali sono dislocati di lato e posteriormente, gli stessi frontali occupano una porzione assai ridotta della superficie superiore del cranio, le aperture delle cavità nasali appaiono spostate molto indietro, così come le estremità prossimali dei mascellari e degli intermascellari (Fig. 6).

Tale alterazione della morfologia cranica è interpretabile, sia come risposta adattativa al nuoto (maggiore idrodinamismo), sia come specializzazione per l'assunzione del cibo, che richiede un forte sviluppo delle mascelle e dell'apparato ghermitore in genere, oltre a una maggiore superficie disponibile per l'impianto di denti (Odontoceti) e fanoni (Misticeti). Inoltre almeno negli Odontoceti, rostro e mandibole hanno assunto specializzazioni per la ricezione sonora.

E' interessante osservare che fino ad un certo stadio dello sviluppo embrionale, la struttura dell'osteocranio è simile a quella di un mammifero terrestre e il cambiamento avviene tardivamente per effetto di una crescita ineguale delle diverse ossa.

Altri cambiamenti notevoli si verificano a livello della colonna vertebrale che nei Cetacei ha un decorso abbastanza rettilineo, senza sensibili curvature: si possono individuare solo 4 regioni mancando il settore delle vertebre sacrali, a seguito dell'atrofia del bacino.

La regione cervicale è composta sempre da 7 vertebre con corpo molto appiattito e per questo è assai breve e dotata di minima mobilità. Sovente le cervicali presentano fusioni per anchilosi o anche la totale loro fusione in un solo blocco.

Ci sono specifiche distinzioni tra i vari settori vertebrali, tra cui l'inclinazione dei processi spinosi e trasversi: i primi sono lievemente diretti caudalmente e i secondi cefalicamente. Andando in direzione caudale, le apofisi laterali tendono leggermente a raddrizzarsi, divenendo perpendicolari al corpo vertebrale, mentre le spinose si dirigono sempre più all'indietro.

I corpi vertebrali delle vertebre lombari, diventano gradualmente più cilindrici e di maggiori dimensioni, con processi ben sviluppati. Passando alle vertebre codali, invece di osservare, come negli altri mammiferi una tendenza all'atrofia, si ha l'acquisizione di un corpo o centro potente e di apofisi trasverse forti e appiattite per l'inserzione dei muscoli. Di notevoli dimensioni anche le ossa a forcina (*chevrons*) situate ventralmente e di interesse per il passaggio di grossi vasi sanguigni.

Altri cambiamenti si verificano a livello dell'apparato scheletrico degli arti, in seguito all'adattamento al nuoto. Il cinto scapolare è privo di clavicola e ridotto ad una scapola appiattita molto larga, a ventaglio, con un acromion e un'apofisi coracoide molto sviluppati per l'inserzione di muscoli delegati alla mobilità dell'arto rispetto alla scapola.

L'arto anteriore presenta un omero corto con una larga testa globulare per l'articolazione con la scapola, e un'estremità distale appiattita cui si collegano radio e ulna, divenuti molto semplici, appiattiti e ravvicinati; è presente un'iperfalangia delle dita centrali.

In seguito alla perdita degli arti posteriori, il bacino è ridotto, su ciascun lato del corpo, ad un osso lungo sospeso nella muscolatura, posto in direzione assiale. Nei Balenidi si trovano anche resti di ossa femorali.

## 1.2 Il Delfino comune

### 1.2.1 Sistematica e distribuzione

Il delfino comune è una delle specie di delfini più conosciute e ampiamente distribuite nei mari ed oceani di tutto il mondo. Appartiene all'ordine dei Cetacei, sottordine Odontoceti, famiglia Delphinidae, genere *Delphinus*. La tassonomia del genere *Delphinus* è stata confusa per molte decadi. Molti sono i nomi attribuiti alle specie utilizzando come caratteri diagnostici principali la lunghezza del rostro ed il numero di denti (Hershkovitz, 1966).

Oggi si distinguono due specie (Heyning & Perrin, 1994): il delfino comune dal rostro corto, *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758), che si trova con maggiore frequenza nell'Oceano Pacifico orientale, Atlantico settentrionale, nel Mediterraneo e nel Mar Nero, dove vive la sottospecie *D. d. ponticus*, e il delfino comune dal rostro lungo, *Delphinus capensis* Gray, 1828, di dimensioni maggiori, che popola alcune aree costiere tropicali e temperato-calde dell'emisfero meridionale con la sottospecie *D. c. tropicalis*, endemica dell'Oceano Indiano settentrionale e con rostro estremamente lungo (Jefferson & Waerebeek, 2002; Best, 2008).

La notevole variabilità geografica di queste specie ha per molto tempo reso difficile la caratterizzazione dei due morfotipi.

Le due specie differiscono in colorazione, dimensioni, forma del corpo, caratteristiche scheletriche, ma una chiara differenziazione filogenetica tra di loro a livello mondiale non è stata ancora confermata. Infatti, benché le popolazioni di delfino dal rostro lungo e corto della California risultino chiaramente differenziate geneticamente (Rosel et al., 1994; Kingston & Rosel, 2004), tale differenziazione non è stata riscontrata in altre popolazioni di delfino dal rostro lungo esaminate e provenienti da altri oceani (Natoli et al., 2006). Invece sembra che il fattore di differenziazione sia più influenzato dalla provenienza geografica o da adattamento ad habitat locali (Bilgman et al., 2008).



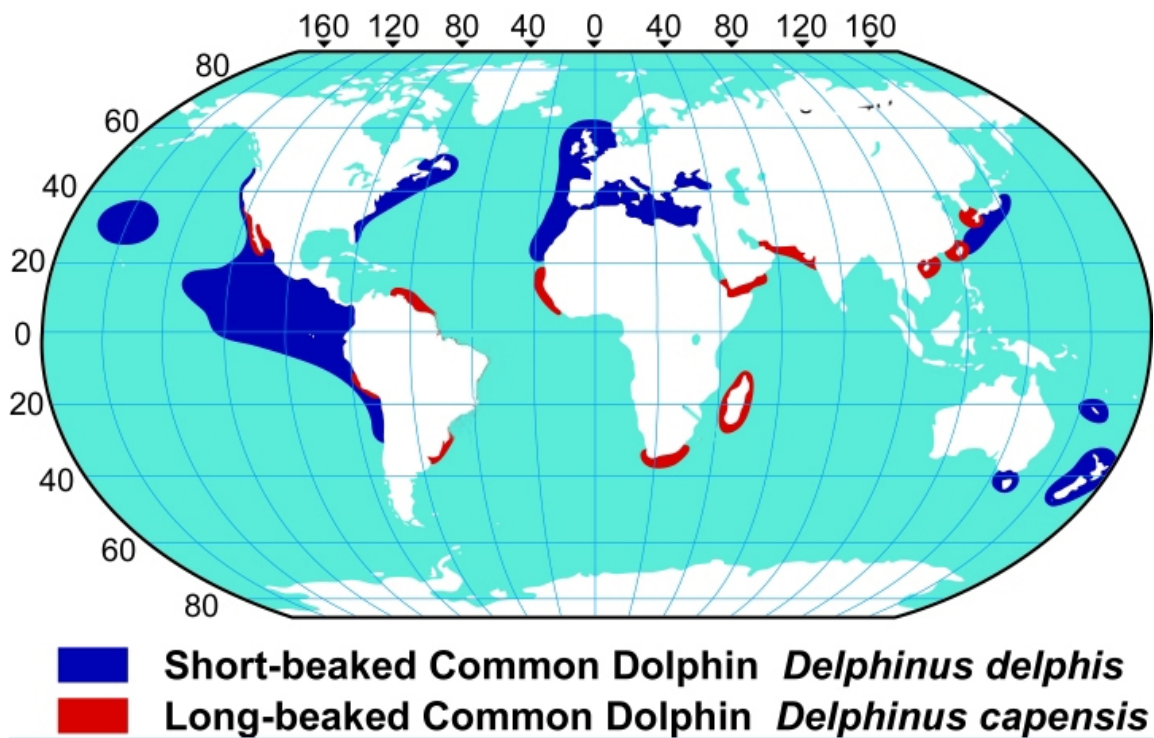


Figura 7. Distribuzione delle due specie di Delfino comune (modificata dal sito American Cetacean Society <http://www.acsonline.org>).

Il delfino comune dal rostro corto (*D. delphis*) ha un corpo più slanciato ed un rostro breve che emerge in modo molto marcato dal melone (Fig. 8); la pinna dorsale è alta e triangolare e più larga, come del resto le pinne pettorali, rispetto al delfino comune dal rostro-lungo che a confronto è relativamente più pesante e grosso, con angolo tra rostro e melone meno evidente e pinne in proporzione più piccole (Fig. 9) (Perrin, 2003).



Figura 8. Esemplare di *Delphinus delphis* (<http://commons.wikimedia.org/wiki/>).



Figura 9. Esemplare di *Delphinus capensis* in cui si nota il lungo rostro da cui il nome volgare.

Le differenze principali nella colorazione (Fig. 10) consistono in: colorazione più chiara del disegno sul torace e sui fianchi (TP: thoracic patch; FP: flank patch), con colorazione giallo-ocra più intensa che contrasta con il colore grigio scuro del dorso in *D. delphis*; questo morfotipo è inoltre caratterizzato da un addome bianco (AF: abdominal field) che si estende fino all'attacco delle pinne pettorali e anche sotto l'occhio; infatti le striature tra le pinne pettorali e l'ano (FAS: flipper-to-anus stripe) sono praticamente assenti e la fascia nera che parte dalle pinna pettorale (FS: flipper stripe) è ben distinta anteriormente e separata dalla banda dell'occhio (EP: eye patch), scura e in netto contrasto con la colorazione chiara del fianco.

In *D. capensis* invece non si ritrova un netto contrasto di colorazione né sui fianchi e neppure nella parte addominale, la cui colorazione bianca difficilmente si estende fin sopra le pinne pettorali (Fig. 10); inoltre le striature pettorali si fondono completamente con la macchia sul labbro (LP: lip patch).

Gli esemplari adulti mostrano dimorfismo sessuale in entrambe le specie, con i maschi in media più lunghi delle femmine (5% circa); la specie *D. capensis* è più grande (maschi 202-235 cm; femmine 193-224 cm) rispetto a *D. delphis* (maschi 172-201; femmine 164-193).

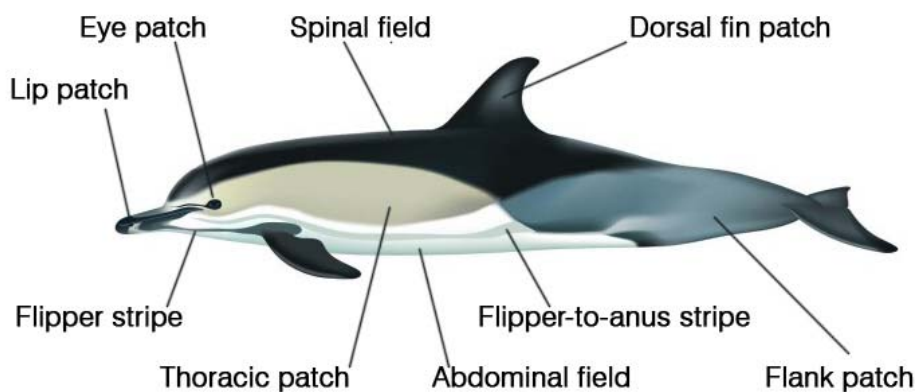


Figura 10. Terminologia della colorazione nel delfino comune (modificato da Heyning & Perrin, 1994).

### 1.2.2 Biologia della specie

Il Delfino comune dal rostro corto (*D. delphis*), oggetto di questo studio, è una specie gregaria con gruppi composti anche da 200-300 individui (mediamente 50-70) a seconda della provenienza geografica e della stagione, con gruppi più numerosi in tarda estate/autunno (Best, 2008). La specie è prevalentemente pelagica ma può utilizzare anche habitat costieri, spesso in associazione alle correnti di *upwelling* nelle zone equatoriali e sub-tropicali (Best, 2008; Jefferson et al., 2009).

La dieta varia sia in base alla provenienza geografica che al tipo di habitat occupato, neritico o pelagico: cefalopodi, crostacei ma anche acciughe e sardine nel Mediterraneo occidentale e pesci lanterna e calamari nel Nord Pacifico (Best, 2008); sembra che l'alimentazione avvenga prevalentemente di notte, a cominciare dal tramonto, quando molte prede migrano verticalmente verso gli strati superficiali dell'acqua. Studi di telemetria (Evans, 1994) hanno mostrato come le immersioni dei delfini aumentino al mattino presto con la discesa delle prede verso gli strati più profondi (dai 5-8 metri della superficie fino a 50 m di profondità). E' stata inoltre osservata, in molte popolazioni in diverse area dell'areale distributivo, una migrazione stagionale in seguito al cambiamento della temperatura dell'acqua). La velocità di nuoto di questi animali può raggiungere e superare i 23-25 km/h.

La maturità sessuale è raggiunta in media a un'età tra i 10-11 anni nei maschi e 8-9 anni nelle femmine per una lunghezza corrispondente di circa 179-182 cm e circa 170 cm (Murphy, 2004); dopo una gestazione di circa 11 mesi nasce un solo piccolo lungo circa 80 cm che viene allattato in media 16 mesi; l'intervallo tra le nascite è di circa 2-2,5 anni. Entrambe i sessi possono vivere fino a 26-27 anni (Ferrero & Walker, 1995).

### 1.2.3 Caratteristiche dello scheletro cefalico

I notevoli cambiamenti adattativi intervenuti sul cranio dei cetacei sono meglio visualizzabili in termini di complessi funzionali: alimentare, respiratorio, della produzione e ricezione dei suoni. Come precedentemente illustrato, i cambiamenti più drastici sono avvenuti a carico delle strutture rostrali e facciali, interessate dal fenomeno di allungamento anteriore noto come ‘telescopia’; le ossa nasali e le corrispondenti narici esterne sono slittate dorsalmente e posteriormente, le orecchie e le ossa ad esse connesse si sono altamente modificate in relazione al diverso sistema di orientamento in ambiente acquatico.

Gli Odontoceti infatti hanno sviluppato un sistema di ecolocazione per compensare la mancanza di visibilità nell’ambiente marino che ha comportato delle grosse modifiche a livello delle ossa craniche. Questo rende molto difficile la comparazione delle componenti ossee in termini di omologia ed analogia delle strutture anatomiche, con problemi legati anche alla diversa terminologia: il problema di base è appunto la difficoltà di riconoscere strutture che hanno un’origine evolutiva comune (Mead & Fordyce, 2007).

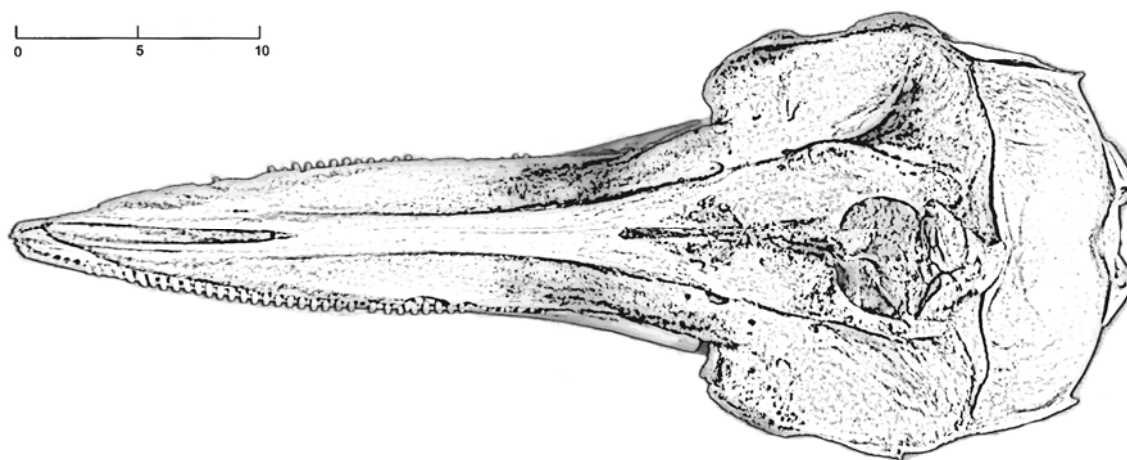


Figura 11. Cranio intero di esemplare adulto di delfino: vista dorsale.

Il complesso sistema acustico di ecolocazione, formato dal melone, insieme all’orecchio e ai corpi lipidici associati alle mandibole, si è sviluppato nel tessuto molle tra la bocca e il naso, in associazione allo sviluppo della muscolatura, dei diverticoli nasali e dei seni craniali, con conseguenti modifiche delle ossa craniche sottostanti (Mead, 1975).

Pare che a questo sia dovuta la forte asimmetria che caratterizza il cranio degli Odontoceti, evidente soprattutto a livello delle ossa premaxillari, maxillari e nasali che sono più

sviluppatate nel lato destro (Fig. 6). La posizione del melone, costituito da lipidi di diversa composizione, è infatti in prossimità di quelle ossa che risultano modificate e perciò asimmetriche.

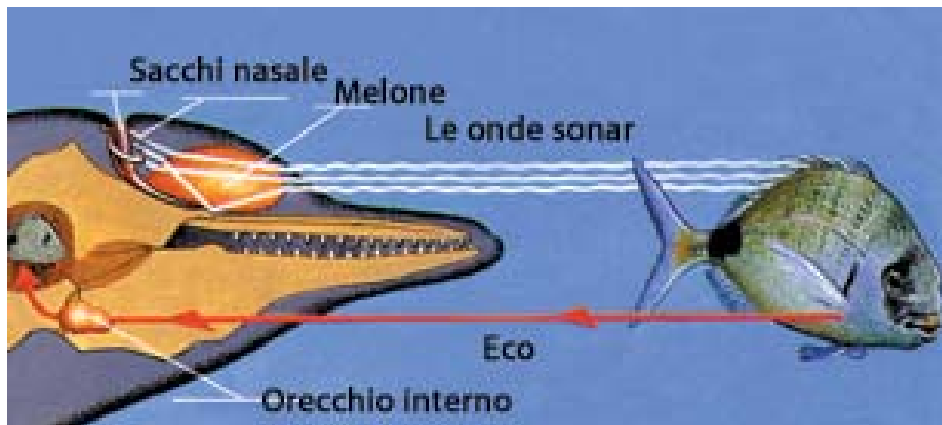


Figura 12. Disegno schematico del sistema di ecolocazione dei delfini: il melone è posizionato sopra al cranio ed in particolare nella zona caratterizzata da asimmetria.

Non tutti gli autori concordano con questa tesi e attribuiscono l'asimmetria direzionale allo spostamento della laringe, e delle ossa ioidee ad essa associate, a favore di un canale alimentare più ampio che favorisca il passaggio di prede di grandi dimensioni: pare infatti che le specie che si nutrono di pesci di maggiori dimensioni abbiano un'asimmetria più spiccata (Macleod et al., 2007).

Un'altra caratteristica peculiare del cranio del delfino comune, è la presenza, nella parte ventrale del rostro, in corrispondenza delle ossa mascellari, di un solco abbastanza profondo, il solco palatino, per il passaggio delle arterie e dei grossi nervi palatini (Fig. 13).

Sempre sul lato inferiore del cranio si osserva lo sviluppo delle ossa pterigoidee che circondano le narici interne, le quali si sono sviluppate in lamine laterali e mediane a formare i seni pterigoidei (Fig. 13).

Un recente studio svolto sui crani di Delfino comune (Heyning & Perrin, 1994; Jefferson & Van Waerebeek, 2002) ha permesso di caratterizzare le due specie oggi riconosciute, *D. delphis* e *D. capensis*, grazie alla differenza nel rapporto tra lunghezza del rostro (RL) e larghezza del cranio allo zigomatico (ZW).

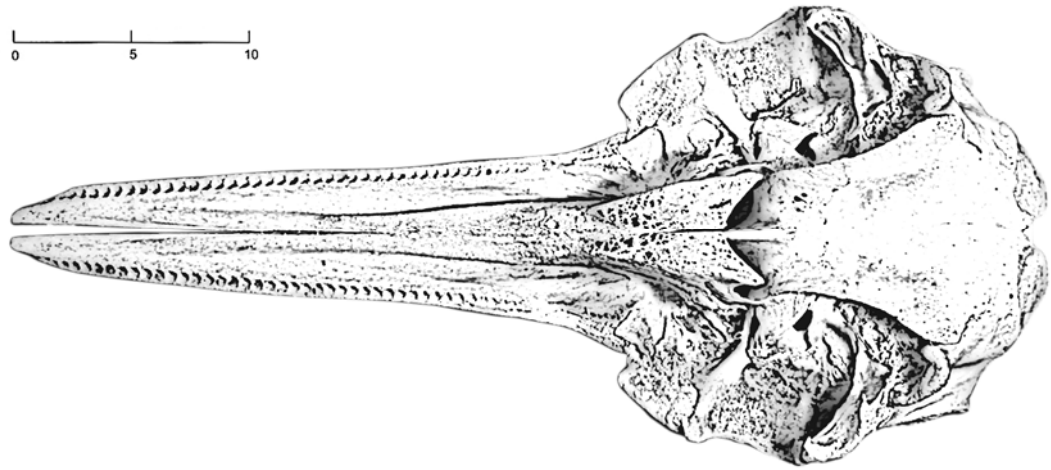


Figura 13. Cranio intero di esemplare adulto di delfino: vista ventrale.

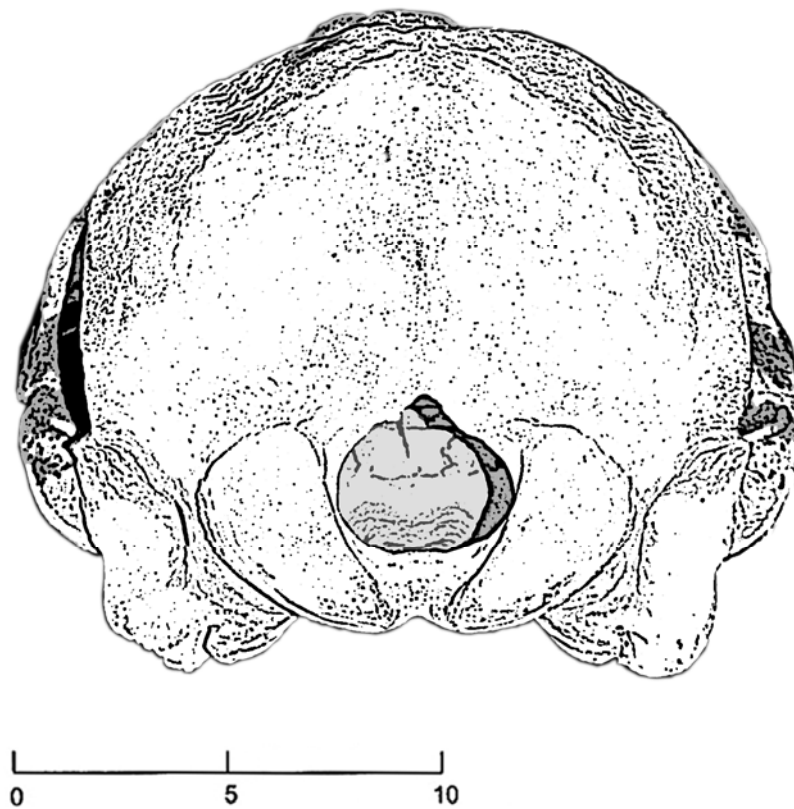


Figura 14. Cranio intero di esemplare adulto di delfino: vista posteriore

#### 1.2.4 Le sottopopolazioni mediterranee

Il Mar Mediterraneo rappresenta, insieme al Mar Nero, un ecosistema marino unico, geograficamente separato dall'Oceano Atlantico dallo Stretto di Gibilterra. L'intero bacino è caratterizzato da salinità e temperature dell'acqua maggiori rispetto all'attiguo Oceano, anche se il Mar Nero, a causa dell'ulteriore isolamento dovuto al sistema degli stretti turchi, risulta caratterizzato da minor salinità e minor temperatura dell'acqua, legate all'afflusso di acqua dolce dai fiumi. Il bacino del Mediterraneo è fisicamente diviso dall'Italia in due regioni, quella occidentale con acque prevalentemente profonde, e l'orientale con bassi fondali, sabbiosi in Adriatico e con diversi sistemi bentonici.

I Cetacei di questi mari si sono adattati alle caratteristiche ambientali locali, diversificandosi secondo un gradiente Ovest-Est. Inoltre in Mar Nero si è verificato un fenomeno di diversificazione, con la comparsa di sottospecie endemiche di delfini: il *Tursiops truncatus ponticus*, il *Delphinus delphis ponticus* e la *Phocoena phocoena relicta* (Tomilin, 1957; Hershkovitz, 1966).

Studi genetici condotti su alcune specie di cetacei del Mediterraneo (Berubè et al., 1998; Natoli et al., 2005; Gaspari et al., 2007; Natoli et al., 2008; Engelhaupt et al., 2009) e su altre specie marine (*Solea vulgaris*, *Diplodus labrax*), confermano che le diverse caratteristiche idrogeografiche e di habitat all'interno del bacino ed in Mar Nero, hanno promosso la differenziazione intraspecifica tra popolazioni (Natoli et al., 2005). La questione relativa alla differenziazione geografica in seguito a deriva genetica e la complessità dei livelli di diversità rinvenuti nell'area mediterranea sono di estremo interesse per la conservazione delle specie (Gaspari et al., 2007).

Dai dati presenti in letteratura e dal numero di esemplari conservati nelle collezioni osteologiche (Barone, 1895; Brunelli, 1932; Cagnolaro, 1996; Poggi, 1986; Police, 1932) risulta che il Delfino comune (*Delphinus delphis* Linnaeus, 1758) era una specie abbondante e ampiamente distribuita in tutto il bacino mediterraneo fino agli anni '70.

Si è poi verificata una drastica diminuzione della popolazione (Fig. 14), che si è ridotta a pochi gruppi isolati, oggi presenti in alcune zone del mar Tirreno meridionale, dello Ionio orientale e del mar Egeo (Notarbartolo di Sciara & Bearzi, 2002; Bearzi, 2003; Bearzi et al., 2003; Politi & Bearzi, 2004). La specie è maggiormente presente nella zona occidentale del bacino mediterraneo (mare di Alboràn), in vicinanza dell'oceano Atlantico (Fig. 16), e rimane comunque diffusa nei mari di tutto il mondo.

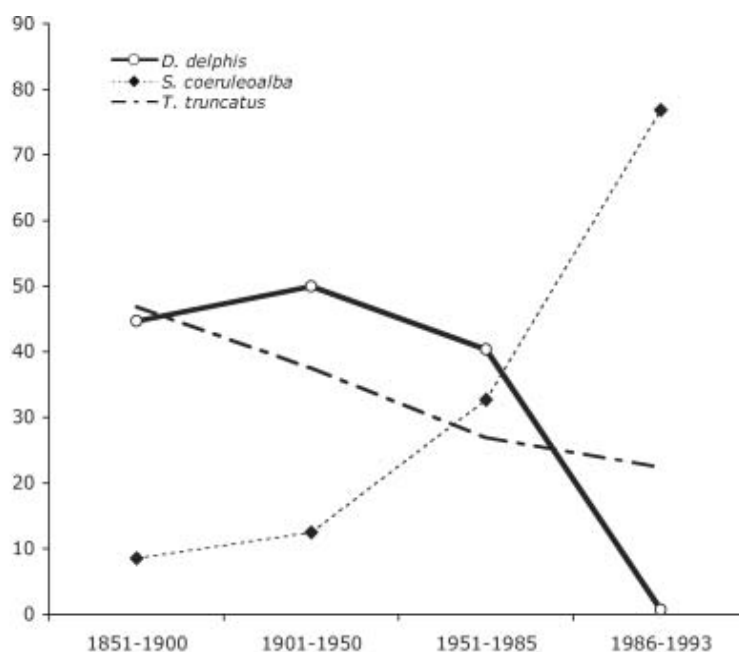


Figura 15. Acquisizione di esemplari di cetacei nelle collezioni museali e zoologiche Italiane tra il 1851 e il 1993, modificato da Cagnolaro (1996). *Delphinus delphis* ( $n = 56$ ), *Stenella coeruleoalba* ( $n = 243$ ), *Tursiops truncatus* ( $n = 109$ ).

La sottopopolazione mediterranea di *Delphinus delphis* è inserita dal 2003 nella categoria delle specie 'in pericolo' (EN – Endangered) della 'Red List of Treathened Animals' della IUCN (Bearzi et al, 2003, 2008; Hammond et al., 2008).

Inoltre, nel 2005 la specie è stata inclusa nelle Appendici I e II della Convenzione sulla Conservazione delle Specie Migratrici (Bonn Convention, CMS).

Le cause del declino di questa specie in Mediterraneo risultano ancora poco chiare, ma è comunque evidente che l'impatto della pesca intensiva degli ultimi decenni ha provocato profondi e significativi cambiamenti nella struttura e nel funzionamento degli ecosistemi marini (Piroddi et al., 2011), molto probabilmente per la distruzione delle riserve alimentari oggetto della dieta dei cetacei.

L'alimentazione è prevalentemente a base di pesci epipelagici e mesopelagici; studi sui contenuti stomacali di individui spiaggiati nel mar Ligure e nel Mediterraneo confermano che la dieta è costituita principalmente di pesce azzurro di superficie, ma anche cefalopodi e crostacei (Piroddi et al., 2011; Bearzi et al., 2003). Nelle acque costiere del mar Ionio orientale le prede principali sono acciughe e sardine, nelle acque costiere dell'isola d'Ischia il delfino comune è stato visto predare principalmente la costardella (*Scomberesox saurus*) (Mussi et al., 2002).



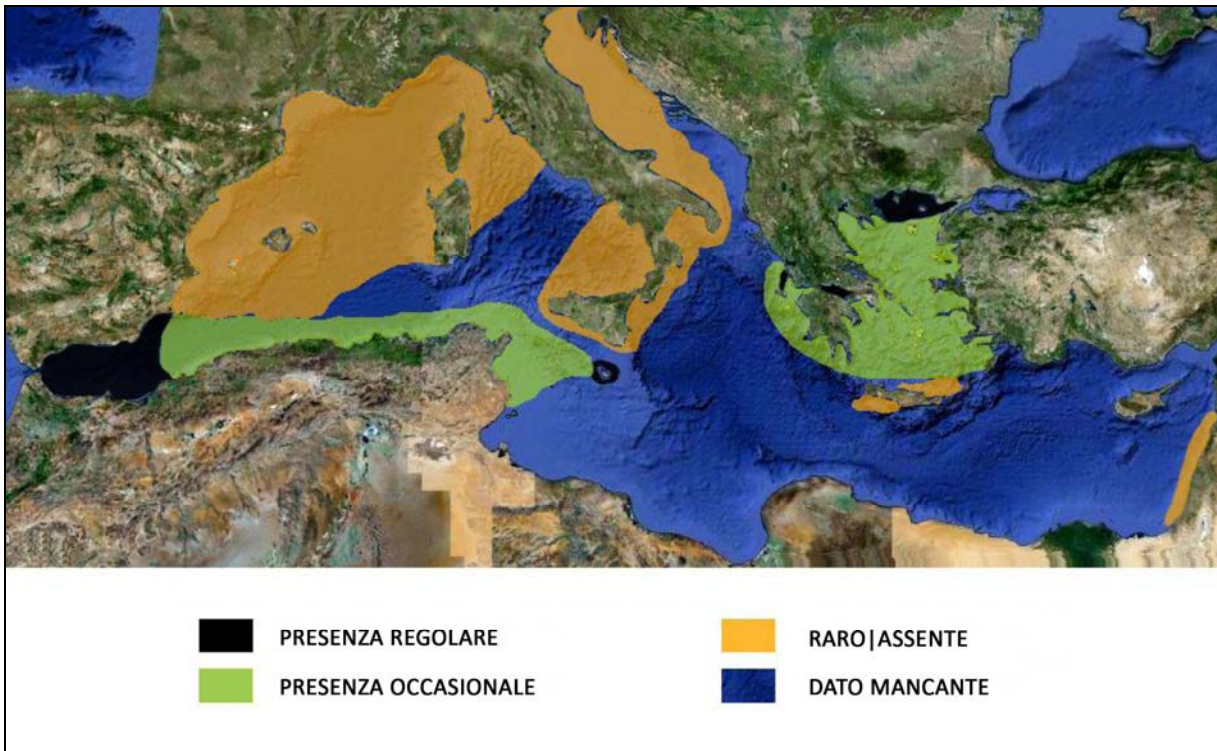


Figura 16. Mappa della distribuzione geografica di Delfino comune in Mar Mediterraneo (*Delphinus delphis*).

Infine è da considerare che i numerosi cambiamenti intervenuti sull'ecosistema marino negli ultimi decenni, a causa soprattutto degli interventi antropici (l'aumento dell'inquinamento, i cambiamenti climatici, la presenza di specie aliene), possono aver agito in sinergia, provocando nel corso degli anni, l'alterazione dell'ambiente naturale e la perdita di biodiversità.

L'ipotesi di considerare il Delfino comune mediterraneo come una 'sottopopolazione' non è stata ancora confermata dagli studi genetici in corso, i quali mostrano comunque un certo grado di divergenza tra individui atlantici e mediterranei, che aumenta all'interno del nostro bacino da occidente a oriente (Natoli et al., 2008).

L'approccio molecolare, sebbene essenziale, non è tuttavia sufficiente a definire le implicazioni funzionali ed adattative della variazione. Sempre più studiosi concordano infatti sull'importanza di metodi complementari che permettano una più completa descrizione della diversità intra- e interspecifica.

Tra questi si inseriscono i metodi morfometrici, che permettono l'individuazione di modelli di variazione delle specie e la loro interpretazione in termini storici (filogenetici), funzionali e adattativi (Adams et al., 2004). La morfometria geometrica trova oggi molte applicazioni in

ambito biologico e si dimostra un potente strumento capace di integrare le informazioni genetiche, ecologiche ed etologiche (Cardini et al., 2009).

Nel caso di specie rare e di interesse conservazionistico, come il Delfino comune, le collezioni museali rappresentano perciò una risorsa primaria di dati sulla variabilità fenotipica.

Le collezioni teriologiche sono infatti un materiale unico e prezioso per lo studio della variazione dei mammiferi nel tempo e nello spazio. Il cranio, in particolare, grazie alla sua particolare struttura, dovuta alle sue molteplici funzioni, è una struttura ricca di informazioni filogenetiche ed adattative: contiene infatti caratteri altamente conservativi, come la scatola cranica, e caratteri molto plastici che rispondono a sollecitazioni adattative legate ai meccanismi di alimentazione, ai sistemi di comunicazione, oppure più in generale a stimoli provenienti dall'ambiente in cui vivono (Loy, 2007).

### **1.3 La morfometria geometrica**

Il termine 'morfometria geometrica' è stato coniato da Leslie Marcus per la prima volta nel 1993 (Rohlf & Marcus, 1993). Questa tecnica comprende un insieme di metodiche che permettono di quantificare le informazioni 'geometriche' relative alla forma degli oggetti, consentendo inoltre di individuare e visualizzare le differenze tra gli individui.

Lo studio delle forme biologiche tramite comparazione è stato ampiamente utilizzato, in particolare in ambito zoologico, per l'identificazione di specie (sul campo o in ambito museale), per studi sulla variabilità, per identificare modelli di interesse sistematico ed evolutivo, per indagini che riguardano le fasi di sviluppo pre- e post-natale, oltre allo studio delle relazioni tra taxa nel tempo e nello spazio. Le scienze biometriche della morfometria, basate prevalentemente sulla definizione di indici e parametri ottenuti tramite rapporti di misurazioni, hanno dato origine, verso la fine degli anni '80, ad questo nuovo metodo che permette di caratterizzare le differenze di forma e dimensione tra organismi, oltre a visualizzarne le variazioni.

La morfometria si definisce quindi come lo studio quantitativo della variazione delle forme biologiche con l'obiettivo principale di individuare le associazioni che intercorrono tra forme diverse, al fine di identificare le cause e gli effetti delle modificazioni della forma.

Nella morfometria geometrica, il rapporto stretto e reciproco tra metodologie numeriche e statistiche, e criteri biologici, permette di descrivere in modo ripetibile e oggettivo i cambiamenti di forma tra gli organismi. Per poter essere comparabili, i caratteri presi in esame devono essere caratterizzati implicitamente da un criterio di omologia;

successivamente, lo studio delle differenze ‘geometriche’ nella forma deve essere effettuato con le metodologie algebriche e statistiche.

In termini biometrici, l’omologia è da considerarsi come corrispondenza tra punti; si utilizzano quindi un insieme di misurazioni che permettano di rivelare diversità tra insiemi corrispondenti di punti matematici, che identificano appunto gli stessi caratteri.

L’analisi si basa quindi sull’individuazione di punti che identificano caratteri omologhi (*landmarks*) facilmente rilevabili su tutti gli esemplari raccolti e tali da caratterizzare la conformazione delle strutture anatomiche oggetto di studio. Le coordinate cartesiane, in 2 o 3 dimensioni, dei punti registrati rappresentano le variabili per l’analisi morfometrica.

Il rivoluzionario cambiamento rispetto alla morfometria tradizionale, che si limita a ricostruire le relazioni spaziali tra le misure, è dovuto al fatto che questo nuovo approccio di sintesi permette di visualizzare i risultati della variazione di forma (*shape*) indipendentemente dalle dimensioni (*size*) degli esemplari studiati (Adams et al., 2004).

E’ necessario chiarire che cosa si intende per forma, rispetto anche ai termini inglesi. La parola *form* in inglese riassume le caratteristiche sia della taglia (*size*) che della relazione geometrica tra i caratteri (*shape*); la parola ‘forma’ in italiano è invece riferita al singolo termine inglese *shape*, mentre dovrebbe includere i due aspetti di dimensione o taglia (*size*) e ‘configurazione’ (*shape*), per evitare confusione.

In conclusione la *shape analysis* si riferisce alle sole proprietà geometriche dell’oggetto, indipendentemente dalla sua dimensione e localizzazione nello spazio: gli effetti dovuti a queste variabili devono quindi essere rimossi dall’analisi. Le informazioni legate al fattore ‘taglia’ (*size*) contengono comunque importanti indicazioni di tipo adattativo ed evolutivo e devono essere perciò isolate e conservate per indagini di sul dimorfismo o di tipo allometrico (Klingerberg, 1996, 1998).

Le misure della taglia vengono quindi riassunte in un indice, il *centroid size* (Bookstein, 1986), che esprime la misura della dispersione dei landmark attorno al baricentro dell’oggetto, il centroide. Per standardizzare le configurazioni dei landmark viene quindi utilizzato il valore del *centroid size* che viene posto uguale a 1; facendo coincidere i vari centroidi, ruotando, traslando e allineando le conformazioni si cerca l’assetto ottimale che minimizza le distanze quadratiche tra punti omologhi (metodo dei minimi quadrati o metodo di Procrustes).

Queste operazioni vengono effettuate con una procedura chiamata Generalized Least Square Procrustes superimposition, meglio nota come Generalized Procrustes Analysis (GPA). Si ottengono così delle nuove coordinate (*shape variables*) che sono il risultato della proiezione nello spazio Euclideo tangente allo spazio della forma di Kendall (Zelditch et al., 2004). Dato che lo spazio della forma è curvo viene approssimato da uno spazio Euclideo tangente usando

una proiezione che può essere paragonata alla cartografia della Terra sferica riportata appunto su una mappa (Loy, 2007). Questa proiezione è necessaria perché molti metodi statistici standard come la regressione, l'analisi della varianza e molti altri, generalmente richiedono che i dati siano in uno spazio Euclideo piano (Viscosi & Cardini, 2011).

La matrice delle coordinate bi- e tridimensionali individuate sugli oggetti (*landmark*), è stata quindi trasformata in una nuova matrice di variabili (*shape variables*), utilizzate per le successive analisi di statistica multivariata che indagano sulle variazioni di forma (*shape*).

Nel caso in cui non sia possibile individuare dei punti omologhi sugli oggetti da analizzare, si può effettuare un'analisi dei contorni, adattando delle curve al contorno dell'oggetto (*fitting*) e analizzandole statisticamente come variabili della forma, trasformandole e visualizzandone le variazioni; un limite a questo tipo di approccio pare che sia legato all'incongruenza dei risultati ottenuti con approcci diversi (Loy, 2007). E' possibile in caso combinare i contorni (linee curve) ed i landmark in una nuova sintesi dei due, i semilandmark: ciò avviene rilevando landmark a distanze fisse lungo il contorno o la superficie dell'oggetto; in questo modo si possono utilizzare gli stessi algoritmi della geometria dei landmark per descrivere variazioni di linee e superfici, laddove non sia possibile rilevare i punti omologhi 'tradizionali' (Loy, 2007).

La maggior parte dei software utilizzabili per le analisi sono gratuiti e scaricabili dai siti dedicati alla morfometria come quello della SUNYSB State University of New York a Stony Brook, gestito da Jim Rohlf (<http://life.bio.sunysb.edu/morph>) e l'altro creato da Christian P. Klingenberg dell'Università di Manchester ([http://www.flywings.org.uk/MorphoJ\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm)) da cui è possibile scaricare il software MorphoJ (Klingenberg, 2011); inoltre, tramite il forum di discussione MORPHOMET (<http://morphometrics.org/morphomet.html>), moderato da Dennis E. Slice, è possibile ricevere gli aggiornamenti sui software, discutere di problematiche o chiedere consigli sulle applicazioni dei diversi metodi della morfometria geometrica.

Certamente lo sviluppo e la diffusione di internet e dei sistemi informatici negli ultimi anni, oltre al potenziamento dei nuovi programmi statistici, hanno permesso alle tecniche di indagine della geometria morfometrica di divenire una tra le più promettenti per lo studio delle variazioni morfologiche in campo biologico (Loy, 2007; Cardini, 2009).

## Scopo della tesi

Il mio progetto di dottorato è focalizzato sull'analisi della variazione geografica tra stock di Delfino comune a rostro corto (*Delphinus delphis*, Linnaeus 1758), basata sull'analisi di caratteri cranici attraverso i metodi della morfometria geometrica in due e tre dimensioni.

La passione per i Cetacei e gli studi condotti in questi anni sulle specie mediterranee, sia in ambito museale che come volontaria del Centro Studi Cetacei, mi hanno portato ad approfondire le problematiche legate alla conservazione di questi animali nel delicato equilibrio col loro ambiente naturale. E' maturato col tempo il desiderio di approfondire nuove metodiche che permettessero di ampliare le conoscenze, spesso ancora oggi lacunose, su molte delle specie che popolano il mar Mediterraneo e la mia attività lavorativa in ambito museale mi ha portato a cercare un modo per poter utilizzare il vasto patrimonio conservato, e spesso trascurato, nelle collezioni museali.

Il Delfino comune ha sempre destato in me molto interesse, dato che la sua quasi totale scomparsa nel nostro bacino è legata ad un drastico declino iniziato negli anni Sessanta e per cause ancora non del tutto accertate o comunque dovute ad un insieme di fattori che molto probabilmente hanno avuto un effetto sinergico su questa specie. Dopo lunghi studi sul campo condotti da un team di ricercatori (Bearzi et al., 2003), la sottopopolazione mediterranea è stata inserita nella categoria 'Endangered' della Lista Rossa della IUCN ([www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)).

Le tecniche della morfometria geometrica, si rivelano lo strumento migliore per svolgere indagini sui reperti museali, soprattutto nel caso di specie di interesse conservazionistico come il Delfino comune, per le quali è difficile ottenere campioni (es. biopsie per indagini genetiche, studi in mare aperto, ecc.). I risultati delle analisi morfometriche sono anche un utile strumento per individuare eventuali Unità Evolutivamente Significative (ESU) che necessitano di una tutela specifica, sia per il Mediterraneo che per altre aree del mondo (Loy et al., 2011).

Nell'ambito della ricerca stati raccolti dati bidimensionali e tridimensionali su quasi 200 crani provenienti da 9 istituti museali, italiani e stranieri.

Gli esemplari, provenienti dagli oceani e dai mari di tutto il mondo, sono stati analizzati al fine di indagare sulle differenze di forma e dimensione in riferimento alle origini geografiche.

Le analisi serviranno inoltre per indagare eventuali variazioni non geografiche, come il dimorfismo sessuale o le traiettorie allometriche (Klingenberg, 1998). I risultati di queste analisi infatti mirano a permettere di identificare dei caratteri diagnostici utili per il

riconoscimento dei sessi e dell'età all'interno delle collezioni museali e divenire quindi un utile strumento per i conservatori al fine di classificare reperti in cui tali informazioni risultano assenti.



## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1 Raccolta campioni museali

La presente ricerca indaga sulla variabilità di caratteri cranici in esemplari di Delfino comune (*Delphinus delphis*) di diversa provenienza geografica. Infatti il delfino comune ha una distribuzione che interessa pressochè l'intero areale mondiale, con una notevole varietà di forme locali.

Innanzitutto è stata svolta una ricerca bibliografica per reperire il maggior numero di informazioni sulla specie: articoli sulla morfologia, la distribuzione geografica, l'ecologia, lo stato di conservazione e le attuali conoscenze in termini di variabilità genetica delle popolazioni in ambito mondiale. Inoltre sono state condotte indagini sulla presenza di esemplari all'interno delle collezioni museali italiane e straniere, sia europee che dei paesi che si affacciano sul bacino mediterraneo: è stato effettuato un primo censimento attraverso la consultazione di cataloghi o tramite l'invio di richieste mirate agli istituti di interesse (Parchi, Università, Enti di ricerca).

Le richieste inviate ai suddetti istituti, hanno permesso di individuare un vasto campione di esemplari (scheletri interi o parziali, crani o parti di scheletro cefalico), per un totale di circa 300 individui. Per motivi organizzativi, economici e anche di tempistica, la raccolta dati è stata possibile in 9 degli istituti museali contattati, 5 italiani e 4 europei.

Le informazioni specifiche sui singoli reperti oggetto di studio sono state raccolte e sintetizzate in un database così strutturato (Appendice 1): nome del Museo di provenienza, numero di catalogo del reperto, località e data di recupero dell'esemplare, sesso e classe di età (neonato, giovane, adulto); scheletro cefalico completo (con o senza mandibole), presenza di denti, tipo di analisi svolte (2D e/o 3D), raccolta campioni per indagini molecolari, note per eventuali informazioni aggiuntive.

La prima fase di indagine si è svolta con l'intento di recuperare esemplari di provenienza mediterranea per un confronto con gli individui dell'attigua area atlantica. Perciò nel corso del primo anno di dottorato sono stati visitati alcuni istituti museali italiani oltre al Museo di Storia naturale di Lisbona.

Sono stati raccolti in totale 30 esemplari presso gli istituti museali italiani: 6 crani presso il Museo Zoologico "La Specola" dell'Università di Firenze; 4 al Museo Civico di Storia naturale di Milano; 11 al Museo Civico "G. Doria" di Genova, che conserva il numero maggiore di reperti in Italia; 9 a Roma, di cui rispettivamente 3 al Museo di Anatomia



comparata dell'Università "La Sapienza" e 6 al Museo Civico di Zoologia; inoltre, grazie a una borsa di formazione dell'Università di Padova mi sono recata al Museo di Storia Naturale dell'Università di Lisbona per acquisire i dati sui crani di provenienza atlantica, per un totale di 35 esemplari.

Durante il secondo anno di dottorato è stata ampliata la raccolta dati in alcuni musei europei grazie al finanziamento ricevuto con le borse europee del Progetto Synthesys. E' stato quindi possibile recuperare un maggior numero di campioni di diversa provenienza geografica per un'analisi che comprendesse tutto l'areale della specie.

Con il contributo delle borse di studio mi sono recata presso il Museo Zoologico dell'Università di Amsterdam (marzo 2010) ed il Museo di Zoologia dell'Università di Copenaghen (giugno-luglio 2010) dove sono stati recuperati i dati rispettivamente su 95 e 40 esemplari.

Dal Museo di Amsterdam sono stati inoltre recuperati alcuni campioni di tessuto (osseo e cartilagineo) ed alcuni denti, per eventuali indagini genetiche da svolgere su alcuni dei crani misurati, per un totale di 55 campioni di diversa provenienza geografica (Appendice 1): 9 dell'Atlantico Nord-est (Irlanda e Olanda), 19 della Nuova Zelanda, 5 del Perù, 2 dell'Oman, 18 dell'Atlantico Sud-est (Africa occidentale e Sud-Africa).

L'ultimo museo visitato è stato quello di Storia Naturale di Parigi (settembre 2010), dove sono stati recuperati 51 esemplari.

In totale sono stati recuperati 251 crani tra tutte le diverse collezioni visitate e 197 di questi sono stati utilizzati per le indagini di morfometria geometrica (Tab. 1).

Lo studio dei reperti si è svolto in due fasi, una prima raccolta dati bidimensionale (2D), in cui gli esemplari integri e ritenuti idonei per le analisi, sono stati fotografati in diverse proiezioni (dorsale, ventrale, laterale, occipitale), oltre alle mandibole qualora presenti; in una seconda fase è stato effettuato un rilevamento dati tridimensionale (3D), con l'ausilio di uno scanner 3D Microscribe (Fig. ), cortesemente fornito dall'Università Tre di Roma. Nel corso del secondo anno di dottorato è stato quindi possibile raccogliere sia dati 2D che 3D sui crani presenti nei musei europei e visitati grazie al contributo del Progetto Synthesis; durante il terzo anno è stato poi completato il rilevamento dei dati 3D anche sui campioni italiani precedentemente fotografati (ad esclusione di quelli del Museo di Storia naturale di Milano).

<b>MUSEI</b>	<b>Totale crani</b>	<b>N 2D</b>	<b>N 3D</b>
<b>1. Lisbon National Natural History Museum - Portugal</b>	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>-</b>
<b>2. Museo Civico di Storia Naturale, Genova - I</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>3. Museo Zoologico dell'Università di Firenze - I</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>2</b>
<b>4. 5. Museo Zoologico e di Anatomia Comparata, Roma - I</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>
<b>6. Museo Civico di Storia Naturale, Milano - I</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>-</b>
<b>7. Amsterdam Zoological Museum - Holland</b>	<b>71</b>	<b>70</b>	<b>47</b>
<b>8. Copenhagen Zoological Museum - Denmark</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>19</b>
<b>9. Paris Natural History - France</b>	<b>51</b>	<b>50</b>	<b>21</b>
<b>TOTALE</b>	<b>197</b>	<b>194</b>	<b>97</b>

Tab. 1. Totale dei campioni, raccolti nei 9 musei europei, utilizzati per lo studio morfometrico e distinti in base alle due tipologie di indagine: bidimensionale (2D) e tridimensionale (3D).

L'intento di raccogliere i dati con le due diverse tipologie di acquisizione è quello di effettuare un'analisi più accurata della variazione morfologica oltre ad un confronto tra questi due metodi d'indagine.

E' infatti possibile indagare sui cambiamenti di forma dei crani, catturandone le informazioni attraverso landmark definiti da coordinate 2D (x, y) o 3D (x, y, z): nel primo caso sono stati fotografati gli esemplari e poi sono stati digitalizzati i landmark direttamente sull'immagine, utilizzando i software del pacchetto Tps (Rohlf, 2010); nel secondo caso i landmark vengono rilevati direttamente sul cranio tramite uno scanner 3D ed è quindi necessario recarsi nei musei con lo strumento ed il pc con il software dedicato (Slice, 1994-2000).

Le due metodiche di rilevamento dati sono entrambe valide ma nella scelta occorre valutare alcuni fattori: il rilevamento fotografico è certamente più comodo e più economico, dato che lo scanner 3D, oltre ad essere ingombrante è anche abbastanza costoso; inoltre le foto, una volta scattate vengono archiviate e possono essere comodamente analizzate in un secondo momento; di contro, bisogna anche considerare che il lavoro di riordino da compiere sulle immagini scattate (selezione, numerazione/siglatura, ordinamento, ecc.) richiede molto tempo, oltre al fatto che occorre poi digitalizzare i landmark su centinaia di foto selezionate (per ogni cranio almeno quattro proiezioni oltre allo studio delle mandibole). In questo senso il

rilevamento dati con lo scanner è più immediato, infatti una volta collegato lo strumento al pc, le coordinate dei landmark vengono direttamente scaricate su un foglio di lavoro Excel e salvate per le successive analisi. L'unico difetto di questa procedura consiste nel fatto che, se per qualche motivo durante la digitalizzazione si compiono degli errori (scambiare un landmark o dimenticare di registrarlo, ecc.), non è più possibile recuperare i dati se non recandosi di nuovo nel museo e ripetendo l'operazione. Certamente l'accuratezza dell'analisi tridimensionale, su strutture come i crani, è più potente al fine di definire la morfologia ed individuare le variazioni di forma, ma bisogna anche tenere conto della dimensione del campione (dato il maggior numero di variabili) e dei singoli fattori sopraelencati, da valutare a seconda dei casi di studio.

## **2.2 Studio bidimensionale**

Per la raccolta dati 2D è stata utilizzata una macchina digitale Nikon Coolpix 995 con zoom f.2.6-5.1 posizionata su un cavalletto con braccio estensibile di 45 cm (Fig.17).

Prima di iniziare a fotografare i vari reperti, si è svolta un'indagine al fine di ridurre possibili effetti di distorsione: a questo scopo ho eseguito diverse foto su un cranio conservato al Museo di Zoologia dell'Università di Padova, predisponendo un test in cui variava l'apertura dell'obiettivo mantenendo fissa la distanza (grazie al posizionamento della macchina digitale sull'apposito cavalletto). Il cranio di prova è stato posizionato a terra su un foglio di carta millimetrata e fotografato più volte variando la distanza focale della macchina, in modo da scegliere il posizionamento che riducesse il più possibile l'effetto di distorsione causato dalle curvature delle lenti (e individuabile grazie alla deformazione dell'immagine sul foglio millimetrato).

Per l'acquisizione delle immagini nei musei è stato approntato un protocollo standard che permettesse di minimizzare gli errori; la procedura per ogni singolo campione può essere così riassunta:

- posizionamento della macchina digitale su cavalletto con braccio estensibile (Fig.17 ) posto sempre alla stessa distanza dal cranio da fotografare (circa 1 metro) e parallelo ad esso (a tal fine è stata utilizzata una bolla posta sopra la macchina ed un'altra che si trova sul cavalletto);
- il cranio da fotografare veniva posto in una vaschetta in plastica contenente sabbia (Fig.18), in modo da poterlo più facilmente sistemare in posizione parallela rispetto alla macchina digitale (se possibile utilizzando anche in questo caso una bolla posta sulle ossa mascellari e premaxillari del rostro);

- inserimento nel campo visivo della foto, di una scala di misurazione di riferimento e dei dati del reperto (Fig. 18);
- quando possibile, le foto venivano scattate vicino ad una sorgente luminosa naturale (finestra), in caso contrario sono state utilizzate luci artificiali posizionate in modo da evitare la formazione di ombre sull'oggetto fotografato.



Figura 17 . Posizionamento della macchina digitale e del cranio di delfino (Foto P. Nicolosi, Museo di Zoologia dell'Università di Padova).



Figura 18. Set fotografico per la ripresa delle immagini dei crani: fondo di sabbia, scala di riferimento, cartellino identificativo dell'esemplare (Foto P. Nicolosi, Museo di Storia Naturale dell'Università di Lisbona).

In ogni museo visitato è stata ripetuta la procedura, utilizzando la stessa strumentazione e facendo attenzione che la posizione della macchina fotografica e del cavalletto fossero mantenute invariate nella successione di scatti delle varie proiezioni del cranio, dorsali, ventrali e laterali, oltreché delle mandibole. Per fotografare la regione occipitale (proiezione posteriore), il cranio è stato sistemato su un supporto di fronte alla macchina fotografica, e non a terra come per le altre proiezioni: la macchina è stata smontata dal cavalletto e riposizionata in bolla in modo che fosse il più possibile parallela al cranio.

In generale per ogni esemplare sono state scattate una ventina di foto in base alle diverse proiezioni del cranio e ripetendo gli scatti col flash al fine poi di individuare quelle che risultavano migliori per la digitalizzazione dei landmark; nello specifico gli scatti effettuati sono stati: 4 nella proiezione dorsale (a – dorsale con rostro appoggiato sulla sabbia; b – dorsale con rostro rialzato con un supporto; entrambe ripetute con flash); 4 in posizione ventrale (a – con rostro appoggiato; b – con rostro rialzato; entrambe ripetute con flash); 4 in posizione laterale (a – lato destro; b – lato sinistro; entrambe ripetute con flash); 2 per la visione occipitale del cranio (con e senza flash) e 4 per le mandibole (nel caso in cui queste ultime fossero disgiunte nelle due emimandibole, è stato necessario fotografarle sia dal lato esterno che interno; entrambe ripetute con flash). Successivamente le foto sono state archiviate in base alla tipologia, creando diverse cartelle per ogni museo: è stato poi necessario svolgere un lungo lavoro di selezione, tra le migliaia di foto archiviate, per scegliere le migliori sia dal punto di vista della risoluzione che al fine della digitalizzazione dei landmark.

Terminata quindi la fase di acquisizione delle immagini è iniziato lo studio della struttura anatomica del cranio, così da definire i caratteri utili per estrarre le informazioni sulla variazione di forma e quindi sulla variabilità geografica della specie, tenendo conto anche delle informazioni ricavate da studi analoghi svolti da altri autori (Amaral et al., 2009; Loy et al., 2010; Monteiro et al., 2002; Westgate, 2007).

Sulla base di questa indagine sono stati scelti i punti omologhi del cranio da utilizzare per l'indagine di morfometria geometrica.

Una volta definito il numero dei landmark è stato necessario controllare sulle diverse foto, nelle varie proiezioni, se fosse possibile rilevarli tutti: infatti, oltre alla peculiarità dei caratteri omologhi, occorre tener conto della possibilità di individuare la posizione dei landmark su tutti gli esemplari da analizzare, a causa per esempio di parti danneggiate.

Le coordinate dei landmark, strumento di partenza per le analisi di morfometria geometrica, vengono ricavate utilizzando i software del pacchetto Tps (Rohlf, 2010). Innanzitutto viene creato con TpsUtil un file TPS (estensione .tps) con tutte le immagini dei crani su cui voglio

digitalizzare i landmark. Per procedere poi a questa operazione di digitalizzazione, si utilizza invece il software TpsDig: viene settata la scala usando lo strumento 'image tool' del menu e prendendo come unità di misura quella di riferimento posta nella foto (10 mm); in questo modo il fattore di scala (mm/pixel) è usato per convertire le coordinate da pixel a millimetri e per aver le configurazioni dei landmark di tutti gli esemplari nella stessa scala. Se il fattore di scala è lo stesso per tutte le immagini, dato che sono state utilizzate le stesse impostazioni per la ripresa fotografica (zoom f.3.2) è sufficiente settarlo solo sulla prima immagine e può essere utilizzato per tutti gli altri individui dello stesso file. Nel caso in cui le impostazioni usate per scattare le foto siano diverse, occorre resettare la scala, prima di procedere nella digitalizzazione dei landmark.

Per ridurre il più possibile l'errore dovuto alla digitalizzazione, si è ripetuto l'operazione per 3 volte in giorni consecutivi.

Data la caratteristica asimmetria del cranio dei delfini, i landmark simmetrici sono stati sempre rilevati su entrambi i lati del cranio.

Sulle foto della proiezione dorsale del cranio sono stati individuati 24 landmark (Fig.19, Tab.2); sulle proiezioni ventrali sono stati inizialmente individuati 26 landmark, ridotti successivamente a 20 per la difficoltà di individuare i punti omologhi su tutti i crani fotografati (Fig. 20, Tab.3). In totale il numero di campioni per l'analisi della proiezione ventrale risulta minore poichè molti crani avevano le mandibole montate in posizione anatomica e non è stato possibile rimuoverle per effettuare le foto.

Nel caso della proiezione occipitale sono stati individuati solo 5 landmark per caratterizzare l'ampiezza del forame magnum e la posizione dell'insenatura dei processi para-occipitali (Fig. 21, Tab.3).

Per le mandibole sono state utilizzate le immagini in cui le due emimandibole erano disgiunte e sono stati rilevati 7 landmark solo sul lato esterno (Fig. 22).

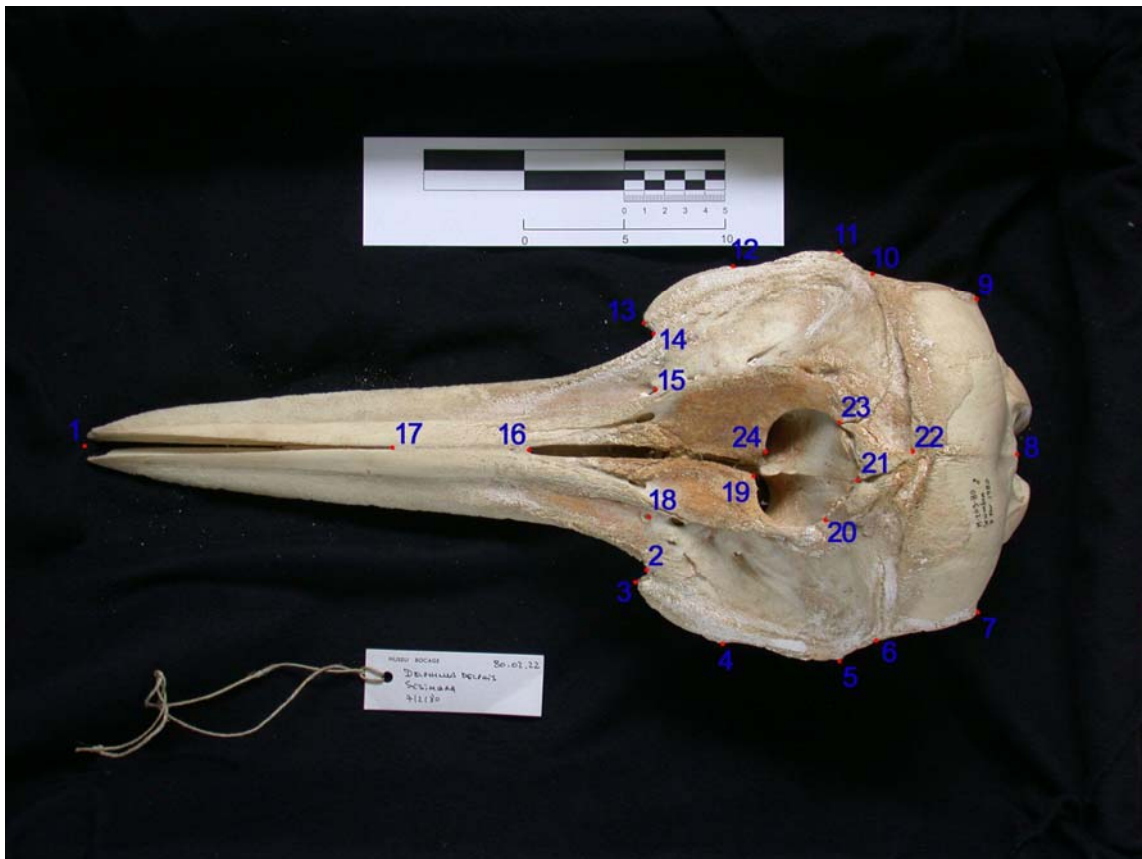


Figura 19. Posizionamento dei landmark sulla proiezione dorsale del cranio di delfino comune.

Tabella 2 - Descrizione landmark bidimensionali: proiezione dorsale

- 1. Apice del rostro
- 2, 14. Punto mediano dell'incisura sopraorbitale
- 3, 13. Apice del processo sopraorbitale
- 4, 12. Larghezza massima a livello dell'osso frontale
- 5, 11. Larghezza massima a livello della parte squamosa dell'osso temporale
- 6, 10. Sutura fronto-mascellare (posizione laterale)
- 7, 9. Cresta temporale (estremità caudale)
- 8. Punto mediano della cresta occipitale esterna
- 15, 18. Foro infraorbitale
- 16. Margine caudale della sutura inter-incisiva
- 17. Margine rostrale della sutura inter-incisiva
- 19, 24. Margine mediale del triangolo prenasale
- 20, 23. Margine mediale dell'estremità caudale delle ossa incisive (a livello delle ossa nasali)
- 21. Punto mediano rostrale tra le ossa nasali
- 22. Punto mediano caudale della sutura frontale



Figura 20. Posizionamento dei landmark sulla proiezione ventrale del cranio di delfino comune.

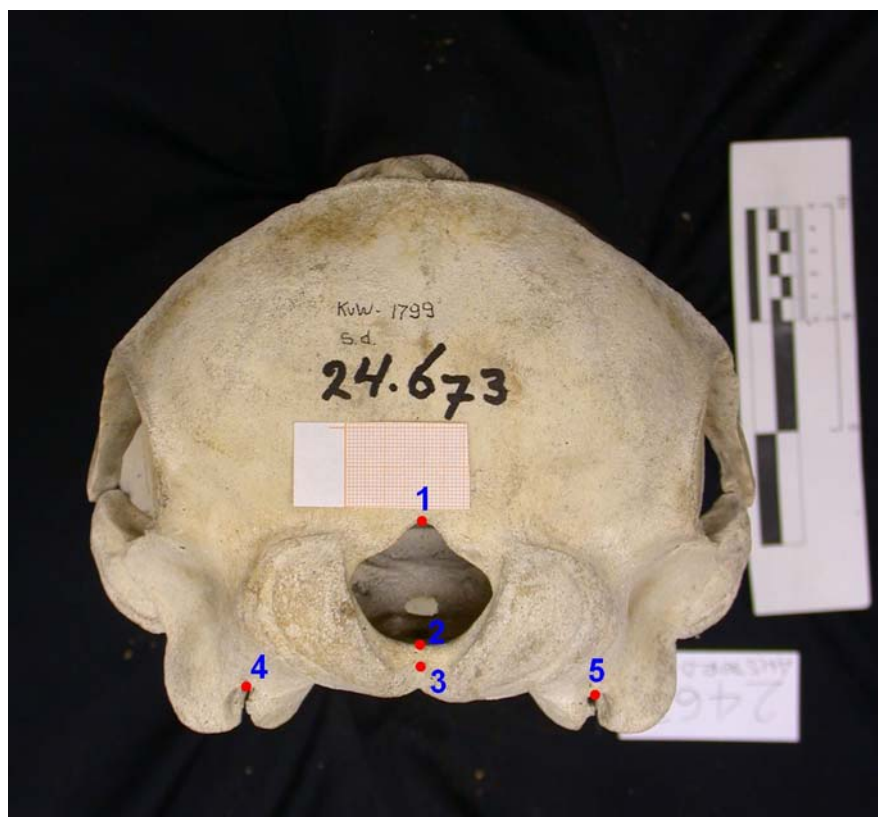


Figura 21. Posizionamento dei landmark nella regione occipitale del cranio di delfino comune.



Tabella 3 - Descrizione landmark bidimensionali: proiezione ventrale

1. Apice del rostro
- 2, 10. Punto mediano dell'incisura sopraorbitale
- 3, 9. Apice del processo sopraorbitale
- 4, 8. Margine caudale dell'osso lacrimale
- 5, 7. Processo zigomatico dell'osso temporale
6. Punto mediano dell'incisura intercondiloidea
- 11, 12. Estremità causale dell'arcata dentaria dorsale (ultimo alveolo sinistro e destro)
- 13, 14. Margine anteriore dei seni pterigoidei
- 15, 16. Sutura sfeno-occipitale (lato sinistro e destro)
- 17, 18. Punto più mediale dell'incisura giugulare
- 19, 20. Processo occipitale dell'osso temporale

- Descrizione landmark bidimensionali: proiezione occipitale

1. Margine dorsale del forame occipitale (opisthion)
2. Margine ventrale del forame occipitale (basion)
3. Centro del foro accessorio sotto al forame occipitale
- 4, 5. Apice dorso-mediale dell'incisura giugulare (jugular notch)



Figura 22. Posizionamento dei landmark sull'emimandibola destra (lato esterno) di delfino comune.

Per effettuare l'analisi sulla variazione di forma legata alla diversa provenienza geografica, le oltre 500 immagini dei crani selezionate (proiezioni dorsali, ventrali, occipitali e mandibole), sono state raggruppate in base alla località di recupero degli esemplari (Tab. 4).

AREA GEOGRAFICA  DATI 2D	INDO-PAC		PACIFICO		ATLANTICO		MEDITER		NN*	<u>TOT</u>
	W	E	W	E	N	S	N	S		
<b>DORSALI</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>26</b>	<b>28</b>	<b>54</b>	<b>25</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>171</b>
<b>VENTRALI</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>27</b>	<b>30</b>	<b>21</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>121</b>
<b>OCCIPITALI</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>19</b>	<b>10</b>	<b>48</b>	<b>18</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>120</b>
<b>MANDIBOLE</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>48</b>	<b>22</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>130</b>
<b><u>TOTALE</u></b>	<b>27</b>		<b>174</b>		<b>266</b>		<b>49</b>		<b>26</b>	<b>542</b>

Tabella 4. Totale dei campioni utilizzati nello studio bidimensionale (2D) suddivisi per area geografica e per tipo di proiezione; NN\* = individui con località non nota.

Il file .tps con le coordinate bidimensionali dei vari landmark individuati su ciascun cranio (esclusi quelli di località non nota), è stato analizzato con il software MorphoJ che permette le analisi della forma (*shape*) secondo i metodi della statistica multivariata; le informazioni relative alla dimensione degli oggetti (*size*) vengono separate e salvate come misure dei Centroid Size (CS) dopo aver utilizzato il metodo della Generalized Procrustes Analysis (GPA); in seguito a questa operazione si ottengono le nuove coordinate per l'analisi della forma (*shape variables*), proiettate nello spazio Euclideo tangente allo spazio della forma di Procrustes.

Questa approssimazione nello spazio tangente è generalmente vista dai morfometristi come puramente teorica ma è sempre meglio testarla e si può fare con il software TpsSmall: se l'approssimazione è eccellente si ottiene una retta di regressione delle distanze euclidee sulle distanze della forma di Procrustes, con una pendenza e correlazione uguale a 1 (Viscosi & Cardini, 2011).

In una prima fase della ricerca sono stati rilevati i landmark solo sugli individui adulti e sub-adulti del campione per indagare sulle variazioni di forma in base alla provenienza geografica (v. Appendice1): successivamente sono stati considerati anche gli individui giovani e neonati per lo studio allo metrico.

### 2.3 Studio tridimensionale

Nella seconda fase di acquisizione dati è stato affiancato allo studio bidimensionale il rilevamento dei landmark tridimensionali, grazie all'utilizzo di uno scanner Microscribe 3D ricevuto in prestito dall'Università degli Studi Roma Tre.

Al fine di ampliare il campione con reperti provenienti da tutto l'areale di distribuzione della specie sono stati misurati i crani in alcuni musei europei (Amsterdam, Copenaghen, Parigi).

Per il rilevamento delle coordinate 3D il cranio è stato posizionato su un supporto opportunamente rivestito con plastilina e bloccato al piano di appoggio (Fig. 23).

Per individuare i landmark posizionati nella regione occipitale è stato posizionato un piccolo specchio al centro del basamento.



Figura 23. Posizionamento del cranio sul supporto per il rilevamento delle coordinate 3D con l'utilizzo dello scanner Microscribe (a destra nella foto).

In totale sono stati selezionati su ciascun cranio 43 landmark (Fig. 24; Tab.5), tra questi alcuni utilizzati anche nello studio 2D ed altri aggiunti per meglio caratterizzare la forma del cranio e le eventuali variazioni.

Tabella 5 – Descrizione landmark tridimensionali

1. Apice del rostro
- 2, 26. Punto mediano dell'incisura sopraorbitale
- 3, 25. Apice del processo sopraorbitale
- 4, 24. Sutura fra l'osso lacrimale, frontale e mascellare (processo anterorbitale)
- 5, 23. Punta posteriore del lacrimale (processo anterorbitale)
- 6, 22. Punta inferiore del frontale al processo zigomatico
- 7, 21. Punta antero-superiore del processo zigomatico
- 8, 20. Sutura fra l'osso frontale e parietale, lungo la cresta temporale
- 9, 19. Foro infraorbitale
- 10, 18. Foro infraorbitale
- 11, 17. Punto laterale superiore del processo ascendente mascellare (o premascellare?)
12. Punto posteriore del processo ascendente del premascellare
- 13, 16. Sutura tra i nasali e il processo ascendente
14. Sutura tra i nasali e l'osso etmoide
15. Apice del cranio (sutura tra il frontale e gli interparietali)
- 27, 32. Punto di flessione dell'osso pterigoideo
- 28, 31. Sutura tra l'osso pterigoideo e l'osso palatino
- 29, 30. Punta inferiore dell'osso pterigoideo
- 33, 34. Sutura tra osso palatino e mascellare
- 35, 36. Sutura sfeno-occipitale (lato sinistro e destro)
- 37, 38. Punto più mediale dell'incisura giugulare
- 39, 40. Processo occipitale dell'osso temporale
41. Centro del foro accessorio sotto al forame occipitale
42. Margine ventrale del forame occipitale (basion)
43. Margine dorsale del forame occipitale (opisthion)

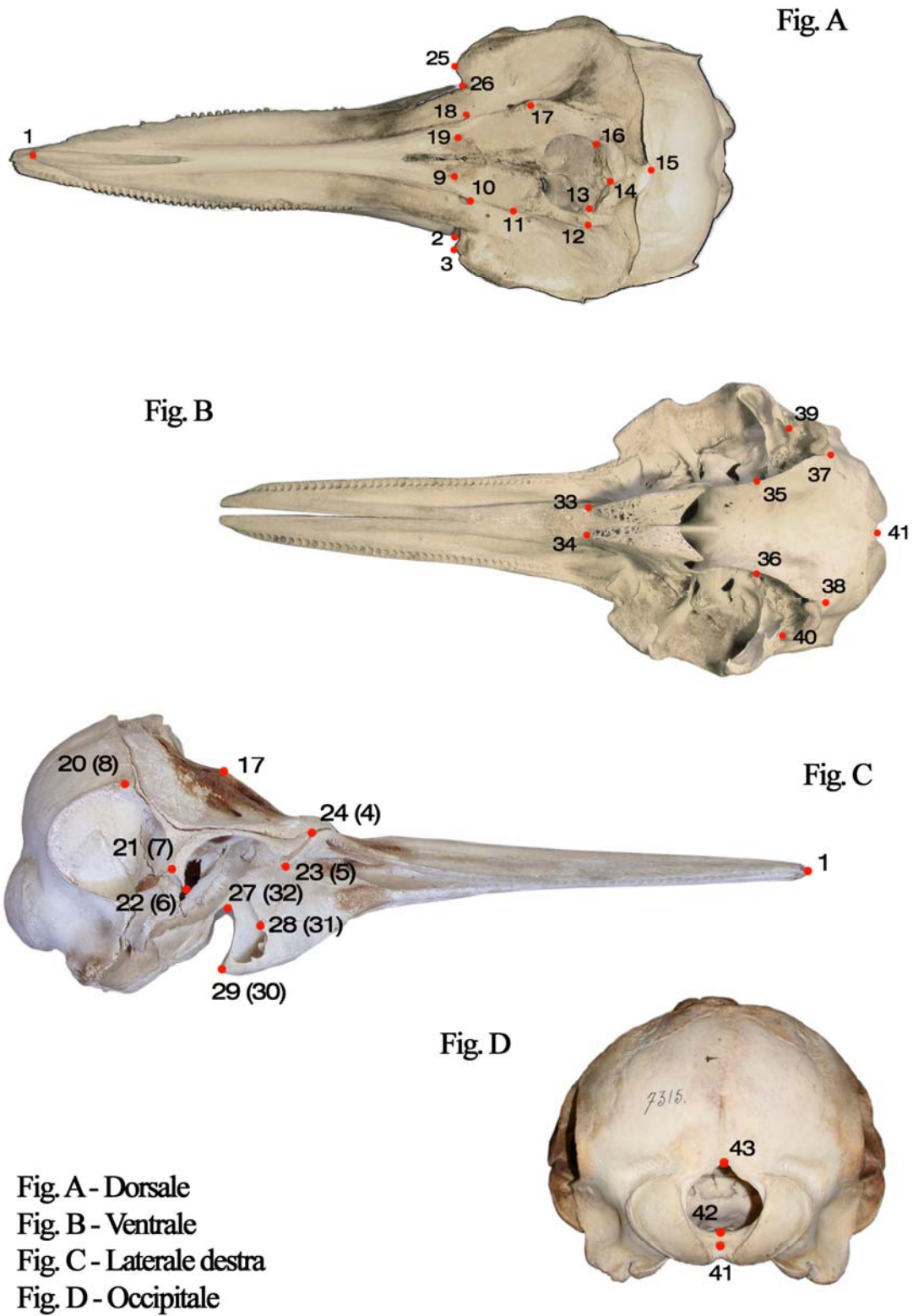


Figura 24. Posizione dei 43 landmark 3D sul cranio di Delfino comune.

Prima di iniziare la registrazione delle coordinate tridimensionali con lo scanner, è stata definita una serie di procedure al fine di settare opportunamente lo strumento ad ogni avvio, rilevando sempre lo stesso punto, su un foglio fissato al tavolo di lavoro; questo permette di verificare, prima di ogni operazione di rilevamento dati sul cranio, che il MicroScribe non si sia spostato (posizionarlo su un tavolo stabile e fissarlo con plastilina al piano d'appoggio), controllando più volte, quotidianamente la sua 'posizione di riposo', cioè con puntale riposto nel proprio alloggiamento.

Inoltre, almeno una volta al giorno, è stata effettuato un altro controllo, digitalizzando 2 punti su carta millimetrata a distanza di 10 cm: con Pitagora su Excel si è verificato che la somma delle differenze quadratiche tra le coordinate dei 2 landmark corrispondesse a 10 cm.

L'unità di misura utilizzata è il mm con un fattore di scala 1.000.

Terminato questo set di controlli inizia la procedura per l'acquisizione dei dati; la sequenza delle operazioni può essere così riassunta:

- collegamento del Microscribe al pc;
- apertura del programma Immersion Microscribe Utility Software 4.0 (precedentemente scaricato nella cartella Programmi del mio pc), selezione di Excel, dalla finestra Target Format;
- apertura di Excel su cui salvare le coordinate tridimensionali al momento della digitalizzazione sul cranio;
- accensione del Microscribe e settaggio dell'origine (coordinate del punto in cui ho posizionato lo strumento); si effettua premendo 2-3 volte il tasto bianco sul basamento dello strumento;
- posizionamento dello strumento verificando di raggiungere tutti i landmark sul cranio senza doverlo spostare (e quindi evitando di ripetere tutte le operazioni di controllo e settaggio);
- avvio scansione e digitalizzazione dei landmark sul cranio opportunamente posizionato sul supporto.

Dopo la registrazione delle coordinate tridimensionali, per ciascun cranio è stato verificato che tutti i landmark fossero stati rilevati correttamente (può succedere infatti, a causa della ripetitività delle operazioni, di omettere o scambiare dei punti): per far questo si sono copiate le coordinate su Blocco note aggiungendo una stringa iniziale con le informazioni per la lettura dei dati e salvando con estensione .nts, in modo da poterlo aprire con il software Morpheus (Slice, 1994-2000). Importando questo file si riesce a visualizzare nello spazio il cranio ed i 43 landmark digitalizzati, in modo da poter controllare se sono tutti e nell'ordine

giusto di registrazione (Fig. 25). I landmark sono stati infatti registrati su tutti i crani seguendo sempre la sequenza ordinale (Tab.5) partendo dal primo all'apice del rostro, i due successivi sul lato superiore a livello dell'insenatura antero-orbitale, passando poi ai landmark sul lato sinistro (4, 5, 6, 7, 8), tornando sul lato superiore per i forami delle ossa mascellari e premaxillari (9, 10) e proseguendo verso l'apice del cranio per registrare i punti di massima altezza dei processi posteriori dei premaxillari (11 e 15) e quelli centrali a livello delle ossa nasali (12, 13, 14, 16); si ripete dall'altro lato con i punti speculari (17, 18, 19, 25, 26), sempre sulla parte dorsale del cranio e lo stesso per quelli speculari del lato destro (20, 21, 22, 23, 24). Si prosegue poi con i landmark del lato inferiore (27, 28, 29, 30, 31, 32), destro e sinistro e tutti quelli ventrali (33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40) ed infine i 3 landmark occipitali che delimitano l'ampiezza del forame magnum (41, 42) e la posizione del forame accessorio (43).

In totale sono stati rilevati i dati tridimensionali su 97 crani, rispetto ai 194 utilizzati per l'analisi morfometrica bidimensionale (Tab.6).

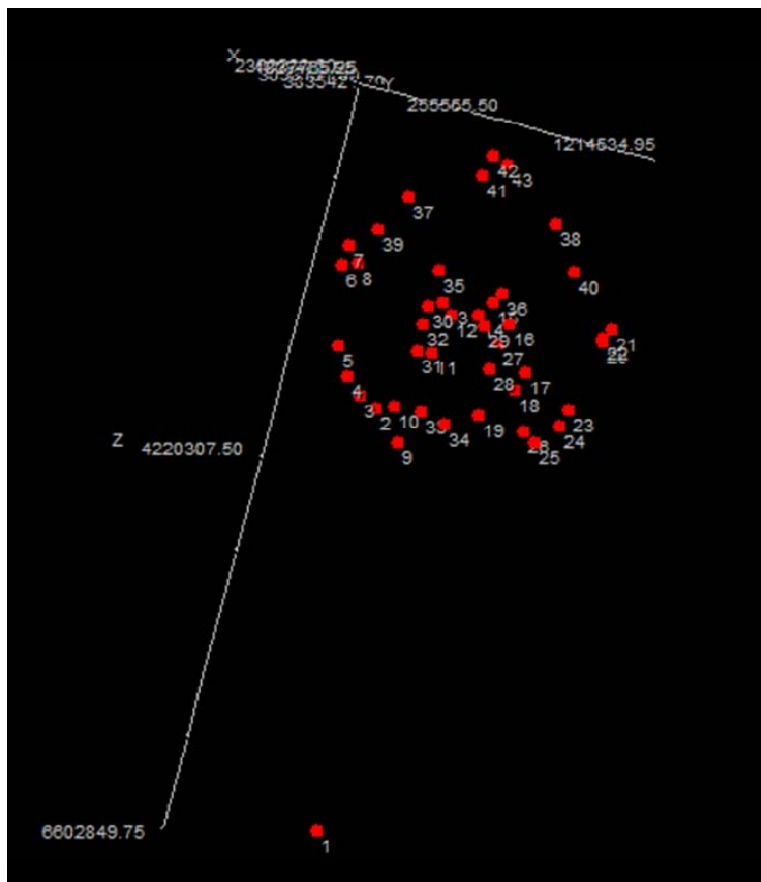


Figura 25. Immagine della posizione dei landmark 3D (ottenuta con il software Morphueus).

AREA MARINA	GEOG.	N	LOCALITA'	NN°	TOTALE
INDO-PAC	W	4	Golfo Persico, Oman, Australia	-	7
	E	3			
PACIFICO	W	22	Nuova Zelanda Peru' (6)	-	45
	E	23			
ATLANTICO	N	17	Danimarca, Olanda, Irlanda Africa (costa occ.)	5	30
	S	13			
MEDITER	N	8	Mar Tirreno, Sicilia, Africa del nord	-	10
	S	2			
TOTALE		92		5	97

Tabella 6. Totale dei campioni utilizzati nello studio tridimensionale (3D), suddivisi per area geografica.

## 2.4 Variabilità non geografica

Lo studio della variabilità morfologica condotto sui crani di Delfino comune è stato affrontato, sia come variazione di forma (*shape variation*) tra esemplari di provenienza geografica diversa, sia come variabilità “non” geografica, in cui i cambiamenti morfologici possono essere posti in relazione con il sesso (dimorfismo sessuale) o con l'appartenenza a classi di età differenti (allometria ontogenetica).

### 2.4.1 Dimorfismo sessuale

Nei Cetacei sono noti molti studi inerenti il dimorfismo sessuale, vista l'importanza comportamentale legata alle diverse pressioni selettive tra maschi e femmine. In generale i maschi risultano di dimensione maggiore rispetto alle femmine, dato che attuano delle strategie di competizione riproduttiva.

Il dimorfismo sessuale può essere indagato sia come variazione di forma (*shape*) che di dimensione (*size*).



Studi condotti sui crani di alcune specie di delfini (Perrin et al., 2003; Murphy, 2004; Yao et al., 2008) rilevano la presenza di caratteri dimorfici confermando le maggiori dimensioni di alcune componenti craniche nei maschi.

Non emerge invece una differenziazione di forma (*shape*) tra i due sessi (Amaral et al., 2009; Loy et al., 2010).

Le analisi sul dimorfismo sessuale sono state svolte sul campione di adulti e sub-adulti escludendo i giovani ed i neonati, utilizzati invece per le successive indagini allometriche.

Per verificare la differenza di dimensione (*size variation*) tra maschi e femmine sono stati utilizzati i valori dei *centroid size* (CS) ricavati per i dati tridimensionali con il software MorphoJ e per i dati bidimensionali con tpsRelw. I dati sono stati analizzati con il software R (version 2.9.0, R Foundation for Statistical computing).

Sono state analizzate le differenze nelle popolazioni di diversa provenienza geografica che avessero un campione bilanciato di ambo i sessi.

Per i dati bidimensionali l'analisi è stata svolta sulle proiezioni dorsali per un totale di 77 esemplari e 62 per le proiezioni ventrali.

L'indagine è stata svolta anche sui dati tridimensionali soltanto per gli esemplari provenienti dall'Oceano Pacifico e per un totale di 37 esemplari.

L'analisi della differenza di forma (*shape variation*), sempre per i campioni di sesso noto, è stata effettuata sull'intero campione di dati bidimensionali (proiezioni dorsali, ventrali, occipitali e mandibole) e tridimensionali, verificando le variazioni tra maschi e femmine all'interno di ogni singolo stock di provenienza, utilizzando i test di permutazione per le distanze di Mahalanobis del software MorphoJ (Klingenberg, 2011).

#### 2.4.2 Definizione delle classi di età

In letteratura non esistono dati precisi in merito alla definizione di classi di età nei Cetacei ed inoltre i metodi che utilizzano l'accrescimento della dentina vengono solitamente utilizzati per studi su esemplari spiaggiati o recuperati in mare (Murphy & Rogan, 2006), dato che i musei non permettono spesso il prelievo e la distruzione del dente.

Un altro metodo utilizzato per valutare l'età nei reperti museali dei mammiferi marini è la densitometria ossea (Guglielmini et al., 2002; Butti et al., 2007; Mo et al., 2009) ma in questo caso occorre richiedere in prestito ai musei i reperti oltre a disporre dello strumento e dei tecnici disposti ad effettuare le analisi. In studi come questo, dove la maggior parte degli esemplari era di provenienza estera, diventava difficile pensare a questo tipo di indagine.

Studi sul delfino comune in Nord-Atlantico definiscono la maturità fisica e sessuale di maschi e femmine della specie nel caso in cui siano soddisfatti due dei seguenti criteri (Murphy, 2004): per le femmine, età superiore o uguale a 9 anni, lunghezza totale del corpo (TBL) maggiore o uguale a 190 cm, lunghezza totale del cranio (CBL) maggiore o uguale a 40 cm, ossa del rostro fuse; nei maschi, età maggiore o uguale a 10 anni, TBL maggiore o uguale a 200 cm, CBL maggiore o uguale a 42 cm, ossa del rostro fuse.

Quest'ultimo criterio riguarda la fusione delle ossa premaxillari circa a metà del rostro, ma in realtà non è considerato un marker accurato per la maturità fisica, soprattutto per gli esemplari di sesso maschile (Perrin & Heyning, 1993).

In generale le informazioni sui campioni museali, in merito all'età o alla maturità sessuale degli esemplari, sono molto lacunose e solo in alcuni casi sono riportate in catalogo le misure della lunghezza totale degli esemplari (TBL), il sesso e talvolta l'indicazione "juv" ad indicare lo stadio giovanile.

Per poter analizzare il dimorfismo sessuale e l'allometria ontogenetica nei miei campioni, non era sufficiente attribuire agli esemplari la maturità sessuale e fisica (adulti/non adulti) ma era necessario poter risalire ad una classe di età indicativa, per esempio suddividendo in almeno 3 categorie: adulti e sub-adulti, giovani, neonati.

Per definire queste tre categorie si è tenuto conto dei pochi dati recuperati dalle informazioni dei cataloghi, e relativi a lunghezza totale (TBL) e peso di alcuni esemplari; inoltre per alcuni animali provenienti dal Museo di Amsterdam, era nota l'età stabilita da uno studio sui denti (Utrecht, 1981); per gli animali in cui fosse nota la lunghezza totale dell'animale in carne sono stati quindi misurati i crani (CBL: Lunghezza Condilo Basale) utilizzando il software TpsDig: è infatti possibile ottenere le misure lineari dalla fotografia settando la scala sull'unità di misura presente nella foto.

La relazione tra lunghezza totale dell'individuo (TBL) e lunghezza del cranio (CBL) misurata sui campioni, è stata testata con un test di correlazione (SPSS) al fine di verificare la correttezza della nostra ipotesi. Questo permetterebbe, nell'ambito dei campioni considerati, di ottenere un'indicazione per risalire alle lunghezze totali (TBL) degli esemplari disponendo solo della misura del cranio (CBL). Si aggiungerebbe così valore ai reperti nelle collezioni, oltre a consentire la definizione della classe di età approssimativa.

Sulla base dei dati presenti in catalogo (Tab. 3), si è deciso di suddividere il campione in 3 classi/categorie di età che prendono in considerazione la lunghezza totale del corpo (TBL), del cranio (CBL) e la datazione derivante dai denti:

1. neonati e piccoli (CBL: < 35cm; TBL: < 140 cm);
2. giovani (CBL: 35-40 cm; TBL: 140-175 cm);
3. adulti e sub-adulti (CBL: > 40 cm; TBL: > 175 cm).

Occorre anche considerare che nei delfini comuni è presente un'elevata variabilità a seconda della provenienza geografica, oltre al dimorfismo sessuale presente nella specie.

### 2.4.3 Allometria ontogenetica

Gli studi morfometrici permettono di studiare vari aspetti delle variazioni di forma (*shape*) e dimensione (*size*) del corpo degli organismi. Questo include, non solo la differenza morfologica che può verificarsi tra i sessi di una specie, ma anche il rapporto di crescita e le modalità di accrescimento.

Nel caso in cui si voglia indagare sulle variazioni legate alle diverse fasi di sviluppo degli individui, si parlerà di allometria ontogenetica.

In generale, le variazioni morfologiche legate ai cambiamenti allometrici possono essere statisticamente importanti e questo può essere testato usando una regressione tra *shape* and *size*.

Per questo studio è stato necessario individuare all'interno del campione dei dati una popolazione con individui appartenenti alle diverse categorie di età e provenienti da una stessa area geografica. A tal proposito sono stati analizzati gli esemplari provenienti dalla Nuova Zelanda, conservati presso il Museo di Amsterdam, per un totale di 29 esemplari con individui neonati, giovani, adulti e sub-adulti.

Per questo sotto campione è stato creato un file .tps con le coordinate dei landmark dorsali ordinate a partire dall'individuo più giovane.

Utilizzando il software MorphoJ è stata effettuata la GPA e sono stati salvati i valori dei CS; successivamente è stata effettuata un'analisi della regressione tra *shape* e *size* al fine di determinare l'effetto allometrico: le differenze morfologiche associate alla forma del cranio (variabili dipendenti) sono poste in relazione con le dimensioni degli individui (variabili indipendenti).

## 2.5 Variabilità geografica

Come già precisato, scopo della presente tesi è lo studio della variabilità geografica nel Delfino comune dal rostro corto (*D. delphis*), al fine di individuare variazioni morfologiche che possano caratterizzare le singole popolazioni ed eventualmente essere utilizzate per azioni mirate di conservazione. Durante lo studio però sono stati individuati, all'interno del campione, anche esemplari dell'altra specie attualmente riconosciuta, il Delfino comune dal rostro lungo (*D. capensis*). Ho quindi deciso di iniziare un'indagine interspecifica al fine di caratterizzare le due specie e di individuare eventuali caratteri diagnostici che ne permettano il riconoscimento da parte dei conservatori museali.

### 2.5.1 Diagnosi specifica: *D. delphis* e *D. capensis*

Gli esemplari recuperati nei musei italiani ed europei, catalogati come *D. delphis* riportavano i dati relativi a località e data di recupero, lunghezza e peso dell'animale, sesso, ecc. (Agnelli et al., submitted; Arbocco, 1969; Carlini, 1990; Poggi, 1982, 1986).

Recentemente però è stata riconosciuta, sia su base morfologica che genetica (Rosel et al., 1994), la specie *D. capensis* (Heyning & Perrin, 1994) e la sottospecie *D. c. tropicalis* (Jefferson & Van Waerebeek, 2002): secondo tali autori, è possibile attribuire gli individui alle diverse specie, sulla base del rapporto tra la lunghezza del rostro (RL) e la larghezza massima del cranio all'osso zigomatico (ZW) (Fig. 26): con valore compreso tra 1.21 -1.47 appartenenza alla specie *D. delphis*, tra 1.52 - 1.77 appartenenza a *D. capensis*; per la sottospecie *D. c. tropicalis* si rilevano valori elevati compresi tra 1.60 – 2.06.

Tenendo conto dell'elevata variabilità geografica di queste specie sarebbe più appropriato considerare il rapporto RL/ZW in relazione alla lunghezza totale del cranio (CBL: condilo-basale) e alla località di provenienza degli esemplari studiati (Westgate, 2007).

Alla luce di questi studi si è stato deciso di verificare l'eventuale presenza nel campione, di esemplari appartenenti alla specie *D. capensis*, molto simile morfologicamente. Sono stati quindi misurati i crani degli esemplari provenienti dalle aree geografiche in cui è dimostrata la presenza di entrambe le specie (Oceano Pacifico orientale, Oceano Atlantico meridionale, Oceano Indo-Pacifico).

Dopo aver fotografato i singoli reperti (par. 2.2 Studio bidimensionale) sono state selezionate le immagini delle proiezioni dorsali sulle quali è stata effettuata la misura della lunghezza del

rosto (RL) e la larghezza allo zigomatico (ZW), utilizzando il software TpsDig e ricavando i valori del rapporto RL/ZW (Tab.7).

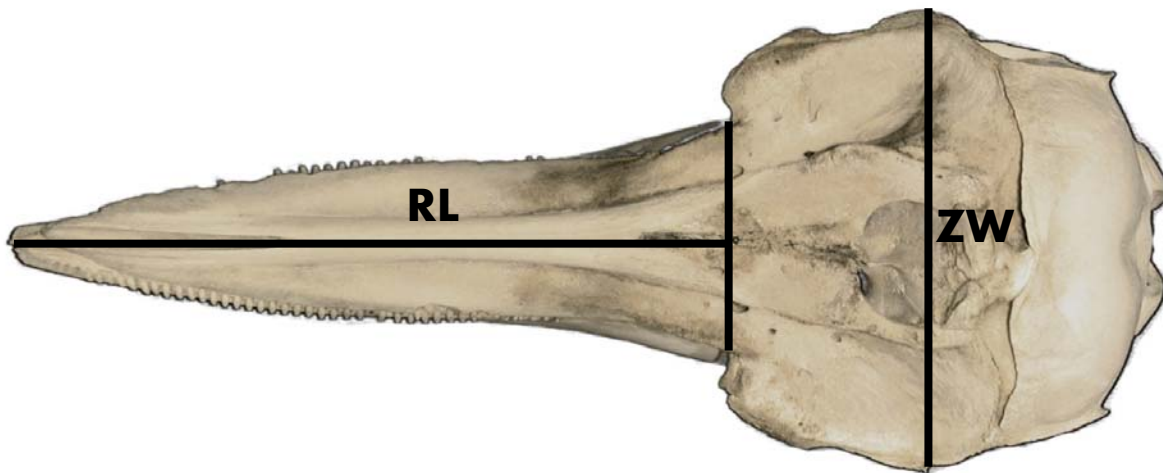


Figura 26. Cranio con indicazione della lunghezza del rosto (RL) e della larghezza massima del cranio all'osso zigomatico (ZW).

N	N CAT	SPECIE	RL/ZW	LOCALITA'	MARE
1	AM13244	<i>D. capensis?</i>	1.51	Senegal	Oc. Atl. sud
2	AM15522	<i>D. capensis?</i>	1.51	Gabon	Oc. Atl. sud
3	AM13240	<i>D. capensis?</i>	1.49	Senegal	Oc. Atl. sud
4	AM13232	<i>D. capensis?</i>	1.48	Senegal	Oc. Atl. sud
5	AM14592	<i>D. capensis?</i>	1.49	Angola	Oc. Atl. sud
6	AM15235	<i>D. capensis?</i>	1.48	Angola	Oc. Atl. sud
7	AM24674	<i>D. capensis?</i>	1.48	Perù	Oc. Atl. sud
8	AM24676	<i>D. capensis?</i>	1.50	Perù	Oc. Atl. sud
9	AM24670	<i>D. capensis?</i>	1.50	Perù	Oc. Atl. sud
10	AM24669	<i>D. capensis</i>	1.53	Perù	Oc. Atl. sud
11	AM15524	<i>D. capensis</i>	1.54	Congo	Oc. Atl. sud
12	AM13231	<i>D. capensis</i>	1.56	Senegal	Oc. Atl. sud
13	AM13233	<i>D. capensis</i>	1.54	Senegal	Oc. Atl. sud
14	AM13242	<i>D. capensis</i>	1.53	Senegal	Oc. Atl. sud
15	AM13243	<i>D. capensis</i>	1.58	Senegal	Oc. Atl. sud
16	AM14593	<i>D. capensis</i>	1.53	Gabon	Oc. Atl. sud
17	PA3080	<i>D. capensis</i>	1.56	Capo di Buona Speranza	Oc. Atl. sud
18	AM15523	<i>D. capensis</i>	1.61	Gabon	Oc. Atl. sud
19	CN10	<i>D. capensis</i>	1.61	Africa	Oc. Atl. sud
20	CN41	<i>D. capensis</i>	1.64	Golfo Persico	Oc. Indiano
21	AM20321	<i>D. c. tropicalis</i>	1.72	Oman	Oc. Indiano
22	AM20322	<i>D. c. tropicalis</i>	1.73	Oman	Oc. Indiano
23	AM20898	<i>D. c. tropicalis</i>	1.79	Oman	Oc. Indiano
24	PA3065	<i>D. c. tropicalis</i>	2.01	India	Oc. Indiano

Tabella 7. Elenco degli esemplari classificati come *D.capensis*, *D.c.tropicalis* e *D.capensis* di incerta attribuzione (esemplare 24, olotipo della sottospecie *D.c.tropicalis* conservato al Museo di Parigi).

Dalle misurazioni effettuate sui crani di diversa provenienza geografica si osserva che la specie *D. capensis* è attribuibile con certezza a 14 esemplari, di cui 4 apparterebbero alla sottospecie *D. c. tropicalis*. Per 9 esemplari invece non è certa detta attribuzione, dato che l'indice del rapporto RL/ZW è compreso nell'intervallo che non caratterizza nessuna delle due specie.

E' stato comunque deciso di non considerare questi 24 individui nelle analisi specifiche condotte su *D. delphis* nel paragrafo dei risultati finali (par. 3.2.3).

### 2.5.2 Variabilità in *D. delphis*

L'ultima parte del lavoro, prevede un'indagine intraspecifica sui crani della specie *Delphinus delphis* in base alla diversa area di provenienza.

Tale studio, limitato ad un campione ridotto di dati (73 rilievi tridimensionali, 131 dorsali, 92 ventrali, 93 occipitali, con maggiori dettagli in APPENDICE1), è focalizzato appunto sull'individuazione di differenze di forma in relazione alla variazione geografica.

Questo permetterebbe di identificare eventuali Unità Evolutivamente Significative (ESU) che necessitano di una tutela specifica.

Di particolare interesse risultano i dati degli esemplari di provenienza mediterranea che, per quanto scarsi, potrebbero permettere di caratterizzare il Delfino comune di quest'area, considerato in pericolo di estinzione (Bearzi, 2003; IUCN, 2011).

Le indagini di morfometria geometrica condotte, aggiungerebbero informazioni complementari ai risultati genetici ottenuti per la specie, che segnalano un gradiente di differenziazione all'interno del bacino (Natoli et al., 2008).



### 3. Risultati e Discussione

#### 3.1 Variabilità non geografica

##### 3.1.1 Dimorfismo sessuale: forma e dimensioni

Le analisi sul dimorfismo sessuale sono state svolte sul campione di adulti e sub-adulti precedentemente individuato (v. par. 2.1.1) escludendo i giovani ed i neonati, utilizzati invece per le successive indagini allometriche.

Per verificare la differenza di dimensione (*size variation*) tra maschi e femmine sono stati utilizzati i valori dei *centroid size* (CS) ricavati per i dati tridimensionali con il software MorphoJ e per i dati bidimensionali con tpsRelw. Per i dati bidimensionali l'indagine è stata svolta sulle proiezioni dorsali.

Le analisi sono state effettuate solo per le tre popolazioni che presentavano esemplari di entrambe i sessi ovvero Atlantico settentrionale (an), Pacifico orientale (pe) e Pacifico occidentale (pw).

I dati sono stati analizzati con il software R (version 2.9.0, R Foundation for Statistical computing).

L'analisi sui dati tridimensionali mostra differenze evidenti tra le dimensioni di maschi e femmine solo per lo stock dell'Oceano Pacifico occidentale (pw) (Fig. 27).

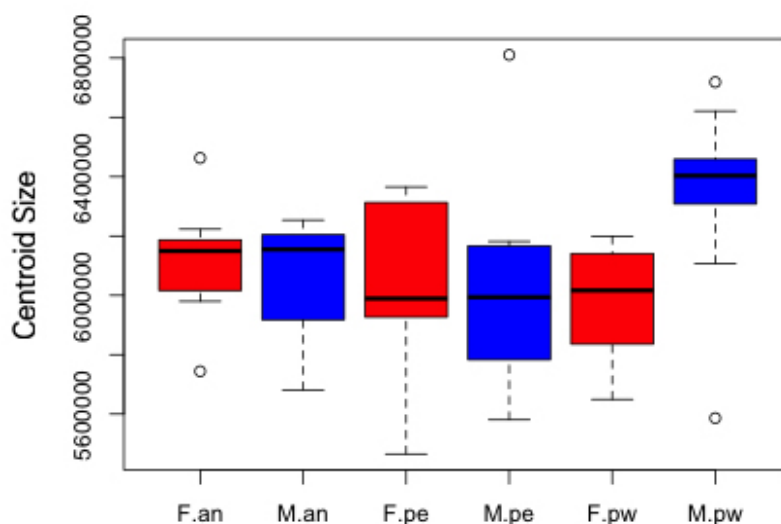


Figura 27. Box-plot della variazione delle dimensioni (Centroid size) per sesso nel campione di esemplari 3D (an: Oceano Atlantico settentrionale; pe: Oc. Pacifico est; pw: Oc. Pacifico ovest; F – femmine; M – maschi).



L'analisi della varianza (ANOVA) svolta sull'intero campione non ha però evidenziato differenze significative per le variabili sesso, mare di provenienza (e per la loro interazione) probabilmente per l'assenza di un campione bilanciato nei singoli mari.

Per i dati bidimensionali delle proiezioni dorsali si osserva un risultato simile nei box-plot (Fig. 28) ed inoltre il risultato dell'ANOVA svolta per i due fattori considerati (mare di provenienza e sesso) e per la loro interazione, mostra differenze molto significative per il sesso ( $F=8,9$ ;  $p=0,004$ )

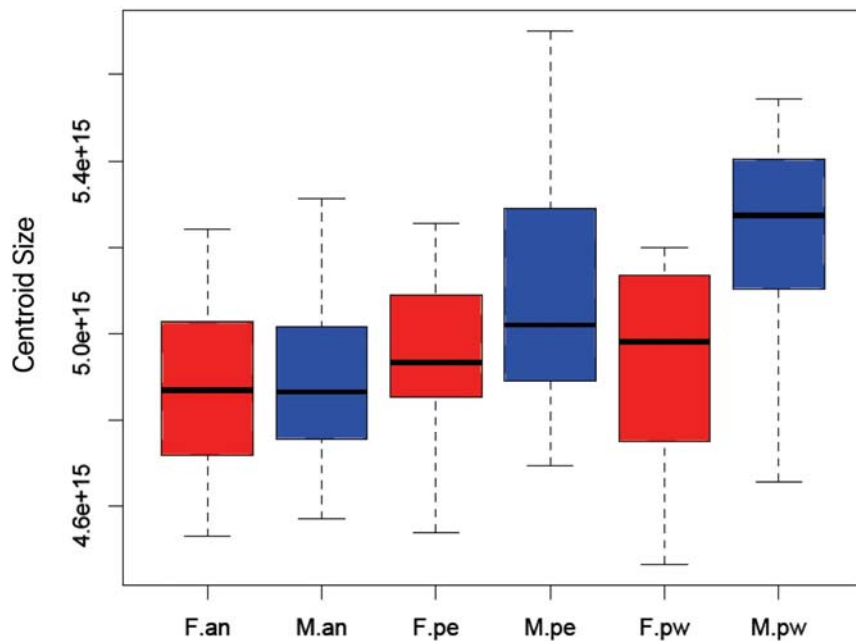


Figura 28. Box-plot delle dimensioni dei crani (Centroid size) delle proiezioni dorsali degli esemplari adulti maschi (M) e femmine (F) per tre aree geografiche (an: Oceano Atlantico nord; pe: Oceano Pacifico est; pw: Oceano Pacifico west).

L'analisi sul dimorfismo sessuale è stata svolta anche sul campione delle proiezioni ventrali, sempre per le tre popolazioni in cui erano presenti gli esemplari di ambedue i sessi.

Il box-plot (Fig. 29) mostra una differenza delle mediane tra i sessi in tutti e tre gli stock analizzati.

L'analisi della varianza svolta sull'intero campione indica anche in questo caso valori significativi per il fattore sesso ( $F= 4,728$ ;  $p=0,034$ ).

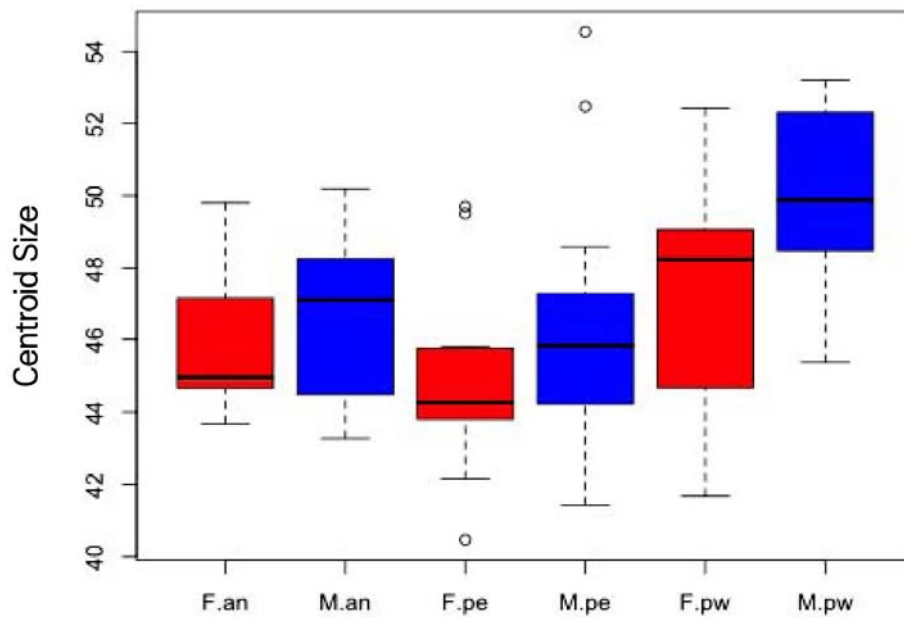


Figura 29. Box-plot delle dimensioni dei crani (centroid size: CS) delle proiezioni ventrali degli esemplari adulti maschi (M) e femmine (F) per tre aree geografiche (an: Oceano Atlantico nord; pe: Oceano Pacifico est; pw: Oceano Pacifico west).

Lo studio sul dimorfismo sessuale è stato effettuato anche in termini di analisi della forma. Sono stati analizzati i dati bidimensionali e tridimensionali dei crani degli esemplari adulti e sub-adulti dell'intero campione di individui con sesso noto.

L'analisi delle componenti principali (PCA) delle variabili della forma (*shape variables*), mostra una sovrapposizione pressochè completa tra i due sessi in entrambe i set di dati analizzati (Fig.30). Per i dati tridimensionali (n=57) è stata svolta un'analisi discriminante tra i sessi sul totale degli esemplari ed i punteggi ottenuti dalla leave-one-out cross-validation non risultano statisticamente significativi:  $T^2 = 82,76$ ;  $p = 1,00$  (calcolati col software MorphoJ).

Per i dati bidimensionali delle proiezioni dorsali (n =90), è stata effettuata l'analisi per singole aree geografiche (Fig.31), nelle tre popolazioni che presentavano campioni bilanciati per entrambi i sessi (an, pe, pw). I risultati dell'analisi discriminante (Fig. 32,33,34) mostrano una sovrapposizione degli individui e confermano l'impossibilità di distinguere i sessi in base alla forma del cranio (valori statisticamente non significativi).

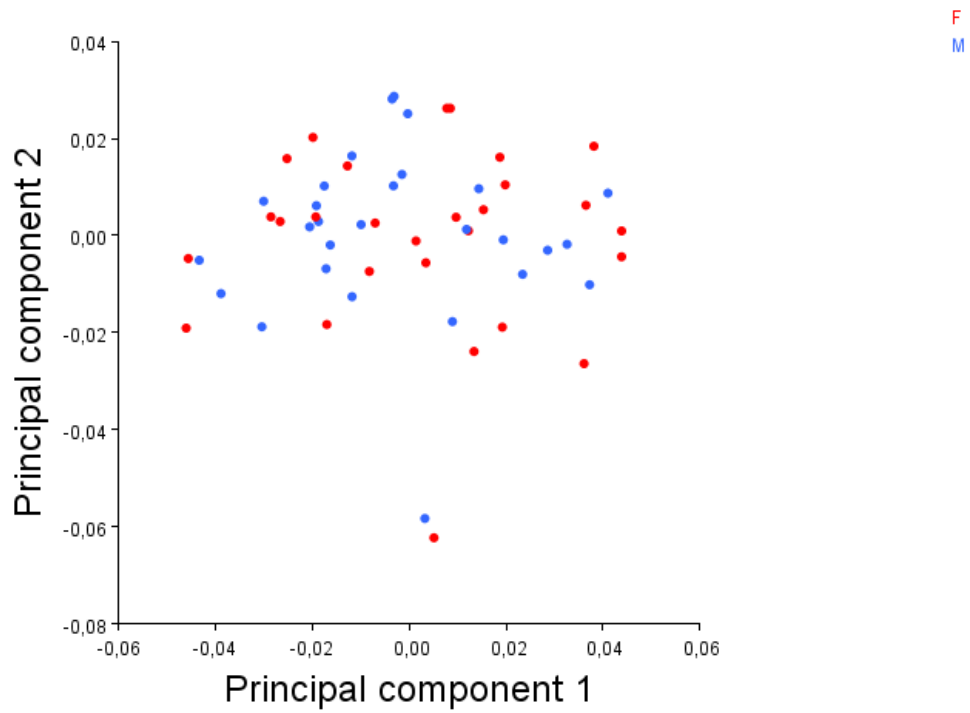


Figura 30. Analisi delle componenti principali (PCA) svolta sull'intero campione di individui di sesso noto per i dati tridimensionali (n=57).

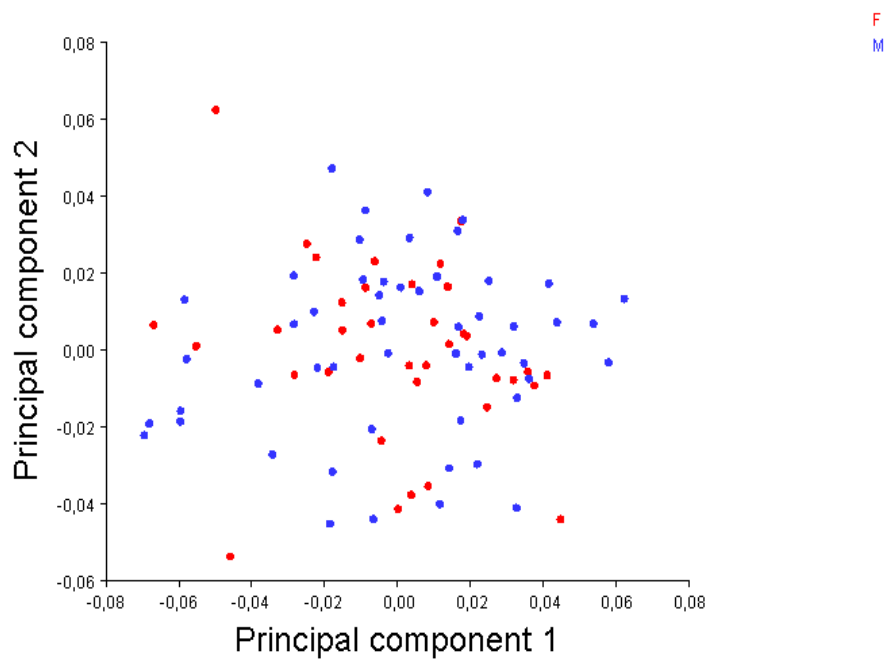


Figura 31 . Analisi delle componenti principali (PCA) svolta sull'intero campione di individui di sesso noto per le proiezioni dorsali (n=90).

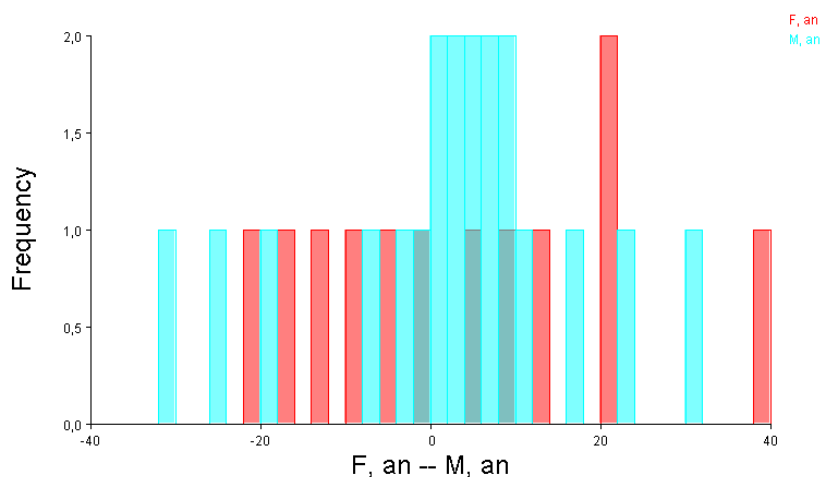


Figura 32. Distribuzione dei punteggi ottenuti dalla leave-one-out cross-validation ( $p=0,98$ ) dell'analisi discriminante tra maschi e femmine (proiezioni dorsali) provenienti dall'Oceano Atlantico settentrionale (an), su cui è stato eseguito il test parametrico  $T^2$  con test di permutazione su 1000 repliche.

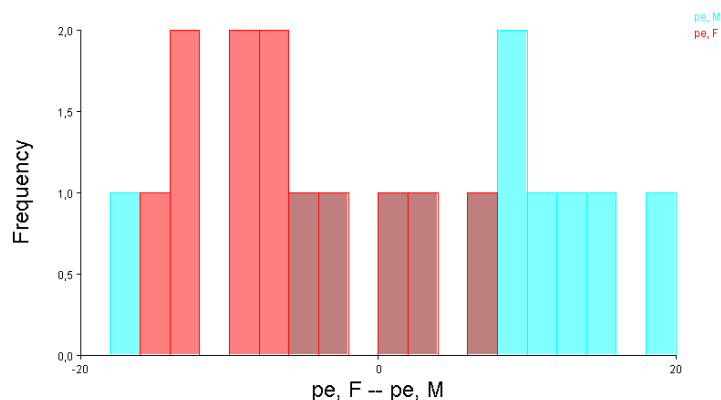


Figura 33. Distribuzione dei punteggi ottenuti dalla leave-one-out cross-validation ( $p=0,96$ ) dell'analisi discriminante tra maschi e femmine (proiezioni dorsali) provenienti dall'Oceano Pacifico orientale (pe), su cui è stato eseguito il test parametrico  $T^2$  con test di permutazione su 1000 repliche.

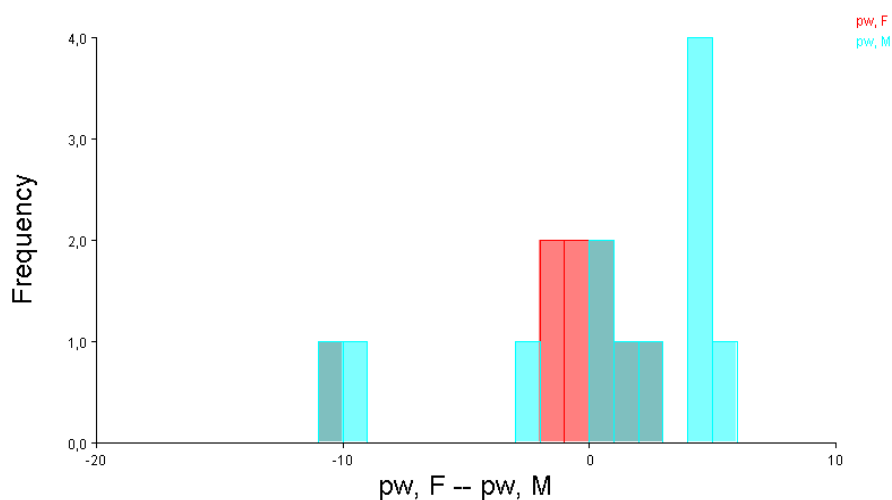


Figura 34. Distribuzione dei punteggi ottenuti dalla leave-one-out cross-validation ( $p=0,99$ ) dell'analisi discriminante tra maschi e femmine (proiezioni dorsali) provenienti dall'Oceano Pacifico occidentale (pw), su cui è stato eseguito il test parametrico  $T^2$  con test di permutazione su 1000 repliche.

L'analisi discriminante tra sessi per ogni singola popolazione analizzata è stata effettuata su tutti gli altri dati bidimensionali (proiezioni ventrali e occipitali, mandibole): i punteggi ottenuti dalla leave-one-out cross-validation non mostrano nessun effetto del dimorfismo sessuale sulla forma dei crani nelle diverse popolazioni analizzate (pw, pe, an) (Tab. 8).

	an	pe	pw
2D dorsali	T <sup>2</sup> =129,63; p= 0,98	T <sup>2</sup> =108,91; p= 0,96	T <sup>2</sup> =34,92; p= 0,99
2D ventrali	T <sup>2</sup> =40,51; p= 0,99	T <sup>2</sup> =74,44; p= 0,98	T <sup>2</sup> =41,33; p= 0,99
2D occipitali	T <sup>2</sup> = 8,18; p= 0,38	T <sup>2</sup> =6,07; p= 0,69	T <sup>2</sup> = 4,73; p= 0,77
2D mandibole	T <sup>2</sup> =25,6; p=0,12	T <sup>2</sup> =6,07; p=0,69	T <sup>2</sup> =23,24; p= 0,38

Tab 8. Risultati dei confronti tra maschi e femmine delle singole popolazioni (an, pw, pe) per i diversi set di dati bidimensionali, analizzati con test T<sup>2</sup>.

### 3.1.2 Definizione delle classi di età

Disponendo di 55 esemplari per i quali era nota la lunghezza totale del corpo (TBL), è stata misurata la corrispondente lunghezza massima del cranio (CBL), al fine di costruire una correlazione tra queste due misure.

La relazione diretta tra le due misure è risultata altamente significativa ( $R^2=0,712$ ;  $p < 0,0001$ ) (Tab.9 e Fig. 35).

			TBL	CBL
Spearman's rho	TBL	Correlation Coefficient	1,000	,845*
		Sig. (2-tailed)	.	,000
		N	55	55
CBL		Correlation Coefficient	,845**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	.
		N	55	55

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 9 . Test di correlazione di Spearman (SPSS).

L'equazione della retta ottenuta ( $Y = -56,128 + 5,710 X$ ), per il campione preso in esame, risulta una buona approssimazione ai fini pratici che ci proponiamo, anche se sarebbe più corretto considerare un andamento logaritmico della correlazione medesima (CBL/TBL) per un intervallo più esteso di valori (Kurihara & Oda, 2009).

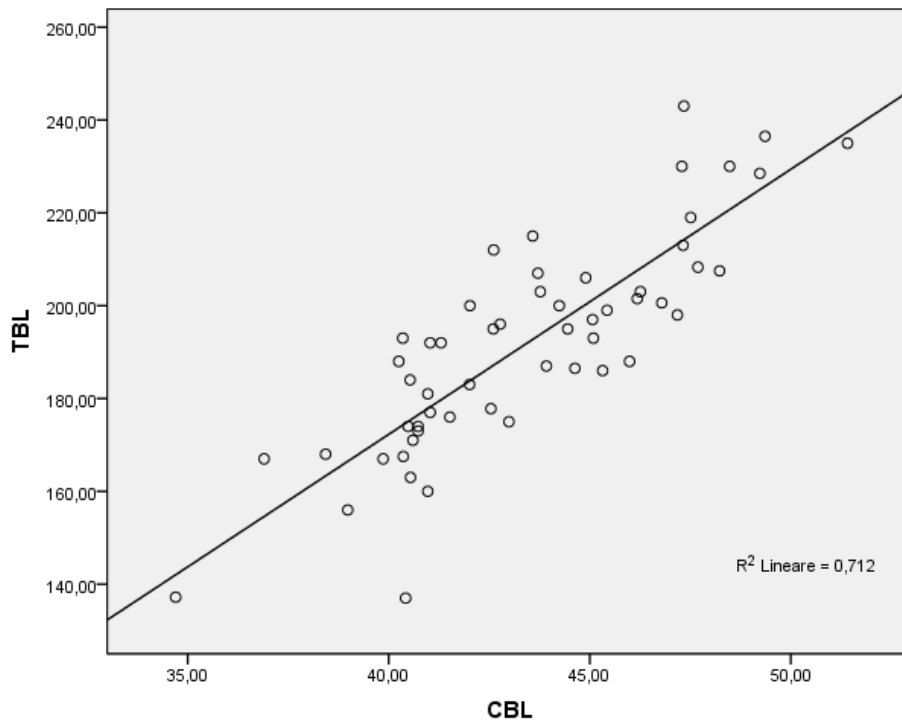


Figura 35. Regressione tra lunghezza totale del corpo (TBL) e lunghezza del cranio (CBL); misure in cm.

Il risultato ottenuto consente di attribuire anche agli altri esemplari, per i quali è nota solo la misura del cranio (n=121), di risalire ad un'affidabile TBL e da questa ricavare l'appartenenza ad una classe di età. Le classi di età sono state utilizzate per le successive analisi sull'allometria ontogenetica.

### 3.1.3 Allometria ontogenetica

Per lo studio allometrico sono state utilizzate le proiezioni dorsali del campione proveniente dalla Nuova Zelanda, in quanto contenente un numero elevato di esemplari appartenenti a diverse classi di età (neonati, giovani, sub-adulti e adulti), per un totale di 29 esemplari.

Per questo sotto campione è analizzata la relazione tra forma e dimensioni, ovvero tra le variabili della forma derivate dalla trasformazione GPA (*shape variables* o *coordinate di Procruste*) e la misura delle dimensioni estratta durante il processo GPA (CS - *centroid size*) (Fig. 36).

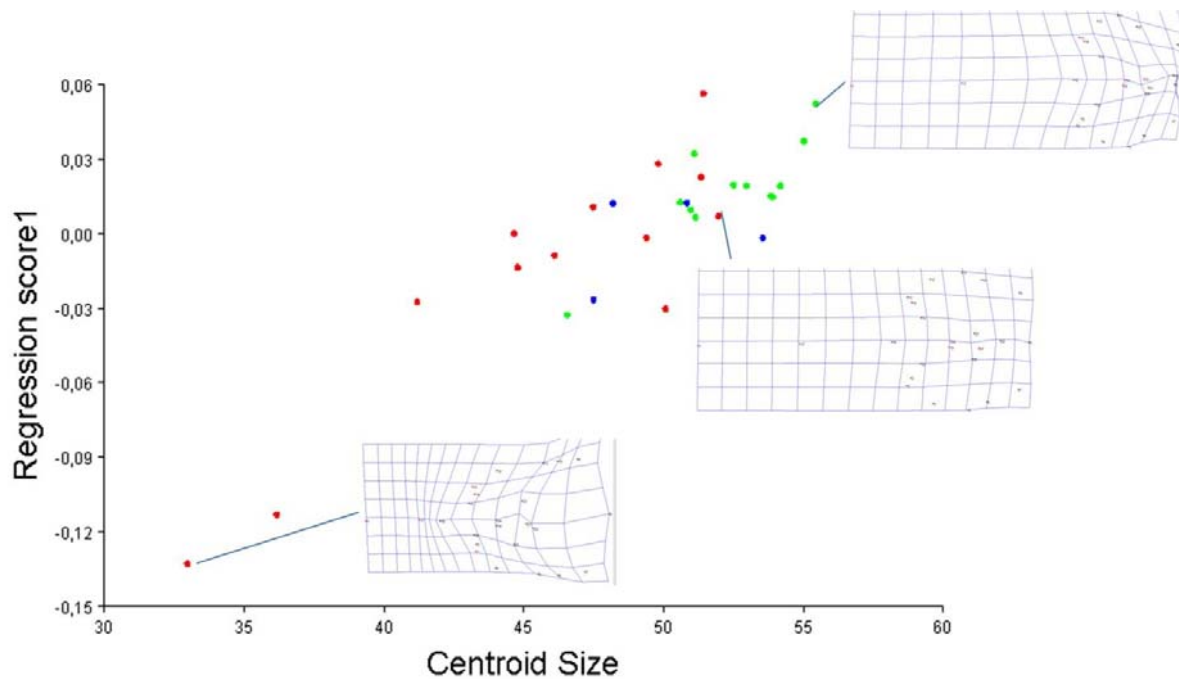


Figura 36. Regressione tra forma (coordinate di Procruste) e dimensioni (Centroid Size) nelle proiezioni dorsali dei crani provenienti dalla Nuova Zelanda. (Femmine in rosso, Maschi in verde, in blu esemplari con sesso non determinato).

I risultati mostrano un andamento lineare, dai neonati agli adulti, con una % predetta pari a 32,4 altamente significativa ( $p < .0001$ ).

Nelle griglie di deformazione associate ai diversi stadi di sviluppo, si osserva in particolare un allungamento del rostro, oltre ad una consistente variazione nella parte posteriore del neurocranio (Figg. 36, 37); uno studio condotto sui crani di *Tursiops truncatus* (Kurihara & Oda, 2009) evidenzia l'esistenza di un'allometria positiva tra la lunghezza del rostro e la larghezza della fossa temporale che rifletterebbe la crescita dell'apparato ghermitore.

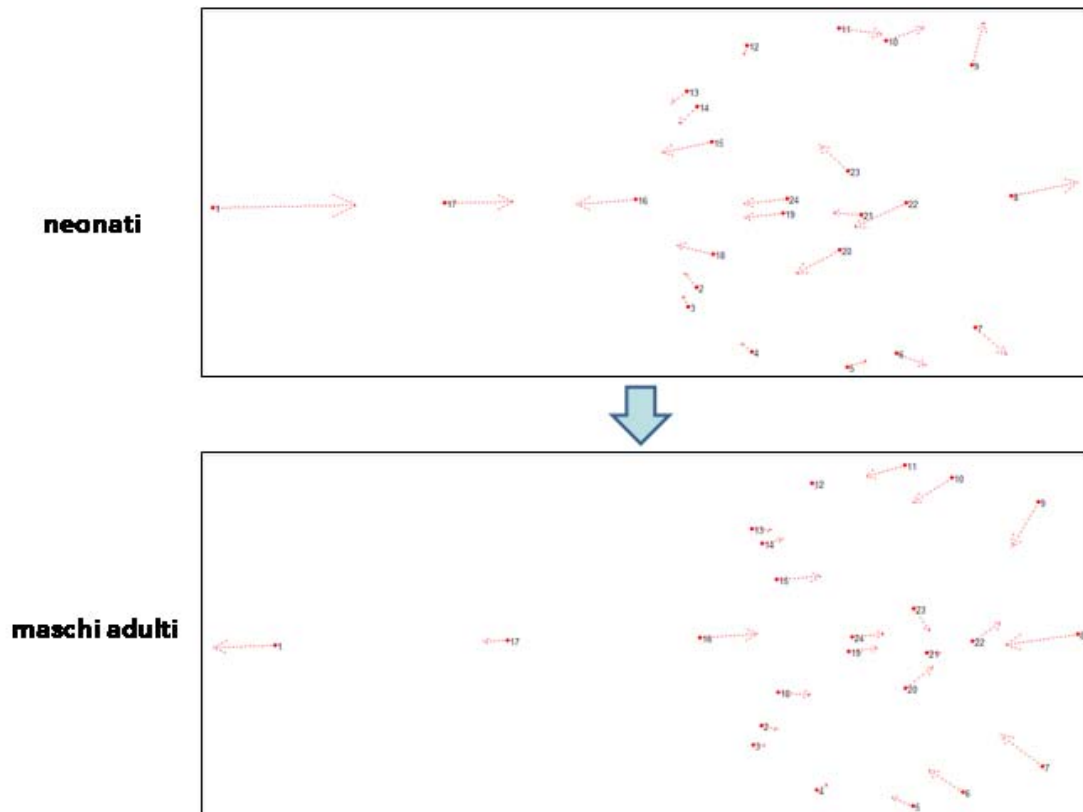


Figura 37. Variazioni di forma delle proiezioni dorsali tra neonato e maschio adulto (in rosso i vettori che indicano la posizione dei singoli landmark).

Analizzando separatamente i maschi e le femmine (Figg.38,a-b) si osservano valori significativi sia per il gruppo delle femmine (% predetta 46.9  $p < 0.0005$ ) che per i maschi (% predetta 18.7  $p < 0.03$ ).

L'osservazione della disposizione dei punti sul grafico del nostro campione (Fig. 39), sembra indicare che nei maschi si osserva un prolungamento dell'accrescimento secondo lo stesso modello allometrico delle femmine, nelle quali lo sviluppo si arresta prima, attestandosi su dimensioni minori.



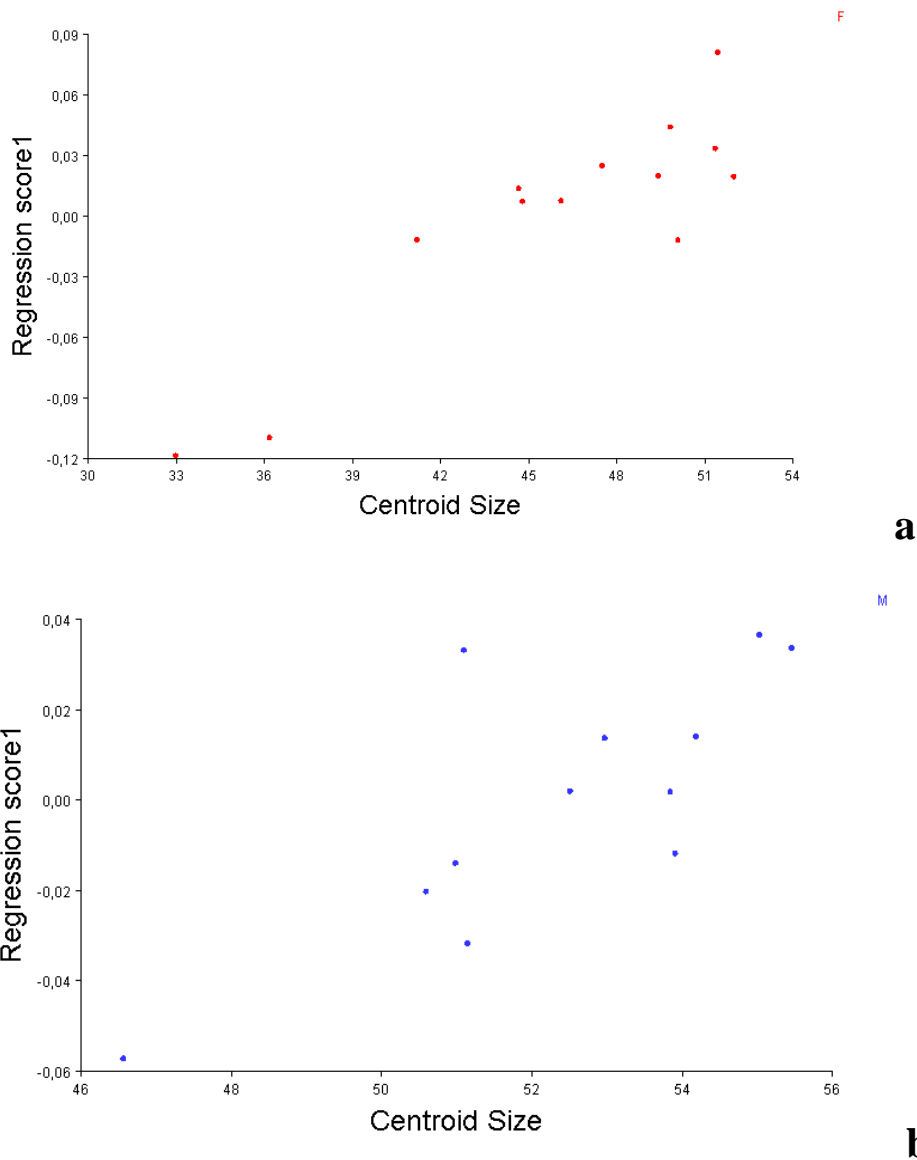


Figure 38- a, b. Grafico della regressione tra size e shape per gli individui femmine (a) e maschi (b) dello stock proveniente dalla Nuova Zelanda.

La stessa analisi è stata effettuata anche per i dati tridimensionali del campione proveniente dalla Nuova Zelanda (Fig.39). La percentuale predetta è in questo caso il 17%, altamente significativo (p-value= 0,0018).

I risultati dello studio allometrico mostrano, anche per l'analisi tridimensionale, la differenza nell'accrescimento dei crani tra i due sessi, evidenziato del resto nel precedente studio sul dimorfismo sessuale, proprio per lo stock proveniente dall'Oceano Pacifico occidentale (pw).

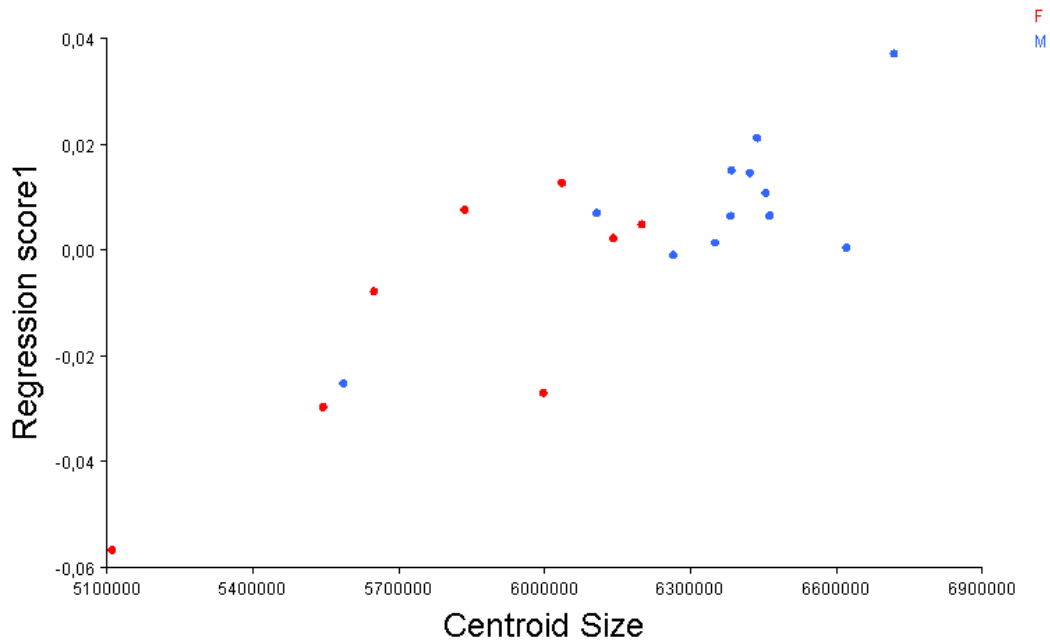


Figura 39. Regressione tra *shape* e *size* per i campioni tridimensionali provenienti dalla Nuova Zelanda.

### 3.2 Variabilità geografica

#### 3.2.1 Variazioni della forma (*shape variation*)

Nello studio sui cambiamenti di forma legati alla variabilità geografica si è preso innanzitutto in considerazione i dati tridimensionali, che permettono di avere una visione complessiva della struttura cranica e della sua eventuale variazione.

Sono stati analizzati tutti gli esemplari adulti con località nota, per un totale di 85 crani provenienti da 8 aree geografiche marine (Tab. 6, par. 2.3).

Dal grafico dei punteggi lungo le prime due componenti principali (Fig. 40) si osserva una maggior variazione di forma lungo l'asse della prima componente (PC1), che da sola spiega il 21,6% della varianza, mentre la seconda componente (PC2) spiega il 9,5 %; all'estremo sinistro si distinguono nettamente lo stock Indo-Pacifico occidentale (iw) e alcuni individui provenienti dall'Oceano Atlantico meridionale (as), più esattamente dalle coste orientali dell'Africa (esemplari in giallo sulla sinistra del grafico). Sulla base del confronto con le misurazioni craniche (par 2.5), si tratterebbe di esemplari appartenenti alla specie di Delfino comune dal rostro lungo, *D. capensis*.

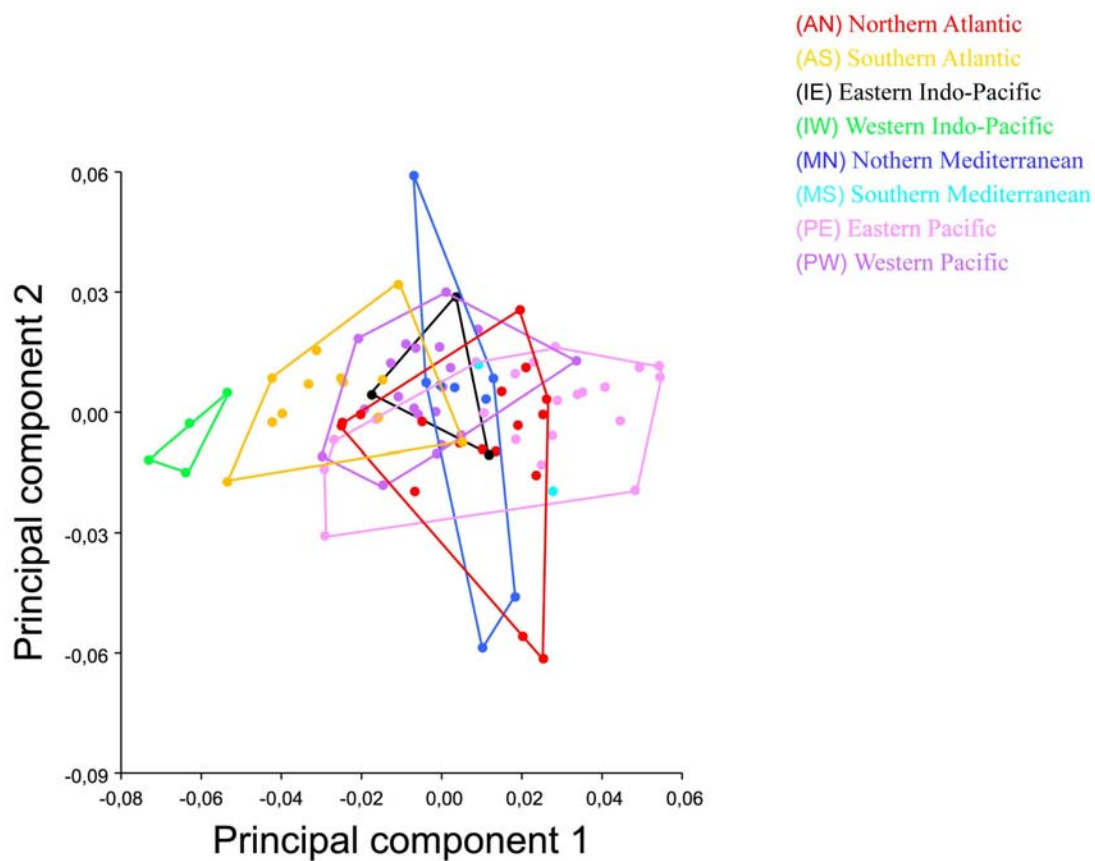
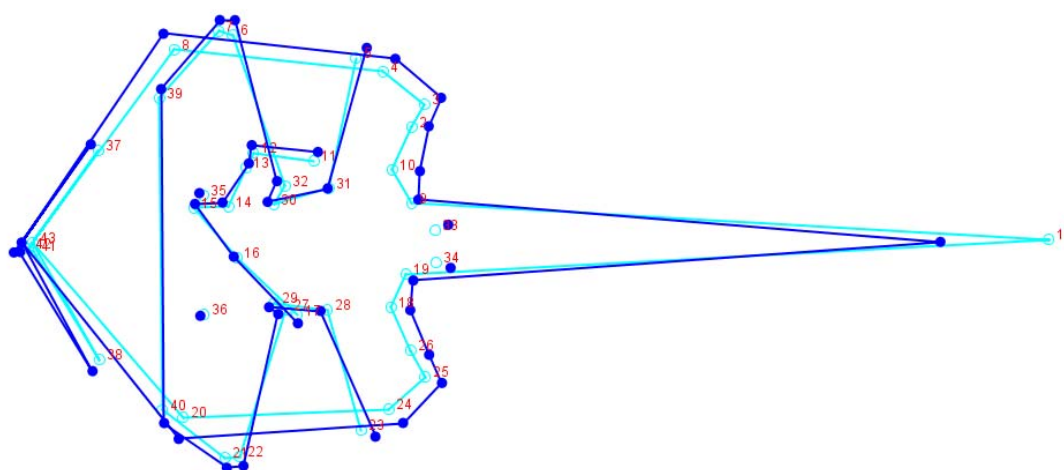


Figura 40. Analisi delle componenti principali (PCA) per i dati tridimensionali. I poligoni evidenziano i gruppi di diversa provenienza geografica.

Le differenze di forma individuate lungo l'asse della prima componente principale (PC1), possono essere visualizzate, per ognuno dei 3 assi cartesiani, tramite l'opzione *wireframe* del software MorphoJ (Figg.41 a-b-c).



PC1

**a**

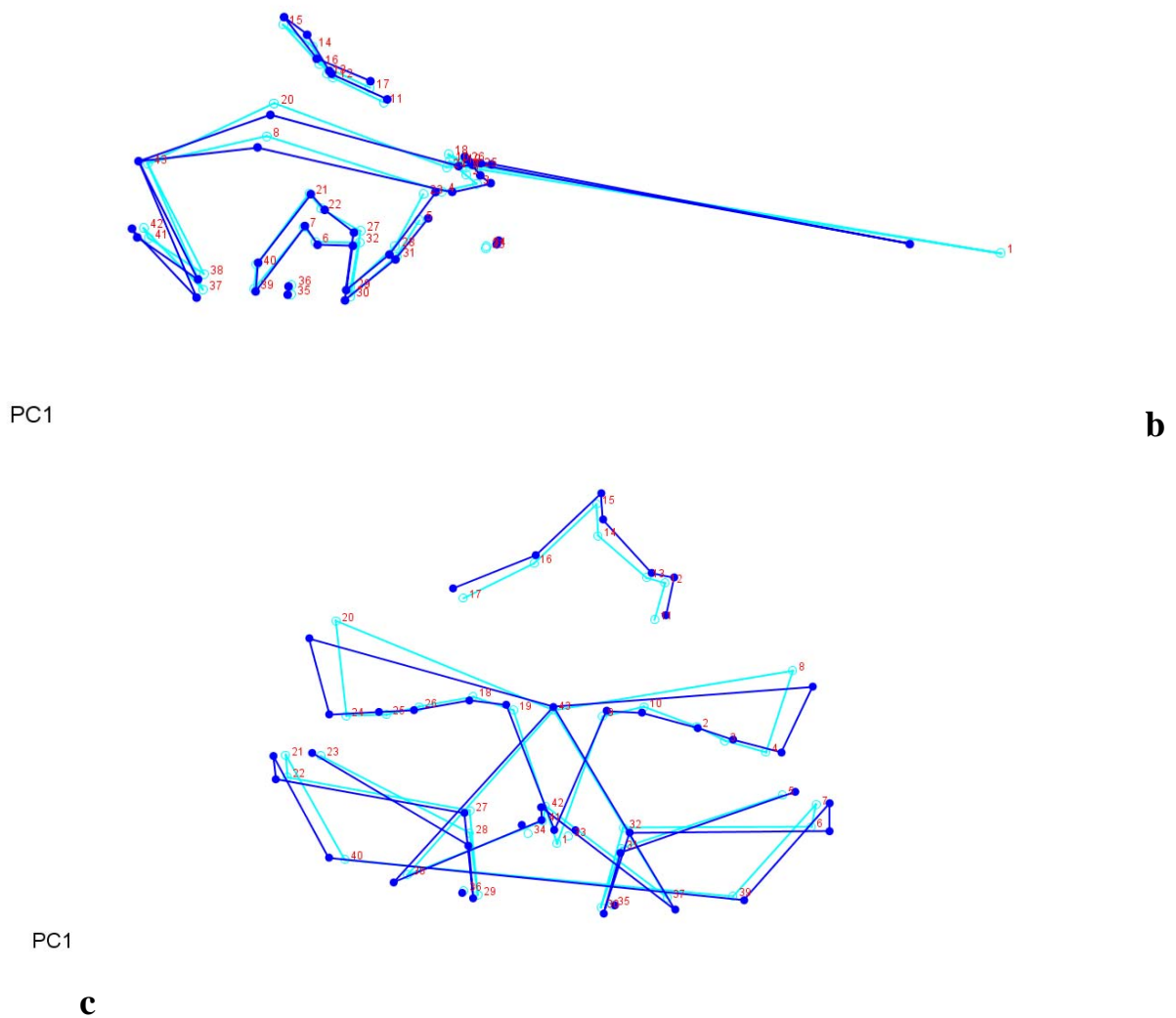


Figure 41 - a, b, c. Immagini wireframe della variazione di forma lungo l'asse della PC1: color azzurro chiaro, estremo sinistro dell'asse; contorno blu intenso estremo destro; a – vista dorsale; b – vista laterale; c – vista occipitale.

Il contorno azzurro chiaro si riferisce alla forma degli esemplari posti all'estremo sinistro dell'asse della prima componente principale (PC1) che, in questo caso, corrispondono agli individui della specie *D. capensis*, confrontati con gli individui dell'estremo opposto dell'asse di colore blu: si evidenzia chiaramente la maggior lunghezza del rostro e una minore ampiezza della scatola cranica nella specie *D. capensis*, oltre al restringimento del neurocranio in particolare a livello dei landmark 8-20 e 4-24.

In seguito all'analisi esplorativa condotta col metodo delle componenti principali, al fine di caratterizzare meglio la distinzione fenetica tra i diversi stock, le diverse popolazioni sono state analizzate attraverso un'analisi discriminante (CVA).

Il grafico dell'analisi delle variate canoniche (Fig. 42), mostra una buona separazione tra i gruppi di diversa provenienza geografica (test di permutazione 1000 runs,  $p < 0,005$ ) che si differenziano nella forma dei crani. In Tab. 10 sono riportate le distanze di Mahalanobis e di

Procrustes: lo stock meno differenziato è il gruppo di delfini dell'Oceano Atlantico settentrionale mentre si rilevano differenze significative tra la maggior parte degli altri gruppi. Gli esemplari del Mediterraneo meridionale, essendo un campione ridotto, dovrebbero probabilmente essere analizzati insieme a quelli del Mediterraneo settentrionale.

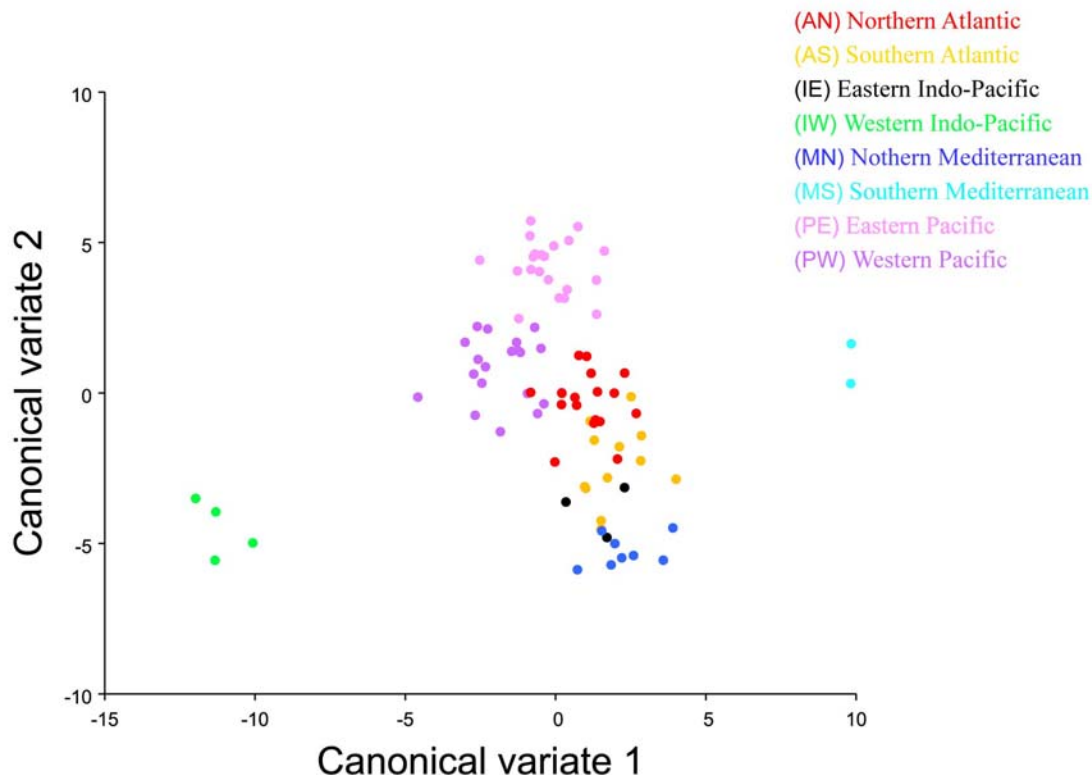


Figura 42. Analisi delle Variate canoniche (CVA) tra gli stock di diversa provenienza geografica (dati tridimensionali).

	ATLANTICO		INDO-PACIFICO		MEDIT		PACIFICO	
	N	S	E	W	N	S	E	W
Atlantico N	---	0,0431**	0,0344 - 0,0792*		0,0326 - 0,0537		0,0279* - 0,0253*	
S	8,3136**	---	0,0414* - 0,0550*		0,0496** - 0,0714*		0,0535** - 0,0295*	
Indo-Pac E	9,8278* - 10,8221**		---	0,0790**	0,0464 - 0,0648		0,0427 - 0,0293	
W	14,0687* - 15,2641*		15,8806*	---	0,0796* - 0,1003		0,0898** - 0,0680*	
Medit N	9,3862** - 10,2740**		11,5169* - 15,2024*		---	0,0645	0,0400* - 0,0365*	
S	13,8364* - 14,6153*		15,9842** - 22,6851		14,4425*	---	0,0542 - 0,0583*	
Pacifico E	7,0114** - 9,2200**		11,8982** - 14,5563**		10,8245** - 14,1201*		---	0,0309*
W	6,8634** - 7,4490**		10,7046* - 12,6551*		9,7469** - 15,1869*		5,7731**	---

Tabella 10. Distanze di Mahalanobis e di Procrustes (dati tridimensionali), tra gruppi di diversa provenienza geografica e rispettivi p-values (test di permutazione, 10000 runs): \*p<0,05; \*\*p<0,0001.

Al fine di caratterizzare meglio le parti del cranio coinvolte nella variazione di forma individuata con i dati tridimensionali, è stata svolta l'analisi dei dati bidimensionali. Sono state quindi analizzati i dati delle proiezioni dorsali, ventrali, occipitali e le mandibole, degli esemplari adulti suddivisi per area geografica (Tab. 4, par. 2.2).

Per la proiezione dorsale sono stati analizzati 157 crani con località nota e per ciascuno sono stati individuati 24 landmark (Fig. 43).

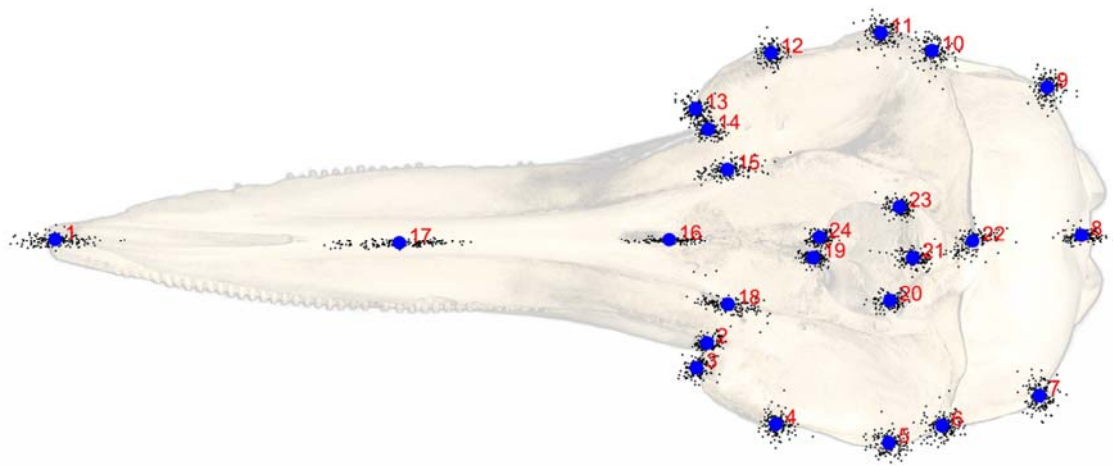


Figura 43 .Variazione nella posizione dei landmark dorsali (in rosso) dopo l'Analisi di Procrustes (GPA).

L'analisi delle componenti principali (PCA) conferma una maggior variazione di forma lungo l'asse della prima componente principale (PC1) che da sola spiega il 36% della varianza (Fig. 44), e la netta separazione degli esemplari provenienti dall'Oceano Indo-Pacifico occidentale (iw) e dall'Atlantico meridionale (as), con più precisione dalle coste occidentali dell'Africa (Gabon, Senegal).

Le griglie di deformazione mostrano un maggior cambiamento di forma nella regione del rostro, che si accorcia notevolmente andando verso gli stock nord-atlantici (estremo destro asse PC1), oltre ad un generale allargamento del neurocranio ed in particolare a livello dei landmark 2-14, 3-13, 15-18 dello splancnocranio (Fig. 45).

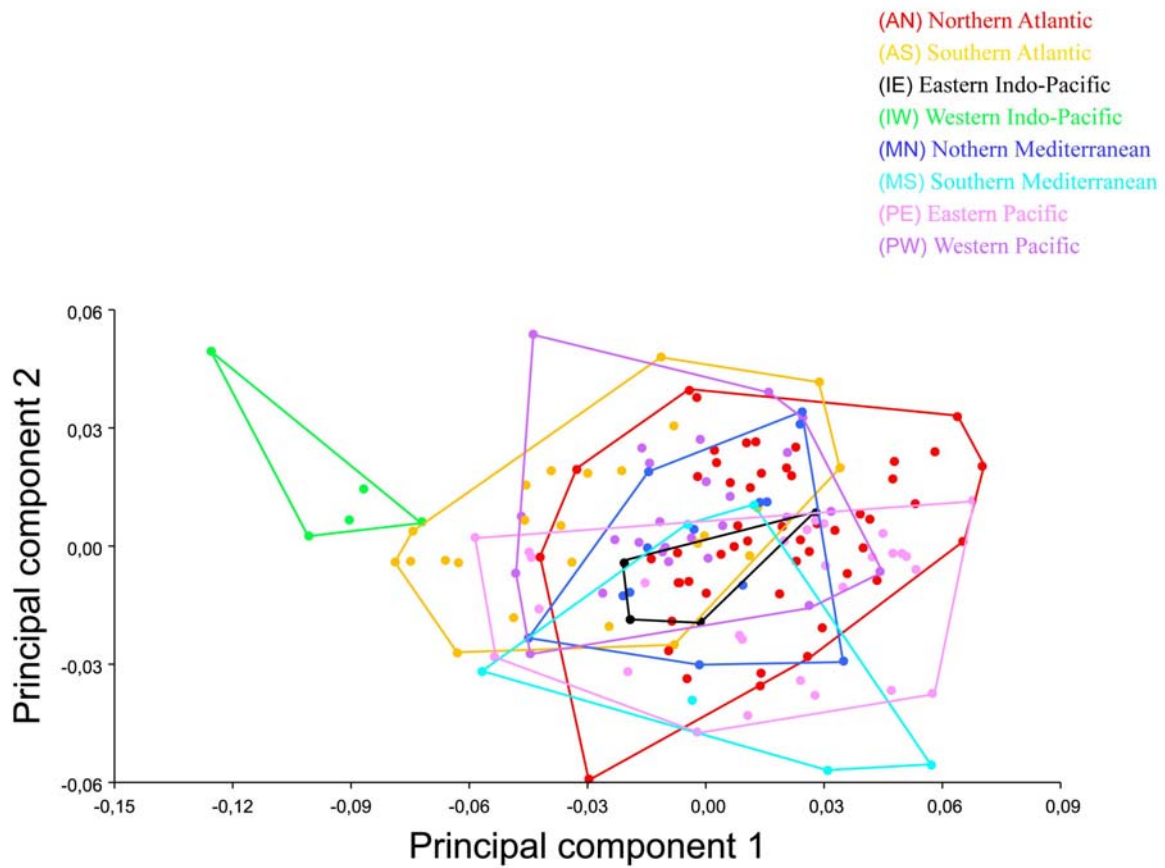


Figura 44. Diagramma delle prime due componenti principali delle proiezioni dorsali per area geografica.

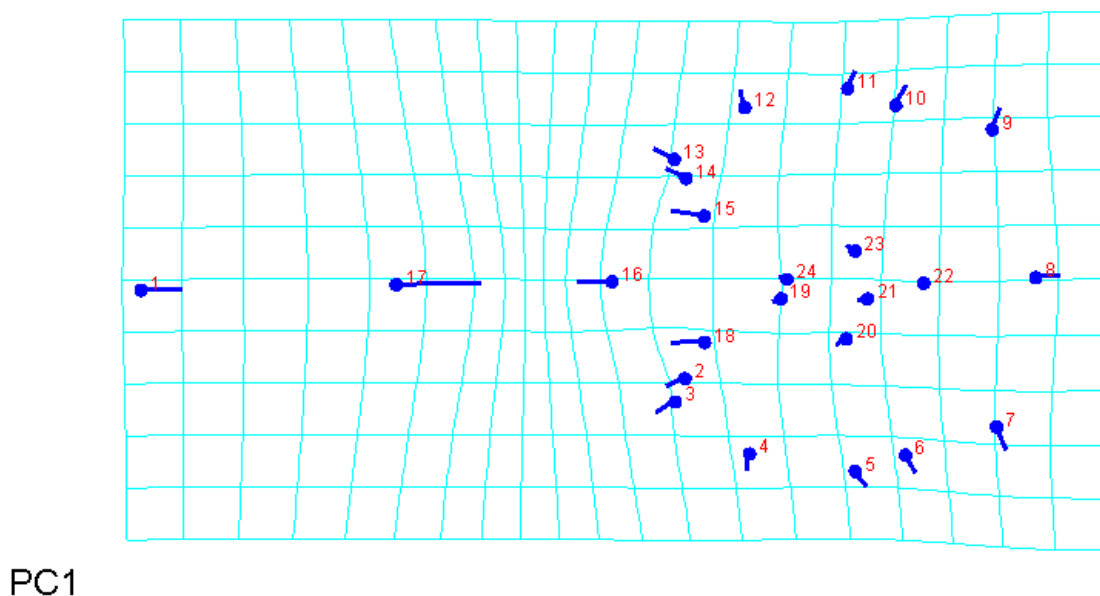


Figura 45. Griglia di deformazione delle proiezioni dorsali lungo l'asse della prima componente principale (PC1): in blu i vettori dei 24 landmark (immagine ottenuta col software MorphoJ).

	ATLANTICO		INDO-PAC		MEDIT		PACIFICO	
	N	S	S	W	N	S	E	W
<b>Atlantico N</b>	---	0,0467**	0,0368 - 0,1143**		0,0230 - 0,0419		0,0263* - 0,0287*	
<b>S</b>	3,0400**	---	0,0382 - 0,0721**		0,0367 - 0,0538		0,0522** - 0,0286	
<b>Indo-Pac S</b>	5,4477** - 5,4678**		---	0,0991	0,0381 - 0,0429		0,0387 - 0,0356	
<b>W</b>	7,3696** - 6,3047**		8,0923*	---	0,1006* - 0,1145		0,1177** - 0,0938**	
<b>Medit N</b>	2,6012* - 3,6959**		6,0922* - 7,7074*		---	0,0379	0,0336 - 0,0231	
<b>S</b>	3,8859* - 4,7518*		5,9021* - 8,3035		4,2346	---	0,0381 - 0,0475*	
<b>Pacifico E</b>	4,3906** - 4,2672**		6,5058** - 8,4867**		4,3685** - 4,9867**		---	0,0352*
<b>W</b>	3,3396** - 2,9053**		6,2314** - 7,1853**		3,2267** - 4,8872*		3,9261**	---

Tabella 11. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) tra i gruppi di diversa provenienza per le proiezioni dorsali (\*p<0.05; \*\* p<0.0001).

Anche le distanze di Mahalanobis e di Procrustes (Tab. 11) derivate dalle proiezioni dorsali confermano la separazione dello stock Indo-Pacifico occidentale.

Si differenziano inoltre molto bene anche gli stock provenienti dall'Oceano Pacifico che presentano valori altamente significativi delle distanze di Mahalanobis, praticamente con tutti gli altri gruppi. Gli stock mediterranei invece si differenziano meno tra di loro e ciò autorizza l'inclusione degli esemplari mediterranei in un unico gruppo.

Anche per le proiezioni ventrali sono stati analizzati i crani degli esemplari adulti con provenienza nota, per un totale di 121 esemplari con 20 landmark ciascuno (Tab. 4, par. 2.2, Fig. 46).

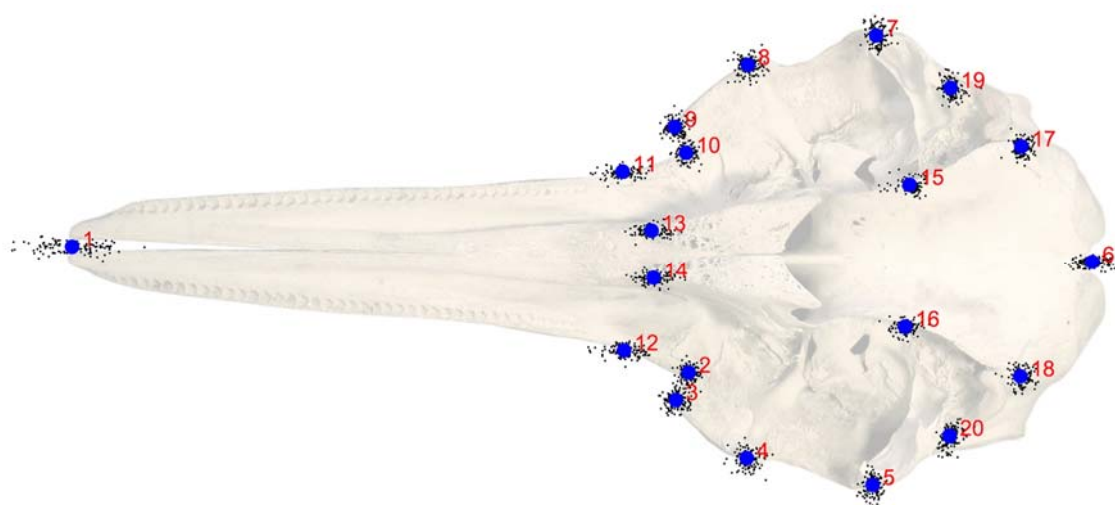


Figura 46. Variazione nella posizione dei 20 landmark ventrali (in rosso) dopo l'Analisi di Procrustes (GPA).



I risultati dell'analisi delle componenti principali (Fig. 47) confermano anche in questo caso una maggior differenziazione lungo l'asse della prima componente principale (PC1) che spiega il 42% della varianza complessiva.

Anche in questo caso il gruppo costituito dagli individui di provenienza Indo-Pacifica occidentale (iw) e da 3 esemplari della costa occidentale dell'Africa (Senegal e Gabon) appartenenti quindi allo stock Atlantico meridionale (as) appaiono differenziati rispetto al resto degli esemplari .

Le griglie di deformazione per la PC1 (Fig. 48) evidenziano anche in questo caso la maggior differenziazione degli stock in base all'allungamento del rostro (vettore landmark 1) e al restringimento della scatola cranica negli esemplari all'estremo destro dell'asse, come indicato dalla direzione dei vettori (in blu).

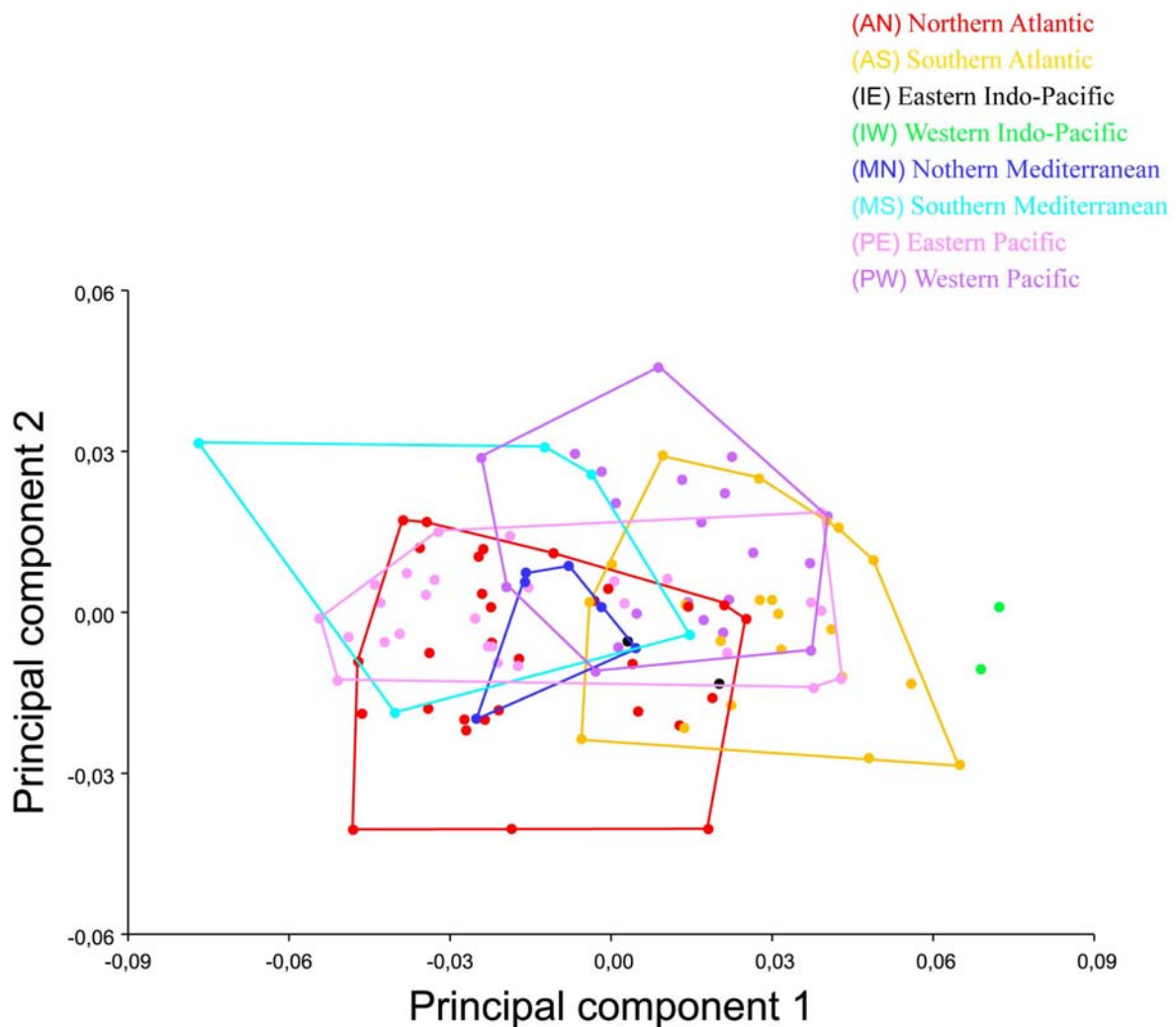
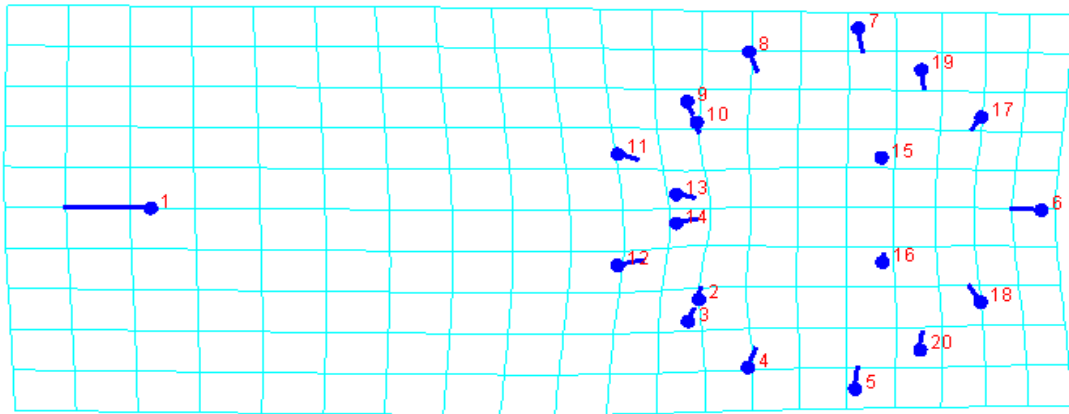


Figura 47. Diagramma delle componenti principali (PC1/PC2) per le proiezioni ventrali: all'estremo destro dell'asse della PC1 (cerchiati in verde) si differenziano gli esemplari dell'Indo-Pacifico occidentale (iw) e alcuni delle coste africane dell'Oceano Atlantico meridionale (as).



## PC1

Figura 48. Griglia di deformazione per le proiezioni ventrali dei crani lungo l'asse della prima componente principale PC1 (software MorphJ).

L'analisi discriminante delle variate canoniche (CVA) tra i gruppi di diversa provenienza geografica indica una certa separazione anche per le proiezioni ventrali, come confermato dai risultati delle distanze di Mahalanobis e Procrustes (Tab.12), che presentano valori massimi per lo stock Indo-pacifico occidentale (iw), malgrado la presenza di soli 2 esemplari impedisca di avere valori elevati di significatività. Per contro presentano valori altamente significativi gli stock Pacifici (pe, pw) con i Mediterranei e gli Atlantici.

	ATLANTICO		INDO-PAC		MEDITER		PACIFICO	
	N	S	S	W	N	S	E	W
<b>Atlantico</b>								
N	---	0,0460**	0,0358 - 0,0883*		0,0201 - 0,0257		0,0178* - 0,0364**	
S	3,5662**	---	0,0329 - 0,0449*		0,0434** - 0,0570*		0,0439** - 0,0264*	
<b>Indo-Pac</b>								
S	5,7734* - 5,5986*		---	0,0664	0,0387 - 0,0476		0,0388 - 0,0308	
W	6,2901* - 4,3156		6,9295	---	0,0842* - 0,0990**		0,0858* - 0,0645*	
<b>Mediterr</b>								
N	3,0193 - 4,1216**		6,2021 - 6,5811		---	0,0276*	0,0254 - 0,0344*	
S	3,1793 - 4,8405**		6,0472 - 7,1406		4,1071	---	0,0277 - 0,0392	
<b>Pacifico</b>								
E	3,4298** - 3,3964**		5,4564* - 5,3305*		4,0789** - 4,1507**		---	0,0339*
W	4,1030** - 3,2010**		6,1442* - 4,7875		4,7557** - 4,4714*		3,5614**	---

Tabella 12. Distanze di Procrustes (sopra la diagonale) e distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) per le proiezioni ventrali; \* p<0.05; \*\*p<0.0001.

E' stata infine analizzata la variazione di forma della regione occipitale dei crani per 120 individui di provenienza nota (Fig. 49; Tab.4, par. 2.2).



Figura 49. Variazione nella posizione dei 5 landmark occipitali (in rosso) dopo l'Analisi di Procrustes (GPA).

Il grafico dei punteggi delle prima due componenti principali (Fig. 50) rivela un elevato gradiente di differenziazione nella morfologia dei crani lungo l'asse della prima componente principale (PC1) che spiega il 72% della varianza e il 16% della varianza lungo l'asse della seconda componente principale (PC2).

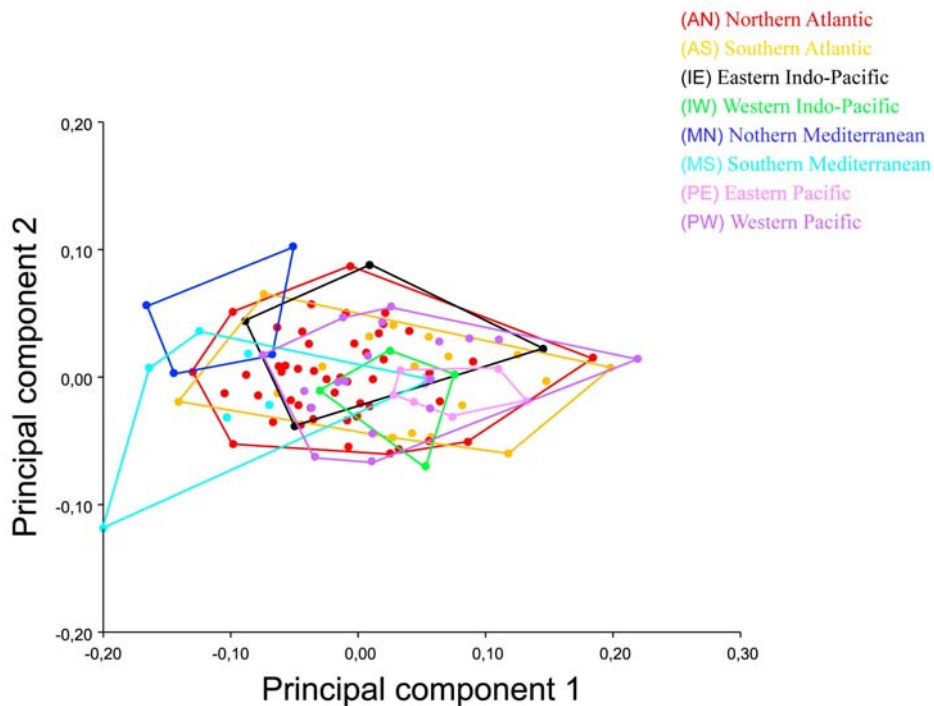


Figura 50. Diagramma delle componenti principali (PCA) per le proiezioni occipitali dei crani.

Contrariamente a quanto rilevato per le altre proiezioni il grafico non permette di distinguere gli stock dell'Oceano Indiano Occidentale e gli esemplari africani attribuibili a *D. capensis*. Ciò indica che questa regione del cranio ha maggiore valenza nella variazione intraspecifica piuttosto che interspecifica.

La griglia di deformazione della regione occipitale associata alla variazione lungo l'asse della prima componente principale PC1, mostra un allargamento dei crani (landmark 1-5) ed un corrispondente schiacciamento (landmark 1, 2, 3) indicato dai vettori (Fig. 51), che caratterizza in particolare la differenza tra gli esemplari provenienti dal Mediterraneo e il resto degli stock.

Le distanze di Mahalanobis e di Procrustes (Tab. 13), confermano valori elevati per lo stock Mediterraneo settentrionale (mn), altamente significativi rispetto allo stock atlantico settentrionale (dist. Mahalanobis,  $p < 0.0001$ ); significativi sono anche i valori tra gli stock mediterranei (mn, ms) e atlantici (an, as) per le distanze di Procrustes ( $p < 0,05$ ). Perciò nel paragrafo sulla variabilità specifica di *Delphinus delphis* (par. 3.3) si è deciso di approfondire l'analisi solo sugli esemplari provenienti da questi mari.

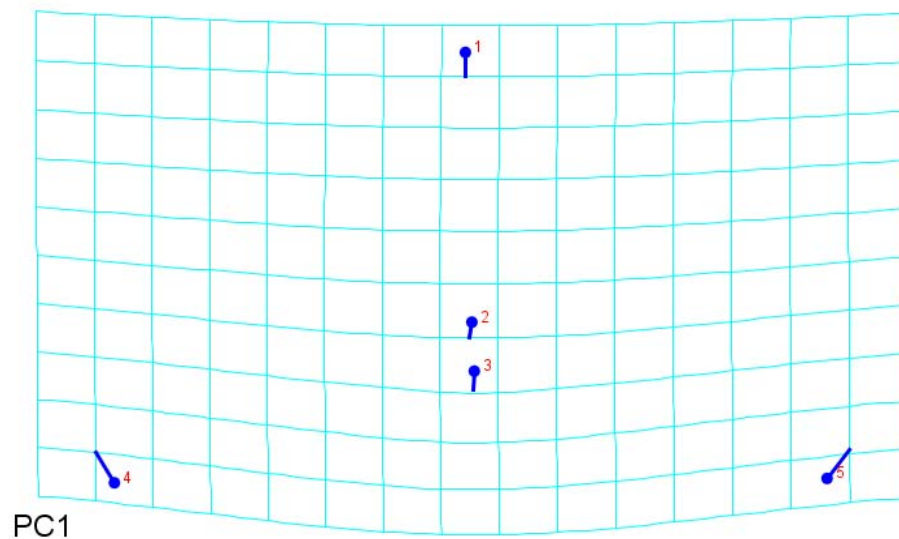


Figura 51. Griglia di deformazione della regione occipitale lungo l'asse positivo della prima componente principale (PC1).

	ATLANTICO		INDO-PACIFICO		MEDIT		PACIFICO	
	N	S	S	W	N	S	E	W
<b>Atlantico N</b>	---	0,0539	0,0429 - 0,0489		0,1061 - 0,0867*		0,0809* - 0,0393*	
<b>S</b>	1,0769*	---	0,0572 - 0,0149		0,1546* - 0,1392*		0,0299 - 0,0179	
<b>Indo-Pac S</b>	1,3519 - 1,8183		---	0,0630	0,1188 - 0,1129		0,0760 - 0,0424	
<b>W</b>	1,0624 - 0,4591		2,0766	---	0,1517* - 0,1317*		0,0387 - 0,0220	
<b>Medit N</b>	3,0463** - 3,2928*		3,1875 - 3,4960*		---	0,0667	0,1828 - 0,1406	
<b>S</b>	1,4989* - 2,2736*		2,0761 - 2,2372*		2,7365*	---	0,1649* - 0,1254*	
<b>Pacifico E</b>	1,3184* - 0,7648		1,7662 - 0,9283		3,7292* - 2,5635*		---	0,0435
<b>W</b>	0,7125 - 0,8451		1,3530 - 0,9583		3,3193* - 2,1092*		0,8167	---

Tabella 13. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) per le proiezioni occipitali, tra i gruppi di diversa provenienza (\* p<0.05; \*\* p<0.0001).

L'ultima indagine sui cambiamenti di forma per area geografica riguarda lo studio delle mandibole: i primi risultati coinvolgevano 130 esemplari provenienti da 8 aree geografiche ma il diagramma ottenuto con l'analisi delle componenti principali (PCA) mostrava un gruppo separato che non si riusciva a spiegare, né in base alla diversa area di provenienza e nemmeno come differenza tra i due sessi. Da un controllo ulteriore è risultato trattarsi di un errore causato dall'elevata variabilità di posizionamento del landmark numero 7 (individuato sul forame più anteriore del ramo mandibolare): è stato quindi deciso di escludere questo landmark dalle successive analisi.

Nell'analisi delle componenti principali svolta su un totale di 130 individui (Fig. 52), si osserva un elevato gradiente di variazione lungo il primo asse (PC1) che da solo spiega il 44% della varianza.

La griglia di deformazione (Fig. 53) mostra una variazione di forma individuata dai landmark 1 (apice della mandibola) e 6 (termine della fila dentaria) che corrisponde alla lunghezza della fila dentaria

L'analisi discriminante delle variate canoniche (CVA, Fig. 54) mostra i valori maggiori per le distanze di Mahalanobis negli esemplari dello stock Indo-Pacifico occidentale (iw), con significatività molto elevata rispetto allo stock atlantico settentrionale (p<0,0001). E' da notare che sono presenti solo 2 esemplari.

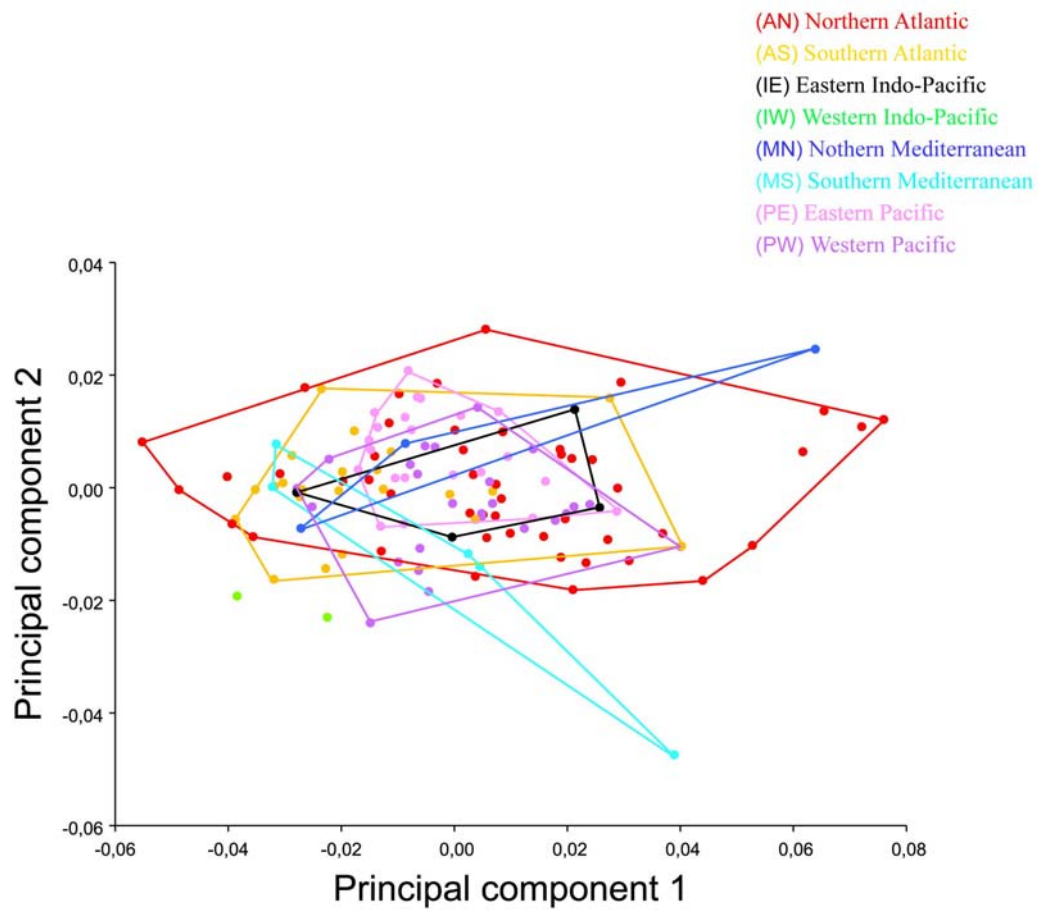


Figura 52. Grafico delle componenti principali (PCA) per la mandibola destra (n=130).

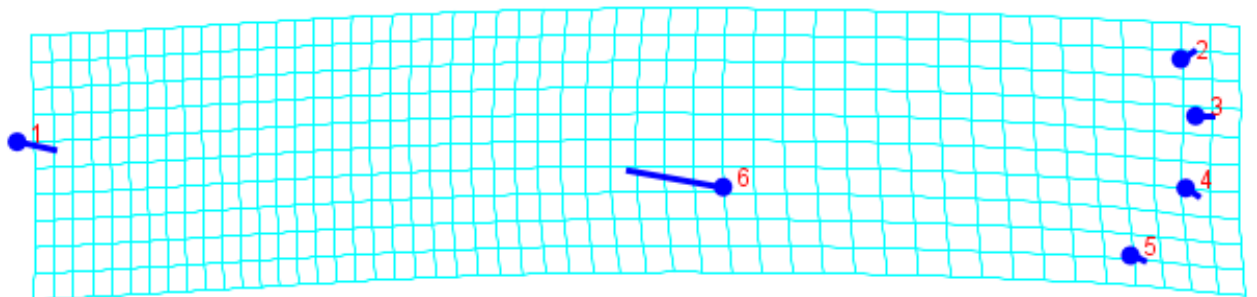


Figura 53. Griglia di deformazione della variazione di forma della mandibola destra lungo l'asse positivo della PC1.

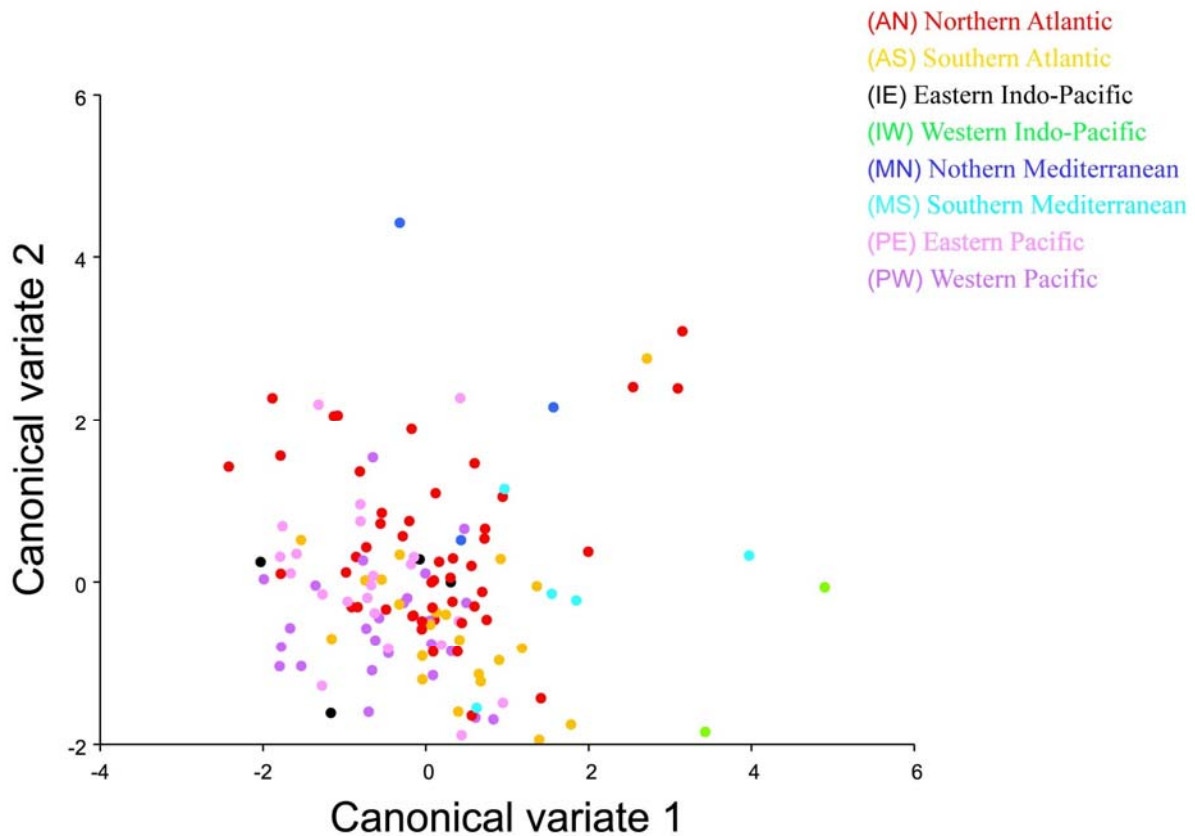


Figura 54. Analisi delle variate canoniche (CVA) delle mandibole destre, per gruppi di diversa provenienza.

Le analisi tridimensionali (3D) e bidimensionali (2D) svolte, hanno mostrato differenze significative nella forma dei crani dei delfini provenienti da diverse aree geografiche, permettendo di individuare le variazioni principalmente nella lunghezza del rostrum, maggiore negli esemplari provenienti dall'Oceano Indo-Pacifico occidentale ed alcuni delle coste orientali africane (Atlantico meridionale), individuati come *D. capensis*.

Inoltre la regione del neurocranio risulta più voluminosa negli esemplari di provenienza Atlantica ed i Mediterranei si distinguono per avere la regione occipitale più compressa lateralmente.

### 3.2.2 Variazione di taglia (*size variation*)

Avendo rilevato l'assenza di un'interazione significativa tra sesso e provenienza geografica per i dati tridimensionali (vedi par. 3.1.1), è stato effettuato uno studio sulla variazione di taglia esteso alle 5 aree con un numero rappresentativo di esemplari (Atlantico settentrionale, Atlantico meridionale, Mediterraneo, Pacifico orientale e Pacifico occidentale), considerando

tutti gli esemplari adulti (maschi, femmine e esemplari non determinati), per un totale di 80 campioni (Fig.55).

cod_sea:	an	as	m	pe	pw
N	17	13	10	20	20

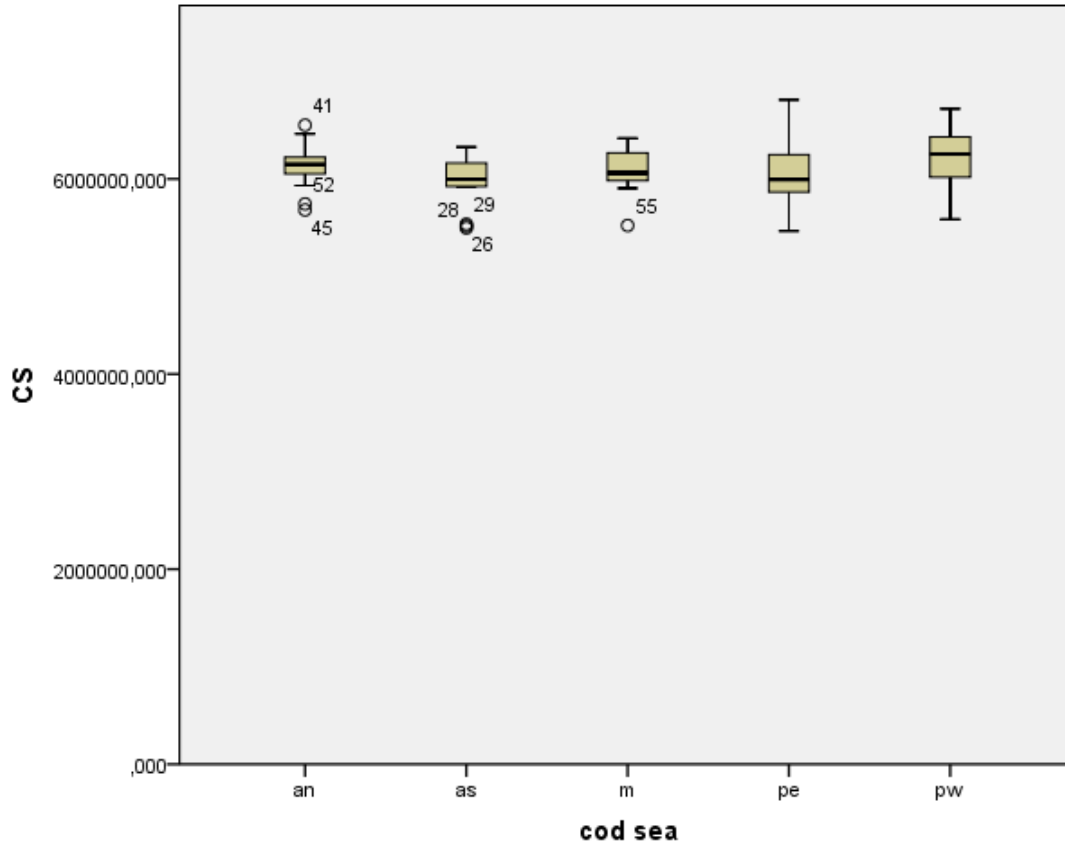


Figura 55. Box-plot dei dati tridimensionali (CS) per area geografica (cod-sea: an, Oc. Atlantico nord; as, Oc. Atlantico sud; m, Mar Mediterraneo; pe, Oc. Pacifico est; pw, Oc. Pacifico occidentale).

Nei box-plot tridimensionali (Fig. 55) si osserva una certa variazione tra le mediane delle 5 popolazioni indagate, anche se l'analisi dell'ANOVA indica che le differenze di dimensioni tra gruppi provenienti da aree geografiche diverse, non sono in realtà significative ( $F=1,658$ ;  $p= 0.169$ ).

Per i dati bidimensionali sono state analizzate le proiezioni dorsali per un totale di 149 esemplari sempre per le 5 aree di provenienza (Fig.56).



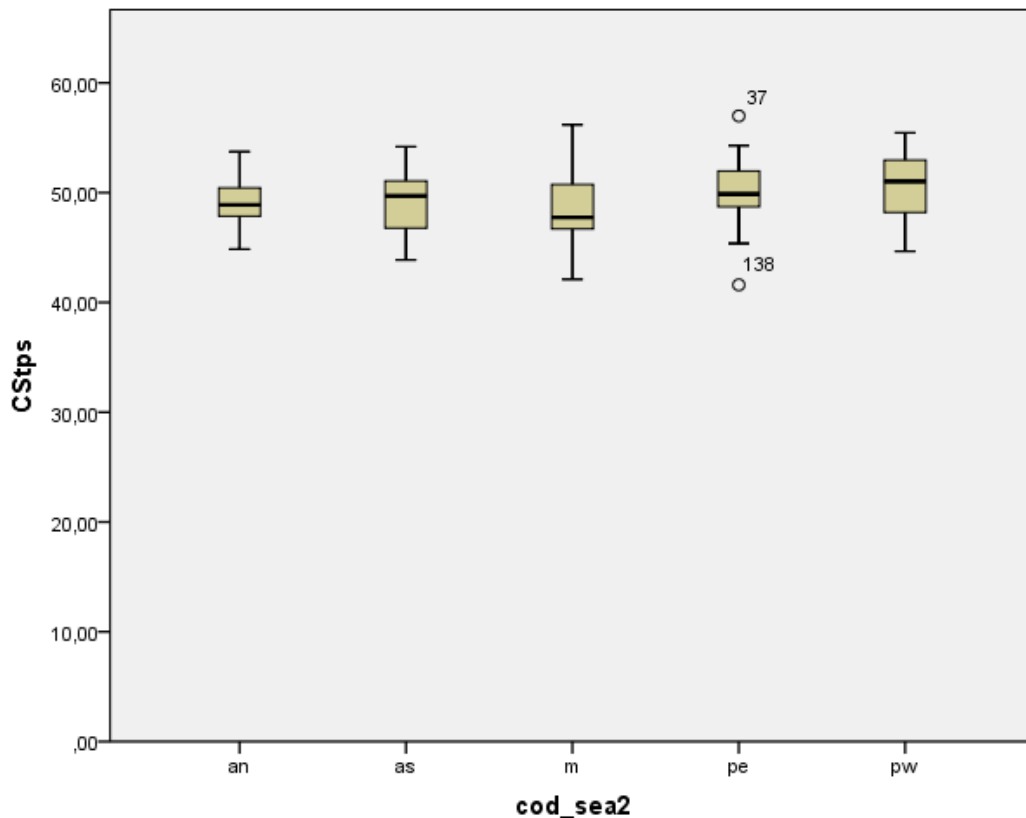


Figura 56. Box-plot delle proiezioni dorsali dei dati bidimensionali (CS) per area geografica (cod-sea: an, Oc. Atlantico nord; as, Oc. Atlantico sud; m, Mar Mediterraneo; pe, Oc. Pacifico est; pw, Oc. Pacifico occidentale).

Il risultato dell'ANOVA mostra che non vi è una differenza significativa tra le dimensioni degli esemplari tra i gruppi di diversa provenienza ( $F= 1,776$ ;  $p=0,137$ ).

Infine, i dati relativi alle misurazioni craniche (RL/ZW) utilizzati come informazioni aggiuntive ai fini dell'analisi della variabilità geografica (Tab. 7, par. 2.5.1), sono stati confrontati con quelli riportati in letteratura sulla variabilità morfologica dei crani di Delfino comune (Westgate, 2007).

Le misurazioni effettuate sui 23 crani di incerta attribuzione specifica, sono state inserite nel grafico originale dell'autore citato (Fig. 57, esemplari colorati).

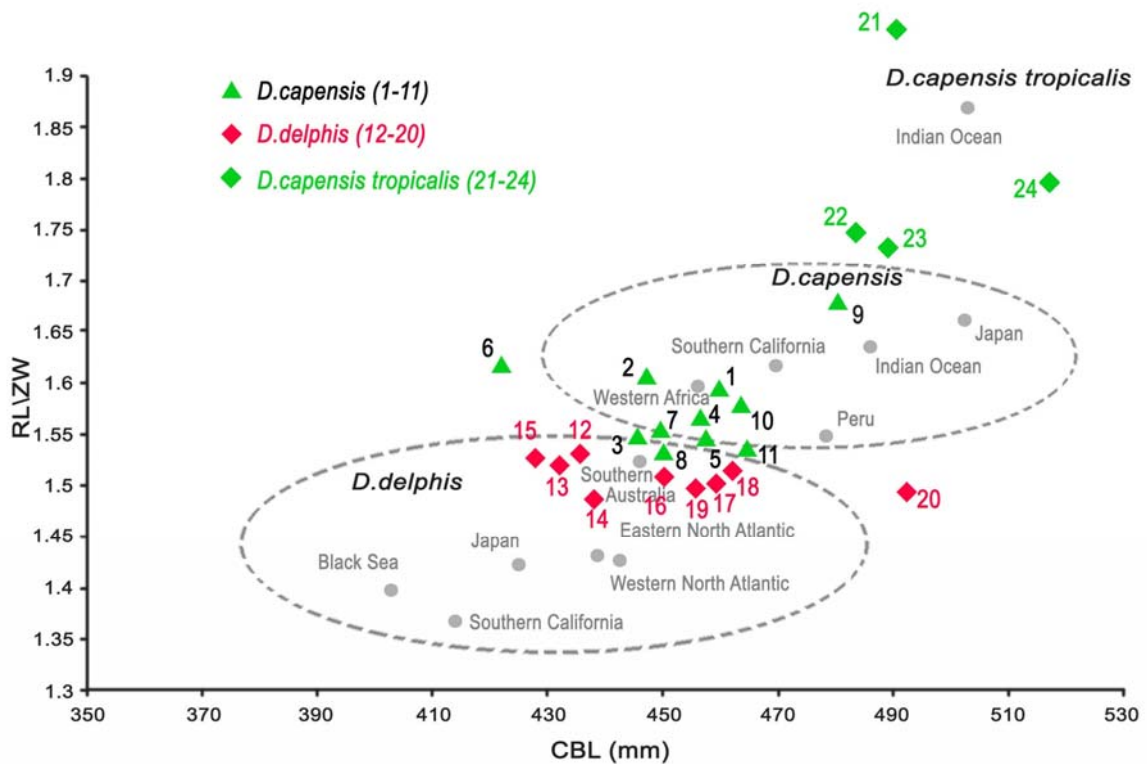


Figura 57. Distribuzione delle dimensioni craniche (CBL e RL/ZW) degli esemplari di *Delphinus* di dubbia attribuzione del presente studio (simboli colorati), sovrapposte al grafico prodotto da Westgate (2007) e separati per taxa (*D. delphis*, *D. capensis*, *D.c. tropicalis*); i simboli colorati indicano i campioni del presente studio.

Dal grafico si evidenzia la presenza nel campione di studio, di esemplari appartenenti alla specie *D. capensis* e alla sottospecie *D.c. tropicalis*.

Per quanto riguarda i crani di provenienza Indo-Pacifica (Fig. 57: n. 9, 21-24) è possibile attribuire alla specie *D. capensis* e alla sottospecie *D.c. tropicalis* gli esemplari provenienti dal Golfo Persico (RL/ZW=1.64) e dall'Oman (RL/ZW=1.72-1.79) fino al massimo valore riscontrato nell'esemplare dell'Oceano Indiano (RL/ZW=2.01), olotipo della sottospecie *D. c. tropicalis* (N°cat. A3065; Robineau, 1990).

Inoltre ci sono alcuni esemplari provenienti dalle coste occidentali dell'Africa (Fig. 57: n.3-5 e 7, 8) i cui valori potrebbero rientrare nell'intervallo di variazione di *D. capensis*, anche se provengono dal limite inferiore dell'areale di distribuzione noto di questa specie.

Gli esemplari Indo-Pacifici orientali (Australia meridionale) e quelli del Pacifico orientale (coste peruviane del Perù) mostrano un rapporto RL/ZW che varia tra 1,45-1.5 e quindi non sono chiaramente distinguibili (Fig. 57: n. 12-16 e 17-20), perciò sono stati considerati come valori massimi per la specie *D. delphis*.

### 3.2.3 Variabilità in *Delphinus delphis*

Sulla base delle considerazioni precedenti sono stati rimossi dal campione tutti gli esemplari attribuibili alla specie *D. capensis* insieme a quelli di dubbia appartenenza..

La variabilità intraspecifica della forma del cranio di *Delphinus delphis* è stata quindi condotta, per i dati tridimensionali, su un totale di 73 esemplari provenienti da 7 aree geografiche (par.2.5.2).

Le prime indagini sulle variazioni geografiche di forma e dimensioni sono state svolte infatti su questi dati, al fine di valutare un'eventuale variazione di forma complessiva del cranio.

L'analisi delle componenti principali mostra un gradiente di differenziazione lungo i primi due assi, che spiegano rispettivamente il 15% (PC1) e l'11% (PC2) della varianza complessiva (Fig. 58).

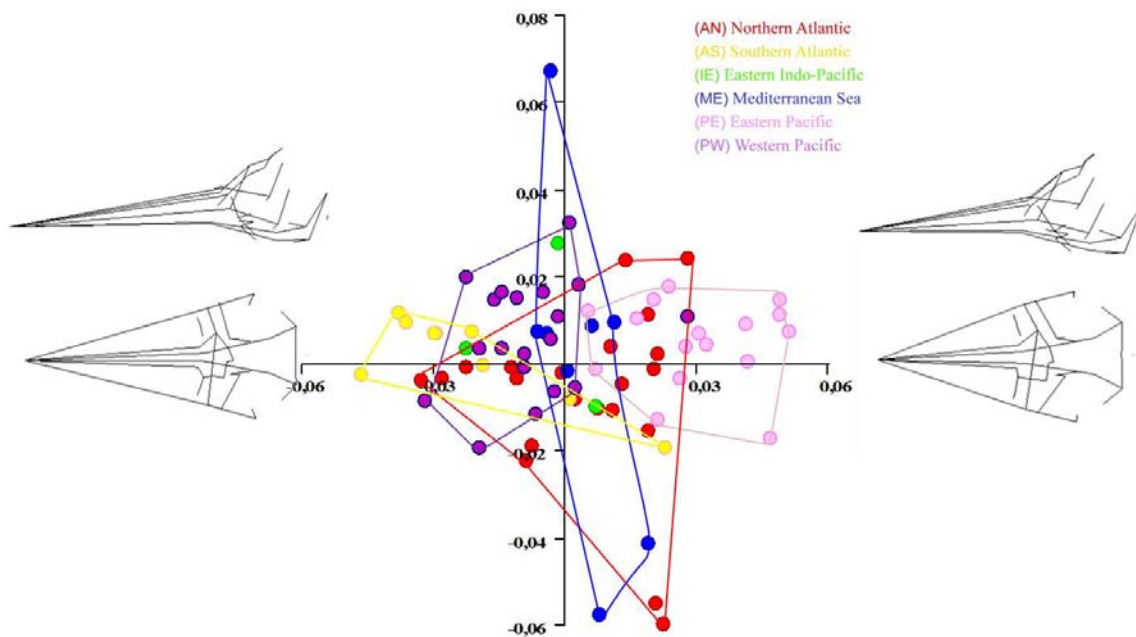


Figura 58. Variabilità della forma tridimensionale dei crani di *D. delphis* e diagrammi di deformazione dei crani in proiezione dorsale e laterale associati agli estremi di variazione lungo il primo asse (PC1) (prodotti con il software Morphologika).

Le variazioni di forma individuate lungo il primo asse della componente principale (PC1) sono state anche analizzate più in dettaglio utilizzando l'opzione grafica *wireframe* di MorphoJ (Fig. 59).

Il contorno azzurro chiaro si riferisce alla configurazione media degli assi e il contorno blu scuro è riferito all'estremo negativo di variazione lungo l'asse della PC1 che corrisponde agli individui dell'Oceano Pacifico occidentale e dell'Atlantico meridionale (AS, Fig. 58), nei

quali è presente un rostro più lungo rispetto agli esemplari provenienti dall'Oceano Pacifico orientale (PE, Fig. 58) che mostrano un generale allargamento del neurocranio.

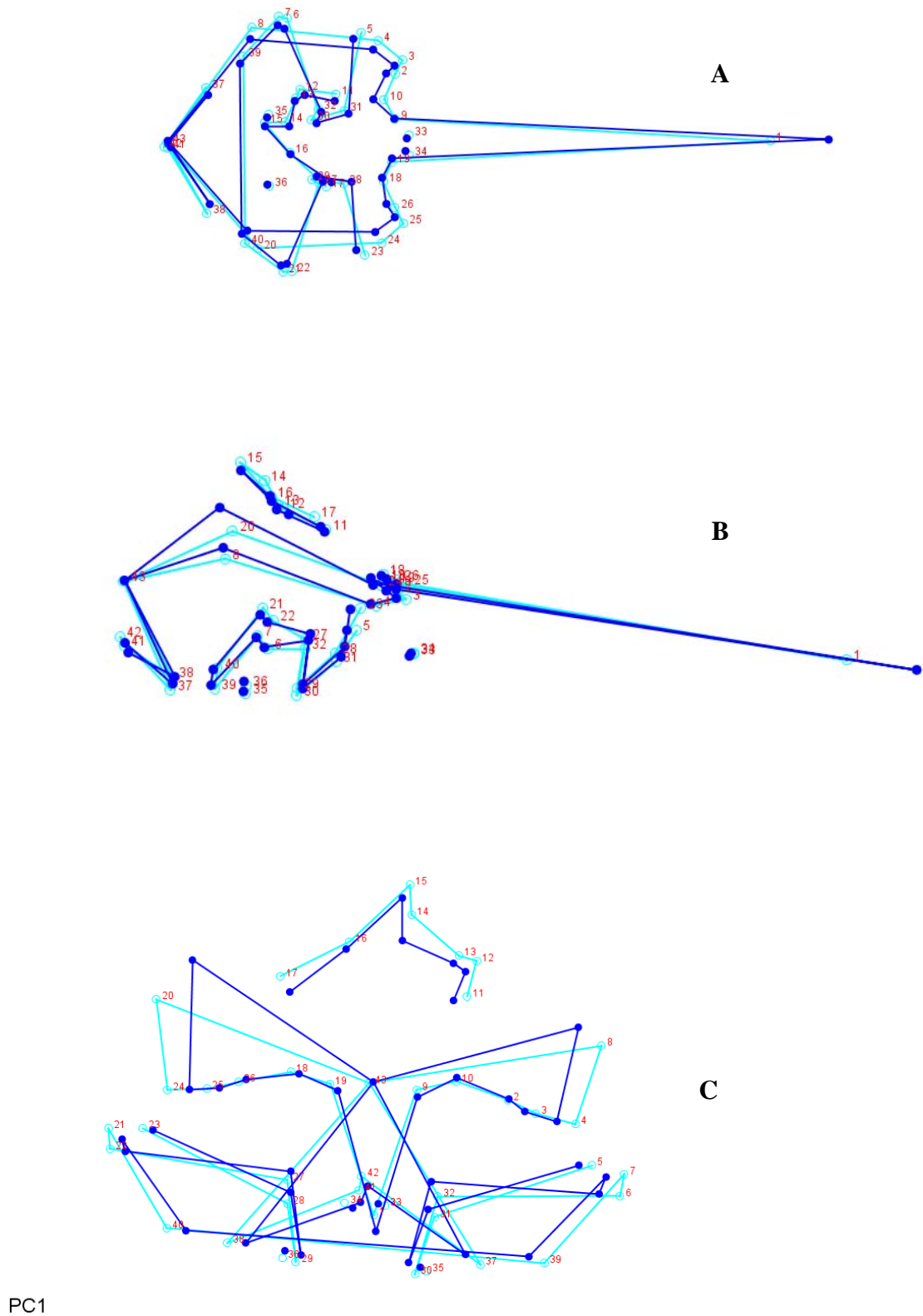
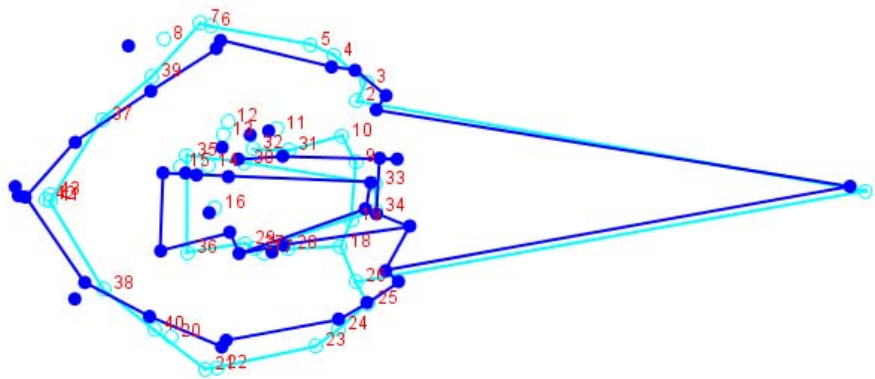


Figura 59 a, b, c. Wireframe delle variazioni di forma nelle popolazioni di *D. delphis*: a – vista dorsale; b – vista laterale; c – occipitale, lungo l’asse della prima componente principale (PC1).

Lungo l'asse della seconda componente principale (PC2), si evidenzia invece la variazione legata ad altri caratteri cranici, che interessa in particolari gli esemplari provenienti dal Mar Mediterraneo: il cambiamento di forma, evidenziato dal contorno blu scuro, è riferito all'estremo positivo di variazione lungo l'asse della PC2 che corrisponde agli esemplari di provenienza settentrionale e che mostrano notevoli differenze nella parte centrale del cranio, intorno alle ossa nasali e nella porzione ventrale, a livello delle ossa pterigoidee e palatine, oltre ad un generale restringimento del neurocranio (Fig. 60).



PC2

Figura 60. Wireframe della variazione di forma lungo asse PC2.

I risultati dell'analisi delle variate canoniche (Fig. 61) permettono di definire meglio le relazioni fenetiche tra i campioni provenienti da diverse aree geografiche (Tab. 14). Le distanze di Mahalanobis sono altamente significative tra i delfini di provenienza pacifica e atlantica e comunque significative in tutti gli altri confronti; le distanze di Procrustes sono significative in tutto tra la maggior parte degli stock, ad eccezione delle differenze tra Mediterraneo e occidentale.

	ATLANTICO N S	INDO-PAC E	MEDIT ME	PACIFICO E W
Atlantico N S	--- 0,0420* 7,5386** ---	0,0344 0,0396	0,0276 0,0468*	0,0359** - 0,0253* 0,0593** - 0,0293*
Indo-Pac E	7,2623* - 9,7770*	---	0,0435	0,0493* - 0,0293
Medit E	6,2221** - 7,6281**	9,0791*	---	0,0407** - 0,0329*
Pacifico E W	6,3946** - 8,5568** 4,6917** - 6,0948**	9,2682* 7,0752*	8,0592** 6,4250**	--- 0,0407** 6,2745** ---

Tabella 14. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) per i dati tridimensionali, tra i gruppi di diversa provenienza (\*p<0.05; \*\*p<0.0001).

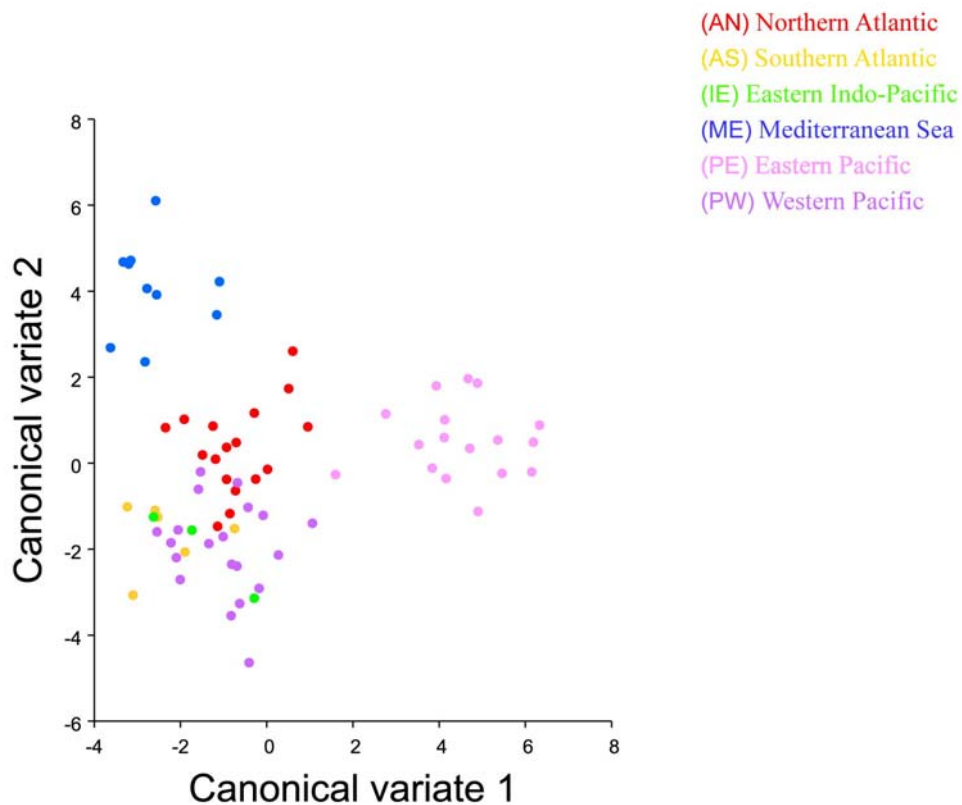


Figura 61. Grafico dei punteggi delle prime due variate canoniche (CV1/CV2) per i dati tridimensionali relativi al solo campione attribuibile con certezza a *D. delphis*.

Per meglio evidenziare le relazioni fenetiche tra le popolazioni è stato prodotto un fenogramma UPGMA basato sulle distanze di Procuste medie tra i 6 gruppi, utilizzando il software NTSys (Fig.62). Il risultato mostra una chiara distinzione tra i delfini del Pacifico occidentale (Pac-West) e gli altri. Contrariamente alle attese i delfini più simili appartengono a stock provenienti da diversi oceani (Pacifico, Mediterraneo, oceano Indiano e Pacifico occidentale) e l'unico gruppo più differenziato è lo stock dell'Atlantico settentrionale.

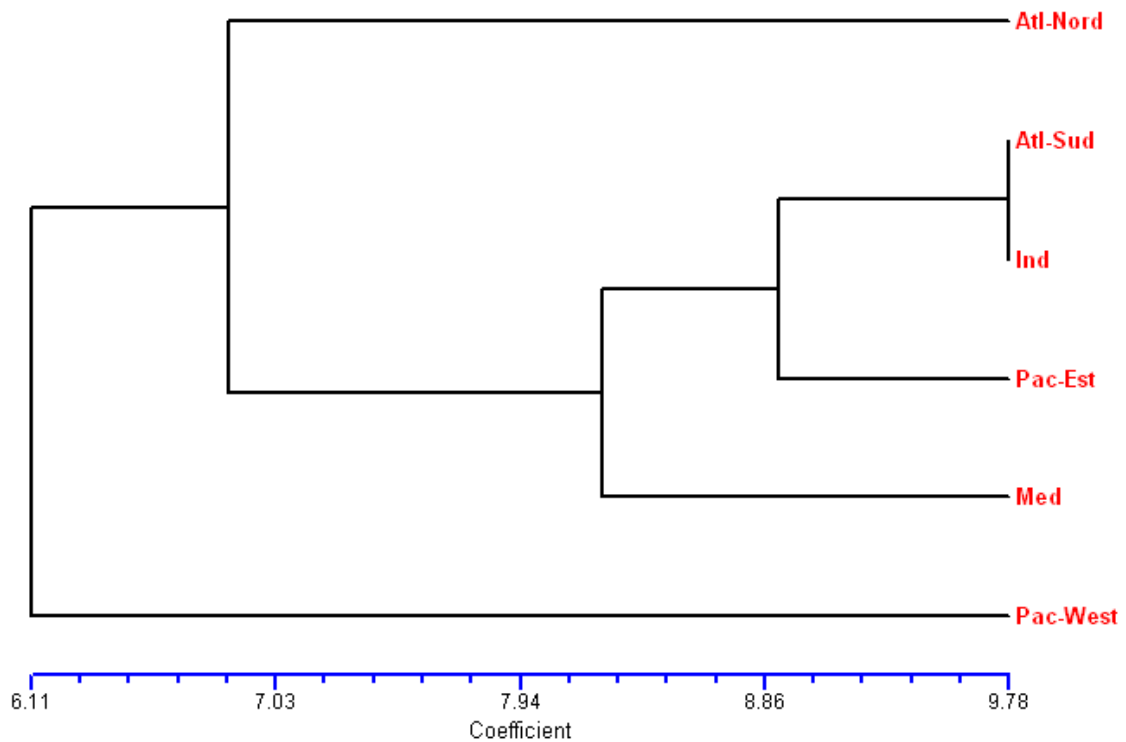


Figura 62. Fenogramma UPGMA costruito con i dati della matrice delle distanze di Procrustes per i dati tridimensionali.

Il fenogramma indicherebbe che le differenze/similitudini nella forma del cranio non sono tanto riconducibili alla distanza geografica quanto piuttosto a fenomeni di divergenza/convergenza adattativa.

Le variazioni di forma individuate tra gli stock di Delfino comune (*D. delphis*) provenienti dalle diverse aree geografiche sono state indagate più nel dettaglio nell'analisi delle proiezioni bidimensionali del cranio.

Per l'analisi bidimensionale ho analizzato le variazioni di forma sul campione delle proiezioni dorsali per un totale di 131 individui provenienti da 7 aree geografiche, dopo aver eliminato gli esemplari provenienti dall'Oceano Indiano occidentali e parte degli atlantici e pacifici meridionali, considerati appartenenti alla specie *D. capensis*.

Le prime due componenti principali, che da sole spiegano il 42% della varianza, mostrano una sovrapposizione pressochè totale degli esemplari analizzati (Fig. 63); poiché alcuni stock presentano un numero ridotto di individui, per esempio 4 esemplari soltanto per l'Oceano Indiano orientale e 6 per il Mediterraneo meridionale, si è deciso di effettuare l'analisi delle variate canoniche escludendo tutti i delfini indiani e unendo quelli provenienti dal Mar Mediterraneo (me), per un totale di 127 campioni.

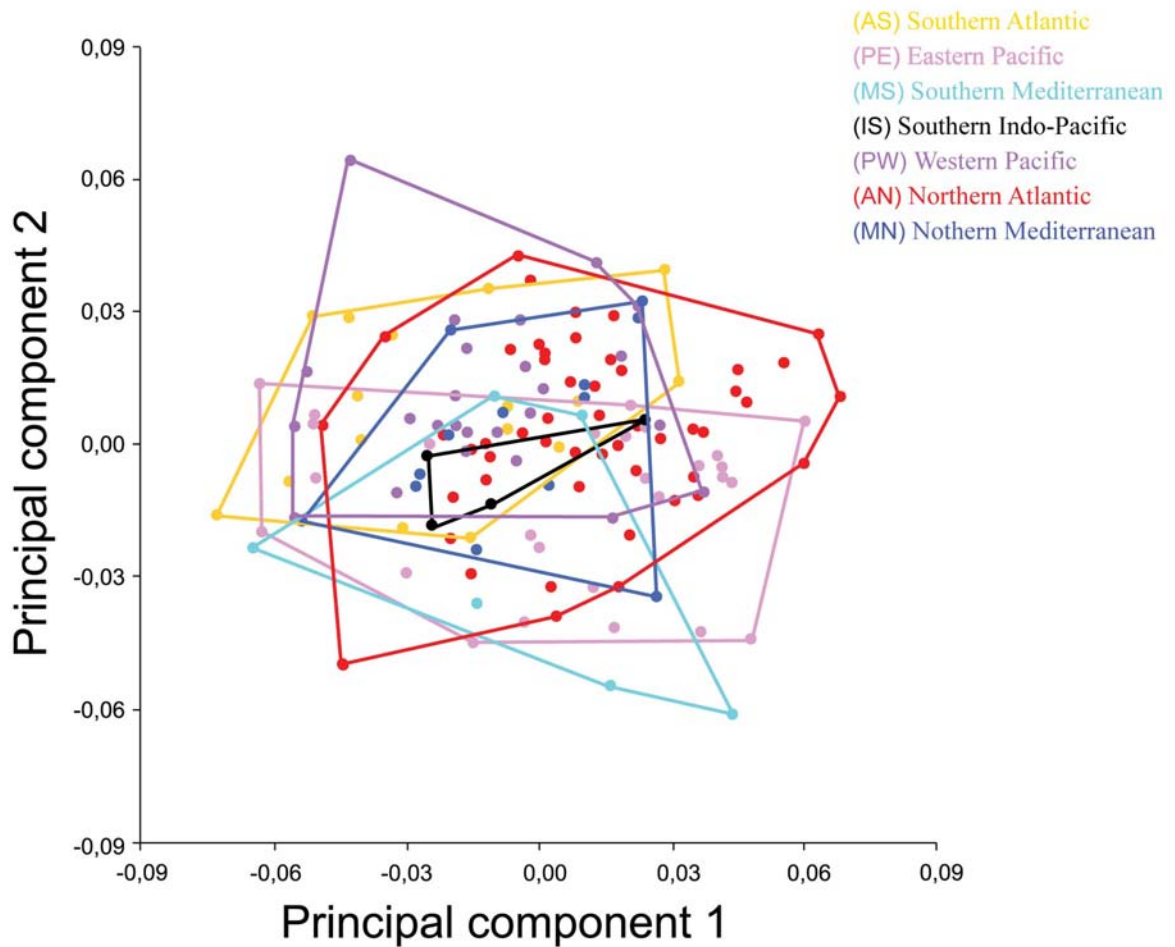


Figura 63. Analisi delle componenti principali (PC1/PC2) per le proiezioni dorsali dei soli esemplari appartenenti alla specie *D. delphis*.

L'analisi discriminante tra i nuovi gruppi provenienti da 5 aree geografiche (Fig. 64) consente di distinguere meglio le popolazioni dell'Oceano Pacifico (pe, pw) tra di loro, con valori altamente significativi delle distanze di Mahalanobis (Tab. 15): lo stock Mediterraneo differisce significativamente dallo stock Atlantico settentrionale e molto significativamente da tutti gli altri stock. Infine, distanze di Procruste mostrano valori significativi nelle differenze tra gli stock ad eccezione degli atlantici meridionali.



	ATLANTICO		MEDIT	PACIFICO	
	N	S	ME	E	W
<b>Atlantico</b>	---	<b>0,0242</b>	<b>0,0246*</b>	<b>0,0296** - 0,0278*</b>	
<b>N</b>					
<b>S</b>	<b>4,1950**</b>	---	<b>0,0294</b>	<b>0,0429* - 0,0283</b>	
<b>Medit</b>	<b>2,3303* - 4,8114**</b>		---	<b>0,0375** - 0,0272*</b>	
<b>ME</b>					
<b>Pacifico</b>	<b>5,0046** - 5,9092**</b>	<b>5,0687**</b>	<b>5,0687**</b>	---	<b>0,0434**</b>
<b>E</b>	<b>3,3209** - 4,3544**</b>	<b>3,3708**</b>	<b>3,3708**</b>	<b>4,6512**</b>	---
<b>W</b>					

Tabella 15. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) per le proiezioni dorsali, tra i gruppi di diversa provenienza (\*p<0.05; \*\*p<0.0001).

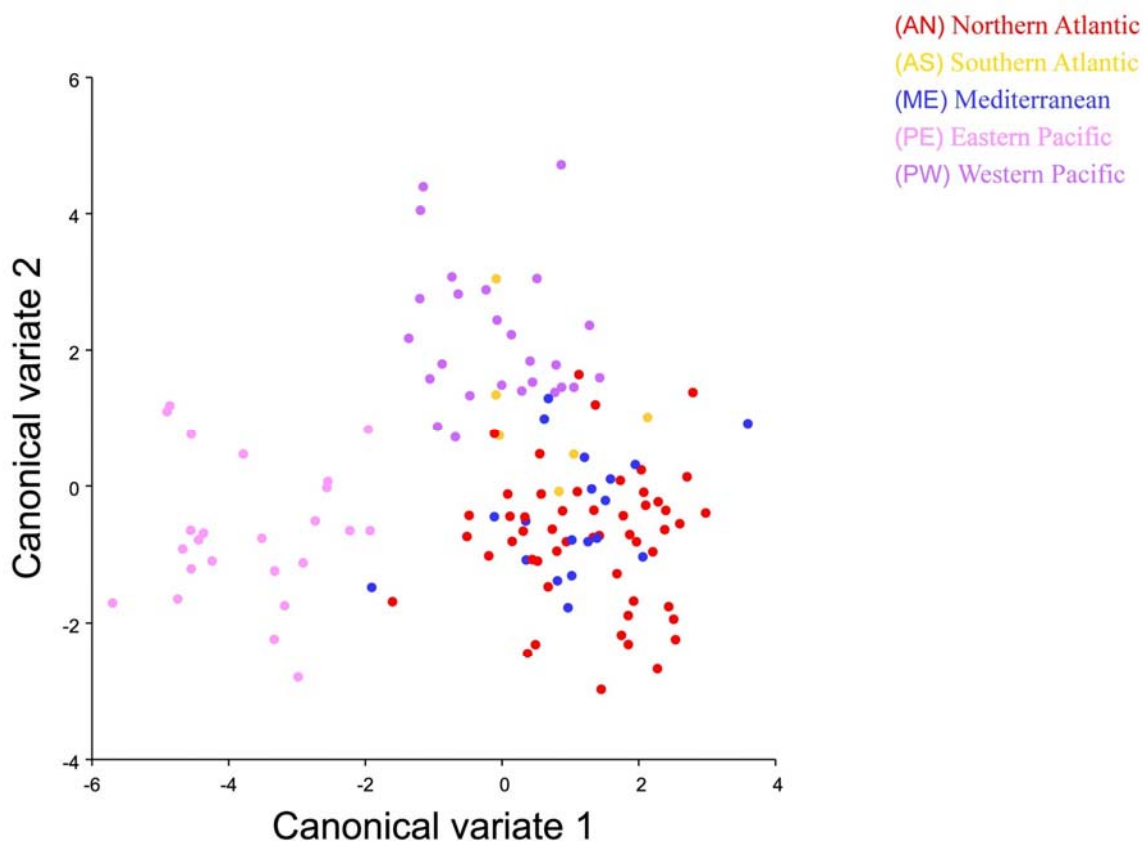
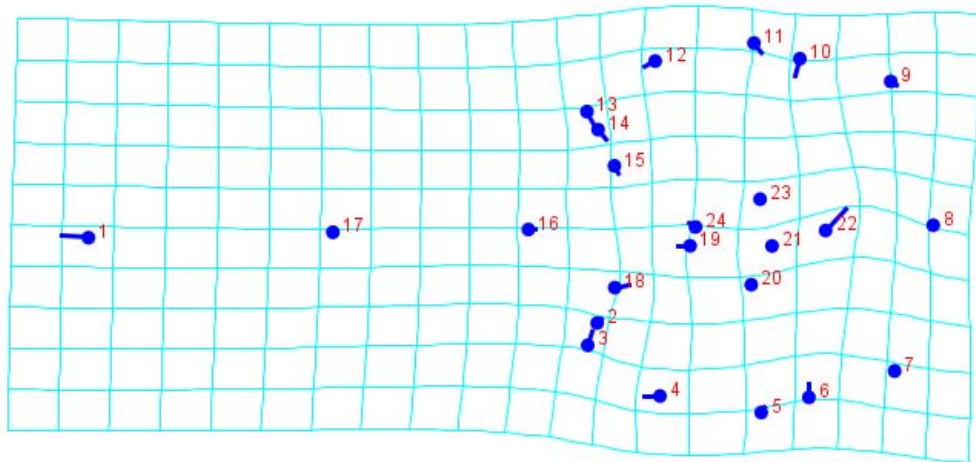


Figura 64. Analisi delle variate canoniche (CV1/CV2) per le proiezioni dorsali dei soli esemplari appartenenti alla specie *D. delphis*.

La distribuzione degli esemplari lungo le prime due variate canoniche indica che i caratteri descritti dalla proiezione dorsale del cranio assumono un notevole significato diagnostico per la distinzione delle popolazioni del pacifico, sia tra loro (PW, PE) sia tra queste e il resto degli stock analizzati.

Le griglie di deformazione lungo l'asse della CV1 (amplificate con fattore di scala 10) indicherebbero un allungamento del rostro lungo l'estremo positivo dell'asse di variazione, in corrispondenza degli stock provenienti dall'Oceano Atlantico settentrionale e dal Mediterraneo (Fig.65) e confermando le minori dimensioni del rostro degli esemplari del Pacifico orientale (PE) emerse dalle analisi tridimensionali.



## CV1

Figura 65. Griglie di deformazione lungo l'estremo positivo dell'asse di variazione (CV1) delle proiezioni dorsali.

Per le proiezioni ventrali sono stati analizzati 92 crani, ottenuti eliminando tutti gli esemplari di attribuzione dubbia alla specie *D. delphis*. Le prime due componenti principali spiegano il 46% della varianza e lungo l'asse della prima componente principale (PC1) di nuovo si separano bene gli stock dell'Oceano Pacifico (Fig. 66).

Un'analisi più approfondita tra questi 2 gruppi (Fig. 67) evidenzia che gli individui provenienti dai mari della Nuova Zelanda (PW) presentano un rostro più lungo ed in proporzione una scatola cranica più compatta, come mostrato dalle griglie di deformazione riferite all'estremo positivo di variazione lungo l'asse della PC1 (Fig. 68).

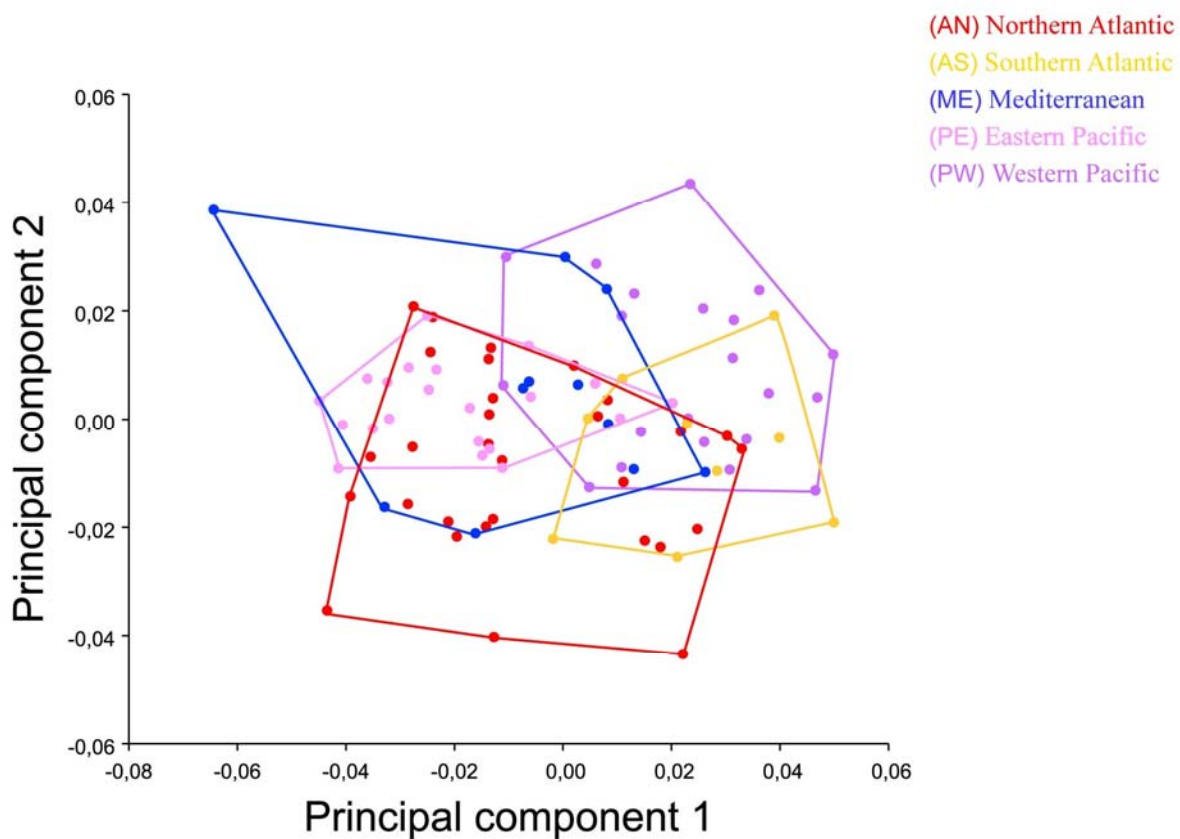


Figura 66. Analisi delle componenti principali (PC1/PC2) per le proiezioni ventrali di *D. delphis*.

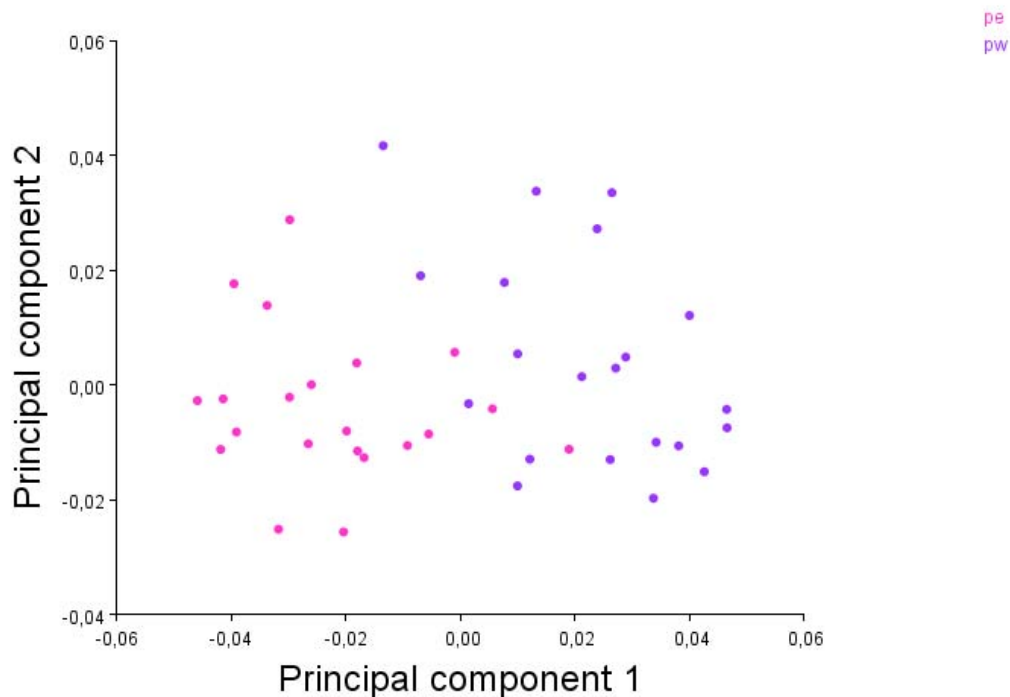
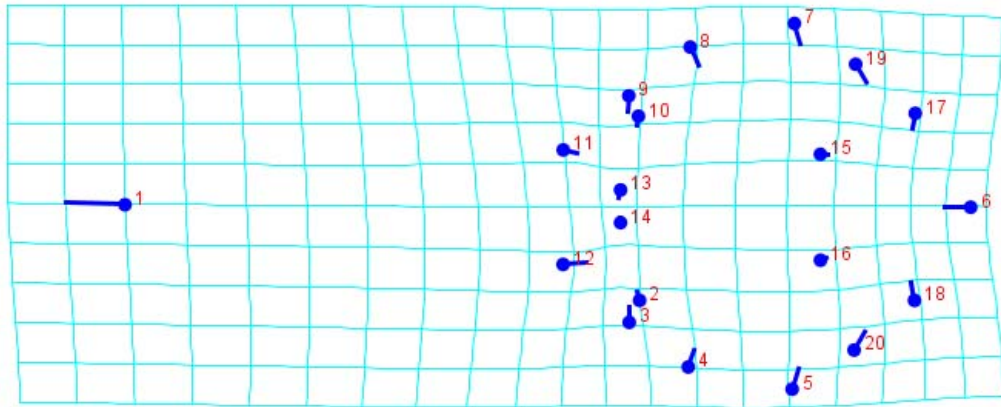


Figura 67. Analisi delle componenti principali (PC1/PC2) per le proiezioni ventrali degli stock dell'Oceano Pacifico (PE, rosa; PW, viola).



PC1

Figura 68. Griglie di deformazione delle proiezioni ventrali degli stock dell'Oceano Pacifico (variazione positiva lungo l'asse della prima componente principale, PC1).

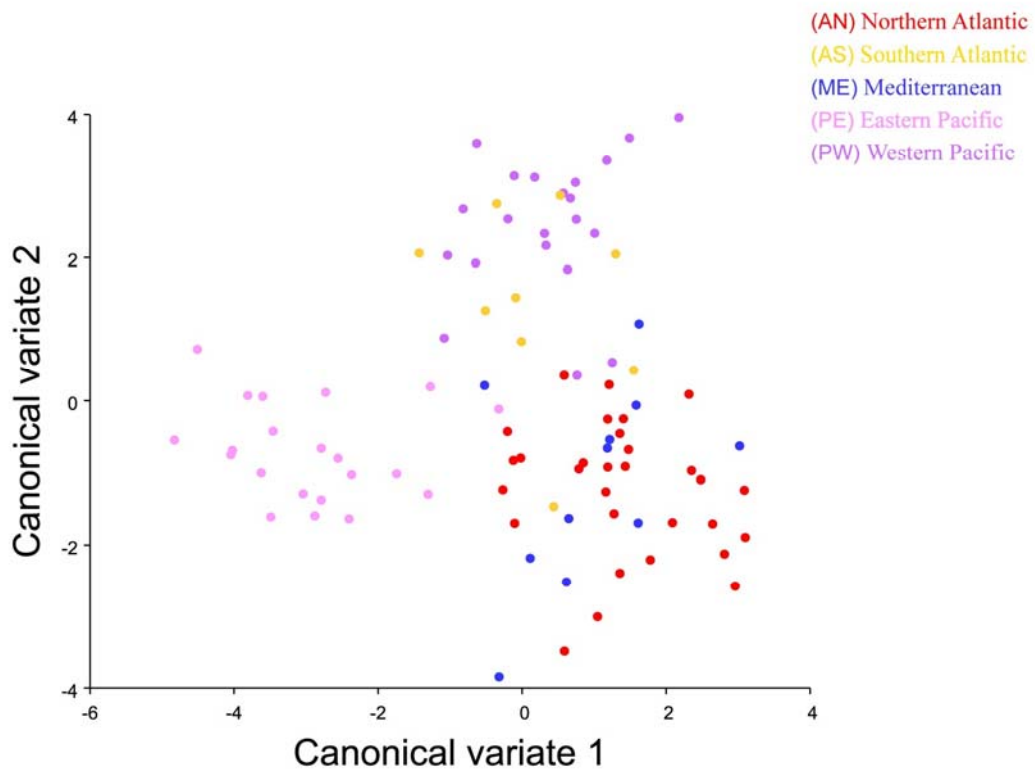


Figura 69. Analisi delle variate canoniche (CV1/CV2) per le proiezioni ventrali di *D. delphis*.

	ATLANTICO		MEDIT	PACIFICO	
	N	S	ME	E	W
<b>Atlantico N</b>	---	<b>0,0340*</b>	<b>0,0182</b>	<b>0,0240* - 0,0360**</b>	
<b>S</b>	<b>3,8285**</b>	---	<b>0,0366*</b>	<b>0,0454** - 0,0205</b>	
<b>Medit ME</b>	<b>2,4412* - 4,3390*</b>		---	<b>0,0266* - 0,0333*</b>	
<b>Pacifico E</b>	<b>4,3882** - 4,5288**</b>		<b>4,3686**</b>	---	<b>0,0459**</b>
<b>W</b>	<b>3,9443** - 3,4023**</b>		<b>4,0690**</b>	<b>4,6063**</b>	---

Tabella 16. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) per le proiezioni ventrali, tra i gruppi di diversa provenienza (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.0001$ ).

I risultati dell'analisi delle variate canoniche (Fig. 69) mostrano una buona separazione tra i gruppi, ad eccezione dello stock mediterraneo che non si separa dagli atlantici settentrionali (valori non significativi delle distanze di Procrustes).

Gli stock del Pacifico presentano valori altamente significativi delle distanze di Mahalanobis rispetto a tutti gli altri gruppi (Tab. 16).

Infine è stata analizzata la variazione di forma delle proiezioni occipitali, sempre per gli esemplari attribuibili con certezza alla specie *D. delphis*: sono stati utilizzati 93 crani.

I risultati dell'analisi delle componenti principali mostrano un gradiente di differenziazione della forma prevalentemente lungo l'asse della prima componente principale (PC1) che spiega il 73 % della varianza complessiva, riassumendo quindi quasi tutta l'informazione.

Il diagramma (Fig. 70) permette una chiara distinzione dei delfini di provenienza Mediterranea. Per capire meglio le relazioni esistenti tra questi e gli stock geograficamente più contigui (atlantici), è stata svolta un'analisi limitata a questi due gruppi (Fig. 70).

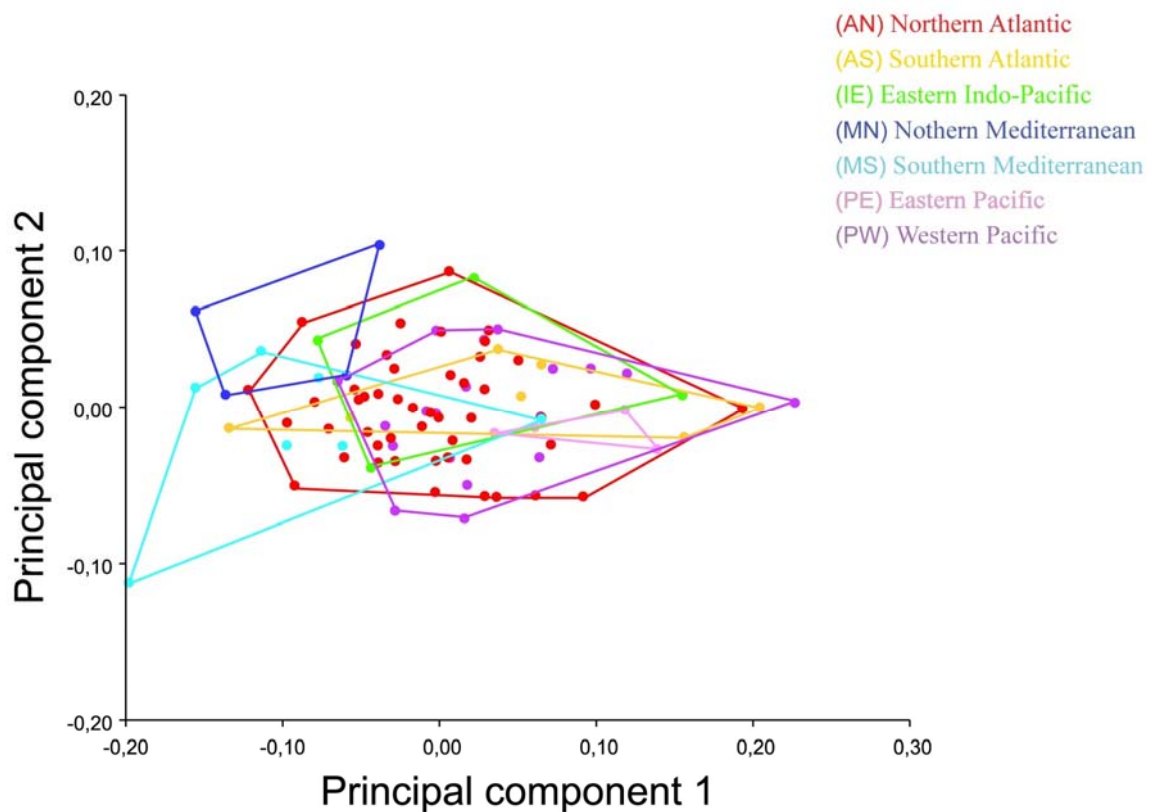


Figura 70. Analisi delle componenti principali (PC1/PC2) per le proiezioni occipitali in *D. delphis*.

Dato che la somiglianza maggiore si osserva tra gli esemplari mediterranei ed un gruppo di delfini provenienti dai mari più meridionali dell'Atlantico settentrionale (Francia, Spagna, Portogallo), a differenza degli esemplari più propriamente settentrionali, provenienti dai mari del Nord (Olanda, Danimarca, Irlanda), la distribuzione nello spazio delle prime due PC dello stock atlantico settentrionale è stato visualizzata in due sottogruppi: mari del Nord (anN) e Atlantico centrale (anC) (Fig. 71).

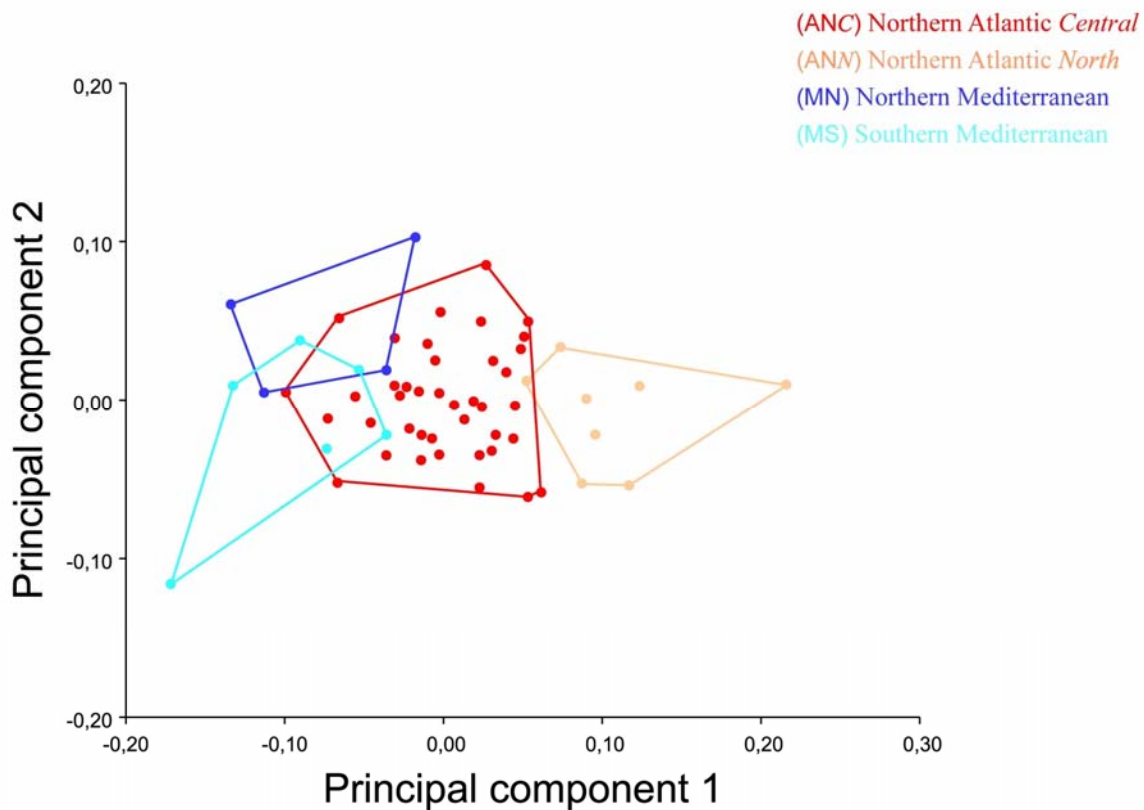


Figura 71. Analisi delle componenti principali (PCA) delle proiezioni occipitali degli stock mediterranei (mn: in blu e ms: in azzurro) e quello Atlantico settentrionale centrale (anC: in rosso) e del nord (anN).

La griglia di deformazione (Fig. 72) che mostra la variazione della forma della parte occipitale del cranio lungo l'asse della prima componente principale (PC1) evidenzia come gli individui mediterranei (estremo sinistro dell'asse) abbiano una regione occipitale più bassa e larga rispetto ai delfini dei mari del Nord.

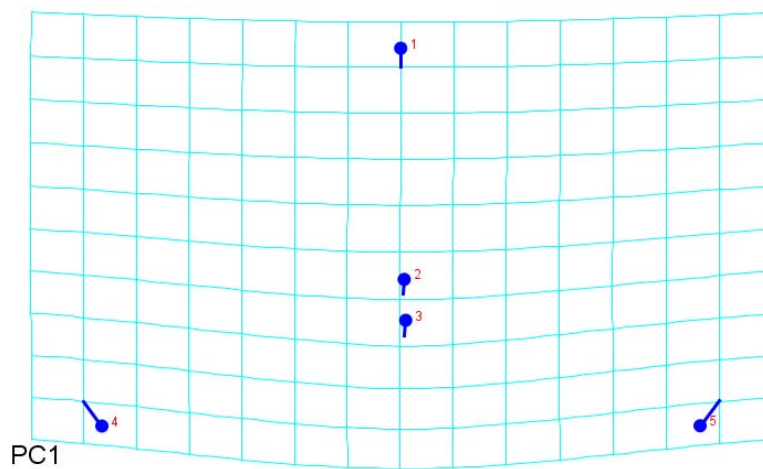


Figura 72. I vettori posizionati sui 5 landmark della regione occipitale mostrano la direzione della variazione di forma che caratterizza gli esemplari dei mari del Nord (stock Atlantico settentrionale).

L'analisi discriminante delle variate canoniche (CVA) tra i nuovi gruppi mostra valori altamente significativi per le distanze di Mahalanobis per le distanze di Procrustes del gruppo di provenienza Atlantico centrale (anC) rispetto agli altri 3 gruppi posti a confronto (Fig. 73 e Tab. 17).

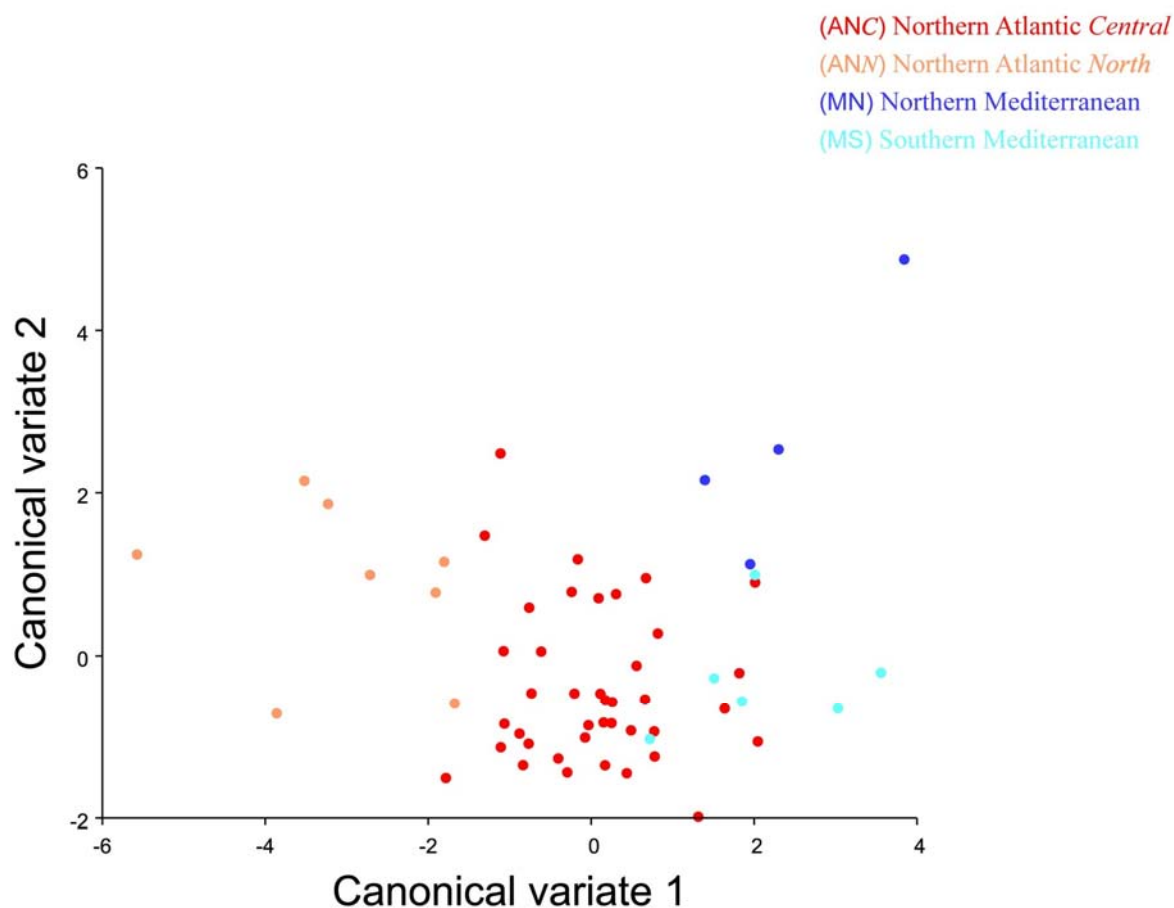


Figura 73. Analisi delle variate canoniche per le proiezioni occipitali tra i gruppi dell'Oceano Atlantico settentrionale (anN) e centrale (anC) e gli stock mediterranei (mn e ms).

		ATLANTICO		MEDITERRANEO	
		anC	anN	mn	ms
Atlantico	anC	---	0,1085**	0,0910*	0,0967**
	anN	3,3865**	---	0,1915*	0,2001*
Medit	mn	3,8512**	5,7564*	---	0,0709
	ms	2,4261**	5,3188*	3,3080*	---

Tabella 17. Matrice delle distanze di Mahalanobis (sotto la diagonale) e di Procrustes (sopra la diagonale) delle proiezioni occipitali, tra i gruppi di provenienza mediterranea (mn, ms) e atlantica settentrionale (anN, anC); \*p<0.05; \*\*p<0.0001.





#### 4. DISCUSSIONE

La moderna sistematica dei cetacei vede continui aggiornamenti e aggiunte alla classificazione delle specie esistenti. In particolare con crescente frequenza vengono pubblicati nuovi dati che suggeriscono l'esistenza di nuove specie, sulla base dell'analisi del genoma. Alcune popolazioni (o sottospecie) vengono portate al rango di specie con l'analisi del DNA mitocondriale: in questi lavori le differenze genetiche sono quindi alla base di un riesame della posizione di gruppi di individui che sono in linea di massima geograficamente separati per habitat naturale (Rosel et al., 1994; Kingston & Rosel, 2004; Natoli et al., 2006).

Questa tendenza attuale getta nuova luce su diversi argomenti relativi all'evoluzione dei cetacei. Tuttavia, da un punto di vista *laico* si assiste con un certo stupore al separarsi di specie i cui individui variano somaticamente per dettagli relativamente poco significativi e sempre in grado di dar origine a prole feconda. Esempi tipici in questo senso sono la classificazione dei tursiopi in più specie, gemmate dal classico *Tursiops truncatus* e ora comprendenti anche *Tursiops aduncus* e il "neonato" *Tursiops australis* (Charlton-Robb et al., 2011).

A questa problematica si aggiunge la variabilità intraspecifica, che assume particolare rilievo per specie ad ampia diffusione e con un areale potenzialmente continuo come i Cetacei (Berubè et al., 1998; Engelhaupt et al., 2009; Amaral et al., 2012). Si vanno sempre più accumulando infatti evidenze che testimoniano di un certo grado di isolamento e differenziazione di stock provenienti da diverse aree geografiche, come pure nel bacino Mediterraneo (Natoli et al., 2004; Natoli et al., 2008; Gaspari et al., 2007 a, b; Loy et al., 2011). Questa differenziazione assume un importante significato nel contesto della conservazione, in quanto stock differenziati possono rappresentare ESU (Evolutionary Significant Units) che necessitano di azioni specifiche di conservazione, sia su scala mondiale, come rilevabile anche dalle indicazioni della IUCN (Hammond et al., 2008) che a livello locale, come verificatosi per esempio in ambito Mediterraneo grazie all'Accordo sulla Conservazione dei Cetacei (ACCOBAMS) (Bearzi, 2003; Bearzi et al., 2003; Bearzi et al., 2004; Notarbartolo et al., 2001; Notarbartolo di Sciara & Bearzi, 2010).

Il biologo di campo si trova dunque in una situazione nuova, per la quale esiste la necessità di giungere ad una classificazione non solo degli individui rinvenuti spiaggiati, ma anche di quelli raccolti nei Musei di Storia Naturale e nelle collezioni di studio dei diversi Istituti. Spesso infatti le indagini genetiche sono difficili se non impossibili da compiere sui reperti museali. Ciò nonostante è utile, se non necessario, arrivare ad una precisa classificazione anche dei reperti storici, pena l'impossibilità del loro utilizzo nella ricerca moderna.

Nel presente lavoro di tesi è stato affrontato il problema della separazione delle popolazioni di delfino comune, basandosi sui reperti museali raggiungibili in alcune delle principali raccolte europee. Il delfino comune, un tempo diffusissimo nelle acque mediterranee, è ora – come noto – molto più raro e relativamente limitato alle acque dell'Egeo. Le ragioni della riduzione del suo areale, ancora discusse, sono probabilmente molteplici e esulano dall'ambito del mio studio. Risulta però evidente come la valorizzazione delle raccolte esistenti di reperti (compresi gli scheletri interi e parziali) di questa specie (o delle più specie affini) sia fondamentale anche per una politica di conservazione futura, seria ed efficace.

Il primo problema è stato quindi di ordine pratico, legato alla difficoltà nel reperimento degli esemplari, seguito poi dall'affidabilità e completezza dei dati associati ai reperti sui quali sono state poi effettuate le misurazioni. Con questo intendo dire che non sempre si è potuto disporre di quei dati minimi di base (provenienza, sesso e lunghezza dell'esemplare) che costituivano un fondamento prezioso per la costruzione dei risultati. Si considerino a questo proposito tre semplici interrogativi:

- Esiste certezza che gli esemplari conservati con la denominazione di *Delphinus delphis* appartengano a quella specie?
- Esiste uno strumento diagnostico in grado di migliorare l'informazione relativa a ciascun reperto museale, colmando le lacune relative alla definizione della classe di età e del sesso degli esemplari?
- Esiste la possibilità di definire la variabilità intraspecifica senza dover utilizzare tecniche molecolari invasive e costose?

Da un lato l'attribuzione della specie può essere facilmente verificata con un controllo morfologico dei solchi palatini (vedi Introduzione), d'altra parte però la crescente osservazione di individui ibridi *Delphinus delphis* x *Stenella coeruleoalba* pone dubbi che possono essere solo parzialmente risolti (Amaral et al., 2009).

La tesi quindi ha affrontato i quesiti legati alla precisa di parecchi reperti museali incerti e con l'aiuto di un potente metodo diagnostico quale la morfometria geometrica, ha tentato addirittura di suggerire una nuova classificazione sulla base dei risultati. Di fatto si è trattato di risolvere un rompicapo partendo da elementi disparati e con molte inevitabili lacune.

L'insieme dei dati analizzati in questo progetto di ricerca ha consentito in sintesi di ottenere i risultati di seguito elencati:

1. Acquisizione, studio e classificazione di quasi 200 crani riportati nei cataloghi di 9 collezioni museali europee come appartenenti alla specie *Delphinus delphis*;

2. Realizzazione di un archivio fotografico relativo all'intero campione di crani fotografati in norma dorsale, ventrale, laterale, occipitale e delle relative mandibole ;
3. Raccolta di dati tridimensionali su un totale di 97 crani raccolti con Microscribe 3D;
4. Analisi del dimorfismo sessuale in termini di variazioni di forma e dimensioni del cranio;
5. Analisi dell'allometria ontogenetica utile alla definizione delle classi di età in esemplari con età non determinata ;
6. Analisi della variazione geografia di *D.delphis* e individuazione di stock differenziati meritevoli di indagini e valutazioni più approfondite;
7. Individuazione delle regioni anatomiche del cranio coinvolte nei tre livelli di variazione (dimorfismo, allometria, variazione geografica) e interpretazione in termini funzionali e adattativi.

Discuterò ora questi risultati analiticamente e con maggiore dettaglio.

Nei 9 musei visitati sono stati fotografati oltre 200 crani, riportati nei cataloghi delle collezioni come appartenenti alla specie *Delphinus delphis* (v. Appendice 1), provenienti da 8 aree marine del mondo (Atlantico settentrionale, Atlantico meridionale, Pacifico orientale, Pacifico occidentale, Mediterraneo settentrionale e meridionale, Oceano Indo-Pacifico occidentale e orientale). Avendo verificato per ognuno l'appartenenza alla specie su base morfologica (presenza dei solchi palatini), sono state raccolte tutte le informazioni utili per individuare all'interno del campione, le classi di età o comunque delle categorie legate alle fasi di sviluppo, individuabili dalle misure degli esemplari, oltre che dalla completa fusione delle ossa del cranio.

Le oltre 1000 foto scattate sono stato selezionate ed organizzate in un archivio fotografico, ordinate per Museo e per proiezione del cranio (dorsale, ventrale, laterale, occipitale) insieme alle foto delle mandibole (v. Appendice 2).

L'intento di allegare alla presente tesi l'intero archivio utilizzato, fa parte di un progetto che mi auguro possa realizzarsi in un prossimo futuro e che consiste nella creazione di una banca dati fotografica. In questa i musei (o i ricercatori che svolgono indagini di tipo morfometrico), potrebbero immettere, o acquisire le foto sui reperti di interesse, che dovranno essere scattate seguendo una procedura standard; questo contribuirebbe allo scambio di dati e informazioni, favorendo le indagini sul ricco patrimonio museale, sempre più di interesse per studi su specie di interesse conservazionistico e di difficile ripperimento, considerando anche il notevole risparmio che si avrebbe evitando le visite alle singole collezioni.

### Dimorfismo sessuale in *Delphinus delphis*

Le analisi di morfometria geometrica bidimensionale e tridimensionale hanno permesso di dimostrare che in generale non si rileva una variazione di forma (*shape*) o di dimensioni (*size*) tra i sessi, ad eccezione del campione proveniente dall'Oceano Pacifico, in cui gli esemplari di sesso maschile dello stock Pacifico occidentale (PW) risultano di dimensioni maggiori rispetto alle femmine della stessa zona.

In generale nei mammiferi marini (e nei Cetacei) si riscontra una maggior dimensione degli esemplari di sesso maschile (Murphy & Rogan, 2006) ma tale caratteristica non è sempre facilmente diagnosticabile: infatti può essere rilevata meglio da alcuni caratteri cranici piuttosto che da altri (Perrin et al., 2003; Murphy, 2004; Mò et al., 2009; ), può variare in base alla provenienza geografica degli individui (Heyning & Perrin, 1994; Yao et al., 2008) oltre ad essere influenzata dalla dimensione del campione oggetto di studio (Brombin et al., 2009).

### Allometria ontogenetica in *Delphinus delphis*

L'analisi allometrica è stata condotta su un campione proveniente dai mari della Nuova Zelanda (Pacifico occidentale), in cui erano ben rappresentate tutte le classi di età. È emersa una significativa variazione morfologica associata alla variazione di dimensioni dei crani (*shape* verso *size*) ed inoltre è evidenziato che in *D. delphis* gli individui di sesso maschile proseguono nell'accrescimento rispetto a quelli di sesso femminile continuando a modificare la forma del cranio lungo la stessa traiettoria allometrica. Questo concorda con quanto riscontrato nelle indagini sul dimorfismo sessuale, in particolare per gli esemplari del Pacifico occidentale (PW), cui appartiene il campione della Nuova Zelanda utilizzato per lo studio sull'allometria ontogenetica, in cui i maschi erano significativamente più grandi delle femmine provenienti dalla stessa area.

In questo contesto le femmine presentano una forma del cranio che può essere considerata pedomorfica rispetto alla forma del cranio dei maschi, come evidenziato dalle traiettorie allometriche ottenute per questa popolazione.

Le differenze collegate alla crescita allometrica si concentrano soprattutto nello splancocranio, dove si osserva in particolare un allungamento del rostro, e nella regione posteriore del cranio, che risulta più largo nella regione temporale.

Tali modificazioni osservate durante la crescita indicherebbero che le maggiori differenze sono riferibili a modifiche nell'apparato alimentare e dovrebbero marcare anche la transizione dalla suzione alla predazione (Nozomi & Oda, 2009).

#### Variazione interspecifica

La notevole quantità di esemplari raccolti provenienti da un ampio areale di distribuzione per la specie, ha permesso un confronto sia interspecifico che intraspecifico, attraverso i metodi della morfometria geometrica.

Come primo evidente risultato dell'analisi bi-tridimensionale, spicca una differenza di forma tra gli esemplari di diversa provenienza geografica, in particolare per lo stock Indiano occidentale (in riferimento alla sottospecie *D. capensis tropicalis*) e per alcuni individui provenienti dall'Oceano Atlantico meridionale, attribuiti alla specie *D. capensis*.

Si osserva uno spiccato allungamento del rostro ed un generale restringimento del neurocranio; questi caratteri sono effettivamente peculiari di questa specie (Heyning & Perrin, 1994; Jefferson & Waerebeek, 2002) e risultano evidenti anche nelle foto delle proiezioni dorsali (Fig. 72).

Questi risultati sono emersi in seguito all'approfondimento effettuato con le indagini bidimensionali, che hanno consentito di descrivere in modo più dettagliato le componenti anatomiche diagnostiche per la distinzione specifica: l'analisi delle proiezioni dorsali e ventrali dei delfini di provenienza Indo-pacifica occidentale posta a confronto con gli individui di provenienza Nord Atlantica, mette ancor più in evidenza l'allungamento del rostro ed il restringimento della scatola cranica, oltre ad un minor allineamento dei forami infraorbitali che negli esemplari tropicali risultano più arretrati rispetto all'incisura antorbitale.

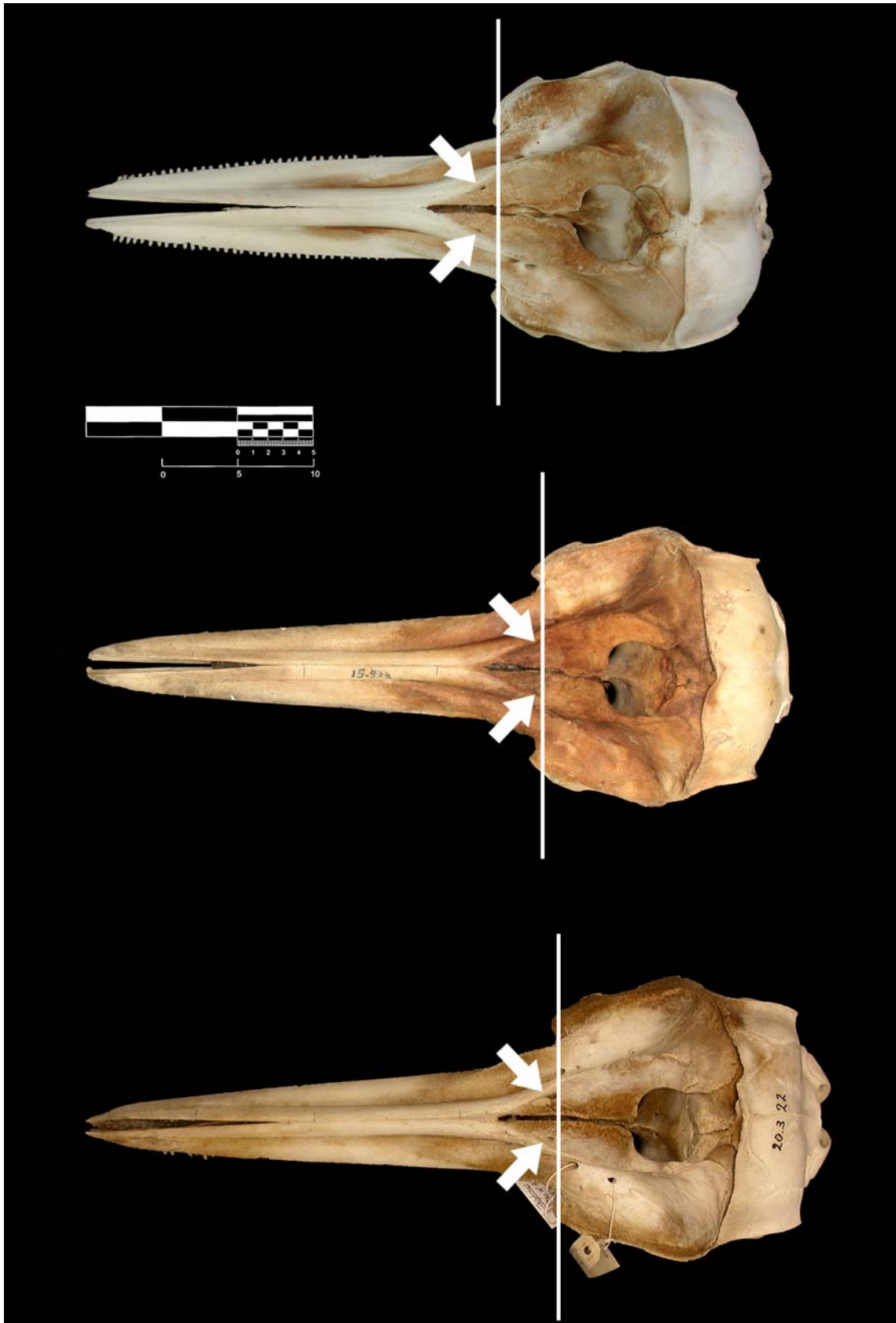


Figura 74. Proiezioni dorsali di crani di *D. delphis* (a), *D. capensis* (b) e *D. c. tropicalis* (c): le frecce indicano la posizione dei forami infraorbitali.

I risultati sulla variazione interspecifica ottenuti nel presente lavoro sono stati quindi posti in relazione con altri studi condotti sull'argomento.

Emerge un quadro non del tutto chiaro sulla differenziazione tra le due specie, poiché gli studi genetici in merito indicano una separazione genetica accertata soltanto nell'area orientale dell'Oceano Pacifico centrale (Rosel et al., 1994) che non è stata ancora confermata per le popolazioni provenienti da altri oceani (Natoli et al., 2006).

Anche l'analisi dei caratteri morfometrici tradizionali svolta su crani di Delfino comune di diversa provenienza geografica (Westgate, 2007) ha confermato l'elevata variabilità degli esemplari con un'attribuzione specifica incerta.

### Variazione geografica in *Delphinus delphis*

Lo studio sulla variazione intraspecifica è stato approfondito sul campione riconducibile senza ambiguità alla specie *D. delphis* (par. 3.2.3).

Le relazioni fenetiche definite sulla base della forma del cranio indicano una situazione complessa, in cui non si osservano relazioni più strette tra stock provenienti dallo stesso oceano, ma piuttosto una netta differenziazione tra oceani, in particolare tra gli esemplari provenienti dall'Oceano Pacifico e quelli dell'Atlantico meridionale.

In particolare, lo studio tridimensionale delle variazioni di forma del cranio ha evidenziato la presenza di un rostro più allungato e un restringimento del neurocranio che contraddistinguono gli esemplari provenienti dall'Oceano Atlantico meridionale rispetto a quelli del Pacifico orientale caratterizzati appunto da un rostro più corto.

I restanti campioni analizzati, Mediterraneo, Atlantico settentrionale, Indo-Pacifico orientale, mostrano complessi relazioni fenetiche più complesse di quanto suggerito dalla prossimità geografica.

Gli individui Indo-Pacificali orientali, provenienti dalle coste meridionali dell'Australia, non si distinguono significativamente dallo stock dell'Oceano Pacifico occidentale, mentre si osserva un notevole gradiente di differenziazione all'interno del gruppo Mediterraneo.

Questo risultato è in accordo con le indagini genetiche che evidenziano un grado di divergenza all'interno del bacino da occidente a oriente (Natoli et al., 2008).

Nei delfini del Mediterraneo la forma del cranio varia molto anche se non è possibile distinguere tra una forma settentrionale e meridionale a causa del numero ridotto di esemplari (mn: 8; ms: 3). In particolare, nella regione occipitale è stata però riscontrata una differenza di forma rispetto ai delfini più prossimi dell'Atlantico settentrionale, che a loro volta sono stati distinti in due sottopopolazioni sulla base di alcuni caratteri: gli esemplari mediterranei



somigliano più ai contigui atlantici delle regioni centrali (Portogallo, Spagna, Francia) rispetto agli atlantici dei mari del Nord (Irlanda, Olanda, Danimarca) che presentano un neurocranio più allargato e schiacciato rispetto ai mediterranei.

Questi risultati sono in accordo con quelli ottenuti in *Stenella coreuleoalba* (Loy et al., 2011) in cui si osserva una maggior separazione del gruppo proveniente dalla Scozia ed i cui individui erano caratterizzati da un neurocranio più grande rispetto a quelli provenienti dalle coste atlantiche francesi, più simili ai mediterranei. In questo studio di morfometria geometrica tridimensionale si riscontrava inoltre un allungamento del rostro negli esemplari mediterranei, che veniva spiegato in termini adattativi, soprattutto trofici, legati al diverso uso dell'habitat e alla relativa dieta.

Nell'analisi delle proiezioni ventrali si distinguono in modo particolare gli stock provenienti dall'Oceano Pacifico: gli esemplari provenienti dai mari della Nuova Zelanda (PW) presenterebbero un rostro più allungato ed in proporzione una scatola cranica più compatta rispetto agli individui orientali (PE), come confermato dai dati tridimensionali.

In una specie ad ampia distribuzione come il Delfino comune, l'isolamento dovuto alla distanza geografica sembra influenzare la divergenza tra le popolazioni solo su larga scala (per esempio tra oceani diversi), mentre su media scala, caratteri oceanografici quali le correnti, la temperatura superficiale, la salinità e altri fattori che influiscono sulla produttività marina, limiterebbero i movimenti della specie agendo come vere e proprie "barriere" influenzando la struttura genetica (Amaral et al., 2012).

E' certo che le variabili oceanografiche come la concentrazione di clorofilla, che determinano i valori della produttività dei mari, sono fondamentali per la dispersione dei Cetacei, predatori al vertice della rete trofica. Infatti i delfini si cibano prevalentemente di acciughe e sardine, pesci filtratori che si assocerebbero quindi alle acque ricche di nutrienti (Amaral et al., 2012).

L'esempio del Mar Mediterraneo confermerebbe la relazione tra il rapido declino del Delfino comune a partire dagli anni '60 e la contemporanea riduzione dei piccoli pesci pelagici dovuta ad uno sfruttamento delle risorse ittiche (Bearzi et al., 2003, 2006, 2008; Piroddi et al., 2011).

Le ipotesi sul differenziamento geografico intraspecifico sembrano quindi legate particolarmente a locali adattamenti connessi alle specializzazioni alimentari che si rifletterebbero anche nella speciazione tra Delfino comune dal rostro corto e lungo (*D. delphis* e *D. capensis*).

I risultati ottenuti nel presente studio permettono in un certo senso di caratterizzare alcuni stock provenienti da aree circoscritte, e che presentano caratteri cranici distintivi. Come precedentemente illustrato, gli individui provenienti dal pacifico orientale e dal Mediterraneo, presentano peculiarità che meritano di essere approfondite con indagini mirate e sicuramente con un numero maggiore di campioni.

Alla luce delle recenti indagini genetiche intraspecifiche condotte su scala mondiale, si potrebbe ipotizzare che, la variabilità geografica riscontrata in questa specie, si rifletta sui caratteri morfologici individuati, evidenziando appunto un diverso adattamento a situazioni locali, oceanografiche e trofiche, meritevoli di una specifica protezione.



## 5. CONCLUSIONI

In generale si può concludere che i metodi della morfometria geometrica, bi e tri-dimensionale, si sono rivelati uno strumento molto accurato per un'analisi sulle differenze di forma e dimensione nel delfino comune, nonché nella possibilità di distinguere esemplari appartenenti a specie affini.

Le metodiche utilizzate permettono infatti di caratterizzare, all'interno del campione museale analizzato, gli individui appartenenti ad una specie diversa, distinguibili per la presenza di un rostro più lungo e, molto probabilmente, catalogati prima delle distinzioni tra le due specie e della recente individuazione della sottospecie endemica dell'Oceano Indiano, *D. capensis tropicalis* (Hayning & Perrin, 1994; Jefferson & Van Waerebeek, 2002).

Mentre l'indagine condotta sul dimorfismo sessuale in *D. delphis* ha confermato l'assenza di differenze nella forma del cranio tra maschio e femmine, già evidenziato in altre specie (Amaral et al., 2009; Loy et al., 2010), i risultati delle analisi sulla variazione allometrica ontogenetica hanno altresì evidenziato la necessità di un approfondimento in merito ai caratteri cranici più distintivi tra i due sessi, suggerendo la possibilità di giungere alla determinazione di caratteri distintivi del sesso almeno per gli esemplari adulti di dimensioni maggiori in alcune popolazioni.

Le analisi legate alla variazione della forma hanno consentito la distinzione e caratterizzazione di stock provenienti da diverse aree marine all'interno dell'areale della specie.

Tale tecnica si è rivelata quindi un utile strumento per i conservatori museali, al fine di riclassificare gli esemplari di *D. delphis* in base anche ai recenti aggiornamenti tassonomici.

Infine, le differenze di forma, maggiormente riscontrate nella lunghezza del rostro, potrebbero essere in relazione ad una diversa specializzazione alimentare, vista la notevole variabilità di prede e adattamenti di questa specie in base all'habitat, costiero o pelagico, negli stock di diversa provenienza geografica (Murphy, 2004; Westgate, 2007; Amaral et al., 2008): per esempio gli esemplari dello stock Atlantico settentrionale presentano un rostro più corto rispetto ai mediterranei e ciò potrebbe dipendere dalla diversa dieta, molto varia e meno specializzata negli esemplari nord mediterranei (Bearzi et al., 2003; Loy, 2011).

Inoltre, sarebbe interessante poter approfondire lo studio delle popolazioni all'interno del Mediterraneo, ampliando notevolmente il campione con esemplari provenienti anche dalla parte meridionale ed orientale del bacino, al fine di contribuire alle indagini svolte con i

metodi della biologia molecolare e che indicherebbero appunto un gradiente di differenziazione elevato all'interno del bacino stesso (Natoli et al., 2008). Questo diventa fondamentale in specie che necessitano di una protezione locale specifica visto il declino legato a fattori complessi di interazione tra pesca, inquinamento, diminuzione del cibo ed in generale dovuto ad un disturbo antropico eccessivo che ne ha portato la scomparsa quasi definitiva e probabilmente irreversibile.

Considerata la numerosità del campione analizzato e la provenienza geografica degli esemplari, praticamente dall'intero areale distributivo della specie, si sono riscontrate differenze morfologiche tra gli stock confrontati, più evidenti negli individui dell'Oceano Pacifico che mostrano risultati significativi sia per le variazioni di forma che di dimensione. Occorre tener conto della disomogeneità numerica degli esemplari all'interno delle popolazioni che ha perciò escluso i gruppi più esigui da alcune delle analisi svolte.

Data la scarsa informazione sulla distribuzione geografica e lo status della specie *D. capensis* (Hammon et al., 2008) ed i pareri discordanti relativamente alla distinzione tra le due specie, *D. capensis* e *D. delphis* in molto dei mari indagati (Amaral et al., 2012; Natoli et al., 2006), sarebbe utile poter ampliare lo studio con un maggior numero di campioni provenienti dalle zone tropicali e dai mari dell'emisfero australe.

Al fine di individuare le possibili cause di speciazione e variazione geografica, sarebbe interessante inoltre affiancare gli studi morfometrici alle indagini che utilizzano l'approccio genetico in relazione alle variabili oceanografiche (*seascape genetic*).

Questo tipo di approccio potrebbe mostrare risultati interessanti in mari semi-chiusi come il bacino Mediterraneo, in cui il declino della specie è il risultato di un cambiamento dell'habitat verificatosi su larga scala negli ultimi 30-40 anni ed in particolare in seguito alla ridotta disponibilità di prede (insieme ad altri fattori come l'aumento degli inquinanti, le catture accidentali, ecc.).

La situazione su popolazioni particolarmente a rischio, divenute assai rare come in questo caso, necessita sempre più di studi comparati che possano integrare le informazioni contenute nel ricco patrimonio museale, spesso ignorato e fondamentale per indagini di tipo storico ed adattativo.

Si auspica infine di poter completare presto la ricerca con materiali provenienti dalle collezioni dei paesi che si affacciano sul Mediterraneo, contribuendo in questo modo a far emergere un quadro il più possibile completo alla luce dell'urgente necessità di intervento sulla conoscenza e protezione di questa specie.





## Bibliografia

- Adams, D.C., Rohlf, F.J., Slice D.E. (2004) Geometric morphometrics: 10 years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, **71**, 5-16.
- Agnelli, P., Ducci, L., Funaioli, U., Cagnolaro, L. (submitted) La collezione dei Cetacei attuali del Museo di Storia Naturale dell'Università di Firenze: indagine storica e revisione sistematica. *Museologia scientifica*, Roma.
- Amaral, A.R., Coelho, M.M., Marugàn-Lobon, J., Rohlf, F.J., (2009) Cranial shape differentiation in three closely related delphined cetacean species: insights into evolutionary history. *Zoology*, **112**, 38-47.
- Amaral, A.R., Beheregaray, L.B., Bilgmann, K., Boutov, D., Freitas, L., et al. (2012) Seascape Genetics of a Globally Distributed, Highly Mobile Marine Mammal: The Short-Beaked Common Dolphin (Genus *Delphinus*). *PLoS ONE* **7** (2): e 31482. doi:10.1371/journal.pone.0031482
- Arbocco G. (1969) Pinnipedi, Cetacei e Sirenni del Museo di Storia Naturale di Genova. *Annali Monitore Zool. Ital.*, **2**, 152-154.
- Baillie, J. & Groombridge, B. (1996) 1996 IUCN *Red List of Threatened Animals*, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Barone, G. (1895) Modificazioni delle abitudini del delfino comune (*Delphinus delphis*) osservate in Liguria e prodotte dal generalizzarsi della pesca intensiva. *Neptunia*, **10**, 123–130, 156–164.
- Bearzi, G. (2003) *Delphinus delphis* (Mediterranean subpopulation). In: IUCN 2008. 2008 IUCN *Red List of Threatened Species*. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 29 April 2009.
- Bearzi, G., Reeves, R.R., Notarbartolo di Sciara, G., Politi, E., Cañadas, A., Frantzis, A., Mussi, B. (2003) Ecology, status and conservation of short-beaked common dolphins *Delphinus delphis* in the Mediterranean Sea. *Mammal Review*, **33**(34), 224-252.
- Berubè, M., Aguilar, A., Dendanto, D., Larsen, F., Notarbartolo di Sciara, G., Sears, R., Sigurjonsson, J., Urban-R, J., Palsboll, P.J. (1998) Population genetic structure of North Atlantic, Mediterranean Sea and Sea of Cortez fin whale, *Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758); analysis of mitochondrial and nuclear loci. *Molecular Ecology*, **7**, 585-599.
- Best, P. B. (2008) *Whales and Dolphins of the Southern African Subregion*, Cambridge University Press.
- Brunelli, G. (1932) Biologia industriale dei Delfinidi. *Bollettino di Pesca, di Piscicoltura e di Idrobiologia*, **3**, 343–359.



- Butti, C., Corain, L., Cozzi, B., Podestà, M., Pirone, A., Affronte, M., Zotti A. (2007) Age estimation in the Mediterranean bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu 1821) by bone density of the thoracic limb. *J Anat.*, **211**(5), 639–646.
- Cagnolaro, L. (1996) Profilo sistematico e tipologico delle raccolte di cetacei attuali dei musei italiani. *Supplemento Museologia Scientifica*, **13**, 193–212.
- Cardini, A., Nagorsen, D., O'Higgins, P., Polly, P. D., Thorington, Jr R. W., Tongiorgi, P. (2009) Detecting biological uniqueness using geometric morphometrics: an example case from the Vancouver Island marmot. *Ecology, Ethology and Evolution*, doi:10.1111/j.1439-0469.2008.00503.x.
- Carlini, R. (1990) I Cetacei del Museo Civico di Zoologia di Roma (1899-1989). *Museologia Scientifica*, **VII** (3-4), 187-194.
- Charlton-Robb, K., Gershwin, L., Thompson, R., Austin, J., Owen, K., McKechnie, S. (2011) A New Dolphin Species, the Burrnan Dolphin *Tursiops australis* sp. nov., Endemic to Southern Australian Coastal Waters. *PLoS ONE* **6** (9): e 24047, doi:10.1371/journal.pone.0024047.
- Culik, B. (2010) Odontocetes. The toothed whales: “*Delphinus delphis*”. UNEP/CMS Secretariat, Bonn, Germany. [http://www.cms.int/reports/small\\_cetaceans/index.htm](http://www.cms.int/reports/small_cetaceans/index.htm)
- Evans, W.E. (1994) Common dolphin, white-bellied porpoise *Delphinus delphis* Linnaeus, 1758. In Handbook of marine mammals. Vol. 5. The first book of dolphins. Edited by S.H. Ridgway and R. Harrison. Academic Press, London. pp. 191–224.
- Ferrero, R.C. & Walker, W.A. (1995) Growth and reproduction of the common dolphin, *Delphinus delphis*, in the offshore waters of the North Pacific Ocean. *Fish. Bull.* (Wash., D.C.) **93**, 483-494.
- Gaskin, D.E. (1982) The ecology of whales and dolphins, 459 pp. London and Exeter: Heinemann 1982. ISBN 0-453-62286-2.
- Gaspari, S., Airoidi, S. & Hoelzel, A.R. (2007a) Risso's dolphins (*Grampus griseus*) in UK waters are differentiated from a population in the Mediterranean Sea and genetically less diverse. *Conservation Genetics*, **8**, 727–732.
- Gaspari, S., Azzellino, A., Airoidi, S., Hoelzel, R. (2007b) Social skin associations and genetic structuring of striped dolphin populations (*Stenella coeruleoalba*) in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, **16**, 2922-2933.
- Guglielmini, C., Zotti, A., Bernardini, D., Pietra, M., Podestà, M., Cozzi, B. (2002) Bone density of the arm and forearm as an age indicator in specimens of stranded striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *The Anatomical Record*, **267**, 3, 225–230.

- Hammond P.S., Bearzi G., Bjørge A., Forney K., Karczmarski L., Kasuya T., Perrin W.F., Scott M.D., Wang J.Y., Wells R.S., Wilson B. (Assessors) (2008) *Delphinus delphis* (Short-beaked Common Dolphin). 2008 IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org/details/6336>
- Hammond P.S., Bearzi G., Bjørge A., Forney K., Karczmarski L., Kasuya T., Perrin W.F., Scott M.D., Wang J.Y., Wells R.S., Wilson B. (Assessors) (2008) *Delphinus capensis* (Long-beaked Common Dolphin). 2008 IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org/details/6337>
- Heyning ,J.E. and Perrin, W.F. (1994) Evidence for two species of common dolphins (genus *Delphinus*) from the eastern North Pacific. Natural History Museum of Los Angeles County, *Contributions in Science*, **442**, 35 pp.
- Hershkovitz, P. (1966) Catalog of living whales. *Bull. US Nat. Mus.*, **246**, 1-259 (<http://www.ubio.org/apps/Hershkovitz/>).
- IUCN (2009) *IUCN Red List of Treathened Species*. Version 2009.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 29 December 2009.
- Jefferson, T. A. & Waerebeek, K.Van (2002) The taxonomic status of the nominal dolphin species *Delphinus tropicalis* Van bree, 1971. *Marine Mammal Science*, **18**, 787–818, doi:10.1111/j.1748-7692.2002.tb01074.x
- Jefferson, T. A., Fertl, D., Bolanos-Jimenez, J., Zerbini, A. N. (2009) Distribution of common dolphins (*Delphinus* spp.) in the western Atlantic Ocean: a critical re-examination. *Mar. Biol.*, **156**, 1109-1124.
- Kingston,S.E., & Rosel,P.E. (2004) Genetic differentiation among recently diverged delphinid taxa determined using AFLP markers . *Journal of Heredity*, **95** (1), 1-10.
- Klingenberg, C.P. (1998) Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **73**, 79-123.
- Klingenberg, C. P. (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, **11**, 353-357.
- Kurihara, N., Oda, S.I. (2009) Effects of size on the skull shape of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Mammal Study*, **34** (1), 19-32.
- Loy, A. (2007) Morphometrics and Theriology. Homage to Marco Corti. *Hystrix Italian Journal of Mammology*, **18** (2), 115-136.
- Loy, A., Tamburelli, A., Carlini, R., Slice, D.E. (2010) Craniometric variation of some Mediterranean and Atlantic populations of *Stenella caeruleoalba* (Mammalia, Delphinidae): a 3D geometric morphometrics analysis. *Marine Mammal Science*, doi: 10.1111/j.1748-7692.2010.00431.x

- Macleod, C.D., Reidenberg, J.S., Weller, M., Santos, M.B., Herman, J., Goolg, J., Pierce, G.J. (2007) Breaking Symmetry: The marine Environment, Prey size, and the Evolution of Asymmetry in Cetacean Skulls. *The Anatomical Record*, **290**, 539-545.
- Marcus, L.F., Hingst-Zaher, E., Zaher, H. (2000) Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix*, **11** (1), 27-47.
- Mead, J.G., & Fordyce, R.E., (2009) The therian skull: a lexicon with emphasis on the odontocetes. *Smithsonian Contributions to Zoology*, **627**, 1-249 doi:10.5479/si.00810282.627.
- Monteiro-Filho, E.L.A., Monteiro L.R., Dos Reis S.F. (2002) Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. *Journal of Mammology*, **18** (1), 125-134.
- Morpheus et al., (2009). <http://www.morphometrics.org/morpheus.html>
- Murphy, S. (2004) The biology and ecology of the short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* in the North-east Atlantic. PhD Thesis, University College Cork, Ireland.
- Mussi, B., Miragliuolo, A., Bearzi, G. (2002) Short-beaked common dolphin around the island of Ischia, Italy (Southern Tyrrhenian Sea). *European Research on Cetaceans*, **16**.
- Natoli, A., Birkun, A., Aguilar, A., Lopez, A., Hoelzel, A.R. (2005) Habitat structure and the dispersal of male and female bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Proc. R. Soc. B* doi:10.1098/rspb.2005.3076.
- Natoli A., Cañadas A., Peddermors V.M., Aguilar A., Vaquero C., Fernandez-Piqueras P., Hoelzel A.R. (2006) Phylogeography and alpha taxonomy of the common dolphin (*Delphinus* sp.). *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 943–954.
- Natoli, A., Cañadas, A., Vaquero, C., Politi, E., Fernandez-Navarro, P., Hoelzel, A.R. (2008) Conservation genetics of short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*) in the Mediterranean Sea and in the eastern North Atlantic Ocean. *Conservation Genetics*, doi:10.1007/s.10592-007-9481-1.
- Nicolosi, P. & Loy, A. (2010) Landmark based morphometric variation in Common dolphin (*Delphinus delphis* L.,1758). *Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems*, pp. 263-268. Nimis P. L., Vignes Lebbe R. (eds.), ISBN 978-88-8303-295-0. EUT.
- Notarbartolo di Sciara, G. & Bearzi, G. (2002) Direct killing and live capture. In: *Cetaceans in the Mediterranean and Black Seas: State of Knowledge and Conservation Strategies* (Ed. by G. Notarbartolo di Sciara), pp. 27–30. *A report to the ACCOBAMS Secretariat*, Monaco, France.
- Notarbartolo di Sciara, G. & Bearzi, G. (2010) National Strategy and Action Plan for the conservation of cetaceans in Greece, 2010-2015. *Initiative for the Conservation of Cetaceans in Greece*, Athens, 55 pp.

- Oelschläger, H.H.A. (2007) The dolphin brain. A challenge for synthetic neurobiology. *Brain Research Bulletin*, **75**, 450-459.
- Perrin, W. F. & Heyning, J. E. (1993) Rostral fusion as a criterion of cranial maturity in the common dolphin, *Delphinus delphis*. *Marine Mammal Science*, **9**, 195–197.
- Perrin, W.F., Dolar, M.L.L., Amano, M., Hayano, A., (2003) Cranial sexual dimorphism and geographic variation in Fraser's dolphin, *Lagenodelphis hosei*. *Marine Mammal Science*, **19** (3), 484-501.
- Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M. (2009). *Encyclopedia of Marine Mammals*, Academic Press (II Edition), San Diego, U.S.A.
- Piroddi, C., Bearzi, G., Gonzalvo Villegas, J., Christensen, V. (2011) From common to rare: the case of the Mediterranean common dolphin. *Biological Conservation* **144**(10), 2490-2498.
- Pinela, A.M., Borrel, A., Aguilar, A. (2011) Common dolphin morphotypes: Niche segregation or taxonomy? *Journal of Zoology*, doi:10.1111/j.1469-7998.2011.00798.x.
- Poggi, R. (1982) Recenti incrementi alla collezione cetologica del Museo Civico di Storia Naturale di Genova (Mammalia, Cetacea). *Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova*, **84**, 8 pp.
- Poggi, R. (1986) I Delphinidae fatti pervenire al Museo di Genova tra il 1914 e il 1917 dal Sindacato peschereccio Ligure-Sardo (Mammalia, Cetacea). *Annali Museo Civico Storia Naturale 'G. Doria'*, **86**, 1–11.
- Police, G. (1932) Il *Delphinus delphis* e la sua utilizzazione nella pesca del Golfo di Napoli. *Bollettino di Pesca, di Piscicoltura e di Idrobiologia*, **8**, 360–379.
- Politi, E. & Bearzi, G. (2004) Evidence of decline for a coastal common dolphin community in the eastern Ionian Sea. *European Research on Cetaceans*, **15**, 449-452.
- R software (version 2.9.0, 2009, R Foundation for Statistical computing )
- Robineau, D. (1990) Les types de cétacés actuels du Muséum national d'Histoire naturelle. II Delphinidae, Phocoenidae. *Bull. Mus. Natn. Hist. Nat., Paris*, 4<sup>a</sup> sèr., **12**(1), 197-238.
- Rohlf, F.J. (2006) tpsDig, tpsRelw. Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/> (version 1.46 Rohlf, 2008).
- Rohlf, F.J. & Slice, D.E. (1990) Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, **39**, 40-59.
- Rohlf, F.J. & Marcus, L.F. (1993) A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, **8**, 129-132.
- Rosel, P. E., A. E. Dizon, J. E. Heyning. (1994) Genetic analysis of sympatric morphotypes of common dolphins (genus *Delphinus*). *Marine Biology*, **119**, 159–167.

- Simões-Lopes, P.C. (2006) Morfologia do sincrânio do boto-cinza, *Sotalia guianensis* (P.J. van Bénédén). *Revista Brasileira de Zoologia*, **23** (3), 652-660.
- Slice, D.E. (2007) Geometric Morphometrics. *Annual Review of Anthropology*, **36**, 261-281.
- Slice, D.E. 1994-2000 R software (version 2.9.0, 2009, R Foundation for Statistical computing )
- Tomilin, A. G. (1957) Mammals of the USSR and adjacent countries. Cetaceans, vol. IV. Moscow: USSR Academy of Science Publication House. (In Russian.)
- UNEP/IUCN (1994) *Technical Report on the State of Cetaceans in the Mediterranean*. Mediterranean Action Plan Technical Reports Series No. 82.
- Utrecht, W.L. Van (1981) Comparison of accumulation patterns in layered dentinal tissue of some Odontoceti and corresponding patterns in baleen plates and ear plugs of Balaenopteridae. *Beaufortia*, **31** (6), 111-122.
- Viaud-Martinez, K.A., Brownell, L.R.Jr., Komnenou, A., Bohonak A.J.,(2008). Genetic isolation and morphological divergence of Black Sea bottlenose dolphins. *Biological Conservation*, **141**, 1600–1611.
- Viscosi, V. & Cardini, A. (2011) Leaf Morphology, Taxonomy and Geometric Morphometrics: A simplified Protocol for Beginners, *Plos ONE*, **6** (10).
- Westgate, A.J. (2007) Geographic variation in cranial morphology of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) from the North Atlantic. *Journal of Mammology*, **88**(3), 678-688.
- Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (2005) *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3<sup>rd</sup> ed), John Hopkins University Press.
- Yamagiwa, D., Endo, H., Nakanishi, I., Kusanagi, A., Kurohmaru, M., Hayashi, Y. (2009) Anatomy of the cranial nerve foramina in the Risso's dolphin (*Grampus griseus*). *Annals of Anatomy*, **181**, 293-297.
- Zelditch M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L. (2004) *Geometric morphometric for biologists*, Elsevier Ltd.

## **Ringraziamenti**

Si ringraziano innanzitutto i Direttori, i conservatori e gli assistenti dei musei naturalistici che hanno permesso, con la loro disponibilità, l'accesso alle collezioni per la raccolta dei dati:

Mogens Andersen, Zoological Museum, Natural History Museum of Denmark, University of Copenhagen; Wendy van Bohemen, Zoological Museum Amsterdam (ZMA), University of Amsterdam; Paolo Agnelli, Museo Zoologico "La Specola", Università di Firenze; il Prof. Ernesto Capanna, Dip. Biologia Animale e dell'Uomo, Università "La Sapienza" di Roma; Rossella Carlini, Museo Civico di Zoologia di Roma; Roberto Poggi e Giuliano Doria, Museo Civico di Storia Naturale di Genova; Michela Podestà del Museo Civico di Storia Naturale di Milano.

Per l'utilizzo dello scanner Microscribe 3D, ringrazio particolarmente il dr. Paolo Piras dell'Università di Roma Tre.

Per gli aspetti specifici sulle indagini di morfometria geometrica, vorrei ringraziare il Prof. Dennis E. Slice, Dep. of Scientific Computing, Florida State University, intervenuto su alcuni aspetti generali dell'analisi dei dati tridimensionali; un ringraziamento generale va inoltre ai colleghi ed esperti intervenuti per chiarire vari aspetti sull'argomento: Andrea Cardini, Dip. Biologia Università di Modena e Reggio Emilia; Paolo Colangelo, Dip. Biologia Animale e dell'Uomo, Università "La Sapienza" di Roma; Carmelo Fruciano, Dip. di Biologia, Università di Catania.

Per tutta la parte di elaborazione dei dati statistici sono infinitamente grata a Chiara Brombin, Università Vita-Salute San Raffaele Milano e a Tommaso Tassoni, Dip. di Biologia, Università di Padova, per la consulenza sugli aspetti tecnici della materia.

Per la revisione della parte di genetica sui dati mediterranei, ringrazio Ada Natoli, Biology Dep., United Arab Emirates University.

Per i continui confronti sull'anatomia dei Cetacei e soprattutto per la grande passione trasmessami per questi particolari animali, sono immensamente debitrice al dr. Luigi Cagnolaro, mio mentore e consigliere.

Infine non ho parole per ringraziare la mia famiglia, Giovanni e Isabella, per la pazienza e il sostegno durante questo anno, lungo e faticoso che si conclude con un lieto fine.

Parte della presente ricerca è stata resa possibile grazie al Synthesis Project, European grant 2009.