

# **INDICE GENERALE**

## **Tema 1 - *Struttura e funzione dei microrganismi negli ambienti pelagici***

### *Relazione Introduttiva*

CASOTTI R. - L'ecologia microbica: dai genomi ai biomi e le interazioni tra gli organismi mediate dai metaboliti secondari.....	2
---	---

### *Intervento Programmato*

MAUGERI T.L., GUGLIANDOLO C., LENTINI V. - Siti di idrotermalismo delle Isole Eolie: ambienti ideali per lo studio della diversità microbica marina.....	6
--	---

### *Comunicazioni*

FANI F., ZAFFONTI F., POLONELLI F., NUCCIO C., LAZZARA L. - Seasonal variations of photo-acclimation in the phytoplankton assemblages of the Tuscan Tyrrhenian Sea.....	12
LAURITANO C., CAROTENUTO Y., PROCACCINI G., IANORA A. - Changes in the molecular response to the same toxic diatom diet among different <i>Calanus helgolandicus</i> populations .....	16
SOCAL G., BOLDRIN A., LUCHETTA A., BERNARDI AUBRY F., CANTONI C., CERINO F., LANGONE L., MISEROCCHI S., TOTTI C., TURCHETTO M. - Comunità fitoplanctoniche e sistema carbonato nell'Adriatico meridionale .....	20

## **Tema 2 - *Risposte biologiche ai gradienti in ambiente marino***

### *Relazione Introduttiva*

GAMBI M.C., BENEDETTI-CECCHI L. - Approcci di studio ai gradienti di fattori ecologici in ambiente marino e risposte di specie e comunità .....	26
---	----

### *Comunicazioni*

BO M., DI CAMILLO C.G., CATTANEO-VIETTI R., BAVESTRELLO G. - Whip coral distribution along a water-movement gradient.....	37
CARUSO G., CAROPPO C., CRISAFI E., DECEMBRINI F., MONTICELLI L.S. - Struttura e attività della comunità microbica lungo il gradiente termoclinico del Golfo di Manfredonia, Adriatico meridionale (Campagna SAMCA-3, maggio 2003) .....	41
D'ESPOSITO D., DATTOLO E., BADALAMENTI F., ORSINI L., PROCACCINI G. - Comparative analysis of genetic diversity of <i>Posidonia oceanica</i> along a depth gradient using neutral and selective/non neutral microsatellites markers.....	45

RICEVUTO E., LORENTI M., PATTI F.P., SCIPIONE M.B., GAMBI M.C. - Temporal trends of benthic invertebrate settlement along a gradient of ocean acidification at natural CO <sub>2</sub> vents (Tyrrhenian Sea)....	49
SFRISO A., CAMPOLIN M., SFRISO A.A., BUOSI A., FACCA C. - Cambio della flora e della vegetazione acquatica in gradienti ecologici dalle bocche di porto ad alcune valli da pesca della Laguna Veneta.....	53
<i>Poster</i>	
CHIARORE A., PATTI F.P., BUIA M.C. - Variabilità morfologica e genetica di <i>Sargassum vulgare</i> . Studio pilota di una popolazione nell'area acidificata del "Castello Aragonese" (Ischia, Napoli) .....	57
FRANZO A., KARUZA A., COMICI C., DE VITTOR C., CIVILE D., KOVACEVIC V., DEPONTE D., LORETO F., DEL NEGRO P. - Distribuzione dei procarioti lungo le strutture sismogenetiche del Golfo di Sant'Eufemia .....	59
GIANI M., COMICI C., DE VITTOR C., FABBRO C., FALCONI C., KARUZA A., KRALJ M., INGROSSO G., LIPIZER M., DEL NEGRO P. - Variazioni dell'acidità, del sistema carbonatico e dell'attività batterica in acque costiere nord adriatiche .....	61
RUOCCO M., BRUNET C., LORENTI M., LAURITANO C., D'ESPOSITO D., RICCIO M., PROCACCINI G. - <i>Posidonia oceanica</i> photoadaptation to the depth gradient .....	63
 <b>Tema 3 - Rappresentazione cartografica (di variabili biotiche e abiotiche) per la gestione dell'ambiente marino</b>	
<i>Relazione Introduttiva</i>	
TUNESI L. - Il ruolo della cartografia a supporto delle valutazioni integrate degli ecosistemi marini .....	66
<i>Interventi Programmati</i>	
FRASCHETTI S. - Mapping the marine environment: advances, relevance and limitations in ecological research and in marine conservation and management.....	79
TRUFFARELLI C., BELLUSCIO A., CRISCOLI A., ARDIZZONE G.D. - Interpretazione di immagini sonar nella cartografia di <i>Posidonia oceanica</i> . Analisi e descrizione dei sonogrammi .....	84
<i>Comunicazioni</i>	
BITETTO I., FACCHINI M.T., SPEDICATO M.T., LEMBO G. - Spatial location of giant red shrimp ( <i>Aristaeomorpha foliacea</i> , Risso, 1827) in the central-southern Tyrrhenian Sea .....	92
CHESSA L.A., COSSU A. - Analisi ed interpretazione della cartografia biocenotica dell'Isola Asinara nell'ambito del progetto "4 A.M.P." del Ministero dell'Ambiente-CoNISMa .....	96

DI DONATO R., DI STEFANO F., RUSSO G.F. - Distribuzione spaziale degli habitat e dell'uso del territorio nell'AMP di Capo Rizzuto: valutazione della migliore zonazione.....	100
DI STEFANO F., DE VITA A., SENSEALE G., APPOLLONI L., PAGLIARANI A., RENZI M., SANDULLI R., SBRESCIA L., RUSSO G.F. - Cartografia tematica per la gestione sostenibile della nautica da diporto nell'AMP di Costa Infreschi e Masseta .....	104
PATICCHIO N., BELLUSCIO A., CRISCOLI A., ARDIZZONE G.D. - La cartografia come strumento di analisi per i paesaggi marini. Le praterie di <i>Posidonia oceanica</i> : un caso studio .....	108
<i>Poster</i>	
PERDICHIZZI A., PROFETA A., FIORENTINO F., BOTTARI T., RINELLI P. - Utilizzo del GIS per la rappresentazione di aree di nursery dei gamberi profondi <i>Aristaeomorpha foliacea</i> e <i>Aristeus antennatus</i> .....	112
SBRESCIA L., DE VITA A., DI STEFANO F., SENSEALE G., GIORDANO G., SANDULLI R. - Cartografia tematica per la definizione di aree di ormeggio e di ancoraggio nell'AMP di Santa Maria di Castellabate.....	114
 <b>Tema 4 - Strategie riproduttive in ambiente marino naturale e sottoposto a stress</b>	
<i>Relazione Introduttiva</i>	
TERLIZZI A. - Sostanze xenobiotiche, specie aliene ed agenti patogeni: impatti subdoli sui pattern riproduttivi di organismi marini .....	118
<i>Comunicazioni</i>	
CANEPA S., PELLEGRINI D., FAIMALI M., BUTTINO I. - Effetti subletali del cloruro di nichel sulla riproduzione di <i>Acartia tonsa</i> (Copepoda, Calanoida).....	130
ORSI RELINI L., RELINI G. - Modified reproductive characteristics in <i>Aristeus antennatus</i> .....	134
PORCU C., MARONGIU M.F., BELLODI A., MULAS A., FOLLESA M.C. - Reproductive strategy of a viviparous deep-water shark, <i>Etmopterus spinax</i> , from the Central Western Mediterranean Sea.....	138
<i>Poster</i>	
CABIDDU S., ATZORI G., MULAS A., PORCU C., FOLLESA M.C. - Reproductive period of <i>Dipturus oxyrinchus</i> (Elasmobranchii: Rajidae) in Sardinian seas .....	142
CACCIATORE F., CORNELLO M., BOSCOLO BRUSÀ R. - Maturazione gonadica della vongola <i>Ruditapes philippinarum</i> (Adams & Reeves, 1850) sottoposta a stress.....	144

COLELLA S., SANTOJANNI A. - Aspetti della biologia riproduttiva di <i>Nephrops norvegicus</i> L., 1758 (Crustacea: Decapoda) nel Mare Adriatico centrale: risultati preliminari .....	146
---	-----

GIORDANO G., MASTASCUSA V., RUSSO G.F. - Riproduzione di <i>Maasella edwardsi</i> (Cnidaria: Anthozoa) nell'Area Marina Protetta di Santa Maria di Castellabate .....	148
---	-----

### **Poster del Comitato Acquacoltura**

CARBONARA P., ZUPA W., LEMBO G. - Swimming performances and energetic expenditure in <i>Pagrus pagrus pagrus</i> (Linnaeus, 1758).....	152
--	-----

CAVALLO R.A., ACQUAVIVA M.I., ALABISO G., MILILLO M., NARRACCI M., STABILI L. - Study of aquaculture pathogenic vibrios in the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea, Italy).....	154
--	-----

FABBROCINI A., MASELLI M.M.A., D'ADAMO R. - Effetti del regime alimentare e di illuminazione sulle gonadi del riccio di mare <i>Paracentrotus lividus</i> (Lmk, 1816).....	156
--	-----

GENOVESE M., CRISAFI F., MARICCHIOLO G., DENARO R., GANGEMI S., YAKIMOV M., GENOVESE L. - Preliminary data on the expression of interleukins IL-1 $\beta$ and IL-10 in <i>Dicentrarchus labrax</i> affected by <i>Vibrio anguillarum</i> infection .....	158
--	-----

PAIS A., SABA S., CAMPUS P., GORLA A. - Sopravvivenza e crescita dell'ostrica piatta ( <i>Ostrea edulis</i> Linnaeus, 1758) nello Stagno di San Teodoro (Sardegna nord orientale).....	160
--	-----

SABA S., ANTUOFERMO E., MANUNZA B., PINNA M., PISANO A., PAIS A. - A computer-based method for assessing gonadal maturity of the grooved carpet shell <i>Ruditapes decussatus</i> (Linnaeus, 1758).....	162
---	-----

### **Poster del Comitato Benthos**

CARONNI S., MICHELET S., PANZALIS P., NAVONE A., OCCHIPINTI-AMBROGI A., SECHI N., CECCHERELLI G. - Primi risultati della sperimentazione di un nuovo strumento per stimare la densità della microalga bentonica <i>Chrysophaeum taylorii</i> Lewis & Bryan.....	164
---	-----

CARONNI S., SATTA A., PANZALIS P., NAVONE A., COSSU A., OCCHIPINTI-AMBROGI A., SECHI N., CECCHERELLI G. - Eradicazione di <i>Caulerpa taxifolia</i> (Vahl) C. Agardh nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo: caratterizzazione della colonia residua .....	166
---	-----

CHEMELLO S., ZARZANA C., GRAZIANO M., CHEMELLO R. - Metodologie di analisi del paesaggio nella valutazione dell'eterogeneità strutturale nei reef a vermeti .....	168
---	-----



CHESSA L.A., SCARDI M., VALIANTE G., LANERA P., SERRA S. - Macrozoobenthos di fondo mobile nel golfo interno di Olbia (Sardegna nord orientale) .....	170
D'ALESSANDRO M., ESPOSITO V., MANGANO M.C., GIACOBBE S., ROMEO T. - Studio preliminare delle comunità macrobentoniche di fondo mobile in un'area industrializzata (Golfo di Milazzo).....	172
GAMBI M.C., BARBIERI F. - Population structure of the gorgonian <i>Eunicella cavolinii</i> in the "Grotta Azzurra" cave off Palinuro, after the mass mortality event in 2008 .....	174
LA MARCA E.C., CHEMELLO R. - La dimensione frattale dei reef a vermeti .....	176
MERCURIO M., CARDONE F., LONGO C., NONNIS MARZANO C., CORRIERO G. - Dati preliminari sul corallo rosso delle coste pugliesi.....	178
NICORA F., PALOMBO L., SIMEONE S., BAROLI M., GUALA I. - Monitoring population of the sea urchin <i>Paracentrotus lividus</i> at the Arcipelago di La Maddalena National Park .....	180
ORSI RELINI L., GARIBALDI F. - <i>Munida rutllanti</i> Zariquiey Alvarez, 1952 (Crustacea, Decapoda) e specie congeneri batiali in Mar Ligure ....	182
OSELLADORE F., ANTONINI C., CORNELLO M., BOSCOLO BRUSÀ R. - Sperimentazione preliminare di fissativi alternativi alla formalina per la conservazione di campioni di macrozoobenthos marino	184
PANETTA P., MASTROTOTARO F., D'ONGHIA G. - Tanatocenosi a molluschi della provincia a coralli di Santa Maria di Leuca (Mar Ionio).	186
PASQUALE V., ROMANO V., GUIDA M., MASTASCUSA V., GRECO M., SANDULLI R. - Hydrolytic exoenzyme screening of heterotrophic bacteria associated with <i>Corallium rubrum</i> .....	188
PRATO E., PARLAPIANO I., BIANCOLINO F. - Population dynamics of the amphipod <i>Caprella scaura</i> in the Mar Piccolo of Taranto .....	190
PUNZO E., DE BIASI A., SANTELLI A., SPAGNOLO A., FABI G. - Effetti dello sversamento di sedimenti portuali sulle comunità macrozoobentoniche in nord Adriatico.....	192
UNGARO N., PASTORELLI A.M., DI FESTA T. - <i>Dyspanopeus sayi</i> (Smith, 1869) - Crustacea, Panopeidae - una nuova presenza nella laguna costiera di Varano (Adriatico centro-meridionale) .....	194

**Poster del Comitato Gestione e Valorizzazione della Fascia Costiera**

BLASI F. - I beni e servizi ecosistemici delle Aree Marine Protette italiane.....	196
CECCHI E., RIA M., PIAZZI L., SERENA F. - Cartografia dei popolamenti intertidali delle coste rocciose toscane e applicazione dell'indice CARLIT .....	198

DUBOIS M., BELLAN-SANTINI D., BENTAHAR I., CHEVALDONNÉ P., PEREZ T., VACELET J., BELLAN G. - Artificial reefs deployed in the Bay of Marseille (North western Mediterranean Sea): originality and first benthic faunal stages .....	200
---	-----

**Poster del Comitato Necton e Pesca**

BULLO M., CELIĆ I., SABATINI L., SANTOJANNI A., SCARCELLA G., GIOVANARDI O. - Comparazione di due morfotipi di sogliola nel nord Adriatico .....	202
CARBONARA P., CASCIARO L., BITETTO I., SPEDICATO M.T. - Reproductive cycle and length at first maturity of <i>Trachurus trachurus</i> in the central-western Mediterranean seas.....	204
DE CARLO F., VIRGILI M., LUCCHETTI A., FORTUNA C.M., SALA A. - Interactions between bottlenose dolphin and midwater pair trawls: effect of pingers on dolphin behaviour .....	206
GANCITANO V., BADALUCCO C., CUSUMANO S., GANCITANO S., GIUSTO G.B., INGRANDE G., KNITTWEIS L., SINACORI G., RIZZO P. - Age cohort analysis of red mullet, <i>Mullus barbatus</i> (L., 1758) (Pisces: Mullidae), in the Strait of Sicily (GSA 15 & 16) .....	208
GARIBALDI F., MEROTTO L., LANTERI L., ORSI RELINI L. - Osservazioni su <i>Sudis hyalina</i> (Rafinesque, 1810) (Osteichthyes, Paralepididae) in Mar Ligure .....	210
LIGAS A., MANNINI A., CARPENTIERI P., MANCUSI C., SARTOR P., DE RANIERI S. - Length-weight relationship in demersal species from Ligurian and northern-central Tyrrhenian Sea.....	212
MEREU M., AGUS B., CAU A., CUCCU D. - On a female of <i>Tremoctopus</i> sp. (Octopoda: Tremoctopodidae) caught in the Sardinian Sea.....	214
MUSOLINO S., BATTAGLIA P., AMMENDOLIA G., ESPOSITO V., CONSOLI P., ROMEO T., ANDALORO F. - Presenza e dieta di giovanili di pesci medusivori (Centrolophidae e Nomeidae) nello Stretto di Messina (Mediterraneo centrale).....	216
ROMANELLI M., GIOVANARDI O. - Recent patterns of the Adriatic hydraulic dredge fishery targeting striped venus <i>Chamelea gallina</i> (L.) and influence of smaller rivers.....	218
ROSSETTI I., FRANCESCONI B., SBRANA M., PIAZZI L., VOLIANI A., SARTOR P. - Characterization of potential “métier” for the small scale fishery along the coasts of Tuscany.....	220
SBRANA M., VOLIANI A., REALE B., RIA M., DE RANIERI S. - Pattern di sfruttamento della pannocchia, <i>Squilla mantis</i> (L., 1758), nel Mar Ligure e nel Tirreno centro-settentrionale (FAO GSA 9) .....	222

SION L., MAIORANO P., CARLUCCI R., CAPEZZUTO F., INDENNIDATE A., CARLUCCIO A., D'ONGHIA G. - Comparing distribution of <i>Helicolenus dactylopterus</i> (Delaroche, 1809) between coral and non coral habitats in the Santa Maria di Leuca coral province.....	224
VALLISNERI M., MONTANINI S., STAGIONI M., TOMMASINI S., VALDRÉ G. - Analisi morfometrica ed ultrastrutturale del solco acustico degli otoliti in specie della famiglia Triglidae.....	226

**Poster del Comitato Plancton**

CABRINI M., DE OLAZABAL A., FORNASARO D., LIPIZER M., MINOCCI M., MONTI M., TIRELLI V. - Calcifying planktonic organisms in the LTER - Gulf of Trieste site (North Adriatic) .....	228
CAPELLACCI S., BATTOCCHI C., CASABIANCA S., GIOVINE M., BAVESTRELLO G., PENNA A. - Influenza di differenti forme chimiche di silice disciolta sulla crescita di diatomee marine .....	230
CAROPPO C., LICCIANO M., GIANGRANDE A., STABILI L. - Filtrazione della microalga <i>Amphidinium carterae</i> (Hulburt, 1957) da parte del sabellide polichete <i>Sabella spallanzanii</i> (Gmelin, 1791).....	232
CERINO F., FORNASARO D., LIPIZER M., CABRINI M. - Spatial distribution of the summer phytoplankton in the Norwegian - Greenland Seas .....	234
GIORDANO D., PERDICHIZZI F., BUSALACCHI B., PIRRERA L., GRECO S., PROFETA A. - Distribuzione spaziale di larve di pesci nel Mar Tirreno meridionale .....	236
PAPALE M., BORGHINI M., RIBOTTI A., LO GIUDICE A., MICHAUD L., SORGENTE R., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. - Luminescent bacteria and water masses relationships along a section Balearic Islands - Sardinia.....	238
SABIA L., UTTIERI M., PANSERA M., SOUISSI S., SCHMITT F.G., ZAGAMI G., ZAMBIANCHI E. - First observations on the swimming behaviour of <i>Pseudodiaptomus marinus</i> from Lake Faro .....	240
UNGARO N., PASTORELLI A.M., DI FESTA T., PETRUZZELLI R., FLORIO M., ALIQUÒ M.R., VADRUCCHI M. - Nuove informazioni sulla presenza quali-quantitativa di specie fitoplanctoniche nocive nelle acque marino costiere dell'Adriatico sud-occidentale.....	242

**Poster della Sessione Vari**

BAINI M., GIANNETTI M., MALTESE S., CALIANI I., CARLETTI L., CAMPANI T., COPPOLA D., FOSSI M.C., RENIERI T., MARSILI L. - Nanotossicologia: effetti di nanoparticelle di oro (AuNP) su fibroblasti di cetacei .....	245
--	-----

GAMBARDELLA C., FERRANDO S., GALLUS L., BERTOLINO F., LECCA E., CASOLA E. - Leptin distribution in bluefin tuna <i>Thunnus</i> <i>thynnus</i> muscle .....	249
GIANNETTI M., FOSSI M.C., BAINI M., COPPOLA D., MALTESE S., PANTI C., CAMPANI T., CALIANI I., CARLETTI L., PIREDDU L., FARA G., CASINI S., MARSILI L., DENURRA D. - Effetti tossicologici in esemplari di <i>Caretta caretta</i> (Linneo, 1758) campionati nel Centro Recupero Animali Marini del Parco Nazionale dell'Asinara (Sardegna) .....	251
GUERRIERO G., TROCCHIA S., EL-ALWANY M.A., CIARCIA G. - PCR-RFLP mitochondrial analysis: rapid discrimination of <i>Acipenser</i> <i>baerii</i> and <i>Trisopterus minutus minutus</i> eggs.....	255
LODOLA A., SAVINI D., OCCHIPINTI-AMBROGI A. - Alien species in the Central Mediterranean Sea: the case study of Linosa Island (Pelagian Islands, Italy).....	257
MENGONI A., PAGOTO E., UGOLINI A. - Caratterizzazione delle comunità microbiche di spiagge sabbiose dell'Isola di Favignana (Egadi, TP).....	259
MICARELLI P., DE LUCIA L. - Analisi preliminari della risposta allo stress indotto da variazioni di salinità, verificato tramite il consumo di ossigeno da parte di <i>Scylliorhinus canicula</i> .....	261
RELINI G., FRANCO A. - La ricchezza in specie dei mari italiani.....	263
RINNA F., SESSA R., VILLANI G., DEL PRETE F., LANGELLOTTI A.L., VITIELLO V., SANSONE G. - Effetti del freddo sulla sensibilità al cadmio di nauplii di <i>Amphibalanus amphitrite</i> (Crustacea, Cirripedia)....	265
RUMI B., CARONNI S., PANZALIS P., NAVONE A., GHIANI A., CITTERIO S. - Saggi finalizzati alla coltivazione in laboratorio della microalga bentonica <i>Chrysophaeum taylorii</i> Lewis & Bryan.....	267
SARTORI D., BUTTINO I., HWANG J.-S., GAION A., SCUDERI A., MORRONI L., PELLEGRINI D., SANSONE G. - Valutazione degli effetti del cloruro di mercurio sullo sviluppo di <i>Paracentrotus lividus</i> ed <i>Echinometra mathaei</i> mediante la microscopia non lineare.....	269
SFRISO A., FACCA C., BON D., BUOSI A. - Flora e vegetazione dei sistemi di transizione del Po, parametri ambientali e stato ecologico.....	271

## **Tema 1**

---

### STRUTTURA E FUNZIONE DEI MICROORGANISMI NEGLI AMBIENTI PELAGICI

R. CASOTTI

Stazione Zoologica A. Dohrn, Villa Comunale - 80121 Napoli, Italia.  
raffaella.casotti@szn.it

## L'ECOLOGIA MICROBICA: DAI GENOMI AI BIOMI E LE INTERAZIONI TRA GLI ORGANISMI MEDIATE DAI METABOLITI SECONDARI

### *MICROBIAL ECOLOGY: FROM GENOMES TO BIOMES AND THE BIOTIC INTERACTIONS MEDIATED BY SECONDARY METABOLITES*

**Abstract** - Plankton marine microbes are as abundant as stars in the universe, being present at billions of cells per litre. Their unique and diversified metabolisms, deriving from their extraordinary genetic diversity, allow them to carry out key steps of the biogeochemical cycles of major elements. The new "omics" approaches have provided new ground for discoveries of new organisms and new functions. Among the latter, biotic interactions mediated by secondary metabolites are key to understand ecosystems biodiversity and functioning. Marine diatoms produce a plethora of secondary metabolites with multiple roles, as allelochemicals, infochemicals, deterrents, antipredatory and signalling. Among these, polyunsaturated aldehydes have been thoroughly studied for their antipredatory effect on grazers. They also have a putative role in intrapopulation fate determination at the final stages of blooms and are suggested to determine bacterial community composition. The capacity of producing and dealing with such compounds is one of the possible key to explain the ecological success of this group of microalgae.

**Key-words:** microbial ecology, biotic interactions, polyunsaturated aldehydes, allelopathy, infochemical.

Numericamente, i microbi (virus, funghi, Archaea, batteri, eukarya unicellulari) sono gli organismi più abbondanti sulla terra, sia per numero che per biomassa, eppure molto resta ancora da scoprire sulla loro dinamica di popolazione, la complessità metabolica e le interazioni tra di loro e con i livelli trofici superiori. In ogni momento, miliardi di geni appartenenti a microbi marini sono responsabili di processi ecologici fondamentali in tutto il mondo, eppure né la loro identità né i fattori che regolano questi processi sono pienamente conosciuti.

Lo studio dei microbi marini ha visto una fase di grande sviluppo in coincidenza con l'applicazione di nuove tecniche di analisi, quali la microscopia ad epifluorescenza, la citometria a flusso e la biologia molecolare. Una nuova fase di sviluppo ha coinciso con la possibilità, tecnica ed economica, di sequenziare interi genomi di microbi marini, tra questi, batteri e fitoplancton. Sulla scia di grandi progetti di sequenziamento quali il Progetto Genoma Umano, il sequenziamento di microbi marini genera oggi sequenze in maniera indipendente, e più di 180 microbi marini coltivati sono stati sequenziati ad oggi, inclusi batteri e fitoplancton. Dal sequenziamento dei genomi interi si sono ottenute molte informazioni sulle potenzialità di questi organismi in termini di filogenesi e di attività metaboliche ed anche di possibili applicazioni biotecnologiche. Inoltre, i genomi sequenziati servono da riferimento per i successivi studi di metagenomica, nei quali il DNA ambientale di intere comunità miste viene sequenziato per ricostruirne la composizione e la potenziale attività. Questi approcci metagenomici allo studio della biodiversità microbica hanno iniziato una vera e propria fase di Rinascimento dell'ecologia microbica, concentrata oggi sullo sforzo di comprendere il potenziale genetico degli organismi unicellulari non coltivabili. I primi studi hanno inoltre evidenziato come meno dello 0.01% delle sequenze presenti *in situ* siano rappresentate nelle collezioni di culture. Ciò ha portato ad una sempre maggiore coscienza della necessità di sviluppare tecniche di analisi dirette, che prescindano dalla coltivazione, al fine di ottenere una rappresentazione realistica dei processi effettivamente presenti in natura.

La metagenomica rappresenta la base per ottenere una fotografia della composizione di una comunità in un dato luogo e tempo e di tutte le possibili attività realizzabili da questa comunità. Il passo successivo consiste nel restringere il campo di azione da tutte le possibili attività di un organismo (metagenomica), a quelle che sono realmente in corso in un dato momento e sito, e cioè l'insieme dei pattern di espressione genica (metatrascrittomica). Questo permette di contestualizzare i dati ottenuti alle condizioni ecologiche presenti e, infine, di identificare le cause che modulano questa espressione. In questa maniera si potrà procedere alla comprensione dei fattori che legano un genoma ed il suo funzionamento ai cicli biogeochimici che regolano la vita del nostro pianeta.

I nuovi approcci, che usano anche tecniche innovative quali citometria a flusso e Next Generation Sequencing, si orientano su diversi campi di applicazione, come il ciclo del Carbonio, la produzione di nuovi metaboliti con potenzialità biotecnologiche e nuovi processi metabolici finora sconosciuti. Grande interesse suscita anche lo studio delle interazioni biotiche ed i fattori che le determinano e regolano, per il riconoscimento del ruolo che queste hanno nei flussi dei nutrienti in ambiente marino.

Tra i fattori che governano le interazioni tra organismi marini, particolare attenzione riceve il ruolo dei metaboliti secondari nel plancton, campo di studio dell'ecologia chimica, che studia i composti chimici coinvolti nelle interazioni tra organismi, e si concentra sulla produzione e la risposta a molecole di segnale (infochemicals), a tossine, e altri composti organici.

In ambito marino le prime indagini di ecologia chimica si sono concentrate su invertebrati bentonici che producono sostanze a forte attività biologica come deterrenti e difesa contro i predatori (Pawlik, 2012, per una review). Simili esempi nel plancton sono più rari ma recentemente diverse linee di ricerca ne hanno identificati alcuni. Questa presentazione si concentra su alcuni composti prodotti dalle diatomee che mediano le loro interazioni intra-popolazioni, quelle con altri organismi fitoplanctonici, e con i batteri.

Negli anni '90 diversi studi hanno dimostrato che le diatomee hanno un effetto negativo sulla riproduzione dei loro principali predatori, i Copepodi, inducendo difetti e malformazioni nei naupli (Miralto *et al.*, 1999; Ianora *et al.*, 2004). I responsabili di questo effetto teratogeno sono stati identificati come appartenenti alla classe delle ossilipine, e tra loro le più studiate sono le aldeidi poliinsature (polyunsaturated aldehydes, PUA).

A partire dalla scoperta di questi composti nelle diatomee e del loro effetto sui predatori, questi sono stati testati su diversi modelli, animali e vegetali, dimostrando un effetto antiproliferativo (review in Ianora *et al.*, 2012). Sul fitoplancton, incluso le diatomee, le PUA bloccano la crescita interferendo con il ciclo cellulare, e sono in grado di indurre morte cellulare con meccanismi che somigliano alla morte cellulare programmata (apoptosi) delle cellule umane (Casotti *et al.*, 2005). A basse concentrazioni, le PUA agiscono come molecole portatrici di informazione, mediando la comunicazione tra le cellule e determinando il loro destino nelle fasi finali di una fioritura. Questo ruolo viene esercitato attraverso la mobilitazione del Calcio intracellulare e diverse molecole reattive dell'Ossigeno o dell'Azoto. I primi studi su *Phaeodactylum tricornutum* hanno mostrato che l'Ossido Nitrico viene prodotto in risposta all'esposizione alle PUAs (Vardi *et al.*, 2006). La diatomea *Skeletonema marinoi*, invece, una specie che forma intensi e ricorrenti fioriture in Nord Adriatico e produce elevate concentrazioni di PUA, risponde allo stress indotto dalle PUA con un'aumentata produzione di ROS (Reactive Oxygen Species) (A. Gallina e R. Casotti, com. pers.). Queste diverse risposte fisiologiche sono probabilmente alla base del diverso ruolo e successo ecologico di queste due specie.

Le PUA hanno un effetto negativo anche sui batteri marini. Sono state testate 32



colture di batteri marini che hanno mostrato tre tipi di risposta: nessun effetto, lieve riduzione della crescita, aumento della crescita (Ribalet *et al.*, 2008). Quest'ultimo effetto dimostra che alcuni batteri sono in grado di utilizzare le PUAs come fonte di carbonio per il proprio metabolismo e pone diversi interrogativi sulle interazioni a mare, soprattutto quando le concentrazioni di diatomee sono al loro massimo e i batteri sono a stretto contatto con esse e con i loro prodotti di escrezione e degradazione.

Nonostante i batteri mostrino in generale un'elevata resistenza alle PUAs, l'effetto di queste molecole si esercita rallentando il metabolismo batterico in maniera differenziale, a seconda dei gruppi coinvolti. Questo è stato dimostrato utilizzando metodi diretti di analisi delle comunità batteriche accoppiando la Fluorescence In Situ Hybridization e la Microautoradiografia con Leucina triziata. Questo metodo ha permesso di evidenziare come le PUAs abbiano un effetto sul metabolismo batterico, diverso a seconda del gruppo tassonomico. Inoltre queste conferiscono ai batteri resistenti un vantaggio nell'utilizzo delle risorse pur senza eliminare completamente i diretti competitori (Balestra *et al.*, 2011). In considerazione del fatto che durante una fioritura c'è una forte produzione di materia organica che viene utilizzata dai batteri, le PUAs possono dunque esercitare un ruolo fondamentale nel determinare la composizione della comunità batterica associata ed il suo funzionamento.

In mare le PUAs sono rilasciate tramite meccanismi indipendenti dalla predazione. Nonostante non siano ancora conosciuti i tempi di residenza ed i fattori che contribuiscono al loro decadimento, concentrazioni ecologicamente significative di PUAs sono state misurate a mare in zone interessate da blooms di diatomee (Vidoudez *et al.*, 2011). La presenza di PUAs a mare supporta le evidenze di laboratorio e stimola gli studi *in situ* per determinare il ruolo effettivo esercitato sulle varie componenti della rete trofica e anche i fattori che ne determinano l'osservata variabilità. Infatti, l'effetto delle fioriture di diatomee sui loro predatori è molto variabile di anno in anno e sembra essere indipendente dalle massime concentrazioni raggiunte. Questo suggerisce un'elevata diversità all'interno di una singola popolazione per quanto riguarda la produzione di PUAs, come evidenziato anche da dati sperimentali non pubblicati. I fattori che determinano la comparsa e la dominanza relativa di cloni ad alta capacità produttiva di PUAs sono ancora sconosciuti, ma sono sicuramente quelli che determinano l'effetto delle diatomee sui predatori durante le fioriture e quindi il passaggio di materia attraverso la rete trofica fino ai livelli superiori.

In conclusione, i metaboliti secondari prodotti dalle diatomee esercitano diverse funzioni, da quella antipredatoria a quella allelopatica e sottostanno a diversi processi, dalla comunicazione tra cellule alla determinazione della composizione delle comunità batteriche. Questi diversi ruoli contribuiscono alla biodiversità ed al funzionamento dell'ecosistema pelagico ed al successo ecologico di questo gruppo algale.

**Ringraziamenti:** Si ringrazia il Dr. Vincenzo Saggiomo per i suoi commenti su questo manoscritto.

## Bibliografia

- BALESTRA C., ALONSO-SAEZ L., GASOL J.M., CASOTTI R. (2011) - Group-specific effects on coastal bacterioplankton of polyunsaturated aldehydes produced by diatoms. *Aquat. Microb. Ecol.*, **63**: 123-131.
- CASOTTI R., MAZZA S., BRUNET C., VANTREPOTTE V., IANORA A., MIRALTO A. (2005) - Growth autoinhibition and genotoxicity of the diatom aldehyde 2-trans-4-trans decadienal on *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, **41**: 7-20.
- IANORA A., MIRALTO A., POULET S.A., CAROTENUTO Y., BUTTINO I., ROMANO G., CASOTTI R., POHNERT G., WICHARD T., COLUCCI D'AMATO L., TERRAZZANO G., SMETACEK V. (2004) - Aldehyde suppression of copepod recruitment in blooms of a ubiquitous planktonic diatom. *Nature*, **429**: 403-407.



- IANORA A., MIRALTO A., ROMANO G. (2012) - Antipredatory Defensive Role of Planktonic Marine Natural Products. In: Fattorusso E., Gerwick W.H., Tagliatela-Scafati O. (eds), *Handbook of Marine Natural Products*. Springer Science-Business Media: 711-748.
- MIRALTO A., BARONE G., ROMANO G., POULET S.A., IANORA A., RUSSO G.L., BUTTINO I., MAZZARELLA G., LAABIR M., CABRINI M., GIACOBBE M.G. (1999) - The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, **402**: 173-176.
- PAWLIK J.R. (2012) - Antipredatory defensive roles of natural products from marine invertebrates. In: Fattorusso E., Gerwick W.H., Tagliatela-Scafati O. (eds), *Handbook of Marine Natural Products*. Springer Science-Business Media: 677-710.
- RIBALET F., INTERTAGLIA L., LEBARON P., CASOTTI R. (2008) - Differential effect of three polyunsaturated aldehydes on the growth of thirty three marine bacterial strains. *Aquat. Toxicol.*, **86**: 249-255.
- VARDI A., FORMIGGINI F., CASOTTI R., DE MARTINO A., RIBALET F., MIRALTO A., BOWLER C. (2006) - A stress surveillance system based on calcium and nitric oxide in marine diatoms. *PLoS Biol.*, **4** (3): (e60).
- VIDOUEZ C., CASOTTI R., BASTIANINI M., POHNERT G. (2011) - Quantification of dissolved and particulate polyunsaturated aldehydes in the Adriatic Sea. *Marine Drug*, **9**: 500-513.

T.L. MAUGERI, C. GUGLIANDOLO, V. LENTINI

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,  
V.le F. Stagno d'Alcontres, 31 - 98166 Messina, Italia.  
tmaugeri@unime.it

## SITI DI IDROTHERMALISMO DELLE ISOLE EOLIE: AMBIENTI IDEALI PER LO STUDIO DELLA DIVERSITÀ MICROBICA MARINA

### *HYDROTHERMAL VENTS OF THE EOLIAN ISLANDS: SUITABLE SITES TO STUDY MARINE MICROBIAL DIVERSITY*

**Abstract** - *Microorganisms are at the basis of the hydrothermal system food web and they are involved in the transformation of inorganic compounds released from vent emissions. Geochemical conditions exert a strong selective pressure on the microbial structure and composition of the resident microbial community. Due to the intrinsically low cultivability of extremophilic prokaryotes, the diversity of microbial community in these systems has been investigated by using conventional molecular and next generation sequencing techniques. Prokaryotic community composition at a shallow hydrothermal system off Panarea Island, resolved by Illumina sequencing, revealed significant differences in comparison to previous phylogenetic studies performed by conventional molecular techniques.*

**Key-words:** *biodiversity, microorganisms, Mediterranean Sea, shallow hydrothermal systems.*

I siti termali sottomarini sono stati definiti “oasi di vita” e tale definizione è stata formulata da Jannasch quando, alla fine degli anni ‘70 a bordo del sottomarino Alvin, ha vissuto l’incredibile esperienza di ritrovare nell’apparente deserto, nero e buio, degli abissi marini organismi, quali anellidi, molluschi e vermi, di notevoli dimensioni ed in gran numero. Tali organismi dipendevano da procarioti chemioautotrofi capaci di utilizzare come fonte di energia i composti inorganici emessi dalle bocche idrotermali.

I sistemi idrotermali sono distinti in profondi (con profondità >200 m) e superficiali (con profondità <200 m). Nel Mar Mediterraneo i siti termali più studiati sono superficiali e si trovano nel Mar Egeo (Isola di Milos) e nel Mar Tirreno (Isole Eolie).

I sistemi termali sottomarini sono considerati ambienti estremi perché sono caratterizzati da condizioni fisico-chimiche e nutrizionali proibitive per la maggior parte degli organismi e rappresentano campi di indagine ideali per lo studio delle interazioni tra la geosfera e la biosfera. I fluidi emessi hanno caratteristiche di elevata salinità e contengono elevate concentrazioni di CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, CH<sub>4</sub> e H<sub>2</sub>. Le comunità biologiche che vivono nelle immediate vicinanze delle sorgenti (*vents*) sono influenzate dai fluidi idrotermali. L’effetto diretto delle emissioni sul biota è quello di escludere la maggior parte degli eucarioti che sono meno tolleranti dei procarioti ai forti gradienti chimici e fisici. Nell’arcipelago delle Eolie l’isola di Vulcano è stata definita “la casa degli ipertermofili” perché numerose specie ipertermofile di Batteri e di Archea sono state isolate dai suoi *vents* (Maugeri *et al.*, 2010a).

Tecniche di isolamento colturale hanno permesso di descrivere nuove specie di *Bacillus* e di *Geobacillus* e nuovi ceppi di specie già descritte (Maugeri *et al.*, 2001).

Meno conosciuta dell’isola di Vulcano, l’isola di Panarea è il sistema idrotermale superficiale più attivo dell’arcipelago delle Eolie. A largo della costa orientale di Panarea, in un’area di circa 4 Km<sup>2</sup>, gas ed acque calde, con temperature che raggiungono al punto di emissione i 130 °C, fuoriescono a profondità fino a 150 m. Tali acque calde sono caratterizzate da alte concentrazioni di sali in conseguenza dell’interazione ad alta temperatura tra acqua e roccia (Maugeri *et al.*, 2010a). Le specie di Batteri e Archea sinora isolate dai siti caldi di Panarea sono meno

numerosa di quelle di Vulcano, anche se negli ultimi anni a loro è stata rivolta una particolare attenzione per le possibili applicazioni biotecnologiche (Lentini *et al.*, 2007; Gugliandolo *et al.*, 2012).

La varietà delle forme di vita microscopiche che popolano i mari è molto più grande di quanto finora noto ed è stata definita “impressionante”. Grazie a metodi indipendenti dalla coltivazione o molecolari si sono notevolmente accresciute le nostre conoscenze sulle comunità microbiche che vivono nell’ambiente marino ed in siti caratterizzati da condizioni estreme. Proprio ai siti idrotermali sia superficiali che profondi si è riconosciuta la caratteristica di *hot spots* di biodiversità. La diversità dei microbi quando non è limitata alle differenze morfologiche si traduce in diversità funzionale che consente di ipotizzare il ruolo svolto dai microrganismi nell’ambiente in cui vivono.

Mediante la clonazione e il sequenziamento del 16S rDNA, amplificato via PCR, sono state raggiunte migliaia di sequenze diverse da campioni prelevati dagli oceani (Hagström *et al.*, 2002; Hong *et al.*, 2006). Ovviamente queste sequenze non rappresentano specie di per sé, ma unità operazionali tassonomiche (OTU) raggruppate con similarità genetica predefinita. Tali numeri sono ben lontani da quelli stimati con approcci teorici (Dykhuizen 1998; Curtis *et al.*, 2002), che arrivano a centinaia di milioni, per i quali la clonazione sarebbe ovviamente inadeguata per analizzare la reale diversità microbica.

Tecnologie di sequenziamento più potenti sono state recentemente messe a punto e sono state utilizzate per studiare la ricchezza microbica in campioni marini. Un tale approccio consiste nell’ottenere il metagenoma presente in un campione e nel romperlo in piccoli frammenti che vengono poi clonati e sequenziati (Venter *et al.*, 2004). Sebbene il numero totale di sequenze così ottenute sia enorme, solo una piccola percentuale corrisponde ai geni 16S rDNA. Sogin *et al.* (2006) introdussero un differente approccio basato sull’amplificazione preliminare, via PCR, del gene 16S rDNA a cui far seguire il sequenziamento solo di questi frammenti. Questa tecnica *pyrosequencing* (Ronaghi *et al.*, 1998), che consente di aumentare il numero di OTU di un ordine di grandezza, ha dato inizio ad una nuova era nello studio della diversità microbica offrendo per la prima volta l’opportunità di svelare contemporaneamente un gran numero di individui e la loro identità.

I siti di idrotermalismo superficiale delle Isole Eolie sono stati studiati con tecniche molecolari quali la *Fluorescent In Situ Hybridization*, la *Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism* e la *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE) pervenendo alla conclusione che, come i *vents* di Vulcano (Maugeri *et al.*, 2010a), anche quelli di Panarea ospitano popolazioni di Batteri e di Archea non ancora conosciute.

I risultati ottenuti mediante la tecnica DGGE hanno mostrato che le comunità microbiche dei siti superficiali presenti nell’area esalativa di Panarea sono costituite da poche popolazioni dominanti di Batteri e Archea, altamente specializzate (Maugeri *et al.*, 2009, 2010b). La ricchezza e la diversità delle popolazioni batteriche erano maggiori di quelle degli Archea, persino nel sito più profondo e più caldo denominato Black Point (Maugeri *et al.*, 2010b).

Recenti indagini su campioni di sedimento prelevati dal sito denominato Black Point mediante il metodo di *next-generation sequencing* (NGS) Illumina Solexa hanno consentito di analizzare la struttura e la diversità delle comunità dei procarioti (Batteri e Archea) più approfonditamente che in un recente passato.

Il sistema esaminato nel corso di tali indagini è localizzato fra gli isolotti di Lisca Nera e Bottaro, ad Est dell’isola di Panarea (Fig. 1).

I campioni di sedimento sono stati prelevati nelle immediate vicinanze del punto di emissione da operatori subacquei e conservati a -20 °C fino all’estrazione del DNA.

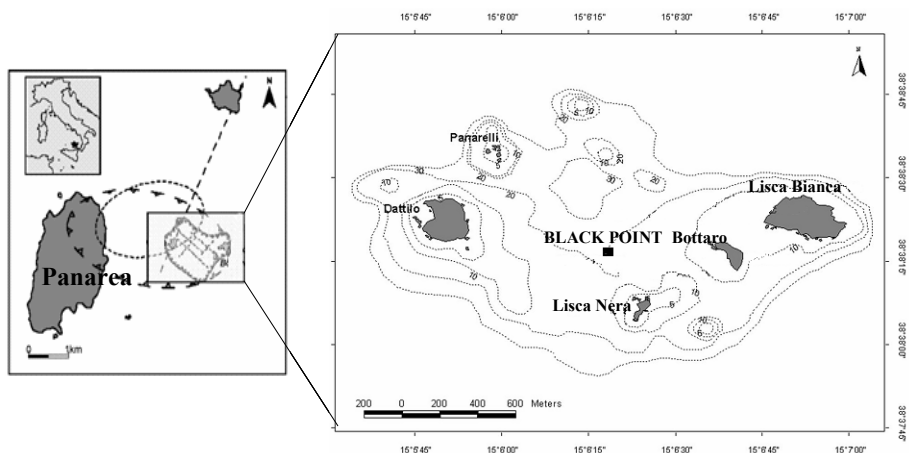


Fig. 1 - Mappa degli isolotti ad Est dell'isola di Panarea e sito di campionamento (■) Black Point.  
 Map of the islets at East of Panarea Island and Black Point site sampling (■) location.

Con il sistema Illumina Solexa (Genome Analyzer IIx) sono stati sequenziati i frammenti già amplificati della regione V3 del gene 16S rDNA di Batteri ed Archea considerata quella con il migliore potere di risoluzione tassonomico (Huse *et al.*, 2008) e la cui lunghezza (170-190 nucleotidi) è compatibile con la capacità di sequenziamento del metodo utilizzato. Le sequenze ottenute sono state sottoposte a metodi di purificazione, consistenti nella eliminazione di artefatti e di chimere (Cole *et al.*, 2009) e successivamente sono state raggruppate in unità operative tassonomiche alla distanza genetica dello 0,03%. Su tali unità operative sono stati calcolati gli indici sintetici di diversità (Shannon,  $H'$ ) e di ricchezza (ACE e Chao1). Tutte le sequenze purificate sono state analizzate con l'algoritmo naïve Bayesian classifier (Wang *et al.*, 2007) ed assegnate ai diversi gruppi tassonomici.

I valori degli indici sintetici ( $H'$ , Chao1 ed ACE) ottenuti per i cinque diversi campioni di sedimento indicano un'elevata diversità procariotica, maggiore di quella registrata nella stessa area in studi precedenti (Tab. 1). Al dominio dei Batteri è stato assegnato il 98,60% di sequenze purificate e l'1,04% a quello degli Archea, confermando che gli Archea rappresentano una componente minore della comunità microbica di questi siti. Soltanto lo 0,36% delle sequenze non era riconducibile ai domini suddetti (Tab. 1).

La maggior parte delle sequenze dei Batteri corrispondeva al phylum dei *Proteobatteri* seguito da *Firmicutes*, da *Actinobacteria*, da *Bacteroidetes* e da *Cyanobacteria*. Le classi più abbondanti dei Batteri erano quelle dei *Gamma*-, *Alfa*- ed *Epsilon*-*proteobatteri*, seguite dai *Delta*- e *Beta*-*proteobatteri*. I generi batterici più abbondanti erano riconducibili ad organismi coinvolti nel ciclo dello zolfo, elemento caratterizzante gli ambienti di idrotermalismo profondo e superficiale (Hirayama *et al.*, 2007).

La comunità degli Archea era dominata dagli *Euryarchaeota*, seguiti dai *Crenarchaeota* e dai *Korarchaeota*. Il genere più abbondante degli *Euryarchaeota* era *Palaeococcus*, un archaeon ipertermofilo anaerobio facoltativo ed eterotrofo, isolato in Giappone da una sorgente idrotermale profonda e più di recente isolato a Vulcano (Amend *et al.*, 2003) e dimostrato a Panarea (Maugeri *et al.*, 2009, 2010b).

La tecnica di sequenziamento Illumina si è rivelata più efficace rispetto alle tecniche molecolari "convenzionali" poiché ha consentito di analizzare milioni

di sequenze di elevata qualità. Tali studi hanno permesso di quantificare gruppi tassonomici molto abbondanti (*high abundant phylotypes*), confrontabili con quelli ottenuti mediante l'uso della tecnica DGGE *fingerprinting* (Maugeri *et al.*, 2009, 2010b), e gruppi tassonomici microbici poco abbondanti (*low abundant phylotypes*) ed altri ancora, definiti "rari". I filotipi poco abbondanti e quelli rari, che insieme rappresentano la *rare biosphere* delle profondità oceaniche (Sogin *et al.*, 2006), possono essere considerati come una riserva potenzialmente inesauribile di diversità genomica in grado di rispondere ad elementi generatori di stress poiché possono incrementare l'abbondanza relativa di popolazioni più idonee alle mutate condizioni ambientali.

Tab. 1 - Sintesi delle informazioni relative alle sequenze ottenute (dati medi) ed indici di diversità ( $H'$ ) e di ricchezza (Chao1 ed ACE) dei campioni di sedimento prelevati dai vents Black Point.

*Sequencing information and diversity estimates ( $H'$ , Chao1 and ACE) for sediment samples (expressed as average) from Black point vents.*

	Media	Deviazione standard ( $\pm$ )
<b>Numero totale di sequenze</b>	1.502.325	179.971
<b>Numero di sequenze purificate</b>	1.046.700	132.351
<b>Totale di Unità Operazionali</b>		
<b>Tassonomiche (distanza genetica 0,03%)</b>	21.925	13.356
<b><math>H'^*</math></b>	5,95	1,46
<b>Chao1*</b>	53.968	36.132
<b>ACE*</b>	85.609	60.979
<b>N° di sequenze purificate assegnate al dominio dei Batteri</b>	1.032.068	135.232
<b>N° di sequenze purificate assegnate al dominio degli Archea</b>	10.916	6.929

Il confronto delle sequenze ottenute da campioni provenienti dall'area idrotermale di Black Point con quelle presenti nelle banche dati ha mostrato che la comunità microbica è composta sia da popolazioni di Batteri e di Archea talvolta simili a quelli ritrovati nei siti termali profondi, con metabolismo chemiosintetico, che da batteri fotosintetici, quali i *Chloroflexi*, i *Cianobatteri* ed i *Chlorobi*, che sfruttano l'energia solare. Le complesse interazioni ambientali con i microrganismi estremamente versatili che vivono nei siti superficiali idrotermali possono essere l'origine dell'elevata ricchezza e biodiversità microbica che si riscontra in questi siti, piuttosto che in altri ambienti acquatici. Infatti in essi si assiste alla giustapposizione di differenti habitat che si traduce in un ulteriore incremento della diversità in specie. Entro la zona fottica si realizzano situazioni di habitat costiero, simili a quelle delle zone antropizzate, soggette all'attività umana (residenziale, industriale ecc.) ed altre più simili agli habitat profondi per le caratteristiche fisico-chimiche, in particolare per l'effetto della temperatura dei fluidi emessi (Tarasov, 2006). La molteplicità di habitat ed i valori termici più bassi rispetto a quelli registrati nei siti di idrotermalismo profondo danno credito all'ipotesi che la vita possa avere avuto origine nei siti

termali superficiali piuttosto che in quelli profondi con specie molto tolleranti alle condizioni estreme (temperatura, elevate concentrazioni di metalli pesanti, di radioattività, ecc.) (Guzman e Martin, 2009). Ciò rappresenta un ulteriore stimolo all'approfondimento delle nostre conoscenze su questi siti, quali *hot spots* di biodiversità.

### Bibliografia

- AMEND J.P., MEYER-DOMBARD D.R., SHETH S.N., ZOLOTOVA N., AMEND A.C. (2003) - *Palaeococcus helgesonii* sp. nov., a facultatively anaerobic, hyperthermophilic archaeon from a geothermal well on Vulcano Island, Italy. *Arch. Microbiol.*, **179**: 394-401.
- COLE J.R., WANG Q., CARDENAS E., FISH J., CHAI B., FARRIS R.J., KULAM-SYED-MOHIDEEN A.S., MCGARRELL D.M., MARSH T., GARRITY G.M., TIEDJE J.M. (2009) - The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Res.*, **37**: D141-D145.
- CURTIS T.P., SLOAN W.T., SCANNELL J.W. (2002) - Estimating prokaryotic diversity and its limits. *PNAS*, **99**: 10494-10499.
- DYKHUIZEN D.E. (1998) - Santa Rosalia revisited: Why are there so many species of bacteria? *Antonie Van Leeuwenhoek*, **73**: 25-33.
- GUGLIANDOLO C., LENTINI V., SPANÒ A., MAUGERI T.L. (2012) - New bacilli from shallow hydrothermal vents of Panarea Island (Italy) and their biotechnological potentialities. *J. Appl. Microbiol.*, **112**: 1102-1112.
- GUZMAN M.I., MARTIN S.T. (2009) - Prebiotic metabolism: production by mineral photoelectrochemistry of  $\alpha$ -ketocarboxylic acids in the reductive tricarboxylic acid cycle. *Astrobiology*, **9**: 833-842.
- HAGSTRÖM A., POMMIER T., ROHWER F., SIMU K., STOLTE W., SVENSSON D., ZWEIFEL U.L. (2002) - Use of 16S ribosomal DNA for delineation of marine bacterioplankton species. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**: 3628-3633.
- HIRAYAMA H., SUNAMURA M., TAKAI K., NUNOURA T., NOGUCHI T., OIDA H., FURUSHIMA Y., YAMAMOTO H., OOMORI T., HORIKOSHI K. (2007) - Culture-dependent and -independent characterization of microbial communities associated with a shallow submarine hydrothermal system occurring within a coral reef off Taketomi Island, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**: 7642-7656.
- HONG S.H., BUNGE J., JEON S.O., EPSTEIN S.S. (2006) - Predicting microbial species richness. *PNAS*, **103**: 117-122.
- HUSE S.M., DETHLEFSEN L., HUBER J.A., WELCH D.M., RELMAN D.A., SOGIN M.L. (2008) - Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genet* **4**: e1000255. doi:10.1371/journal.pgen.1000255.
- LENTINI V., GUGLIANDOLO C., MAUGERI T.L. (2007) - Identification of enzyme-producing thermophilic bacilli isolated from marine vents of Eolian Islands (Italy). *Ann. Microbiol.*, **57**: 355-361.
- MAUGERI T.L., BIANCONI G., CANGANELLA F., DANOVARO R., GUGLIANDOLO C., ITALIANO F., LENTINI V., MANINI E., NICOLAUS B. (2010a) - Shallow hydrothermal vents in the southern Tyrrhenian Sea. *Chem. Ecol.*, **26**: 285-298.
- MAUGERI T.L., GUGLIANDOLO C., CACCAMO D., STACKEBRANDT E. (2001) - A polyphasic taxonomic study of thermophilic bacilli from shallow, marine vents. *Syst. Appl. Microbiol.*, **24**: 451-468.
- MAUGERI T.L., LENTINI V., GUGLIANDOLO C., COUSIN S., STACKEBRANDT E. (2010b) - Microbial diversity at a hot shallow thermal vent in the Southern Tyrrhenian Sea (Italy). *Geomicrobiol. J.*, **27**: 1-11.
- MAUGERI T.L., LENTINI V., GUGLIANDOLO C., ITALIANO F., COUSIN S., STACKEBRANDT E. (2009) - Bacterial and archaeal populations at two shallow hydrothermal vents off Panarea Island (Eolian Islands, Italy). *Extremophiles*, **13**: 199-212.
- RONAGHI M., UHLÉN M., NYRÉN P. (1998) - A sequencing method based on Real-Time pyrophosphate. *Science*, **281**: 363-365.
- SOGIN M.L., MORRISON H.G., HUBER J.A., WELCH D.M., HUSE S.M., NEAL P.R., ARRIETA J.M., HERNDL G.J. (2006) - Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *PNAS*, **103**: 12115-12120.

- TARASOV V.G. (2006) - Effects of shallow-water hydrothermal venting on biological communities of coastal marine ecosystems of the Western Pacific. *Adv. Mar. Biol.*, **50**: 267-421.
- VENTER J.C., REMINGTON K., HEIDELBERG J.F., HALPERN A.L., RUSCH D., EISEN J.A., WU D., PAULSEN I., NELSON K.E., NELSON W., FOUTS D.E., LEVY S., KNAP A.H., LOMAS M.W., NEALSON K., WHITE O., PETERSON J., HOFFMAN J., PARSONS R., BADEN-TILLSON H., PFANNKUCH C., ROGERS Y.H., SMITH H.O. (2004) - Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, **304**: 66-74.
- WANG Q.G., GARRITY M., TIEDJE J.M., COLE J.R. (2007) - Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**: 5261-5267.



F. FANI, F. ZAFFONTI, F. POLONELLI\*, C. NUCCIO\*, L. LAZZARA

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università degli Studi di Firenze,  
Via Romana, 17 - 50125 Firenze, Italia.  
fabiola.fani@unifi.it

\*Dip. Biol. Evol., Università di Firenze, Via Micheli, 1 - 50121 Firenze, Italia.

## SEASONAL VARIATIONS OF PHOTO-ACCLIMATION IN THE PHYTOPLANKTON ASSEMBLAGES OF THE TUSCAN TYRRHENIAN SEA

### *VARIAZIONI STAGIONALI DELLA RISPOSTA DI FOTOACCLIMATAZIONE NEI POPOLAMENTI FITOPLANCTONICI DEL MAR TIRRENO TOSCANO*

**Abstract** - The photo-acclimation responses of natural phytoplankton from the Tuscan Tyrrhenian Sea were assessed in different seasons through the measurements of Photosynthesis-Irradiance curves (PEc) by pulse amplitude modulated (PAM, Walz) variable fluorescence. The analysis of photosynthetic parameter variations allowed distinguishing between low-light (shade-acclimation) and high-light (sun-acclimation) responses. The relationship between phytoplankton response to light and the structure of the water column (mixed or stratified) is discussed, together with the taxonomic composition. Variable fluorescence PEc measurement turned out to be particularly suitable in these low chlorophyll *a* concentration conditions, finally allowing the assessment of photosynthetic parameters as a valid alternative to more traditional gas exchange techniques.

**Key-words:** adaptation, irradiance, phytoplankton, photosynthesis.

**Introduction** - Photosynthesis-Irradiance curves (PEc) are a widely used tool for assessing phytoplankton response to light variations, i.e. photo-acclimation. A microalgal sample is exposed for a chosen time lag to a series of increasing irradiances  $E$  and the photosynthetic rate  $P$  is measured for each  $E$  value. Any PEc is associated to its photosynthetic parameters  $\alpha$  (the light-limited slope),  $P_{\max}$  (the light-saturated rate),  $E_k (=P_{\max}/\alpha)$ , the light-saturation index) and  $\beta$  (the light-inhibiting slope, usually detectable in aquatic autotrophs; Saggiomo *et al.*, 2010). Furthermore, the calculation of PE parameters is essential for primary productivity modelling (in particular  $P_{\max}^B$ , i.e.  $P_{\max}$  on a chlorophyll *a* basis as an index of phytoplankton productivity; Behrenfeld and Falkowski, 1997). The analysis of  $E_k$  allows distinguishing between a low-light acclimation (low  $E_k$ =shade-acclimation) and conversely a high-light acclimation (high  $E_k$ =sun-acclimation). As an alternative to PEc by gas exchange, the measurement of photosynthetic rate by pulse amplitude modulated (PAM, Walz) variable fluorescence is quick and non-invasive (Lazzara *et al.*, 2010b). In particular, the WaterPAM (Walz) has a high sensitivity, which makes it suitable for low chlorophyll-*a* suspensions ( $>0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Furthermore, the chance to measure automatic Rapid Light Curves (RLC; White and Critchley, 1999), choosing a very short acclimation time lag ( $<1$  min), allows assessing phytoplankton short-term scale responses just after sampling. Within the framework of the cross-border cooperation project MOMAR (Sistema integrato per il MONitoraggio e il controllo dell'ambiente MARino, 2010-2011), PEc were measured on natural phytoplankton samples collected on surface and at depth during three different seasons in the Tuscan Tyrrhenian Sea, and photosynthetic parameter variations were analysed in relation with the water column structure (mixed/stratified) as an indirect index of light-field variations. The aim of this study was the investigation of phytoplankton short-term scale response to light, so as to assess a preliminary seasonal characterization of photo-acclimation of the microalgal assemblages of the Tuscan Tyrrhenian Sea.



**Materials and methods** - Samples were collected at three sites of the Tuscany coast opposite San Rossore (SR), Piombino (PB) and Talamone (T), along cross transects with sampling stations at 3 km, 10 km and 25-30 km offshore, in spring 2010 (March-April), summer 2010 (July) and winter 2011 (January-February). At each station, temperature and salinity along the water column were measured by an Idronaut Ocean Seven CTD probe. Water samples for biological analysis were collected in 10-L Niskin bottles at discrete depths between the surface and 50 m. Pigments were detected by HPLC (Class VP HPLC system, Shimadzu) according to Barlow *et al.* (1997). PE curves were measured on both surface coastal (3 km) and offshore (25-30 km) samples, and deep offshore (30 km) samples (23 total samples) by variable fluorescence using the WaterPAM fluorometer (Walz). PE<sub>c</sub> were measured immediately after their collection following the RLC protocol: 4 subsamples of each sample were kept in the dark for 3 min, then exposed for 20 s at each PAR of a series of 9 (maximum PAR value: 1300  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). For each sample, a single curve was calculated after interpolation of the 4 replicates, according to Platt *et al.* (1980)'s equation using the SPSS-TC2D software (Lazzara *et al.*, 2010b). Finally, 500 mL water samples were collected and fixed in dark PVC flasks (neutralised formaldehyde at a final concentration of 1%) and analysed by counting after sedimentation of 50-100 mL on an inverted optical microscope (40 $\times$ , ZEISS IM, Zingone *et al.*, 2010).

**Results** - During winter, the mean photosynthetic parameters of all samples were similar ( $\alpha=0.17 \mu\text{mol e}^{-} \mu\text{E}^{-1}$ ,  $P_{\text{max}}=\text{ETR}_{\text{max}}$  (maximum Electron Transport Rate)=12.8  $\mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $E_k=76 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\beta=0.095 \mu\text{mol e}^{-} \mu\text{E}^{-1}$ , Fig. 1 left), thus indicating that both surface and deep, coastal and offshore phytoplankton were shade-acclimated under winter low-light conditions. Shade-acclimation was particularly stressed in the deep offshore sample of Talamone (T30m50:  $\text{ETR}_{\text{max}}=7.2 \mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $E_k=47 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), whose phytoplankton assemblage was dominated by Coccolithophores (>60%, with *Emiliania huxleyi* the most abundant species). A similar composition was detected in the corresponding surface sample T30, nevertheless PE<sub>c</sub> enabled us to differentiate two distinct photo-acclimation responses. In winter, the water column was homogeneously mixed (temperature around 14-15 °C and salinity ~37.5 psu, respectively) both in the coastal and offshore stations, with the exception of SR, which showed lower surface salinity values, due to freshwater inputs from the Arno river outlet. Due to vertical mixing, all phytoplankton assemblages were subjected to a similar light field, thus photo-acclimation responses were similar. Further, high Fv/Fm (mean: 0.598) indicate that PSII performance was efficient. High surface chlorophyll *a* was detected at the coastal stations SR3 (2.7  $\mu\text{g L}^{-1}$ , around  $10^6 \text{ cell/L}$ , 37% diatoms, with *Pseudo-nitzschia* sp. *delicatissima* complex dominating the assemblage, and 25% Cryptophyceae) and T3 (1.3  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 45% Cryptophyceae, 26% Coccolithophores - *Emiliania huxleyi* - and 17% diatoms - *Chaetoceros* spp.), while generally lower values were present at depth and offshore (mean: 0.55  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). In spring 2010, the surface coastal assemblage in SR3 was clearly sun-acclimated ( $E_k=133 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\text{ETR}_{\text{max}}=26.4 \mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\beta=0.027 \mu\text{mol e}^{-} \mu\text{E}^{-1}$ , Fv/Fm=0.479): here phytoplankton was confined to surface higher light-conditions due to the evident halocline (between surface and 10 m, minimum coastal salinity value: 36.2 psu). *Chaetoceros socialis* and *Thalassionema nitzschioides* were the dominant species (60% diatoms, 20% Cryptophyceae). Conversely,  $E_k$  was only 54  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in the deep (50 m) offshore sample SR28, which was confined to dim light at depth ( $\beta=0.177 \mu\text{mol e}^{-} \mu\text{E}^{-1}$ , Fv/Fm=0.527). This sample showed a different composition as well: 25% Cryptophyceae, unidentified nanoflagellates were abundant too, while diatoms were absent. Elsewhere, all surface samples were still generally shade-acclimated ( $E_k=82 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  at T3, 77  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  at P3, 75  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  at SR28; mean  $\beta=0.131$

$\mu\text{mol e}^- \mu\text{E}^{-1}$ ,  $F_v/F_m=0.474$ ). A shallow thermocline was detected between surface and 5 m at stations P, while the water column was still homogeneously mixed at stations T. The maximum chlorophyll *a* concentration was measured at surface at T3:  $1.1 \mu\text{g L}^{-1}$  (>50% Cryptophyceae, nanoflagellates were abundant, in particular *Pyramimonas* spp.), elsewhere it was homogeneous along the water column (mean:  $0.59 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Finally, in summer 2010 surface assemblages were all sun-acclimated (mean  $E_k=114 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), conversely deep samples were shade-acclimated (mean  $E_k=62 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , Fig. 1 right). A clear mixed layer was present between surface and 12 m, with the thermocline reaching 50 m, thus surface assemblages were confined into high-light conditions, while the deep ones experienced low-light. The comparison between surface and deep phytoplankton composition revealed that the dominant species were the same, but the relative ratios between classes changed: for example, in the offshore P25 station, nanoflagellates and Coccolithophores were abundant in surface waters, while dinoflagellates dominated at depth. The stratification appeared to play the main role in determining the different photo-acclimation responses and we can hypothesize that the variations in the relative abundances of the phytoplankton groups can reflect the different responses to light. Summer mean PSII efficiencies were similar to spring ( $F_v/F_m=0.482$ ), with the exception of the offshore assemblages in SR28, whose values were markedly lower (surface: 0.319, 50 m: 0.253). Both the two assemblages showed similar composition; in fact, they were dominated by the same classes (Dinoflagellates, Coccolithophores, Prasinophyceae) though in a slightly different relative ratio. Chlorophyll *a* was generally low both in surface and deep, coastal and offshore samples (mean:  $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ ). When studying the seasonal variability of mean  $\text{ETR}_{\text{max}}^{\text{B}}$ , an index of phytoplankton productivity, the summer values were around seven-fold higher ( $143 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} (\mu\text{g chl} a \text{ L}^{-1})^{-1}$ ) than in winter and spring ( $19$  and  $23 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} (\mu\text{g chl} a \text{ L}^{-1})^{-1}$ , respectively), thus indicating that in summer phytoplankton productivity was clearly higher though biomass was lower. An analogous observation has been made on  $\text{P}^{\text{B}}$  through the use of bio-optical models of pelagic primary production (Lazzara *et al.*, 2010a) in the Ligurian and North Tyrrhenian Seas.

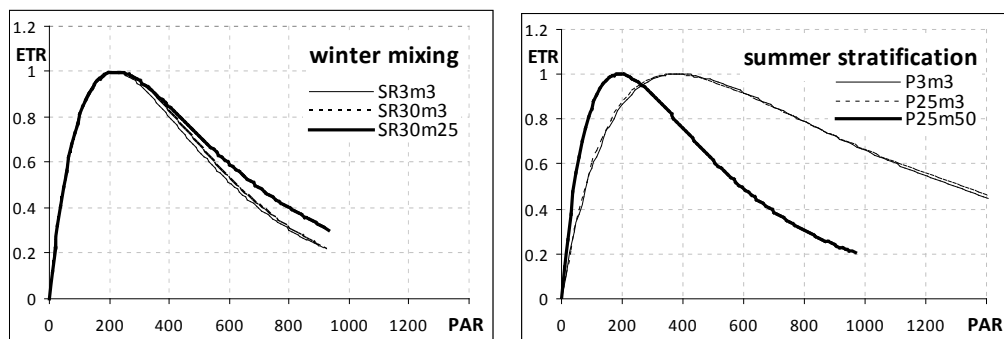


Fig. 1 - ETR-normalized Péc: in winter, the water column is homogeneously mixed and curves are similar (San Rossore, left), while curves are clearly different under conditions of summer stratification (Piombino, right).

Curve PE normalizzate per il valore di ETR: curve simili in condizione di rimescolamento verticale (San Rossore, sinistra), curve ben diversificate durante la stratificazione estiva (Piombino, destra).

**Conclusions** - A general seasonal variability in the photo-acclimation of phytoplankton from the Tuscan Tyrrhenian Sea was detected. The assemblages were

generally shade-adapted to winter low-light. This feature was more evident in the offshore deep samples at Talamone and the analysis of PE parameters revealed a different short-term acclimation, when compared to the corresponding surface sample, though a similar taxonomic composition. Shade-acclimation was still generally present in spring, with the exception of the San Rossore samples, where distinct responses were detected in a diatom dominated assemblage. In this case, the different taxonomic composition could partially explain the different responses to light. Finally, summer stratification could determine distinct whether shade or light acclimation in assemblages with similar composition but different relative abundances. Our preliminary study supports the choice of modulated variable fluorescence measurements as an effective tool in assessing *in situ* photo-acclimation of natural low-chlorophyll assemblages. Future investigations along our coasts should comprise further PE measurements and their interannual comparisons, with the aim to better characterize photo-acclimation ability in the water column and to eventually detect its link with the taxonomic composition of the assemblages.

## References

- BARLOW R.G., CUMMINGS D.G., GIBB S.W. (1997) - Improved resolution of mono- and divinyl chlorophylls *a* and *b* and zeaxanthin and lutein in phytoplankton extracts using reverse-phase C-8 HPLC. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **161**: 303-307.
- BEHRENFELD M.J., FALKOWSKI P.J. (1997) - A consumer's guide to phytoplankton primary productivity models. *Limnol. Oceanogr.*, **42**: 1479-1491.
- LAZZARA L., MARCHESE C., MASSI L., NUCCIO C., MASELLI F., SANTINI C., PIERI M., SORANI V. (2010a) - Sub-regional patterns of primary production annual cycle in the Ligurian and North Tyrrhenian seas, from satellite data. *Italian J. Remote Sens.*, **42** (2): 87-102.
- LAZZARA L., SAGGIOMO V., FANI F., MANGONI O., SANTARPIA I. (2010b) - Parametri fotosintetici da fluorescenza variabile modulata (PAM). In: Socal G., Buttino I., Cabrini M., Mangoni O., Penna A., Totti C. (eds), Metodologie di campionamento e di studio del plancton marino. *ISPRA, Manuali e Linee guida*, **56**: 345-351.
- PLATT T., GALLEGOS C.L., HARRISON W.G. (1980) - Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.*, **38**: 687-701.
- SAGGIOMO V., LAZZARA L., MANGONI O., FANI F., SANTARPIA I. (2010) - Parametri fotosintetici: curve fotosintesi-IR-radianza (PvsE - Metodo<sup>14</sup>C). In: Socal G., Buttino I., Cabrini M., Mangoni O., Penna A., Totti C. (eds), Metodologie di campionamento e di studio del plancton marino. *ISPRA, Manuali e Linee guida*, **56**: 339-344.
- WHITE A.J., CRITCHLEY C. (1999) - Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynth. Res.*, **59**: 63-72.
- ZINGONE A., TOTTI C., SARNO D., CABRINI M., CAROPPO C., GIACOBBE M.G., LUGLIÈ A., NUCCIO C., Socal G. (2010) - Fitoplancton: metodiche di analisi quali-quantitativa. In: Socal G., Buttino I., Cabrini M., Mangoni O., Penna A., Totti C. (eds), Metodologie di campionamento e di studio del plancton marino. *ISPRA, Manuali e Linee guida*, **56**: 213-237.

C. LAURITANO, Y. CAROTENUTO, G. PROCACCINI, A. IANORA

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale - 80121 Napoli, Italia.  
chiara.lauritano@szn.it

## CHANGES IN THE MOLECULAR RESPONSE TO THE SAME TOXIC DIATOM DIET AMONG DIFFERENT *CALANUS HELGOLANDICUS* POPULATIONS

### CAMBIAMENTI NELLA RISPOSTA MOLECOLARE ALLA DIETA CON LA STESSA DIATOMEA TOSSICA IN DIFFERENTI POPOLAZIONI DI *CALANUS HELGOLANDICUS*

**Abstract** - Diatoms are key phytoplankton organisms and one of the main primary producers in aquatic ecosystems. However, many diatom species produce a series of secondary metabolites, collectively termed oxylipins, which disrupt development in the offspring of grazers that feed on these unicellular algae. We hypothesized that different populations may deal differently with the same oxylipin-producing diatom diet. Here, we provide comparative studies of expression level analyses of selected genes of interest for two *Calanus helgolandicus* (Copepoda) populations from the Swedish western coast and Mediterranean Sea. The two groups were incubated with the same strain of the diatom *Skeletonema marinoi*. Expression levels of detoxification enzymes and stress proteins (e.g. glutathione *S*-transferase, glutathione synthase, superoxide dismutase, catalase, aldehyde dehydrogenases and heat shock proteins) and proteins involved in apoptosis regulation and cell cycle progression were analyzed in copepods after 24, 48 and 120 hours of feeding on the diatom or a control diet. Strong differences between the two groups of copepods were obtained: the Mediterranean population was more susceptible to the toxic *S. marinoi* diet compared to the Swedish population. This study opens new perspectives for understanding the cellular mechanisms underlying toxicity during diatom blooms.

**Key-words:** gene expression, zooplankton, diatoms, *Calanus helgolandicus*, Adriatic Sea.

**Introduction** - Diatoms are key phytoplankton organisms in the world's oceans and are considered essential in the transfer of energy through marine food chains. However, in the last 20 years, numerous studies have shown that these unicellular plants at times produce secondary metabolites with toxic effects on reproductive processes in marine organisms, such as copepods, sea urchins, sea stars, polychaetae worms and ascidians as reviewed by Ianora and Miralto (2010). Diatom metabolites are the end-products of a lipooxygenase/hydroperoxide lyase metabolic pathway initiated by damage to algal cells, as occurs through grazing by predators (Ianora and Miralto, 2010). Cell damage activates lipase enzymes, which liberate polyunsaturated fatty acids (PUFAs) from cell membranes that are immediately oxidized and cleaved within seconds to form polyunsaturated aldehydes (PUAs) and a plethora of other metabolites collectively termed oxylipins. Oxylipins, and PUAs in particular, can compromise embryonic and larval development in marine organisms by inhibiting fertilization processes, reducing larval fitness and inducing malformations in the offspring of grazers that feed on these unicellular algae (Ianora and Miralto, 2010). In recent studies (Lauritano *et al.*, 2011a,b), the authors showed that expression levels of selected genes of interest (GOI), involved in generic stress response and in the specific aldehyde metabolism, were significantly reduced when females of the copepod *Calanus helgolandicus* were fed for two days on diatom *Skeletonema marinoi*, which is known to produce high quantities of PUAs and several other oxylipins including fatty acid hydroperoxides, hydroxyl- and keto-fatty acids, and epoxyalcohols. Up to now, it is not known if distinct *C. helgolandicus* populations show differences in the response mechanism to stressors. Hence, the aim of the present study was to explore the toxic effects of ingestion of *S. marinoi* on gene expression levels in

two *C. helgolandicus* populations sampled in distinct geographic localities: Gullmar Fjord (Swedish western coast) and the North Adriatic Sea (Mediterranean Sea). The two copepod populations live in different environments and are exposed to different diatom blooms in terms of species composition (Miralto *et al.*, 1999; Godhe & Harnstrom, 2010). This is the first study to analyze gene expression patterns in different *C. helgolandicus* populations exposed to the same toxic diatom diet.

**Materials and methods** - *Calanus helgolandicus* specimens were collected in two different geographical locations: Swedish western coast (Gullmar Fjord), and North Adriatic Sea (Mediterranean Sea). *C. helgolandicus* females were sampled under a Leica stereomicroscope and transferred to triplicate 1 L bottles (20 animals/bottle) filled with 0.22  $\mu\text{m}$  filtered sea water (FSW) enriched with either unialgal diets of the control non-oxylipin producing flagellate *Rhodomonas baltica* (7500-8000 cells/ml) or the oxylipin-producing diatom *Skeletonema marinoi* (45.000-60.000 cells/ml) provided *ad libitum*. Both algal strains belong to the SZN culture collection. Every day FSW and new food was added to each bottle at the same concentration as the day before. After 24, 48 and 120 h, triplicate sub-samples of 1-5 animals for each diet were collected and transferred to FSW for 24 h to eliminate any algal residues in the gut. After this, each replicate was carefully transferred to 500  $\mu\text{l}$  Trizol Reagent (Invitrogen), frozen directly in liquid nitrogen and stored at -80 °C until DNA or RNA extraction. Total DNA was extracted from a pool of 5 animals of the Adriatic Sea copepod population and from 22 single animals (22 replicates) of the Swedish coast, according to Trizol manufacturer's protocol (Invitrogen). In both cases, primers for a 518 bp fragment of the mitochondrial Cytochrome Oxidase subunit I region (COI) (Papadopoulos *et al.*, 2005) were used to key out specimens and populations. Total RNA was extracted using Trizol manufacturer's protocol (Invitrogen) and RNA quality and quantity were assured by Nanodrop. An amount of 1  $\mu\text{g}$  RNA were retrotranscribed in cDNA (complementary DNA) using the iScript<sup>TM</sup> cDNA synthesis kit (BioRad). The cDNA was used as template to analyze by RT-qPCR the expression levels of the following genes: heat shock protein families 40 and 70 (HSP40 and HSP70), activated in response to various environmental stress factors, the cytochrome P450 family 4 monooxygenase (CYP4) involved in oxidative modification of chemicals into more hydrophilic metabolites to enhance their elimination/inactivation, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) responsible for the reactive oxygen species (ROS) detoxification, glutathione synthase (GSH-S) and glutathione S-transferase (GST) for their antioxidant activity, six aldehyde dehydrogenase (ALDH) isoforms (ALDH2, ALDH3, ALDH6, ALDH7, ALDH8 and ALDH9) involved in aldehyde detoxification and, finally, an inhibitor of apoptosis protein (IAP), the cell cycle and apoptosis regulatory 1 protein (CARP), the cellular apoptosis susceptibility protein (CAS) and the microtubule subunits (ATUB, BTUB) involved in apoptosis regulation and cell-cycle progression. RT-qPCR was performed in MicroAmp Optical 384-Well reaction plate (Applied Biosystem) in a Viia7 Real Time PCR System (Applied Biosystem). To study expression levels for each target gene relative to the most stable reference gene (RG), S20 (Lauritano *et al.*, 2011a), we used the REST tool (Relative expression software tool) that also allow statistical analysis using Pair-Wise Fixed Reallocation Randomization Test. Copepods fed on *R. baltica* were used as control condition.

**Results** - Results from the COI sequencing confirm that all individuals sampled are *C. helgolandicus* and that the two geographical populations are distinct, but belong to the same species. Gene expression patterns of GOI in the two different populations exposed for 24, 48 and 120 h to the oxylipin-producing diatom *S.*



*marinoi* are summarized in Tab. 1. Interestingly, the Swedish population seemed to be more able to cope with the toxic diet by activating a series of stress/detoxification enzymes after both 24 and 48 h. On the contrary, the Adriatic population showed a general pattern of down regulation after 48 h, but seemed to recover after 120 h of the diatom exposure.

Tab. 1 - Up- or down- regulation (UP or DOWN, respectively) in GOI expression patterns and statistical significance (\* for p value<0.05, \*\* for p value<0.01 and \*\*\* for p value<0.001, ns: not significant), in two different *C. helgolandicus* populations exposed for 24, 48 and 120 h to the same toxic diatom *S. marinoi*.

*Espressione genica (UP per la sovra-espressione e DOWN per la sotto-espressione) dei GOI e significatività statistica (\* per p<0.05, \*\* per p<0.01 e \*\*\* per p<0.001, ns: non significativo) nelle due popolazioni di C. helgolandicus esposte alla stessa diatomea tossica S. marinoi.*

Genes	24 h		48 h		120 h	
	Adriatic	Swedish	Adriatic	Swedish	Adriatic	Swedish
HSP70	Up*	ns	ns	Up***	ns	ns
HSP40	ns	ns	ns	Up***	Up*	ns
CYP	ns	ns	Down*	Up***	ns	ns
GST	ns	Up***	Up***	ns	ns	Down***
GSH-S	ns	ns	ns	Up***	Up***	Down***
CAT	ns	Up***	ns	Up***	ns	ns
SOD	ns	Up***	ns	Up***	ns	ns
ALDH9	ns	Up***	ns	Up***	ns	ns
ALDH8	ns	ns	Down*	Up***	ns	ns
ALDH7	ns	Up***	ns	Up***	Up**	Up*
ALDH6	ns	ns	Down*	Up***	ns	Up*
ALDH3	ns	ns	Down*	Up***	ns	ns
ALDH2	ns	Up***	ns	Up***	Up**	ns
CARP	ns	ns	ns	Up***	ns	ns
CAS	ns	ns	Down*	Up***	ns	ns
IAP	ns	ns	ns	Up***	ns	ns
A TUB	ns	ns	ns	Up***	Up*	ns
B TUB	ns	ns	ns	ns	Up***	ns

**Conclusions** - GOI expression levels in the two *C. helgolandicus* populations after the exposure to the same strain of the oxylipin-producing diatom *S. marinoi* were significantly different with the Mediterranean population being more susceptible to the toxic diet compared to the Swedish one. We suggest that the different response to the same stressor is due to a possible adaptation of each population to the local environment. Both *Calanus* populations are exposed in nature to the presence of *S. marinoi*: in the Swedish western coast, it represents the most abundant diatom species and blooms almost two times per year (Godhe & Harnstrom, 2010), while in the Adriatic Sea this diatom is known to form intense, but short, winter-spring blooms (Miralto *et al.*, 1999). Similar studies have been performed on other marine (Ger *et al.*, 2011) or freshwater organisms (Brzezinski *et al.*, 2010), but it is the first time that such comparative studies have been performed in copepods. Our results suggest that there are population-related responses of copepods exposed to the same toxic diatom thereby differentially impacting local food webs and economically important

fisheries. This study opens new perspectives for understanding the molecular and cellular mechanisms underlying toxicity during diatom blooms.

## References

- BRZEZIŃSKI T., DAWIDOWICZ P., VON ELERT E. (2010) - The role of food quality in clonal succession in *Daphnia*: an experimental test. *Oecologia*, **164** (2): 379-388.
- GER K.A., PANOSSO R., LUERLING M. (2011) - Consequences of acclimation to *Microcystis* on the selective feeding behavior of the calanoid copepod *Eudiaptomus gracilis*. *Limnol. Oceanogr.*, **56** (6): 2103-2114.
- GODHE A., HARNSTROM K. (2010) - Linking the planktonic and benthic habitat: genetic structure of the marine diatom *Skeletonema marinoi*. *Mol. Ecol.*, **19**: 4478-4490.
- IANORA A., MIRALTO A. (2010) - Toxigenic effects of diatoms on grazers, phytoplankton and other microbes: a review. *Ecotoxicology*, **19** (3): 493-511.
- LAURITANO C., BORRA M., CAROTENUTO Y., BIFFALI E., MIRALTO A., PROCACCINI G., IANORA A. (2011a) - First molecular evidence of diatom effects in the copepod *Calanus helgolandicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **404** (1-2): 79-86.
- LAURITANO C., BORRA M., CAROTENUTO Y., BIFFALI E., MIRALTO A., PROCACCINI G., IANORA A. (2011b) - Molecular evidence of the toxic effects of diatom diets on gene expression patterns in copepods. *PLoS One*, **6** (10): e26850.
- MIRALTO A., BARONE G., ROMANO G., POULET S.A., IANORA A., RUSSO G.L., BUTTINO I., MAZZARELLA G., LAABIR M., CABRINIK M., GIACOBBE M.G. (1999) - The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, **402**: 173-176.
- PAPADOPOULOS L.N., PEIJNENBURG K., LUTTIKHUIZEN P.C. (2005) - Phylogeography of the calanoid copepods *Calanus helgolandicus* and *C. euxinus* suggests Pleistocene divergences between Atlantic, Mediterranean, and Black Sea populations. *Mar. Biol.*, **147**: 1353-1365.

G. SOCAL, A. BOLDRIN, A. LUCHETTA<sup>1</sup>, F. BERNARDI AUBRY, C. CANTONI<sup>1</sup>,  
F. CERINO<sup>2,4</sup>, L. LANGONE<sup>3</sup>, S. MISEROCCHI<sup>3</sup>, C. TOTTI<sup>4</sup>, M. TURCHETTO

CNR-ISMAR, Castello 1364/b - 30122 Venezia, Italia.  
giorgio.socal@ismar.cnr.it

<sup>1</sup>CNR-ISMAR, Via Romolo Gessi, Trieste, Italia.

<sup>2</sup>INOGS-BIO, Via Piccard, Trieste, Italia.

<sup>3</sup>CNR-ISMAR, Via Gobetti, Bologna, Italia.

<sup>4</sup>DISVA-UNIVPM, Via Brece Bianche, Ancona, Italia.

## COMUNITÀ FITOPLANCTONICHE E SISTEMA CARBONATO NELL'ADRIATICO MERIDIONALE

### *PHYTOPLANKTON COMMUNITIES AND CARBONATE SYSTEM IN THE SOUTHERN ADRIATIC*

**Abstract** - In the framework of the VECTOR Project, biogeochemical properties and phytoplankton communities of the upper water column have been measured in three seasonal conditions at the centre of Southern Adriatic (SA). Our results, although based on few seasonal samplings, suggest a correlation between the seasonal cycles of phytoplankton and the carbonate system in SA. In consequence it confirms that shifts of carbonate system due to CO<sub>2</sub> invasion (ocean acidification) might have great impact on the C-budget in the area.

**Key-words:** Southern Adriatic Sea, phytoplankton, pH, sediment traps, ocean acidification impact.

**Introduzione** - Gli effetti di un aumento della CO<sub>2</sub> disciolta nell'ecosistema marino e sui cicli biogeochimici sono argomento di grande attualità ed oggetto di dibattito scientifico (Vidussi *et al.*, 2011). Tuttavia molti aspetti riguardanti le possibili ricadute sui sistemi pelagici e bentonici non sono del tutto noti. Ad esempio non è ancora completamente chiaro il meccanismo attraverso il quale l'ecosistema marino possa smaltire questo eccesso di carbonio inorganico. Non esistono indicazioni univoche sull'effetto dell'aumento della pCO<sub>2</sub> sulla produzione primaria: da un lato è ipotizzabile che il carbonio inorganico in eccesso incrementi la produzione primaria portando ad un aumento del POC, come suggerito da esperimenti in mesocosmo (Riebesell *et al.*, 2007) anche se non sempre riportabili alle condizioni naturali. Esistono inoltre indicazioni che l'aumento della pCO<sub>2</sub> possa portare attraverso l'incremento del processo di fotosintesi ad un aumento dei rapporti di Redfield (C:N e C:P) ed ancora a un aumento del DOC (Riebesell *et al.*, 2007). In sintesi, il sistema carbonato (CO<sub>2</sub> totale disciolta, ioni bicarbonato e carbonato) ha un ruolo fondamentale nell'influenzare la produzione primaria e il ciclo vitale del fitoplancton in mare aperto. Modificazioni significative del pH e del sistema carbonato note come fenomeno di acidificazione dei mari sono state ormai ampiamente documentate per le acque marine superficiali a livello globale (Feely *et al.*, 2009) e recentemente anche per il mare Mediterraneo (Touratier e Goyet, 2011; Luchetta *et al.*, 2010). Nella prospettiva di determinare il possibile impatto dei cambiamenti degli equilibri chimici sulle comunità fitoplanctoniche, questo studio si propone di analizzare le relazioni tra il sistema pH-carbonato e le comunità fitoplanctoniche in una zona di mare aperto dell'Adriatico meridionale (SA), con particolare attenzione al fitoplancton calcareo. Nell'ambito del progetto nazionale VECTOR, sono state analizzate le proprietà biogeochimiche e le comunità fitoplanctoniche dello strato fotico della colonna d'acqua in tre situazioni stagionali in un'area centrale del SA. Inoltre, la dinamica delle comunità fitoplanctoniche è stata analizzata considerando l'export di materia organica particellata dallo strato eufotico tramite i campioni raccolti da una trappola di sedimentazione posizionata alla base della zona eufotica.



**Materiali e metodi** - Le proprietà idrochimiche e biologiche dello strato superiore della colonna d'acqua (0-100 m) sono state analizzate a settembre 2007, febbraio e luglio 2008, nel centro del bacino meridionale, in corrispondenza della fossa Sud Adriatica nella stazione AM1, profondità 1225 m (Fig. 1). Nella stessa stazione la stima dei flussi verticali del materiale sospeso è stata ottenuta dal materiale sedimentato in una trappola posta a 150 m (Technicap PPS3/3) operativa da novembre 2006 ad agosto 2008. Sono stati determinati i seguenti parametri idrologici, idrochimici e biologici: temperatura, salinità, ossigeno disciolto, nutrienti inorganici disciolti ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{SiO}_4$  e  $\text{PO}_4$ ) abbondanza e biomassa dei principali gruppi del fitoplancton: diatomee, coccolitofori e flagellati. Sono stati analizzati i seguenti parametri del sistema carbonato: pH su "scala totale" a 25 °C ( $\text{pH}_{\text{T25}^\circ}$ ) misurato con metodo spettrofotometrico (precisione  $\pm 0.003$ ); alcalinità totale ( $A_{\text{T}}$ ) con una titolazione potenziometrica a 25 °C (precisione  $\pm 3 \mu\text{mol/kg}$ ); i parametri derivati del sistema carbonato ( $\text{pCO}_2$ , DIC,  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{CO}_3^{=}$ ,  $\Omega_{\text{Ar}}$ ,  $\Omega_{\text{Ca}}$ ) sono stati calcolati da pH,  $A_{\text{T}}$ , salinità, temperatura,  $\text{SiO}_4$ ,  $\text{PO}_4$  (Lewis e Wallace, 1998). Nei campioni da trappola sono stati misurati il flusso di massa totale (TMF) ed i flussi di carbonio organico (OC), carbonati ( $\text{CaCO}_3$ ) e silice biogenica (BSi).

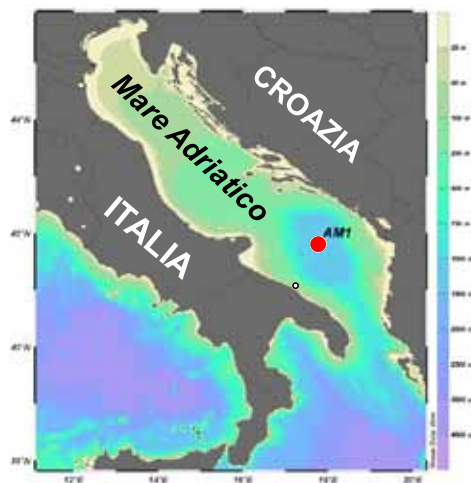


Fig. 1 - Stazione di campionamento.  
Sampling station.

**Risultati** - Le comunità fitoplanctoniche nel SA hanno mostrato una evidente stagionalità (Fig. 2): in autunno la principale frazione della biomassa era rappresentata da diatomee; nel tardo inverno i coccolitofori costituivano una frazione superiore al 30% della biomassa totale, mentre in estate i flagellati raggiungevano valori oltre l'80%. I flussi verticali del POC, generalmente strettamente dipendenti dalle attività autotrofe dello strato eufotico, sono risultati ben correlati con il flusso dei carbonati. Considerando il fitoplancton calcareo (principalmente coccolitofori) come la principale fonte di  $\text{CaCO}_3$  e quello siliceo (principalmente diatomee) come fonte di silice biogenica (BSi) ed analizzando l'export dei componenti biogenici nel SA, si è osservata una successione di diversi gruppi fitoplanctonici durante l'anno. La caratterizzazione del materiale sedimentato nella trappola ha dimostrato che i bloom nello strato eufotico rappresentavano eventi a breve scala temporale

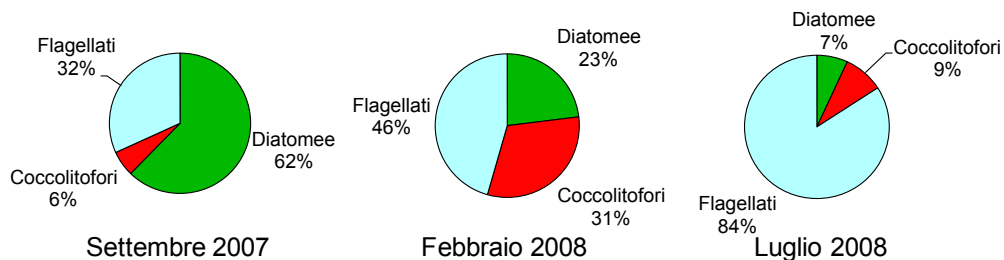


Fig. 2 - Distribuzioni percentuali della biomassa dei principali gruppi fitoplanctonici durante le tre situazioni stagionali.

*Percent biomass of main phytoplankton groups during three seasonal events.*

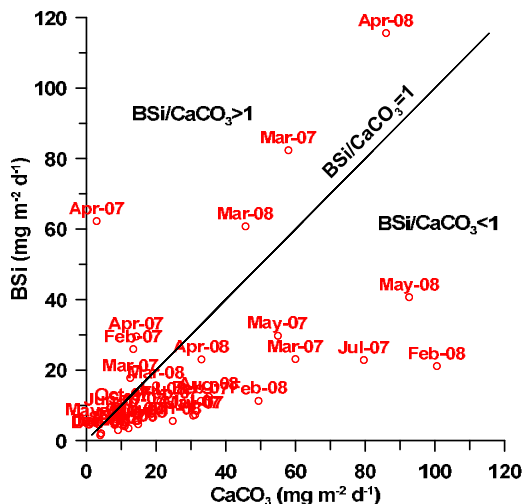


Fig. 3 - Rapporto  $BSi/CaCO_3$  nei campioni da trappola (da Turchetto *et al.*, 2012).

*BSi/CaCO<sub>3</sub> ratio in trap samples (from Turchetto *et al.*, 2012).*

prevalenza del fitoplancton siliceo soprattutto in quel periodo. Nelle situazioni esaminate i nanoflagellati sono apparsi il gruppo maggiormente influenzato dalle condizioni ambientali: le loro biomasse sono state direttamente correlate con il  $pH_{T25^\circ}$  ( $p < 0.01$ ) ed inversamente con le concentrazioni dei nutrienti disciolti. Le relazioni delle condizioni ambientali di  $pH$  con i coccolitofori sono risultate meno significative (Fig. 4).

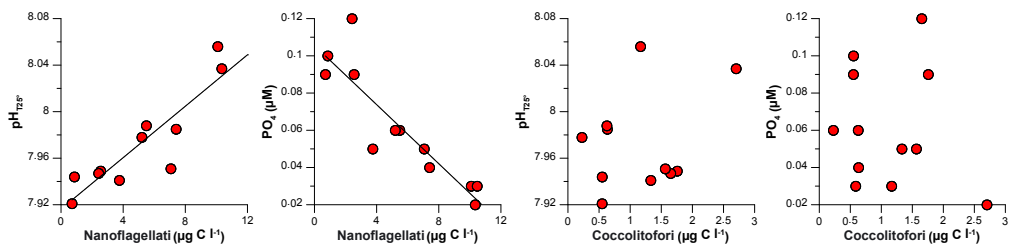


Fig. 4 - Relazioni tra la biomassa dei nanoflagellati e dei coccolitofori e  $pH_{T25^\circ}$  e concentrazione di  $PO_4$ .

*Relationships between nanoflagellate and coccolithophore biomass with  $pH_{T25^\circ}$  and  $PO_4$  concentration.*

In febbraio 2008, in corrispondenza di un aumento della biomassa dei coccolitofori nei primi 30 m della colonna d'acqua, si è osservato un decremento di nutrienti e del DIC, insieme ad un aumento di ossigeno disciolto, probabilmente in conseguenza dei processi di produzione primaria. È interessante notare la contemporanea diminuzione di alcalinità totale, caratteristica del processo di biocalcificazione, che conferma l'utilizzo biologico dello ione carbonato per la costruzione dei rivestimenti calcarei dei coccolitofori (Fig. 5).

(innesco, raggiungimento del picco e decrescita in meno di 15 giorni). Le diatomee hanno evidenziato dei picchi nel tardo inverno-inizio primavera, mentre si è rilevata un'evidente crescita dei coccolitofori in febbraio 2008, come indicato anche dalla concentrazione della clorofilla in superficie, ottenuta da immagini satellitari. Da queste analisi appare che gli organismi a rivestimento calcareo giocano un ruolo rilevante nel SA, e il flusso dei carbonati a scala annuale è stato stimato in  $11 \text{ g } CaCO_3 \text{ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ . La rilevanza della comunità a coccolitofori nel SA è ben evidenziata dal rapporto  $BSi/CaCO_3$ ; nei campioni di trappola questo rapporto era  $< 1$  in quasi tutto l'arco dell'anno (Fig. 3), mentre ha assunto valori  $> 1$  nel periodo primaverile (marzo-aprile), indicando una

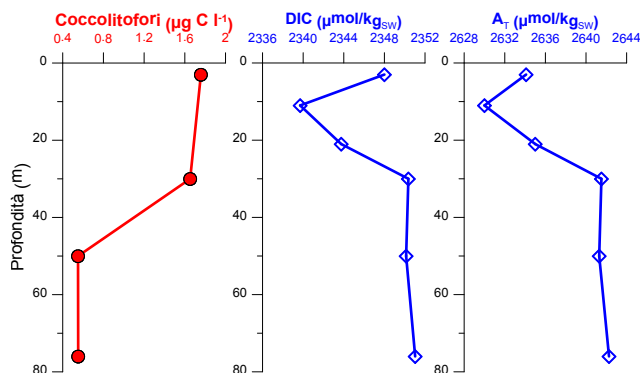


Fig. 5 - Distribuzione verticale della biomassa dei coccolitofori, del carbonio inorganico disciolto (DIC) e dell'alcalinità totale ( $A_T$ ) in febbraio 2008.

*Vertical distribution of coccolithophore biomass, Dissolved Inorganic Carbon (DIC) and total alkalinity ( $A_T$ ) in February 2008.*

**Conclusioni** - La successione del fitoplancton nel SA è caratterizzata da eventi di crescita sviluppatasi a breve scala temporale per i diversi gruppi. Si conferma che i coccolitofori giocano un ruolo fondamentale nell'export verticale della materia organica. Questa analisi preliminare, condotta su dati raccolti nell'ambito di progetti a largo respiro, indica quanto sia importante approfondire lo studio delle relazioni tra la biomassa prodotta, la successione del fitoplancton e gli equilibri del sistema carbonato nel SA, mettendo in rilievo come le modificazioni nel sistema carbonato possano avere un grande impatto sulla catena trofica. Il SA è risultato un bacino altamente dinamico e la variabilità nella sue componenti biologiche stressate dai fattori ambientali non permette ancora valutazioni certe sugli effetti dei cambiamenti, se non in seguito ad una programmazione di rilevanti sforzi di ricerca con monitoraggi regolari e mirati.

### Bibliografia

- FEELY R.A., DONEY S.C., COOLEY S. (2009) - Ocean Acidification: Present conditions and future changes in a High- $\text{CO}_2$  world. *Oceanography*, **22** (4): 36-47.
- LEWIS E., WALLACE D.W.R. (1998) - Program developed for  $\text{CO}_2$  system calculations, RNL/CDIAC-105. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, TN.
- LUCHETTA A., CANTONI C., CATALANO G. (2010) - New observations of  $\text{CO}_2$ -induced acidification in the northern Adriatic Sea over the last quarter century. *Chem. Ecol.*, **26** (1): 1-17.
- RIEBESELL U., SCHULZ K.G., BELLERBY R.G.J., BOTROS M., FRITSCHÉ P. (2007) - Enhanced biological carbon consumption in a high  $\text{CO}_2$  ocean. *Nature*, **450**: 545-548.
- TOURATIER F., GOYET C. (2011) - Impact of the Eastern Mediterranean Transient on the distribution of anthropogenic  $\text{CO}_2$  and first estimates of acidification for the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res. I*, **58**: 1-15.
- TURCHETTO M.M., BOLDRIN A., LANGONE L., MISEROCCHI S. (2012) - Physical and biogeochemical processes controlling particle fluxes variability and carbon export in the Southern Adriatic. *Cont. Shelf Res.*, **44**: 72-82.
- VIDUSSI F., MOSTAJIR B., FOUILLAND E., LE FLOC'H E., NOUGUIER J., ROQUES J., GOT P., THIBAUT-BOTHA D., BOUVIER T., TROUSSELIÉ M. (2011) - Effects of experimental warming and increased ultraviolet B radiation on the Mediterranean plankton food web. *Limnol. Oceanogr.*, **56** (1): 206-218.



## **Tema 2**

---

### RISPOSTE BIOLOGICHE AI GRADIENTI IN AMBIENTE MARINO

M.C. GAMBI, L. BENEDETTI-CECCHI\*

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italia.

\*Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, CoNISMa, Via Derna, 1 - 56126 Pisa, Italia.  
gambimc@szn.it, lbenedetti@biologia.unipi.it

## APPROCCI DI STUDIO AI GRADIENTI DI FATTORI ECOLOGICI IN AMBIENTE MARINO E RISPOSTE DI SPECIE E COMUNITÀ

### *APPROACHES TO STUDY GRADIENTS OF ECOLOGICAL FACTORS IN MARINE ENVIRONMENTS AND RESPONSES AT SPECIES AND COMMUNITY LEVELS*

**Abstract** - An overview of the main conceptual frames and operational approaches to the study of gradients of ecological factors at sea is here presented with a special focus on benthic communities and species. Exemplary studies were selected in habitat characterized by strong abiotic and biotic coenoclines (e.g., water movement, light, trophic status, biotic interactions), such as hard bottoms, marine caves and seagrass meadows, and mainly along the Italian coast, to highlight the past and actual importance of this topic at the national level. The classical approach of study along gradient, inspired by the seminal work of Whittaker R.H. and in the Mediterranean Sea context by Pérès & Picard and Riedl R., is correlatively descriptive, where distributional patterns are correlated to the changes in a single or more (often co-variable) ecological factors along the same direction. Therefore the ecological inference about the underlying processes, responsible and maintaining the observed patterns, is just hypothetical although very useful to generate working hypothesis for further manipulative experiments. A more recent approach, mainly introduced by Underwood A.J., include the evaluation of the appropriate spatial and temporal scale of variability of community and species along the gradients. Finally, it is also discussed an example of large scale, latitudinal, analysis of beta diversity changes along gradients of various factors correlated with human disturbance and climate change.

**Key-words:** coenoclines, hard bottom benthos, distribution pattern, functional guilds, beta diversity.

Uno dei principali obiettivi dell'ecologia è identificare pattern caratteristici di distribuzione nello spazio e nel tempo, di comunità e/o di specie o di loro proprietà emergenti e biologiche, e di relazionare tali pattern con le caratteristiche dell'ambiente. In una fase successiva l'ecologia sperimentale cerca di inferire e studiare i meccanismi ecologici che producono e mantengono i pattern osservati.

Un gradiente ambientale, o ecologico (eco-clino), rappresenta la variazione, di uno o più fattori (a volte co-variati) nello spazio e lungo una direzione che noi stessi definiamo. Tale variazione può essere più o meno graduale e continua o presentare discontinuità più o meno evidenti e con relativi effetti soglia. Ad esempio, mentre la variazione di profondità/pressione è graduale e continua, la variazione di altri fattori, come la luminosità, presenta andamenti esponenziali, o chiare discontinuità quali-quantitative, ne sono un esempio le variazioni di idrodinamismo o di temperatura durante il termoclino stagionale in estate. La variazione, infine, può mostrare effetti soglia legati alla vicinanza spaziale a determinati fenomeni locali quali emissioni di gas o idrotermali, aree di up-welling, apporti di materia organica, inquinanti, impatti e disturbi antropici o naturali di vario genere.

Lo studio delle risposte, a livello di specie e comunità, ai gradienti di fattori ecologici a mare rappresenta, quindi, tutta (o quasi) l'ecologia marina!

In questa relazione pertanto abbiamo dovuto restringere necessariamente la trattazione ad alcuni selezionati esempi. Considerando la nostra estrazione culturale ed expertise, soprattutto nel campo del benthos marino mediterraneo, abbiamo deciso di illustrare i principali approcci di studio a questa problematica ed alcuni esempi rilevanti su ambienti bentonici in cui sono presenti forti gradienti di fattori ecologici, quali i fondi duri, le grotte e le praterie di fanerogame marine. Ci si è volutamente

concentrati su studi svolti soprattutto lungo le nostre coste e da ricercatori italiani, sia per mettere in evidenza quanto la comunità scientifica nazionale abbia prodotto su questi argomenti e la valenza più generale che alcuni studi hanno avuto come base conoscitiva per altri approcci e sviluppi di ricerche ecologiche sperimentali; sia per fornire una panoramica anche “storica”, soprattutto a studenti e giovani ricercatori, di quanto importanti siano stati questi argomenti per la biologia marina nel contesto nazionale. Viene infine presentato un approccio più attuale relativo all’analisi della beta diversità di comunità bentoniche studiata su ampia scala geografica in relazione a vari fattori e tipi di disturbo antropico ed al cambiamento climatico.

L’analisi dei gradienti ambientali ha rappresentato, nella storia delle discipline ecologiche, uno dei principali approcci allo studio della distribuzione degli organismi e della struttura di comunità, sia in ambiente terrestre (es. Whittaker, 1975, 1978) che in ambiente marino (Pérès e Picard, 1964). L’analisi ecologica lungo i gradienti presenta inoltre implicazioni profonde sia per l’ecologia di comunità, si pensi alla definizione ed identificazione di comunità discrete (biocenosi), come nel sistema di Pérès e Picard (1964), al *continuum* cenotico (Gleason, 1926), o ai “noda” (Boudouresque, 1971), sia per la biologia ed ecologia di base delle specie, si pensi alle definizioni di “nicchia” ecologica, *optimum* eco-fisiologico, o valenza ecologica/tolleranza/limite nella distribuzione delle specie rispetto ad uno o più fattori ecologici.

Notevoli sono anche i risvolti operativi, relativi ad esempio allo sviluppo di adeguate strategie di campionamento quali i transekti, le griglie, i campionamenti stratificati, ecc., nonché di analisi statistica dei dati con lo sviluppo di varie tecniche di analisi uni- e multivariate. In uno dei primi lavori di base (Fresi e Gambi, 1982) (Fig. 1) viene discussa ed associata la geometria di modelli di analisi multivariata al significato ecologico dei medesimi in rapporto ai gradienti ambientali. Ad una nube unica di forma circolare o ellittica (Fig. 1a) si associa un’unica comunità (o popolazione) o un ambiente con caratteristiche fisico-chimiche indistinguibili nello spazio analizzato, in pratica l’assenza di uno o più gradienti. La nube divisa in due o più ammassi (Fig. 1b) indica la presenza di comunità (popolazioni o ambienti) diversi e la discontinuità più o meno marcata tra questi può indicare una netta dicotomia o una gradazione continua dei fenomeni. La nube parabolica (Fig. 1c) indica che il secondo asse è funzione parabolica del primo, e suggerisce che al sistema soggiace un fenomeno fondamentalmente unidimensionale, descritto dal primo asse, mentre la distorsione sul secondo può essere dovuta a fenomeni di ridondanza numerica (effetto “Guttman”, in Benzecri, 1973) o alla beta diversità (Whittaker, 1960). Infine la nube triangolare o stellare (Fig. 1d), o a volte una tipologia piramidale nel piano di tre fattori, indica che ad un gradiente ecologico principale, sviluppato sul primo asse, si rivela un altro gradiente secondario sviluppato sul secondo asse.

L’approccio principale, diremo “classico”, o che potremo anche definire “Whittakeriano”, allo studio di gradiente è di tipo descrittivo/correlativo, osservando cioè determinati pattern di distribuzione ed associandoli ad un certo fattore o insieme di fattori (spesso co-variati) che cambia lungo la stessa direttrice. Questo tipo di approccio può essere applicato alla distribuzione di singole specie, comunità o categorie funzionali, fino anche ad ampi raggruppamenti, es. settori biogeografici marini in rapporto ai fattori climatici/latitudinali (Bianchi e Morri, 2000), ma anche a descrittori morfo-funzionali (e.g., taglia, output riproduttivo, struttura genetica, ecc.), e proprietà biologiche di singoli taxa, es. la filogeografia, basata su appropriati descrittori genetici/molecolari, di cui si cita l’esempio di una specie strutturante come *Posidonia oceanica* nel bacino del Mediterraneo (Serra *et al.*, 2010). Questi esempi illustrano quanto ampi siano i livelli di complessità bio-ecologica che può comportare un’analisi di gradiente.

Nell’ambito di un approccio di comunità, possiamo considerare il ben conosciuto sistema di zonazione del benthos marino mediterraneo di Pérès e Picard (1964) (si

veda anche Pérès, 1982; Morri *et al.*, 2003), il cui impianto concettuale viene mutuato dalla scuola fitosociologia di Braun-Blanquet di Montpellier, come un'analisi di gradienti ambientali a livello dei piani.

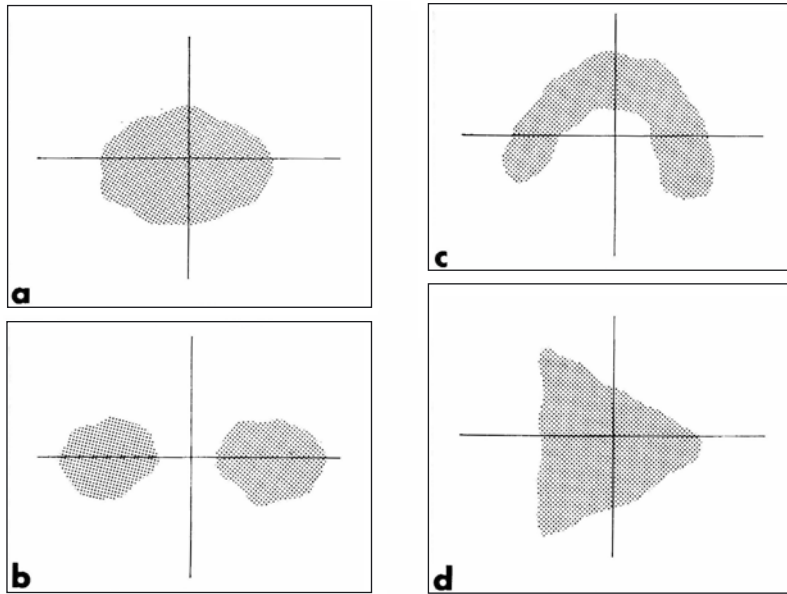


Fig. 1 - Geometria di modelli multivariati (da Fresi e Gambi, 1982, modificato).  
*Geometry of the multivariate models (from Fresi and Gambi, 1982, modified).*

L'implicazione rilevante del sistema di Pérès e Picard (1964) è di aver associato ad alcuni intervalli di valori di questi fattori, nell'ambito del gradiente, una particolare composizione e struttura della comunità bentonica che diviene quindi "espressione biologica integrata" di quell'insieme particolare di condizioni ecologiche (bionomia) (Morri *et al.*, 2003). Nell'ambito di tale sistema di zonazione, la distribuzione delle comunità di fondo duro in particolare è stata interpretata principalmente come risposta al gradiente di luce ed umettamento, mentre nel caso delle comunità di fondo molle i principali fattori sono stati identificati con il gradiente granulometrico e sorting dei sedimenti, strettamente collegati comunque con l'energia idrodinamica.

Non stupisce quindi che uno dei fattori abiotici e gradienti più studiati, nell'ambito della biologia marina mediterranea ed italiana in particolare, è stato il gradiente idrodinamico. La maggior parte degli studi in ambito nazionale ha preso spunto dal paradigmatico lavoro di Riedl (1971) che, analizzando la diversa distribuzione e orientamento delle colonie di cnidari coloniali sessili (gorgonie, idroidi), individua alcune discontinuità, definite come "profondità critiche", e dovute alla variazione quali-quantitativa del moto ondoso/correnti di fondo. Il sistema di zonazione proposto da Riedl, che è stato spesso erroneamente considerato come alternativo, se non antitetico, a quello di Pérès e Picard (1964) (Boudouresque e Fresi, 1976), ha prodotto intorno agli anni '70 ed '80 un paradigma scientifico che ha stimolato una vasta e notevole serie di indagini ecologiche in ambito nazionale in cui l'ipotesi di lavoro delle "profondità critiche" e della preminenza del fattore idrodinamico nell'influenzare le variazioni quali-quantitative delle comunità e delle specie, rispetto



al gradiente di luce, è stata studiata e verificata non solo nei fondi duri (e.g., Sarà *et al.*, 1978; Boero e Fresi, 1986), ma anche negli ambienti di grotta (e.g., Cinelli *et al.*, 1977) e nei sistemi a fanerogame marine (e.g., Mazzella *et al.*, 1989; Gambi *et al.*, 1992).

In questi primi studi, finalizzati appunto ad identificare pattern di valenza generale di distribuzione e variazione di comunità e specie, ci si sforza di campionare il più possibile lungo “gradienti puri” di fattori abiotici, “Santo Graal” in ecologia, per ricordare l’espressione di Eugenio Fresi, un antesignano dello studio dei gradienti ecologici a mare. Ovviamente non esistono “fattori” puri negli habitat ed ecosistemi naturali, soprattutto in ambiente marino, anche se alcune forzanti ambientali sono più caratterizzanti e preponderanti rispetto ad altre in specifici contesti ecologici. Il presupposto concettuale ed operativo era quello di identificare una sorta di “transetti ideali” in aree lungo l’influenza del gradiente che si potevano considerare spazialmente “omogenee”, in modo da ridurre al massimo la variabilità tra i campioni, anche se la scelta delle repliche era pur sempre eseguita in modo casuale.

La variabilità, sia nello spazio che nel tempo, è comunque una proprietà cogente a qualsiasi sistema biologico, a qualunque livello di complessità lo si consideri (dai geni all’ecosistema) ed è quindi intrinseca a qualsiasi campionamento; spesso la variabilità osservata tra i diversi campioni nelle analisi di gradiente, nell’ambito di valori simili/omogenei del fattore ecologico in esame, veniva interpretata come “rumore di fondo” (background noise), e considerata quasi come un fattore di disturbo che rendeva il pattern di distribuzione meno definito ed interpretabile.

In alcuni studi, oltre alla identificazione di zonazioni più o meno evidenti dei taxocoeni studiati, è stata analizzata congiuntamente un’altra componente biotica dell’habitat, evidenziando un andamento simile e coerente tra le due componenti, come nel caso dei policheti di fondo duro della falesia del Romito (Livorno) e del popolamento algale studiato negli stessi campioni (Abbiati *et al.*, 1987; Giangrande, 1988), che presentavano modelli strutturali di distribuzione lungo il gradiente quasi sovrapponibili. Tali studi rafforzano il carattere correlativo dell’approccio ai gradienti e le possibili inferenze ecologiche che è possibile fare sulle zonazioni osservate.

Nell’ambito dei fondi duri, gli ambienti delle grotte marine rappresentano ecosistemi particolari ed unici, sono spazialmente circoscritti e mostrano una elevata diversità di origine, struttura, geomorfologia e popolamenti associati. Le grotte rappresentano laboratori naturali in cui si verificano, a scala spaziale ridotta e più accessibile allo studio e al campionamento diretto dei ricercatori, forti gradienti ambientali quali luce, idrodinamismo/confinamento, apporti trofici, interazioni biotiche (Morri e Bianchi, 2003). L’intensità di tali gradienti in grotta determina una marcata zonazione dei popolamenti e delle specie tra l’esterno e l’interno grotta influenzata dai gradienti dei fattori sopra menzionati, zonazione ancora una volta bene codificata dal lavoro seminale di Riedl (1966). Esiste a riguardo un’ampia letteratura sulla biologia ed ecologia degli ambienti di grotta, ben documentata e raccolta nel pregevole volume “*Le grotte marine. 50 anni di ricerca in Italia*” (Cicogna *et al.*, 2003). Proprio lo studio delle grotte marine, inoltre, conferma l’influenza congiunta di più fattori ecologici nella distribuzione degli organismi, e non solo della luce come si potrebbe immaginare in ambienti caratterizzati da un evidente e forte gradiente luminoso.

Un ulteriore aspetto interessante dell’analisi dei gradienti è rappresentato dallo studio del pattern di distribuzione non solo delle specie ma di descrittori e proprietà funzionali associati alle specie stesse, quali categorie biogeografiche, trofiche, etologiche e riproduttive. A volte, come nel caso dei policheti associati a *Posidonia oceanica*, il modello strutturale, derivato dall’analisi delle specie, è stato confrontato con quello derivato dall’analisi dei generi, o di un sottoinsieme di specie appartenente

alla famiglia più speciosa ed abbondante del popolamento (e.g., Syllidae), come buon descrittore dell'intero taxocoene dei policheti (Gambi *et al.*, 1995). Questa procedura rappresenta una sorta di applicazione, inconsapevole da parte degli Autori, della taxonomic sufficiency (Ellis, 1985) che verrà sviluppata in seguito (Bevilacqua *et al.*, 2009). O ancora, l'analisi strutturale è stata confrontata con quella funzionale delle categorie trofiche, riscontrando modelli molto coerenti tra loro (Gambi *et al.*, 1995). Sempre a livello di singolo taxocoene, segnaliamo l'interessante lavoro di Russo (1989) in cui si analizza l'andamento dei ranghi di frequenza di diversi descrittori morfo-funzionali dei molluschi associati ad una prateria di Posidonia (Lacco Ameno, Ischia) lungo un gradiente di profondità (1-30 m). L'analisi mette in evidenza un cambiamento nella dominanza e distribuzione delle frequenze lungo la profondità con specie di grandi dimensioni, con conchiglie poco slanciate, ad elevata adesione al substrato, con apparati radulari forti, molto fedeli all'habitat di prateria, e preponderante sviluppo non-planctotrofico, dominanti nei livelli superficiali della prateria; queste sono gradualmente sostituite da specie di ridotte dimensioni, con conchiglie più slanciate, meno aderenti al substrato, con apparati radulari più minuti, minore fedeltà ecologica all'habitat di prateria e preponderante sviluppo planctotrofico, nei livelli più profondi.

Altri esempi di risposte morfo-funzionali ai gradienti sono relative alle ben note variazioni di forma di crescita di alcuni madreporari e briozoi in funzione dell'esposizione al moto ondoso ed alle correnti con forme incrostanti più superficiali ed in condizioni di forti sollecitazioni idrodinamiche, e forme delle colonie massive o arboreescenti più in profondità o comunque in condizioni di ridotto idrodinamismo (es. all'interno di grotte) (e.g., Morri *et al.*, 1994; Cocito *et al.*, 2000; Dappiano e Gambi, 2004). Ugualmente interessanti sono anche le variazioni funzionali nel numero e tipo degli zoidi, come in alcune colonie di idrodi, sempre in funzione dell'energia idrodinamica (e.g., Boero, 1984; Piraino e Morri, 1990). Altrettanto esemplari sono le variazioni di forma e colorazione di alcune spugne in rapporto sia all'idrodinamismo che alla radiazione luminosa che influenza quest'ultima la presenza/assenza di simbionti autotrofi nei tessuti (Sarà *et al.*, 1998).

Lo studio "classico" ai gradienti ambientali a mare possiede tuttavia alcuni limiti trattandosi di un approccio descrittivo/correlativo in cui comunque l'inferenza ecologica è sempre ipotetica e mai dimostrabile in un rapporto strettamente "causale". È vero che in alcuni casi si osserva una limitata replicazione spaziale, con una sicura sottoestima della variabilità naturale spaziale e temporale, intrinseca ai fenomeni osservati (e.g., fenomeni di patchiness, gradienti laterali, altri fattori stocastici di variabilità), è però pur vero che lo sforzo tassonomico profuso nei lavori iniziali sui gradienti era tale da non consentire sempre l'analisi di un numero eccessivo di campioni ("taxonomic impediment", vedi Giangrande, 2003). A volte l'inferenza ecologica causale sui pattern osservati (e sui possibili processi soggiacenti) presenta un supporto debole o è troppo generica e triviale.

La variabilità a piccola scala, considerata nelle precedenti analisi di gradiente come "rumore di fondo" (eventi stocastici non prevedibili), è invece spesso il risultato di specifici processi locali, la cui influenza non è più riconoscibile a scale diverse (Underwood, 1991; Levin, 1992). Un diverso paradigma, che potremmo definire come approccio "Undewoodiano", è attualmente oggetto di numerose indagini: lo studio dell'appropriata scala di variabilità spaziale e temporale di comunità e specie, effettuata anche lungo gradienti di fattori ambientali.

In altri termini, è importante verificare a quale scala sono ancora percepibili le distribuzioni ed i pattern "classici" evidenziati lungo gradienti, una volta che nel disegno di campionamento si tenga conto in modo più fine della variabilità spaziale e temporale naturale e/o mediata dall'uomo lungo il gradiente stesso (patchiness,

presenza altri gradienti, fattori locali, disturbo, ecc.). Questo tipo di studi presuppone e richiede un'elevata replicazione di campioni nello spazio e nel tempo. In genere applicando disegni gerarchici di campionamento molto rigorosi dal punto di vista logico e complessi dal punto di vista statistico. A fronte di questo sforzo di campionamento molto intenso, spesso in tali indagini la risoluzione tassonomica è però relativamente modesta (con uso di taxonomic sufficiency, analisi d'immagine, OTU's).

È stata prodotta ad oggi una serie relativamente ampia di studi sulla stima della variabilità spaziale anche lungo le nostre coste, soprattutto nei fondi duri (Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Giangrande *et al.*, 2003; Terlizzi *et al.*, 2003; vedi anche la review di Fraschetti *et al.*, 2005), ma anche in ambienti di grotta (Benedetti-Cecchi *et al.*, 1998; Bussotti *et al.*, 2006) e nei sistemi a fanerogame marine (e.g., Vasapollo e Gambi, 2012 e letteratura citata).

In molti di questi studi, e diversi contesti ecologici, è stata evidenziata una notevole variabilità a piccola e media scala (metri e decine di metri), anche se in molti casi le differenze lungo il gradiente principale esaminato sono ancora percepibili, ad esempio lungo la profondità nel caso di falesie, o tra esterno/interno grotta, nel caso dei popolamenti di grotta. Anche negli studi che cercano di stimare la variabilità dei popolamenti l'approccio è pur sempre di tipo correlativo/descrittivo e quindi anche le inferenze basate su tali analisi (ANOVA, disegni gerarchici e multifattoriali) sono di tipo ipotetico e non dimostrano comunque la causalità diretta tra struttura e soggiacente processo. Solo l'ecologia sperimentale può risolvere, in termini logici e concettuali, questo tipo di inferenza (Benedetti-Cecchi, 2003), anche se non sempre è possibile realizzare esperimenti appropriati.

L'analisi di comunità e specie lungo gradienti ecologici, pur con alcune limitazioni concettuali ed operative, è ancora un approccio euristico utile soprattutto inizialmente nel caso dell'analisi di gradiente di particolari fattori ecologici i cui effetti sono attualmente poco conosciuti e le informazioni su specifici pattern di distribuzione e di risposta di specie e comunità sono ancora relativamente scarse (e.g., acidificazione delle acque ed altri agenti e gradienti geochimici, riscaldamento delle acque, disturbo antropico di varia natura, fonti inquinanti). L'approccio lungo gradienti fornisce ancora per i biologi marini lo strumento ecologico primario per generare ipotesi di lavoro, e la base per successivi esperimenti ecologici, soprattutto se accoppiato ad una strategia di campionamento appropriata che tenga conto della variabilità naturale - conosciuta o ipotizzabile - intrinseca nella distribuzione delle specie e/o comunità di studio.

Infine, si riscontrano studi sempre più frequenti di analisi di trend ecologici (anche con rigorose meta-analisi) su gradienti di fattori ecologici considerati a grande scala spaziale (regionale, di bacino, planetaria) (e.g., Sala *et al.*, 2012).

Riteniamo che la maggior parte degli studi precedenti ed attuali effettuati lungo gradienti, almeno nell'ambito del benthos, abbia una valenza euristica notevole che ha permesso di generare ipotesi di lavoro utili per successivi approcci (e.g., stima della variabilità di scala, ecologia sperimentale), e che inoltre rappresenti una base essenziale per confronti storici in rapporto soprattutto all'hot-topic del momento e cioè il cambiamento climatico globale (e.g., Parravicini *et al.*, 2010).

Un altro concetto importante ai fini di comprendere come le specie e le comunità biotiche rispondono ai cambiamenti ambientali è la beta diversità. Si tratta di un concetto cardine dell'ecologia, anch'esso originato in ambito terrestre (Whittaker, 1960). La beta diversità, definita come il turnover delle specie tra habitat e lungo gradienti ambientali, esamina i cambiamenti in composizione specifica delle comunità in relazione a variazioni nella componente abiotica dei sistemi ecologici. Tali variazioni possono avvenire su scale spaziali ridotte, come lungo un gradiente

batimetrico o di essiccamento, o su scale molto ampie, come nel caso di variazioni latitudinali. Questa flessibilità rende la beta diversità uno strumento adatto per affrontare problematiche emergenti, quali la risposta delle specie e delle comunità ai cambiamenti globali.

Vi sono diversi metodi per quantificare le variazioni in composizione di specie nello spazio o nel tempo. Il metodo originale proposto da Whittaker (1960) misura la beta diversità come il rapporto tra la diversità regionale (cioè il numero di specie presenti in una data regione o bacino) e la diversità media misurata su scala locale (in genere sulla base di un campionamento in un habitat definito). Dato che la diversità media locale non tiene conto di differenze tra habitat, la discrepanza tra questa misura e la diversità regionale riflette il guadagno in ricchezza di specie determinato da variazioni spaziali di habitat. Per questo motivo la beta diversità è talvolta indicata anche come diversità di specie tra habitat.

Un'altra possibilità è quella di utilizzare indici di dissimilarità per misurare variazioni in composizione specifica nello spazio o nel tempo. Tra gli indici maggiormente impiegati a questo scopo, sia dagli ecologi marini che da quelli terrestri, ci sono i famosi indici di Jaccard e di Sorensen (si veda Anderson *et al.*, 2010 per una revisione). Questi indici sono anche suscettibili di analisi di perdita di similarità in relazione alla distanza geografica che separa i campioni analizzati. Il terzo approccio alla stima della beta diversità avviene infatti attraverso le curve di 'distance-decay similarity' che includono quindi l'aspetto spaziale in modo esplicito nell'analisi (Lennon *et al.*, 2001). Infine, come aspetto unificante delle varie misure di beta diversità, occorre ricordare che tutti gli indici sono riconducibili a tre quantità essenziali che emergono dal confronto della composizione specifica tra due campioni: le specie in comune tra i due campioni, le specie presenti solo nel primo dei due campioni e le specie uniche del secondo campione (Koleff *et al.*, 2003). Queste componenti possono essere combinate in vario modo per originare indici con proprietà diverse, ad esempio indici che risentono più o meno di variazioni in ricchezza di specie tra campioni.

Un altro modo di vedere la beta diversità - quando misurata su ampie scale spaziali - è in relazione all'areale di distribuzione delle specie. Ad esempio, valori elevati di beta diversità sono indicativi del fatto che le specie hanno un areale di distribuzione ristretto e ciò corrisponde ad un elevato turnover. Di contro, valori bassi di beta diversità indicano che la composizione di specie varia poco nello spazio e ciò implica specie con elevato areale di distribuzione. Questa relazione con l'areale di distribuzione delle specie ha fatto della beta diversità una misura importante anche a fini di conservazione. Ad esempio, le misure di beta diversità possono essere utilizzate nella pianificazione ambientale, dato che la dislocazione e la dimensione delle aree protette tiene (o dovrebbe tenere) in considerazione variazioni spaziali nella composizione in specie delle comunità (McDonald *et al.*, 2005).

A titolo di esempio sul ruolo della beta diversità in analisi su grandi scale spaziali, si illustra il caso della distribuzione delle specie di fondi molli lungo la costa orientale degli Stati Uniti (Fig. 2). A tale proposito si utilizza un dataset disponibile pubblicamente (<http://www.epa.gov/emap/index.html>). I dati, raccolti tra il 1990 e il 1998, consistono nella presenza/assenza di 3966 specie distribuite in 4926 siti costieri georeferenziati. Dai dati di presenza/assenza è stata ottenuta per ciascun sito una relazione tra variazione della similarità dei popolamenti, espressa mediante l'indice di Jaccard, e la distanza geografica tra siti. Da queste relazioni sono stati ottenuti i valori di decadimento della similarità alla scala dei 1000 km, un valore per ciascun sito. A ciascun sito sono stati inoltre associati i valori medi a lungo termine di covariate ambientali verosimilmente importanti nell'influenzare la distribuzione delle specie bentoniche superficiali: temperatura superficiale dell'acqua

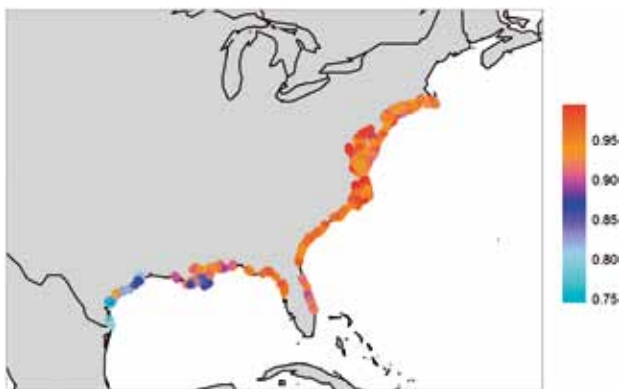


Fig. 2 - Beta diversità alla scala dei 1000 km per popolamenti di fondi molli lungo la costa orientale degli Stati Uniti.

*Beta diversity at the 1000 km scale of the soft bottom communities along the Eastern coast of the United States.*

(SST, dal 1985 al 2001), livello di acidificazione, indicato come variazione dello stato di saturazione dell'aragonite tra l'era pre-industriale (1870) e la condizione odierna (2000-2009), indice di esposizione al moto ondoso (Burrows *et al.*, 2008) e densità

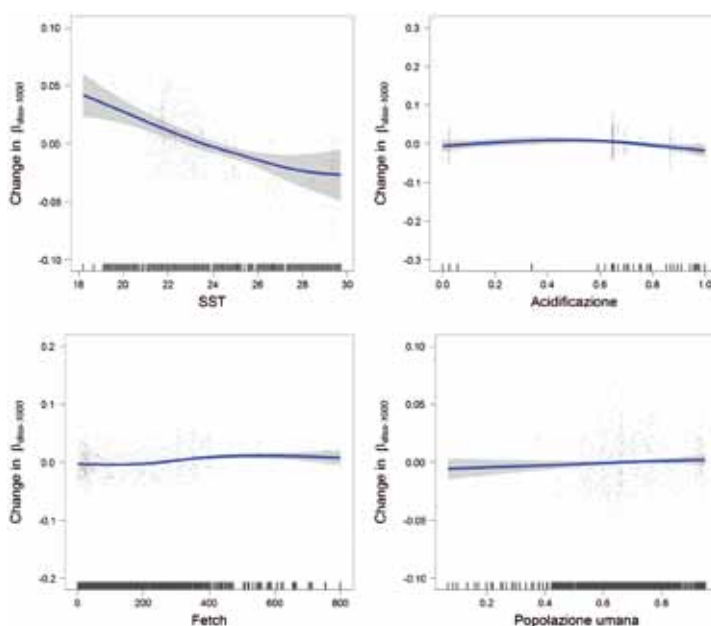


Fig. 3 - Variazioni di beta diversità basate sul decadimento della similarità espressa mediante l'indice di Jaccard alla scala dei 1000 km ( $\beta_{diss-1000}$ ). Le linee illustrano le funzioni 'levigate' ottenute dall'analisi GAMM, le bandeggiate rappresentano gli intervalli di confidenza (approssimati) al 95% e i punti sono i residui parziali.

*Variations of beta diversity based on the decay of the Jaccard's index similarity at the scale of 1000 km ( $\beta_{diss-1000}$ ). The lines represent the smoothed functions from the GAMM analysis, the bands represent the confidence intervals (approx.) at 95% and the points are the partial residuals.*

della popolazione umana (al 2005), per riflettere il livello di antropizzazione. I dati di dissimilarità (o di decadimento della similarità) sono stati messi in relazione con le covariate ambientali mediante GAMM (Generalized Mixed Effect Models), che tengono conto della autocorrelazione dei valori di dissimilarità tra siti (Fig. 3).

I risultati di questa analisi rivelano una diminuzione significativa della beta diversità con l'aumento della SST, indicando areali di distribuzione di specie maggiori nelle regioni più calde. Questo andamento è stato osservato anche in altri sistemi, come nel caso della beta diversità di uccelli, e viene interpretato come supporto alla teoria secondo cui le specie che vivono nelle regioni più calde hanno maggiore energia a disposizione e quindi espandono il loro areale di occupazione attraverso elevata riproduzione e crescita (Gaston *et al.*, 2007). Ovviamente sono plausibili altre spiegazioni, ma ciò esula dal contesto del presente lavoro che invece ha lo scopo di fornire un esempio di come la beta diversità possa essere utilizzata per analisi lungo gradienti ambientali a grande scala spaziale. La possibilità di esaminare l'influenza di covariate ambientali renderà questo tipo di indagini sempre più importanti per comprendere le conseguenze dei cambiamenti globali sulla biodiversità marina.

**Ringraziamenti:** Si ringraziano il Comitato Direttivo e gli organizzatori del 43° Congresso SIBM (Marina di Camerota, Salerno) per il gentile invito a tenere questa relazione, ed i numerosi colleghi che hanno inviato bibliografia, immagini e suggerimenti. Un ringraziamento particolare ad Adriana Giangrande (Università del Salento), che molto ha lavorato sui gradienti ecologici a mare, ed Elena Ricevuto (Stazione Zoologica di Napoli), che inizia lo studio sui gradienti, per la lettura critica del testo.

## Bibliografia

- ABBIATI M., BIANCHI C.N., CASTELLI A. (1987) - Polychaete vertical zonation along a littoral cliff in the western Mediterranean. *Mar. Ecol.*, **8**: 33-48.
- ANDERSON M.J., CRIST T.O., CHASE J.M., VELLEND M., INOUE B.D., FREESTONE A.L., SANDERS N.J., CORNELL H.V., COMITA L.S., DAVIES K.F., HARRISON S.P., KRAFT N.J.B., STEGEN J.C., SWENSON N.G. (2010) - Navigating the multiple meaning of beta diversity: a roadmap for the practicing ecologist. *Ecol. Lett.*, **14**: 19-28.
- BENEDETTI-CECCHI L. (2001) - Variability in abundance of algae and invertebrates at different spatial scales on rocky sea shores. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **215**: 79-92.
- BENEDETTI-CECCHI L. (2003) - Disegno sperimentale ed analisi di ipotesi in ecologia. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino Mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 433-484.
- BENEDETTI CECCHI L., AIROLDI L., ABBIATI M., CINELLI F. (1998) - Spatial variability in the distribution of sponges and cnidarians in a sublittoral marine cave with sulphur-water springs. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **78**: 43-58.
- BENZECRI J.P. (1973) - *L'analyse des données. II. L'analyse des correspondances*. Dunod, Paris: 619 pp.
- BEVILACQUA S., FRASCHETTI S., MUSCO L., TERLIZZI A. (2009) - Taxonomic sufficiency in the detection of natural and human-induced changes: A comparison of habitat and taxonomic groups. *Mar. Poll. Bull.*, **58**: 1850-1859.
- BIANCHI C.N., MORRI C. (2000) - Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Mar. Poll. Bull.*, **40** (5): 367-376.
- BOERO F. (1984) - The ecology of marine hydroids and effects of environmental factors: a review. *Mar. Ecol.*, **5** (2): 93-118.
- BOERO F., FRESI E. (1986) - Zonation and evolution of a rocky bottom hydroid community. *Mar. Ecol.*, **7**: 123-150.
- BOUDOURESQUE C.F. (1971) - Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Tethys*, **3** (1): 79-104.
- BOUDOURESQUE C.F., FRESI E. (1976) - Modelli di zonazione del benthos fitale in Mediterraneo. *Boll. Pesca Piscicol. Idrobiol. Ancona*, **31** (1-2): 129-143.
- BURROWS M.T., HARVEY R., ROBB L. (2008) - Wave exposure indices from digital coastlines and the prediction of rocky shore community structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **353**: 1-12.



- BUSSOTTI S., TERLIZZI A., FRASCHETTI S., BELMONTE G., BOERO F. (2006) - Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **325**: 109-119.
- CICOGNA F., BIANCHI C.N., FERRARI G., FORTI P. (eds) (2003) - *Le grotte marine. 50 anni di ricerca in Italia*. Ministero Ambiente e Tutela del Territorio, Roma: 505 pp.
- CINELLI F., FRESI E., MAZZELLA L., PANSINI M., PRONZATO R., SVOBODA A. (1977) - Distribution of benthic phyto and zoocoenoses along a light gradient in a superficial marine cave. In: Keegan B.F., O'Ceidigh P.O., Boaden P.J.S.E. (eds), *Biology of benthic organism*. Pergamon Press, Oxford: 173-183.
- COCITO S., FERDEGHINI F., MORRI C., BIANCHI C.N. (2000) - Patterns of bioconstruction in the cheilostome bryozoan *Schizoporella errata*: the influence of hydrodynamics and associated biota. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **192**: 153-161.
- DAPPIANO M., GAMBI M.C. (2004) - New data on occurrence of themophile Scleractinia (Cnidaria, Anthozoa) in the Phlaegrean islands (Ischia, Procida, Vivara - Gulf of Naples), with special attention to *Astroides calycularis*. In: Marine Biogeography of the Mediterranean Sea: patterns and dynamics of biodiversity. Part II. *Biogeographia*, **25**: 31- 46.
- ELLIS D. (1985) - Taxonomic sufficiency in pollution assessment. *Mar. Poll. Bull.*, **16**: 459.
- FRASCHETTI S., TERLIZZI A., BENEDETTI-CECCHI L. (2005) - Patterns of distribution of marine assemblages from rocky shores: evidence of relevant scales of variation. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **296**: 13-29.
- FRESI E., GAMBI M.C. (1982) - Alcuni aspetti importanti dell'analisi matematica di ecosistemi marini. *Naturalista Siciliano, Serie IV, VI* (Suppl. 3): 449-465.
- GAMBI M.C., GIANGRANDE A., MARTINELLI M., CHESSA L.A. (1995) - Polychaetes of a *Posidonia oceanica* bed off Sardinia (Italy): spatio-temporal distribution and feeding guild analysis. *Sci. Mar.*, **59** (1): 129-141.
- GAMBI M.C., LORENTI M., RUSSO G.F., SCIPIONE M.B., ZUPO V. (1992) - Depth and seasonal distribution of some groups of the vagile fauna of *Posidonia oceanica* leaf stratum: structural and feeding guild analyses. *Mar. Ecol.*, **13** (1): 17-39.
- GASTON K.J., DAVIES R.G., ORME C.D., OLSON V.A., THOMAS G.H., DING T., RASMUSSEN P.C., LENNON J.J., BENNETT P.M., OWENS I.P.F., BLACKBURN T.M. (2007) - Spatial turnover in the global avifauna. *Proc. R. Soc. B.*, **274**: 1567-1574.
- GIANGRANDE A. (1988) - Polychaete zonation and its relation to algal distribution down a vertical cliff in the western Mediterranean (Italy): a structural analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **120**: 263-276.
- GIANGRANDE A. (2003) - Biodiversity, conservation, and the 'Taxonomic impediment'. *Aquat. Conserv.*, **13** (5): 451-459.
- GIANGRANDE A., DELOS A.L., FRASCHETTI S., MUSCO L., LICCIANO M., TERLIZZI A. (2003) - Polychaete assemblages along a rocky shore on the South Adriatic coast (Mediterranean Sea): patterns of spatial distribution. *Mar. Biol.*, **143**: 1109-1116.
- GLEASON H.A. (1926) - The Individualistic Concept of the Plant Association. *Bull. Torrey Botanical Club*, **53**: 7-26.
- KOLEFF P., GASTON K.J., LENNON J.J. (2003) - Measuring beta diversity for presence-absence data. *J. Anim. Ecol.*, **72**: 367-382.
- LENNON J.J., KOLEFF P., GREENWOOD J.J.D., GASTON K. (2001) - The geographical structure of British bird distribution: diversity, spatial turnover and scale. *J. Anim. Ecol.*, **70**: 966-979.
- LEVIN S.A. (1992) - The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology*, **73**: 1943-1967.
- MAZZELLA L., SCIPIONE M.B., BUIA M.C. (1989) - Spatio-temporal distribution of algal and animal communities in a *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow. *Mar. Ecol.*, **10** (2): 107-129.
- MCDONALD R., MCKNIGHT M., WEISS D., SELIG E., O'CONNOR M., VIOLIN C., MOODY A. (2005) - Species compositional similarity and ecoregions: do ecoregion boundaries represent zones of high species turnover? *Biol. Cons.*, **126**: 24-40.
- MENCONI M., BENEDETTI-CECCHI L., CINELLI F. (1999) - Spatial and temporal variability in the distribution of algae and invertebrates on rocky shores in the northwest Mediterranean. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **233**: 1-23.
- MORRI C., BELLAN-SANTINI D., GIACCONE G., BIANCHI C.N. (2003) - Principi di bionomia: descrizione dei popolamenti ed uso dei descrittori tassonomici (macrobenthos).



- In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), *Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino Mediterraneo. Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 605-634.
- MORRI C., BIANCHI C.N. (2003) - Zonazione biologica. In: Cicogna F., Bianchi C.N., Ferrari G., Forti P. (eds), *Le grotte marine. 50 anni di ricerca in Italia*. Ministero Ambiente e Tutela del Territorio, Roma: 257-265.
- MORRI C., CINELLI F., BIANCHI C.N. (1994) - Sessile epifauna gigantism in a submarine cave with sulphur springs. *Cave Diving*, **6**: 4-9.
- PARRAVICINI V., GUIDETTI P., MORRI C., DONATO M., BIANCHI C.N. (2010) - Consequences of sea water temperature anomalies on a Mediterranean submarine cave ecosystem. *Est. Coast. Shelf Sci.*, **86**: 276-282.
- PIRAINO S., MORRI C. (1990) - Zonation and ecology of epiphytic hydroids in a Mediterranean coastal lagoon: The 'Stagnone' of Marsala (North-West Sicily). *Mar. Ecol.*, **11** (1): 43-560.
- PÉRÈS J.M. (1982) - Zonations. In: Kinne O. (ed), *Marine ecology: a comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters: 5. Ocean management*, **1**: 9-45.
- PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Rec. Trav. Stat. mar. Endoume*, **31** (47): 137 pp.
- RIEDL R. (1966) - *Biologie der Meeresholen*. Paul Parey, Hamburg and Berlin.
- RIEDL R. (1971) - Water movement-animals. In: Kinne O. (ed), *Marine ecology. Vol. 1*. John Wiley & Sons, New York: 1123-1156.
- RUSSO G.F. (1989) - La scelta dei descrittori morfo-funzionali nell'analisi dei sistemi bentonici: un approccio con la componente malacologica di una prateria a *Posidonia oceanica*. *Oebalia*, N.S., **15** (1): 213-228.
- SALA E., BALLESTEROS E., DENDRINOS P., DI FRANCO A., FERRETTI F., FOLEY D., FRASCHETTI S., FRIEDLANDER A., GARRABOU J., GÜÇLÜSOY H., GUIDETTI P., HALPERN B.S., HEREU B., KARAMANLIDIS A.A., KIZILKAYA Z., MACPHERSON E., MANGIALAJO L., MARIANI S., MICHELI F., PAIS A., RISER K., ROSENBERG A.A., SALES M., SELKOE K.A., STARR R., TOMAS F., ZABALA M. (2012) - The structure of Mediterranean rocky reef ecosystems across environmental and human gradients, and conservation implications. *PLoS ONE*, **7**: 1-13.
- SARÀ M., BALDUZZI A., BOERO F., PANSINI M., PESSANI D., PRONZATO R. (1978) - Analisi di un popolamento bentonico di falesia del promontorio di Portofino: dati preliminari. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **46**: 119-137.
- SARÀ M., BAVESTRELLO G., CATTANEO-VIETTI R., CERRANO C. (1998) - Endosymbiosis in sponges: relevance for epigenesis and evolution. *Symbiosis*, **25**: 57-70.
- SERRA I.A., INNOCENTI A.M., DI MAIDA G., CALVO S., ZAMBIANCHI E., PIZZIGALLI C., ARNOUD-HAOND S., DUARTE C., SERRAO E., PROCACCINI G. (2010) - Genetic structure in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*: disentangling past vicariance events from contemporary patterns of gene flow. *Molec. Ecol.*, **19** (3): 557-568.
- TERLIZZI A., SCUDERI D., FRASCHETTI S., GUIDETTI P., BOERO F. (2003) - Molluscs on subtidal cliffs: patterns of spatial distribution. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **83**: 165-172.
- UNDERWOOD A.J. (1991) - Spatial and temporal problems with monitoring. In: Calow P., Petts G.E. (eds), *Rivers Handbook, Vol 2*. Blackwell Scientific, Oxford: 101-123.
- VASAPOLLO C., GAMBI M.C. (2012) - Spatio-temporal variability in *Posidonia oceanica* seagrass meadows off the Western Mediterranean: Shoot density and plant features. *Aquat. Biol.*, **16**: 163-175.
- WHITTAKER R.H. (1960) - Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecol. Monogr.*, **30**: 279-338.
- WHITTAKER R.H. (1975) - *Communities and Ecosystems*. MacMillan Publishing, New York.
- WHITTAKER R.H. (ed) (1978) - *Ordination and classification of Plant Communities. Handbook of Vegetation Science. Part V*. Kluwer Academic Publishers.

M. BO, C.G. DI CAMILLO\*, R. CATTANEO-VIETTI\*, G. BAVESTRELLO

Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova,  
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.  
m.bo@univpm.it.

\*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Di.S.V.A), Università Politecnica delle Marche,  
Via Breccie Bianche - 60131 Ancona, Italia.

## WHIP CORAL DISTRIBUTION ALONG A WATER-MOVEMENT GRADIENT

### *DISTRIBUZIONE DI CORALLI A FRUSTA LUNGO UN GRADIENTE DI IDRODINAMISMO*

**Abstract** - A dense meadow composed of two species of whip black corals, *Stichopathes* sp. and *Cirrhipathes* sp., was quantitatively studied in a site of the Bunaken Marine Park (North Sulawesi, Indonesia) characterized by high levels of water movement. In this area, the whip coral assemblage shows an average abundance of about 0.5 colonies m<sup>-2</sup>, among the highest recorded at world level. Along the studied cliff, the water movement intensity increases from the surface to the bottom. The abundance of *Cirrhipathes* sp. was found related to the current intensity while that of *Stichopathes* sp. remained unvaried along the cliff. This specific difference is probably due to the different polyps arrangement along the stem of the colony allowing *Cirrhipathes* sp. to increase food capture in more turbulent conditions of water movement.

**Key-words:** *Antipatharia, water movement, benthos distribution, filter-feeders, coral reef.*

**Introduction** - While the diversity of black corals has been the subject of several studies, data about their ecology are very scarce (Opresko & Försterra, 2004). The ecological importance of antipatharians is underestimated due to the almost complete absence of field studies focusing on this group. Recently, wide shallow water assemblages of these organisms were described in both tropical and temperate sites. Monospecific meadows of branched antipatharians were recorded in temperate and cold waters, particularly under the effect of strong currents (Bo *et al.*, 2009a). Differently from temperate waters, in the area of the Bunaken Marine Park (North Sulawesi, Indonesia) a very diversified assemblage, composed of about 50 species belonging to 9 genera and 3 families, was recorded (Tazioli *et al.*, 2007). This area is placed in the centre of the so-called coral triangle, comprising South Philippines, Central Indonesia and Papua New Guinea and recognised as a centre of marine biodiversity. In the Bunaken area, some of the most characteristic elements of the coral reefs are whip corals, sometimes reaching several metres in length. Although these unbranched antipatharians are very common, their taxonomy is not completely clarified. Two genera belonging to the family Antipathidae, *Cirrhipathes* and *Stichopathes*, are currently recognised as valid. Moreover, the new genus *Pseudocirrhipathes*, of uncertain affinity, was recently described (Bo *et al.*, 2009b). Aim of this paper is the description of the bathymetric distribution of a whip coral assemblage along a vertical transect characterised by an intense hydrodynamic gradient.

**Materials and methods** - This study was conducted by SCUBA diving during July 2008 in the area of the Bunaken Marine Park (North Sulawesi, Indonesia). Whip corals are particularly abundant at Raymond's Point, a site characterised by very strong currents. Quantitative data about the whip coral assemblage were obtained by visual census with an adapted Belt Transect Method (Bianchi *et al.*, 2003). Visual census was performed by two divers swimming along a linear 50 m horizontal transect (indicated by a line) for each considered depth range (15, 25,

35, 45 m). The divers counted the number of colonies visible in a distinct 1 m wide visual field on each side of the line (for a total investigated surface of 100 m<sup>2</sup> at each depth range). For each observed colony the antipatharian species and the size range (<50 cm, 50-100 cm, 100-150 cm, 150-200 cm and >200 cm) were recorded. A similar transect method, was used by Tazioli *et al.* (2007) in the same area for some common tropical black coral species and by Grange (1985) to study the vertical distribution of *Antipathella fiordensis* in New Zealand. The relative water movement intensity in each depth range of the transect was estimated by the dissolution of four plaster balls (Muus, 1968), 1.5 cm in diameter, fixed on the whip corals at about 50 cm from the anchorage and left *in situ* for 24 hours.

**Results** - Raymond's Point cliff was characterised by very strong currents running parallel to the coast as put in evidence by the high rate of dissolution of the plaster balls. Our data indicated that the intensity of the current progressively increased from shallow waters (67% of dissolution) to the bottom (83% of dissolution) (Fig. 1A). During the quantitative study of the Raymond's Point assemblage, 839 coral colonies belonging to *Stichopathes* sp. and *Cirrhipathes* sp. have been recorded. *Stichopathes* sp. was the most abundant species in the area (747 colonies, about 89% of the total), while the colonies of *Cirrhipathes* sp. accounted to 92 (11% of the total). The average abundance of the entire coral assemblage reached a value of  $0.5 \pm 0.06$  colonies m<sup>-2</sup>. The average abundances of the two studied species were  $0.45 \pm 0.05$  (max 0.8) colonies m<sup>-2</sup> and  $0.06 \pm 0.01$  colonies m<sup>-2</sup> (max 0.14 colonies m<sup>-2</sup>) respectively for *Stichopathes* sp. *Cirrhipathes* sp. while the abundance of the colonies of *Stichopathes* sp. did not show any significant difference at all the studied depths (Fig. 1B), that of *Cirrhipathes* sp. progressively increased from the shallowest to the deepest levels (Fig. 1C). In this way at a depth of 15 m, *Stichopathes* sp. reached 94% of the total corals while *Cirrhipathes* sp. accounted for 6%. At 45 m *Stichopathes* sp. decreased to 85% while *Cirrhipathes* sp. increased to 15% (Mann-Whitney,  $P < 0.05$ ). The size/frequency distribution of the population of *Stichopathes* sp. showed that at 15 m the most represented size class was the 50-100 cm. At the other depths, the modal class shifted to the 100-200 cm. The size distribution of *Cirrhipathes* sp. progressively increased from shallow (modal classes 50-100

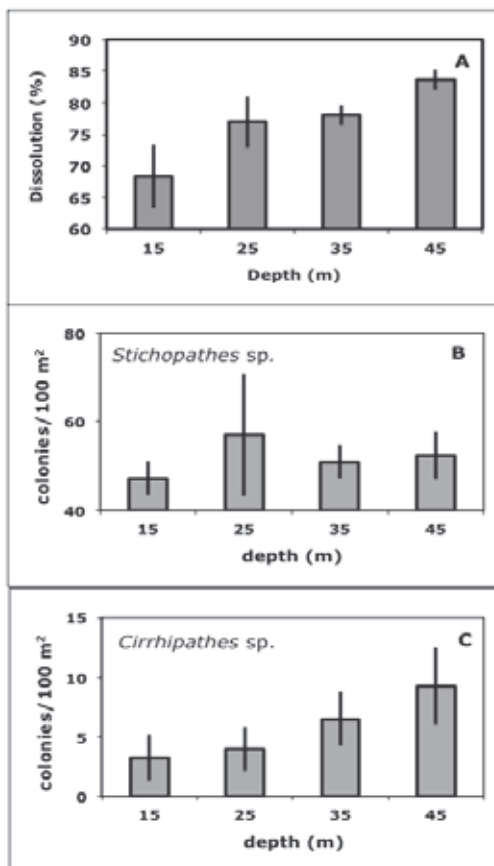


Fig. 1 - Estimation of the water movement intensity (A) and average abundances of two species of whip corals (B, C) along a vertical transect.

Stima dell'intensità dell'idrodinamismo (A) ed abbondanze medie di due specie di coralli a frusta (B, C) lungo un transetto verticale.

cm) to deep waters (modal classes 100-200 and >200 cm). About 3% of the colonies of *Stichopathes* sp. were bi- or tri-branched. The ramification was likely due to breakages of the colonies followed by anomalous multiple re-growth.

**Conclusions** - This paper represents the first quantitative description of a whip coral assemblage in Indonesian waters. The recorded abundance (about 0.5 colonies m<sup>-2</sup>) reaches that of the most dense black coral assemblages found around the world. In the Bunaken area, the average abundance is 0.25 colonies m<sup>-2</sup> (Tazioli *et al.*, 2007), up to 0.2 colonies m<sup>-2</sup> for the Hawaiian community (Grigg, 1965) and 0.25 colonies m<sup>-2</sup> for the *Antipathella fiordensis* meadow in the New Zealand fjords (Grange, 1985). In the Ecuadorian waters, dense mixed meadows of *Myriopathes panamensis* and *Antipathes galapagensis* reaching abundances of 0.5 colonies m<sup>-2</sup> were recently described (Bo *et al.*, 2012). Up to now, only the Mediterranean meadow of *Antipathella subpinnata* shows a higher abundance (1.4 colonies m<sup>-2</sup>) (Bo *et al.*, 2009a). Whip corals are widely diffused in the entire area of the Bunaken Marine Park. The present study, together with other unpublished data, strongly supports the hypothesis that whip coral assemblages are related to sites characterised by high water movement intensity. The correlation of strong currents with the presence of dense black coral forests was already put in evidence in different parts of the world. In the Mediterranean Sea, the largest known population of *A. subpinnata* is related to the high hydrodynamic conditions of the Messina Strait (Bo *et al.*, 2009a). Also in New Zealand fjords the forests of *A. fiordensis* are found in habitat characterised by intense water movement (Grange, 1985). The relationship between black coral assemblages and strong currents has already been observed along the slopes of North Pacific seamounts where upwelling currents are produced by the topography of the area. These currents supply the suspension feeder populations of resuspended organic matter coming from the seabed (Kaufmann *et al.*, 1989). The high water movement intensity characterizing the Bunaken Marine Park is probably one of the causes of the presence in this area of a wide black coral assemblage (Tazioli *et al.*, 2007). The aptitude to face strong currents is related to a very resistant and elastic inner skeleton composed by alternate layers of protein and chitin. Nevertheless, in extremely energetic habitats, like that described in this study, branched corals are not able to face the high water friction while unbranched species are better adapted to these stressed conditions. In these areas, whip corals represent the majority of the suspension feeders, known to play an essential role in the pelagic-benthic transfer of energy and biomass (Gili & Coma 1998). The quantitative survey conducted along the Raymond's Point cliff, characterized by a vertical gradient of hydrodynamism, indicates that the two studied species show different requirements regarding water movement intensity. In fact, while the abundance of *Stichopathes* sp. remains stable along the water movement gradient, the population of *Cirrhipathes* sp. shows an increasing abundance related to the current intensity. The size frequency distributions of these species also indicate a clear shift towards larger sizes in more energetic conditions. This fact is probably related to the different arrangement of the polyps along the stem, in fact in *Cirrhipathes* the zooids are uniformly disposed around the stem while in *Stichopathes* they are arranged in a single line on one side. It is possible that a more turbulent hydrodynamic regime favours organisms able to catch food coming from all directions.

## References

- BIANCHI C.N., PRONZATO R., CATTANEO-VIETTI R., BENEDETTI CECCHI L., MORRI C., PANSINI M., CHEMELLO R., MILAZZO M., FRASCHETTI S., TERLIZZI A., PEIRANO A., SALVATI E., BENZONI F., CALCINAI B., CERRANO C., BAVESTRELLO G. (2003) - I

- fondi duri. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 199-232.
- BO M., BARUCCA M., BISCOTTI M.A., CANAPA A., LAPIAN H.F.N., OLMO E., BAVESTRELLO G. (2009b) - Description of *Pseudocirrhopathes* (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia: Antipathidae), a new genus of whip black corals from Celebes Sea. *Ital. J. Zool.*, **76**: 392-402.
- BO M., BAVESTRELLO G., CANESE S., GIUSTI M., SALVATI E., ANGIOLILLO M., GRECO S. (2009a) - Characteristics of a black coral meadow in the twilight zone of the central Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **397**: 53-61.
- BO M., LAVORATO A., DI CAMILLO C.G., POLISENO A., BAQUERO A., BAVESTRELLO G., IREI Y., REIMER J.D. (2012) - Black Coral Assemblages from Machalilla National Park (Ecuador). *Pac. Sci.*, **66**: 63-81.
- GRANGE K.R. (1985) - Distribution, standing crop, population structure, and growth rates of black coral in the southern fiords of New Zealand. *New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.*, **19**: 467-475.
- GRIGG R.W. (1965) - Ecological studies of black coral in Hawaii. *Pac. Sci.*, **19**: 244-260.
- GILI J.M., COMA R. (1998) - Benthic suspension feeders: their paramount role in littoral marine food webs. *Trends Ecol. Evol.*, **13**: 316-321.
- KAUFMANN R.S., WAKEFIELD W.W., GENIN A. (1989) - Distribution of epibenthic megafauna and lebensspuren on two central North Pacific seamounts. *Deep-Sea Res.*, **36A**: 1863-1896.
- MUUS B.J. (1968) - A field method to measure "exposure" by means of plaster balls. *Sarsia*, **34**: 61-68.
- OPRESKO D.M., FÖRSTERRA G. (2004) - Orden Antipatharia (corales negros o espinosos). In: Hofrichter R. (ed), El Mar Mediterraneo (Fauna, Flora, Ecologia). *Omega*, **2**: 506-509.
- TAZIOLI S., BO M., BOYER M., ROTINSULU H., BAVESTRELLO G. (2007) - Ecology of some common antipatharians from the Marine Park of Bunaken (North Sulawesi, Indonesia). *Zool. Stud.*, **46**: 227-241.

G. CARUSO, C. CAROPPO\*, E. CRISAFI, F. DECEMBRINI, L.S. MONTICELLI

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC), Consiglio Nazionale delle Ricerche,  
Spianata S. Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.  
gabriella.caruso@iamc.cnr.it

\*IAMC, Via Roma, 3 - 74100 Taranto, Italia.

## STRUTTURA E ATTIVITÀ DELLA COMUNITÀ MICROBICA LUNGO IL GRADIENTE TERMOALINO DEL GOLFO DI MANFREDONIA, ADRIATICO MERIDIONALE (CAMPAGNA SAMCA-3, MAGGIO 2003)

### *MICROBIAL CHARACTERISTICS AND ACTIVITIES ALONG THE THERMO-HALINE GRADIENT IN THE GULF OF MANFREDONIA, SOUTHERN ADRIATIC SEA (SAMCA-3 CRUISE, SPRING 2003)*

**Abstract** - The activity and abundance of microbial (eukaryotic phytoplankton and prokaryotic) community inhabiting the waters of the Manfredonia Gulf were studied to determine the possible effects played by the thermoaline gradient. Both the enzymatic hydrolysis and heterotrophic production processes showed the presence of three areas (coastal, off-shore, and transition) with different characteristics.

**Key-words:** microorganisms, abundance, activity patterns, biogeochemistry.

**Introduzione** - Lo studio dei processi microbici coinvolti nella trasformazione della materia organica e della struttura della comunità microbica riveste notevole importanza per definire il ruolo dei microrganismi nel funzionamento degli ecosistemi acquatici. Le aree costiere caratterizzate dalla presenza di fronti termo-alini rappresentano regioni ad elevata produttività. Il Golfo di Manfredonia costituisce un'area soggetta a forte impatto agricolo, industriale ed urbano (Bianchi e Zurlini, 1984), poco indagata dal punto di vista biogeochimico (Spagnoli *et al.*, 2010). Le componenti autotrofa ed eterotrofa della comunità microbica ed i processi produttivi e degradativi da esse condotte sono stati analizzati lungo un gradiente termo-alino.

**Materiali e metodi** - Nell'ambito della campagna oceanografica SAMCA-3 (System Approach to Mediterranean Coastal Areas, Cluster 10-SAM Program) condotta in Adriatico meridionale (N/O URANIA-CNR, 15-27 Maggio 2003), 36 stazioni idrologiche dislocate lungo 5 transetti costa-largo sono state campionate a quote comprese fra 0,5 e 300 m di profondità (Fig. 1). Su 15 stazioni idrologiche (n=78 campioni) sono stati misurati: temperatura, salinità e ossigeno disciolto (mediante sonda CTD SBE 911 plus); nutrienti (ammonio, nitrito, nitrato, ortofosfato) e clorofilla-*a* (Chl-*a*). I conteggi del fitoplancton sono stati realizzati seguendo il metodo di Utermöhl (1958). In alcune stazioni sono stati stimati i tassi di produzione primaria autotrofa. A quote comprese entro i 50 metri di profondità (generalmente 0,5; 5; 20; 30 e 50 m) (n=46 campioni) sono stati misurati i tassi di attività enzimatica (leucin aminopeptidasi, LAP; alfa- e beta-glucosidasi,  $\alpha$ - e  $\beta$ -GLU; fosfatasi alcalina, AP) mediante substrati fluorogenici specifici (Hoppe, 1993) e di produzione procariotica eterotrofica (HPP) mediante  $^3\text{H}$ -leucina (Smith e Azam, 1992). L'abbondanza procariotica totale (PA) è stata valutata attraverso conteggio in microscopia a epifluorescenza (Porter e Feig, 1980), il volume cellulare è stato determinato mediante analisi di immagine. Tutti i dati sono stati normalizzati e sottoposti a correlazione (Pearson's coefficient *r*) e analisi di varianza (ANOVA *F*).



**Risultati** - In corrispondenza del transetto centrale del Golfo (Fig. 1) è stata osservata la presenza di un chiaro gradiente, definito da valori di salinità compresi fra 38,0 e 38,5, fra acque costiere e di largo, separate da una zona di transizione. Per tale motivo si è deciso di focalizzare l'attenzione allo strato fotico più superficiale (quote comprese fra 0,5 e 50 m di profondità, come indicato in precedenza), all'interno della quale la comunità planctonica microbica risponde in maniera più significativa alle variazioni termo-aline.

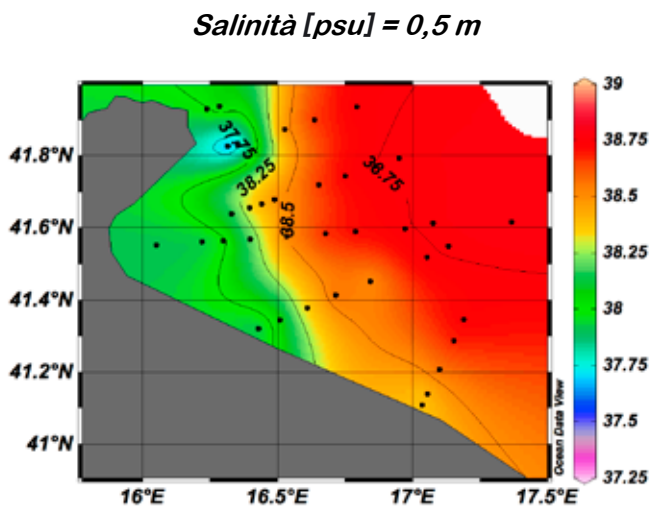


Fig. 1 - Stazioni campionate nel Golfo di Manfredonia. Sono mostrate le isolinee di salinità (0,5 m).  
Stations sampled at the Manfredonia Gulf. The isohaline curves are shown (depth 0.5 m).

In Tab. 1 vengono riportati i valori  $\text{medi} \pm \text{d.s.}$  dei parametri ambientali e microbici (tassi di attività enzimatica e produzione eterotrofica, abbondanza procariotica e fitoplanctonica) registrati nelle diverse zone, ed il livello di significatività delle differenze. La zona costiera è caratterizzata da acque significativamente più calde e meno salate, risentendo della presenza di apporti fluviali. Il contenuto di ossigeno disciolto delle acque costiere è significativamente inferiore rispetto alla zona di transizione e di largo. La composizione chimica delle acque mostra la predominanza dello ione nitrato rispetto agli altri composti azotati, che presentano peraltro una distribuzione differente a seconda delle zone esaminate. Difatti lo ione nitrito segue un gradiente decrescente da costa a largo; al contrario nelle acque di largo e costiere si registrano concentrazioni maggiori degli ioni ammonio e nitrato, mentre valori minimi nella zona di transizione. Differenze spaziali significative si osservano tuttavia solo per lo ione ammonio. Per lo ione ortofosfato si riscontrano maggiori concentrazioni nella zona di transizione e nelle acque di largo. I valori di Chl-*a* e PP, indici del trofismo dell'area, mostrano come i processi produttivi fitoplanctonici siano concentrati rispettivamente in corrispondenza delle zone costiera e di transizione. La zona costiera risulta caratterizzata da concentrazioni di Chl-*a* significativamente più elevate rispetto alle altre zone, mentre per la PP le variazioni fra area costiera e pelagica sono al limite della significatività. I tassi di attività idrolitica mostrano una predominanza dell'enzima AP rispetto a LAP,  $\beta$ -GLU e  $\alpha$ -GLU. In particolare, i tassi maggiori di attività AP si registrano in



acque costiere e di largo, con minimi registrati nella zona di transizione. L'enzima LAP presenta tassi di attività crescenti da costa a largo, suggerendo la presenza di materia organica labile, ancora degradabile, in acque più lontane da costa. I valori di  $\alpha$ - e  $\beta$ -GLU dimostrano processi di decomposizione dei polisaccaridi più spiccati nella zona costiera, che diminuiscono progressivamente procedendo verso le acque di largo. Differenze significative nei tassi di attività enzimatica si registrano solo per l'enzima  $\beta$ -GLU. Un andamento decrescente costa-largo si riscontra anche per i tassi di HPP, che risultano significativamente più elevati nella zona costiera. I valori di PA diminuiscono da costa a largo, mentre aumenta il volume cellulare.

Tab. 1 - Parametri ambientali e microbici misurati nelle tre aree del Golfo di Manfredonia. Sono riportati i valori medi  $\pm$  deviazione standard, ed i livelli di significatività (ANOVA F) delle differenze registrate fra le aree. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ , n.s.=non significativo. In parentesi è indicato il numero di campioni esaminato per ciascuna area.

*Environmental and microbial parameters measured in the three areas of the Manfredonia Gulf. The mean values  $\pm$  standard deviation, and the significance levels (ANOVA F) of the differences recorded among the areas are reported. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ , n.s.=not significant. The number of samples examined per each area is shown in brackets.*

	Area costiera (24)	Area di transizione (13)	Area pelagica (41)	F
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	18,45 $\pm$ 1,20	16,82 $\pm$ 1,47	15,90 $\pm$ 1,95	** costa vs largo
Salinità	37,92 $\pm$ 0,25	38,40 $\pm$ 0,06	38,69 $\pm$ 0,09	** largo vs costa e transizione
Ossigeno disciolto (ml/l)	5,74 $\pm$ 0,27	6,02 $\pm$ 0,26	6,01 $\pm$ 0,32	** costa vs transizione e largo
Ammonio ( $\mu\text{M}$ )	0,458 $\pm$ 0,311	0,245 $\pm$ 0,163	0,543 $\pm$ 0,387	** transizione vs largo
Nitrito ( $\mu\text{M}$ )	0,077 $\pm$ 0,049	0,062 $\pm$ 0,033	0,056 $\pm$ 0,038	n.s.
Nitrato ( $\mu\text{M}$ )	0,544 $\pm$ 0,207	0,351 $\pm$ 0,183	0,558 $\pm$ 0,276	n.s.
Ortofosfato ( $\mu\text{M}$ )	0,062 $\pm$ 0,034	0,084 $\pm$ 0,051	0,079 $\pm$ 0,042	n.s.
Chl- <i>a</i> ( $\mu\text{g/l}$ )	0,49 $\pm$ 0,24	0,27 $\pm$ 0,18	0,16 $\pm$ 0,13	** costa vs largo
PP ( $\mu\text{gC/l/h}$ )	2,39 $\pm$ 2,03	1,78 $\pm$ 1,03	1,19 $\pm$ 0,98	n.s.
LAP (nmol/l/h)	13,72 $\pm$ 8,91	21,23 $\pm$ 21,92	22,61 $\pm$ 23,01	n.s.
alfa-GLU (nmol/l/h)	0,87 $\pm$ 0,62	0,80 $\pm$ 0,71	0,65 $\pm$ 0,66	n.s.
beta-GLU(nmol/l/h)	1,16 $\pm$ 0,79	0,84 $\pm$ 0,57	0,47 $\pm$ 0,46	** costa vs largo
AP (nmol/l/h)	43,14 $\pm$ 14,67	34,75 $\pm$ 16,47	42,45 $\pm$ 42,83	n.s.
HPP ( $\mu\text{gC/l/h}$ )	0,297 $\pm$ 0,135	0,098 $\pm$ 0,043	0,064 $\pm$ 0,035	** costa vs largo
PA (cell/l)	1,8 $\times 10^8 \pm 1,2 \times 10^8$	1,3 $\times 10^8 \pm 8,1 \times 10^7$	9,5 $\times 10^7 \pm 3,7 \times 10^6$	* costa vs largo
Volume cellulare ( $\mu\text{m}^3$ )	0,165 $\pm$ 0,038	0,171 $\pm$ 0,034	0,185 $\pm$ 0,025	* costa vs largo
Abbondanza fitoplanct. totale (cell/l)	7,2 $\times 10^4 \pm 2,0 \times 10^4$	5,8 $\times 10^4 \pm 1,1 \times 10^4$	7,3 $\times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$	n.s.
diatomee	3,4 $\times 10^4 \pm 2,1 \times 10^4$	2,0 $\times 10^4 \pm 1,2 \times 10^4$	3,0 $\times 10^4 \pm 2,1 \times 10^4$	n.s.
dinoflagellati	7,9 $\times 10^3 \pm 4,2 \times 10^3$	5,6 $\times 10^3 \pm 3,8 \times 10^3$	8,5 $\times 10^3 \pm 3,7 \times 10^3$	n.s.
coccolitoforidi	1,5 $\times 10^3 \pm 1,8 \times 10^3$	9,1 $\times 10^2 \pm 1,6 \times 10^3$	2,6 $\times 10^3 \pm 1,4 \times 10^3$	n.s.
fitoflagellati	2,8 $\times 10^4 \pm 7,1 \times 10^3$	3,1 $\times 10^4 \pm 7,9 \times 10^3$	3,1 $\times 10^4 \pm 1,3 \times 10^4$	n.s.

La comunità fitoplanctonica, sia totale che nelle varie componenti (diatomee, dinoflagellati, coccolitoforidi e fitoflagellati), presenta una maggiore abbondanza cellulare in corrispondenza delle zone costiera e di largo; in particolare la componente a diatomee appare più concentrata nella zona costiera mentre quella a dinoflagellati e coccolitoforidi prevale nella zona di largo, sebbene senza mostrare differenze spaziali significative. Valori minimi di abbondanza fitoplanctonica si registrano nella zona di transizione, in corrispondenza della quale vengono misurate minori concentrazioni di sali azotati. Correlazioni significative sono state riscontrate fra salinità e AP ( $r = -0.404$ ,  $P < 0.05$ ) o LAP ( $-0.684$ ,  $P < 0.01$ ) nelle zone costiera e di transizione; fra salinità e HPP ( $r = -0.788$ ,  $P < 0.01$ ) nella zona di largo. La temperatura influenza

direttamente i tassi di LAP ( $r=0.553$ ,  $P<0.05$ ) nella zona di transizione e inversamente AP e PA ( $r=-0.429$ ,  $-0.564$ ,  $P<0.01$  rispettivamente) nella zona pelagica.

**Conclusioni** - Il Golfo presenta una netta distinzione fra le zone costiera, di transizione e di largo in base alle caratteristiche termo-aline. La presenza del gradiente termo-alino influenza significativamente la distribuzione dei parametri trofici in termini di concentrazione di ione ammonio e di Chl-*a*. Variazioni significative nei tassi di attività  $\beta$ -GLU e HPP, e nei valori di PA suggeriscono come il fronte termo-alino influenzi sia l'abbondanza totale che i processi di trasformazione della materia organica da parte della componente eterotrofa. La presenza del gradiente non sembra invece influenzare significativamente l'abbondanza della componente autotrofa fitoplanctonica, che tuttavia risulta meno concentrata in corrispondenza della zona di transizione per il maggiore idrodinamismo e la minore disponibilità di nutrienti.

### Bibliografia

- BIANCHI C.N., ZURLINI G. (1984) - Criteri e prospettive di una classificazione ecotipologica dei sistemi marini costieri italiani. *Acqua Aria*, **8**: 785-796.
- HOPPE H.G. (1993) - Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity (EEA) measurement of bacteria. In: Kemp P.R., Sherr B.F., Sherr E.B., Cole J.J.(eds), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton: 423-431.
- PORTER K.G., FEIG Y.S. (1980) - The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 943-948.
- SMITH D.C., AZAM F. (1992) - A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using  $^3\text{H}$ -leucine. *Mar. Microb. Food Webs*, **6**: 107-114.
- SPAGNOLI F., DELL'ANNO A., DE MARCO A., DINELLI E., FABIANO M., GADALETA M.V., IANNI C., LOIACONO F., MANINI E., MARINI M., MONGELLI G., RAMPAZZO G., RIVARO P., VEZZULLI L. (2010) - Biogeochemistry, grain size and mineralogy of the central and southern Adriatic Sea sediments: a review. *Chem. Ecol.*, **26**: 19-44.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.*, **9**: 1-38.

D. D'ESPOSITO, E. DATTOLO<sup>1</sup>, F. BADALAMENTI<sup>1</sup>, L. ORSINI<sup>2</sup>, G. PROCACCINI

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale - 80121 Napoli, Italy.  
desposito@szn.it

<sup>1</sup>IAMC-CNR, Istituto per l'Ambiente Marino Costiero,  
Via Luigi Vaccara - 91026 Mazara del Vallo (TP), Italy.

<sup>2</sup>Katholieke Univ. Leuven, Lab. Aquat. Ecol. & Evolutionary Biol.,  
Ch. Deberiotstraat 32 - 3000 Leuven, Belgium.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF *POSIDONIA OCEANICA* ALONG A DEPTH GRADIENT USING NEUTRAL AND SELECTIVE/NON NEUTRAL MICROSATELLITES MARKERS

### *ANALISI COMPARATIVA DELLA DIVERSITÀ GENETICA DI POSIDONIA OCEANICA LUNGO IL GRADIENTE BATIMETRICO USANDO MARCATORI MICROSATELLITI NEUTRALI E SOTTO SELEZIONE*

**Abstract** - *Posidonia oceanica* is an endemic seagrass of the Mediterranean Sea with relevant conservation and ecological value. In an effort to understand its adaptive potential to environmental changes we screened the genome of *P. oceanica* to identify outlier loci correlated with adaptive responses to different depths, where the plant experiences different light and temperature regimes. Depth-related genetic diversity was analyzed in six *P. oceanica* (Posidoniaceae) meadows with anonymous and EST-linked microsatellites markers. Our results show that EST-linked microsatellites give a better resolution in separating the two analyzed depths. We identified eleven putative outlier loci linked to depth adaptation in the set of sixty-four microsatellites screened.

**Key-words:** *Posidonia oceanica*, depth, microsatellites, adaptation, genome-scan.

**Introduction** - *Posidonia oceanica* (Posidoniaceae) forms continuous meadows along the coasts of the Mediterranean Sea, extending from 0 to 40 m in depth. Differences in morphological, phenological and physiological traits have been shown among plants growing along the depth gradient (Buia & Mazzella, 1991). Studies employing microsatellite loci evidenced spatial genetic differentiation in this species, both among geographic areas and between different depths (Serra *et al.*, 2010). Diversity in genetic patterns among populations can result from both neutral and adaptive variation. The aim of this work is to identify adaptive variation in natural *P. oceanica* populations using a genome-scan approach, a technique that allows the identification of loci under selection or outlier loci, i.e. loci which shown an higher or lower differentiation among populations than expected under the hypothesis of neutrality (Storz, 2005). The genome-scan implies the use of a large number of markers. In our analysis we used microsatellites or simple sequence repeats (SSR), which are among the most widely used molecular markers in population genetics due to their co-dominance, relative abundance and high mutation rate. Besides anonymous microsatellites, for which the precise location in the genome is unknown, SSR located in the flanking regions of Expressed Sequence Tags (ESTs) are also utilized in genome-scan studies. Being linked to coding sequences via genetic hitchhiking, in fact, this markers can more likely be under positive selection. Here we used both anonymous and EST-linked microsatellites and we compared the results obtained with the two classes of markers, in order to identify population-specific outliers.

**Materials and methods** - *P. oceanica* shoots were sampled for each of two depths (–5 m and –25 m) in six distinct meadows (Meloria (PI), Piombino (LI), Lacco

Ameno (NA), Stareso (Corsica), Marettimo (TP) and Malta) and were genotyped with a total of 64 microsatellite loci. 13 loci were anonymous, putatively neutral (A-SSR) and widely employed to assess neutral genetic variation (e.g. Arnaud-Haond *et al.*, 2005; Serra *et al.*, 2010), while 51 loci were EST-linked (E-SSR) and developed *ad hoc* from two existing *P. oceanica* EST-libraries (<http://drzompo.uni-muenster.de/>). Population structure was estimated with an analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992) using the Genalex 6 software (Peakall & Smouse, 2006). A global AMOVA was conducted separately for A-SSR and E-SSR markers by partitioning the dataset in the 6 populations and 12 sub-populations (two depths for each population). A local AMOVA was used to estimate the contribution of the two microsatellites sets in the detection of variance between the two depths at each population. To identify loci under selection we used the software Lositan, a selection detection workbench based on the method *fdist* (Antao *et al.*, 2008; Beaumont & Nichols, 1996). It discriminates outlier loci (loci that depart from neutral expectation based on the expectation of the island model of populations) from strictly neutral ones. Loci under selection will show a higher or a lower *F<sub>st</sub>* (fixation index) in relation to their expected heterozygosity. In order to detect outlier loci potentially selected along a depth gradient, Lositan was run for pairwise comparison (the two different depths) from each population and employing only polymorphic loci.

**Results** - The genetic diversity assessed comparing the two classes of markers shows that A-SSR are more variable than E-SSR in terms of polymorphic loci, mean number of alleles per locus and mean heterozygosity. The number of polymorphic loci ranged between 9 and 12 for the 13 A-SSR loci and between 8 and 14 for the 51 EST-SSR, (Tab. 1). The A-SSR loci showed a higher number of alleles per locus (from 2.077 to 4.077) in comparison to the E-SSR (from 1.255 to 1.431) (Tab. 1). Expected heterozygosity ranged from 0.293 to 0.485 in the A-SSR set and from 0.069 to 0.121 in the E-SSR loci (Tab. 1). G/N values (number of genotypes/number of samples) were almost similar in the two microsatellites sets (from 0.47 to 1.0 for the A-SSR and from 0.42 to 1 for the E-SSR) (Tab. 1). Eleven outlier loci related to depth were identified over all the pairwise comparisons performed. The number of outlier loci was lower for the putatively neutral marker set, A-SSR (4 outliers over 12 polymorphic loci) than for EST-derived loci, E-SSR (7 outliers over 16 polymorphic loci). Among the E-SSR markers, three loci result strong candidates for selection related to the depth because they emerge from the comparison of more than one population. The global AMOVA shows higher variance between depths when using the E-SSR markers (variance=28%), in respect to the A-SSR (variance=18%). The local analysis, shows different values of variance among different sets of markers (Tab. 1). The use of all EST-linked loci showed higher variance than A-SSR markers in all populations except Malta (Tab. 1).

**Conclusions** - The aim of this work was to identify loci under selection related to two different depths and to analyze the neutral and adaptive variation in 6 populations [12 (sub)populations] of *P. oceanica*. In addition, we estimated the resolution power of the new (EST-linked) microsatellite set in detecting depth-related molecular variation, in respect to the existing one (A-SSR). Our analysis revealed that A-SSR markers have higher number of alleles, heterozygosity and genotype discrimination power but the variance between the two depths is generally higher when EST-linked are utilized. This suggests that meadows growing at different depths are somehow adapted to different environmental forces. Results also show that of the eleven loci that seem to be under balancing selection, seven belong to the EST-linked microsatellites, while four loci were identified from the putative neutral



microsatellites markers. The function of the linked genomic regions in responding to selective environmental pressure will be further investigated.

**Acknowledgements:** We thank Luigi Piazzini for his support in field activities. We thank the ESF COST Action (ES 0906) Seagrass Productivity: From Genes to Ecosystem Management, for the funds provided for the sampling in Stareso.

## References

- ANTAO T., LOPES A., LOPES R.J., BEJA-PEREIRA A., LUIKART G. (2008) - LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a Fst-outlier method. *BMC Bioinformatics*, **9**: 323.
- ARNAUD-HAOND S., ALBERTO F., TEIXEIRA S., PROCACCINI G., SERRÃO E., DUARTE C.M. (2005) - Assessing genetic diversity in clonal organisms: low diversity or low resolution? Combining power and cost-efficiency in selecting markers. *J. Hered.*, **96** (4): 434-440.
- BEAUMONT M.A., NICHOLS R.A. (1996) - Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proc. R. Soc. B*, **263**: 1619-1626.
- BUIA M.C., MAZZELLA L. (1991) - Reproductivity phenology of the Mediteranean Seagrasses *Posidonia oceanica* (L.) Delile *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers *Zostera noltii* Hornem. *Aq. Bot.*, **40** (1): 343-362.
- EXCOFFIER L., SMOUSE P.E., QUATTRO J.M. (1992) - Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479-491.
- PEAKALL R., SMOUSE P.E. (2006) - GENEALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, **6**: 288-295.
- SERRA I.A., INNOCENTI A.M., DI MAIDA G., CALVO S., MIGLIACCIO M., ZAMBIANCHI E., PIZZIGALLI C., ARNAUD-HAOND S., DUARTE C.M., SERRAO E.A., PROCACCINI G. (2010) - Genetic structure in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. Disentangling past vicariance events from contemporary patterns of gene flow. *Mol. Ecol.*, **19**: 557-568.
- STORZ J.F. (2005) - Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Mol. Ecol.*, **14** (3): 671-688.

E. RICEVUTO, M. LORENTI, F.P. PATTI, M.B. SCIPIONE, M.C. GAMBI

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italy.  
elena.ricevuto@szn.it

## TEMPORAL TRENDS OF BENTHIC INVERTEBRATE SETTLEMENT ALONG A GRADIENT OF OCEAN ACIDIFICATION AT NATURAL CO<sub>2</sub> VENTS (TYRRHENIAN SEA)

### *VARIABILITÀ TEMPORALE DELL'INSEDIAMENTO DI INVERTEBRATI BENTONICI LUNGO UN GRADIENTE DI ACIDIFICAZIONE DELLE ACQUE*

**Abstract** - We report data of a temporal analysis of benthic invertebrate settlement/colonization on artificial structures (scouring pads) along a gradient of ocean acidification at natural CO<sub>2</sub> vents at Ischia Island (Tyrrhenian Sea, Italy) in different periods of the year. The main groups collected were polychaetes, amphipod, isopod and tanaid crustaceans and mollusks. The analysis shows high temporal variability in settlement although some common trends are detectable. While mollusks show a clear reduction both in species and abundances in the acidified stations (except for *Mytilus galloprovincialis*), the other groups showed a few species (es. the polychaete *Platynereis dumerilii*, *Amphiglena mediterranea* and *Syllis prolifera*; the amphipod *Caprella acanthifera*, the tanaid *Leptochelia savignyi* and the isopod *Dynamene bifida*) which thrive well and are sometimes more abundant in extremely low pH areas than in control ones.

**Key-words:** CO<sub>2</sub> vents, ocean acidification, benthic organisms, settlement, temporal trend.

**Introduction** - Recent studies forecast a dramatic increase of partial pressure of CO<sub>2</sub> at the ocean surface within the current century, as a consequence of the increasing atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations, with a resulting occurrence of ocean acidification (OA). To date, relatively few experiments have been conducted *in situ* to detect possible consequences of anthropogenic CO<sub>2</sub> on marine ecosystems (Hall-Spencer *et al.*, 2008; Kroeker *et al.*, 2011). Effects of OA on the early life-history and on the settlement/colonization of most benthic invertebrates and its temporal variability are still poorly known, but represent crucial aspects, since early stages seem to be more sensitive to OA than adults (Kroeker *et al.*, 2010). Species selection occurring on early stages may have far reaching consequences for the make-up and structure of benthic communities, although colonization by adult mobile forms may be of importance. Initial data on benthic settlement/colonization along a gradient of OA (Cigliano *et al.*, 2010) indicated species selection acting especially against strongly calcified organisms, mollusks and foraminifers in very acidic water, whereas other taxa, less or not calcified (peracarid crustaceans, polychaetes), result particularly abundant in such low pH areas. The aim of this study was to reproduce the original sampling by Cigliano *et al.* (2010) in different periods of the year, in order to assess temporal variations on invertebrate settlement/colonization pattern along a gradient of OA operating on a shallow area naturally acidified by volcanic carbon dioxide vent systems.

**Materials and methods** - The study area is a volcanic gas vents system (90-95% CO<sub>2</sub>) which occurs in shallow waters around Castello Aragonese, Ischia island (Tyrrhenian Sea, Italy). The gradient of water acidification occurs within approx. 300 m (Hall-Spencer *et al.*, 2008). Six stations, 3 on the north and 3 on the south side of the Castello, were selected, based on previous observation of pH and venting activity. Two were located in control areas, at normal pH conditions (N1 and S1), two in intermediate areas, characterized by high pH fluctuations (N2 and S2)



(Kroeker *et al.*, 2011) and two in areas of high venting activity characterized by low pH conditions (N3 and S3) (Cigliano *et al.*, 2010). In each station, three artificial collectors, represented by 8 cm diameter rounded nylon scouring pads (Cigliano *et al.*, 2010), were placed on buoyed moorings approximately 80 cm from the bottom at 2-3 m depth. Artificial collectors were deployed for one month in September 2009, March 2010 and May 2010. After removal, scouring pads were fixed in 4% formalin in sea water and were later transferred to 70% alcohol for sorting under stereomicroscope to the lowest possible taxon. For comparison purposes with Cigliano *et al.* (2010) (April-May 2008), abundance data of the main groups were included in the present analysis.

**Results and conclusions** - A total of 10,927 individuals of benthic macrofauna were sampled. The most abundant groups were Crustacea (2918 Amphipoda, 1294 Tanaidacea, 950 Isopoda, 114 Decapoda, 107 Cumacea), Polychaeta (3527 individuals) and Mollusca (1625 Bivalvia, 219 Gasteropoda, 83 Nudibranchia). The total community assemblage showed lower abundances in March and higher in May 2010, likely depending on the life cycle and on the recruitment rate and period of most invertebrates. The main exception is Polynoidae polychaetes, occurring only in March. A general spatial trend showed that, although many taxa, especially the most calcified ones (mollusks, serpulid polychaetes), were absent or strongly reduced in the acidified stations, total abundances were relatively constant along the pH gradient, and on the south side sometimes even higher near the vent (e.g., in September). Most of the individuals were juveniles, although adult forms also occurred, especially among polychaetes and crustacean peracarids. Polychaeta dominated by *Amphiglena mediterranea* (45% of all polychaetes), Exogoninae spp. (19%), *Syllis prolifera* (18%), *Platynereis dumerilii* (6%), *Polyophthalmus pictus* (4.6%), showed a general decrease of

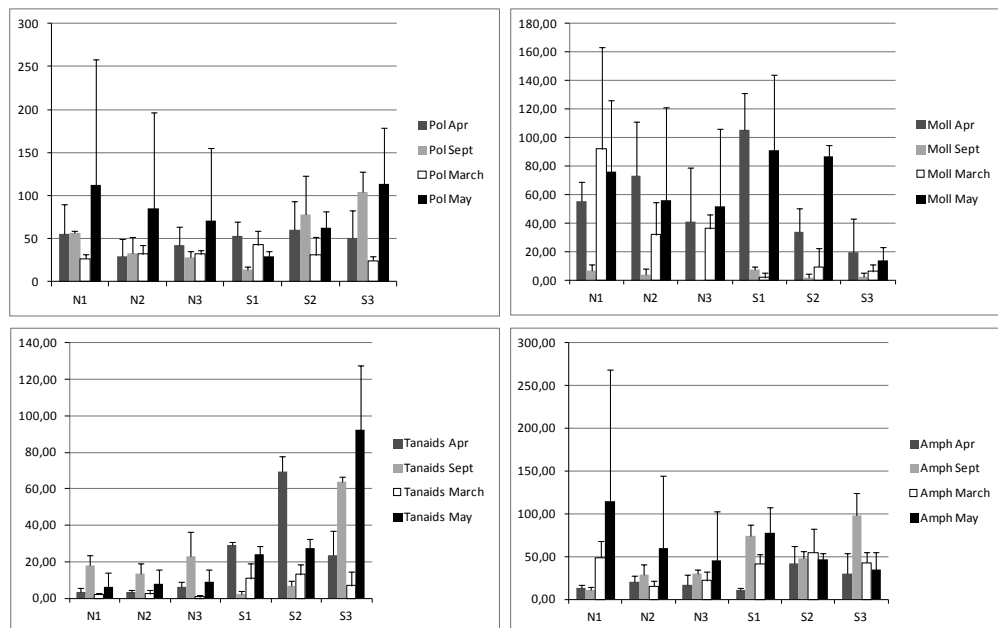


Fig. 1 - Trends of abundance of some of the most abundant groups collected in the 6 stations on substrates exposed for one month in different periods of the year. Data from Cigliano *et al.* (2010) (Apr) were included.

Andamento dell'abbondanza dei principali gruppi raccolti nelle 6 stazioni di studio da substrati esposti per un mese in diversi periodi. I dati da Cigliano *et al.* (2010) (Apr) sono inclusi.

abundance along the pH gradient, in the Northern side, from N1 to N3, especially in September and May; whereas on the south side there is an evident increase of the abundance from S1 to the acidified station S3, especially in September and May (Fig. 1). *Amphiglena mediterranea*, *Syllis prolifera* and *Platynereis dumerilii*, although occurring at all stations, showed a constant increase in abundance in the acidified sites. Mollusca (Fig. 1), mostly represented by juvenile stages of the bivalve *Mytilus galloprovincialis* (76.8%), occurred also in the acidified stations; gastropods were virtually absent in all acidified stations. Tanaidacea (Fig. 1), dominated by *Leptochelia savignyi* (96.6%), showed peak abundance at low pH, especially in southern station (S3). Isopoda, dominated by *Dynamene bifida* (83.4%), were particularly abundant in the intermediate and acidified southern stations (S2 and S3), while Amphipoda (Fig. 1), mainly represented by *Caprella acanthifera* (21.6%), showed a quite constant abundance. The nMDS ordination (Fig. 2), based on Bray-Curtis similarity, grouped samples according to station and sampling period. The differences in time were the most relevant to the observed pattern (ANOSIM for time factor: Global R=0.566, P<0.1%). Interaction of time with side and station was also significant (ANOSIM for time/side factor: Global R=0.655, P<0.1; ANOSIM for time/station factor: Global R=0.533, P<0.1). In summary, this study shows strong differences in settlement of different groups of invertebrates between the various period considered, with minima in March and maxima in May. The most abundant species responsible for the observed patterns are relatively few (polychaetes, peracarid crustaceans and a single bivalve) and are the same species observed in a previous study (Cigliano *et al.*, 2010).

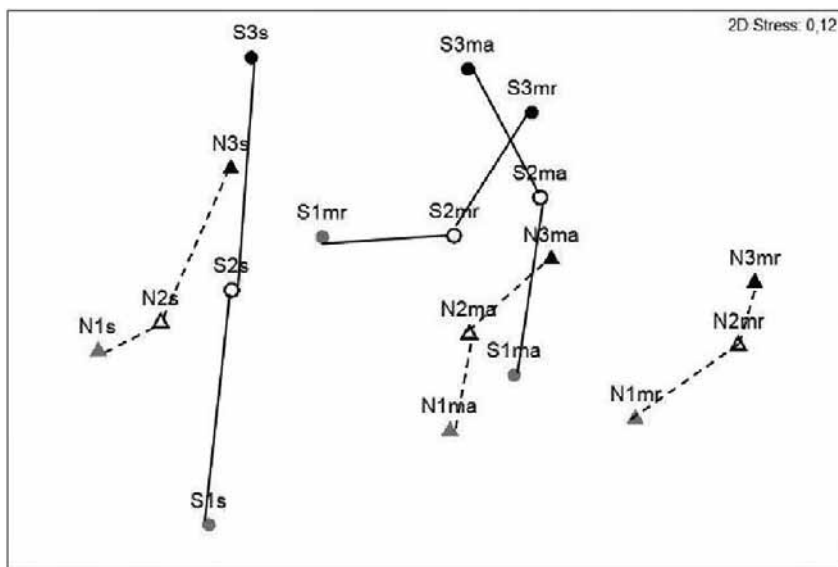


Fig. 2 - nMDS ordination of stations: N1-S1=control sts; N2-S2=intermediate sts; N3-S3=acidified sts; s=September; mr=March; ma=May.

nMDS di stazioni e periodi: N1-S1=st. controllo; N2-S2=st. intermedie; N3-S3=st. acidificate; s=settembre; mr=marzo; ma=maggio.

The spatial distribution of these dominant taxa is also quite consistent with previous observation, both in artificial collectors (Cigliano *et al.*, 2010) and in natural rocky cliff communities from the same area (Kroeker *et al.*, 2011), where these taxa (e.g.,

*A. mediterranea*, *S. prolifera*, *L. savignyi*, *D. bifida*) were the few thriving in the most acidified stations and often more abundant here than in the control ones exposed to ambient, normal pH conditions. Finally, a general decrease in taxa diversity is also confirmed as mainly due to disappearance or strong reduction of calcifying organisms, with the exception of *Mytilus galloprovincialis* whose juveniles occurred in relatively large numbers also in the most acidified stations. This suggests that this species is selected during the adult phase and not at larval level, as adults are absent from the natural rocky bottoms (Hall-Spencer *et al.*, 2008; Kroeker *et al.*, 2011).

**Acknowledgements:** Thanks to Capt. Vincenzo Rando and Bruno Iacono for thorough support at sea during field work, and to Patrizia Messina for help in sorting the benthic organisms. Claire Calcagno helped in finding appropriate scouring pads for the experiments in Medford (MA, USA) supermarkets!

## References

- CIGLIANO M., GAMBI M.C., RODOLFO-METALPA R., PATTI F.P., HALL-SPENCER J.M. (2010) - Effects of ocean acidification on invertebrate settlement at volcanic CO<sub>2</sub> vents. *Mar. Biol.*, **157**: 2489-2502.
- HALL-SPENCER J.M., RODOLFO-METALPA R., MARTIN S., RANSOME E., FINE M., TURNER S.M., ROWLEY S.J., TEDESCO D., BUIA M.C. (2008) - Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature*, **454**: 96-99.
- KROEKER K.J., KORDAS R.L., CRIM R.N., SINGH G.G. (2010) - Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecol. Lett.*, **13**: 1419-1434.
- KROEKER K.J., MICHELI F., GAMBI M.C., MARTZ T.R. (2011) - Divergent ecosystem responses within a benthic marine community to ocean acidification. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, doi 10.1073/pnas.1107789108.

A. SFRISO, M. CAMPOLIN, A.A. SFRISO, A. BUOSI, C. FACCA

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica (DAIS), Università di Venezia,  
Calle Larga, S. Marta, 2137 - 30123 Venezia, Italia.  
sfrisoad@unive.it

## CAMBIO DELLA FLORA E DELLA VEGETAZIONE ACQUATICA IN GRADIENTI ECOLOGICI DALLE BOCHE DI PORTO AD ALCUNE VALLI DA PESCA DELLA LAGUNA VENETA

### *CHANGE OF AQUATIC FLORA AND VEGETATION IN ECOLOGICAL GRADIENTS FROM THE LAGOON INLETS TO SOME FISHING PONDS OF THE VENICE LAGOON*

**Abstract** - *The change of macroalgae and aquatic plant composition, in association with some environmental parameters and nutrient concentrations in the water column and surface sediments of the Venice Lagoon, has been investigated along ecological transects from the lagoon inlets to some enclosed fish ponds. The results highlight on the strong contrast between the open lagoon, where vegetation is more affected by human activities and the pristine flora and vegetation still present in some fish ponds, such as Val Cavallino and Val Dogà, that were preserved from anthropogenic influence.*

**Key-words:** *phytobenthos, aquatic plants, gradients, fish ponds, Venice Lagoon.*

**Introduzione** - La laguna di Venezia è il più vasto ambiente di transizione del Mediterraneo con marcati gradienti morfo-ecologici che hanno un profondo impatto sulle comunità bentoniche e sulle associazioni vegetali che colonizzano i suoi fondali. Tuttavia la Laguna Veneta è anche un ambiente profondamente modificato dall'uomo e spesso i gradienti morfo-ecologici ne risultano profondamente alterati. In questo lavoro vengono presentati i risultati di alcune indagini sul cambio della vegetazione e della flora acquatica in un gradiente che va dalle bocche di porto di Lido e di Malamocco ad ambienti confinati incluse alcune valli da pesca, della laguna Nord: Val Dogà (5N) e Val Cavallino (6N) e della laguna Sud: Valle Zappa (5S) e Val Pierimpì (6S) in associazione con alcuni parametri fisico-chimici della colonna d'acqua, incluse le concentrazioni di nutrienti, e le variazioni della granulometria, densità e concentrazioni di fosforo nei sedimenti superficiali.

**Materiali e metodi** - Il campionamento delle macrofite è stato effettuato tramite un rastrello direttamente dalla barca solamente su fondali incoerenti seguendo le indicazioni della Direttiva 2000/60/EC per gli ambienti di transizione. È stato raccolto il maggior numero di specie presenti ed è stata calcolata la copertura di tutte le specie considerate nel loro insieme, e dei taxa dominanti, tramite l'applicazione della "Census Visual Technique" o mediante saggi di presenza/assenza come previsto dalle tecniche di campionamento riportate nel manuale ISPRA (2008). La determinazione delle specie rinvenute è avvenuta mediante identificazione allo stereoscopio e microscopio biologico. Lo stato ecologico è stato determinato mediante l'applicazione del MaQI (Sfriso, 2010). Le misure di temperatura, pH, Eh sono state ottenute mediante un pH-metro portatile Delta Ohm HD8705. L'ossigeno disciolto è stato determinato mediante un Oximeter (OXI 196) della WTWG. Campioni del primo metro d'acqua sono stati raccolti con un cilindro in plexiglas di 4 cm di diametro e 150 cm d'altezza, filtrati in campo con filtri Whatman GF/F (porosità: 0.7) e refrigerati a -20 °C per la determinazione in laboratorio di ammoniaca, nitriti, nitrati ed ortofosfati. I filtri sono stati refrigerati fino alla determinazione della clorofilla-*a* e delle feofitine. Campioni di sedimento sono stati raccolti con un carotatore da 10 cm di diametro e i primi 5 cm di tre carote, dopo accurata omogeneizzazione, sono stati suddivisi

in due sub-campioni. Il primo è stato refrigerato, liofilizzato ed analizzato per il contenuto di fosforo totale, inorganico ed organico e il secondo è stato analizzato a fresco per la determinazione della densità e della percentuale di frazione fine.

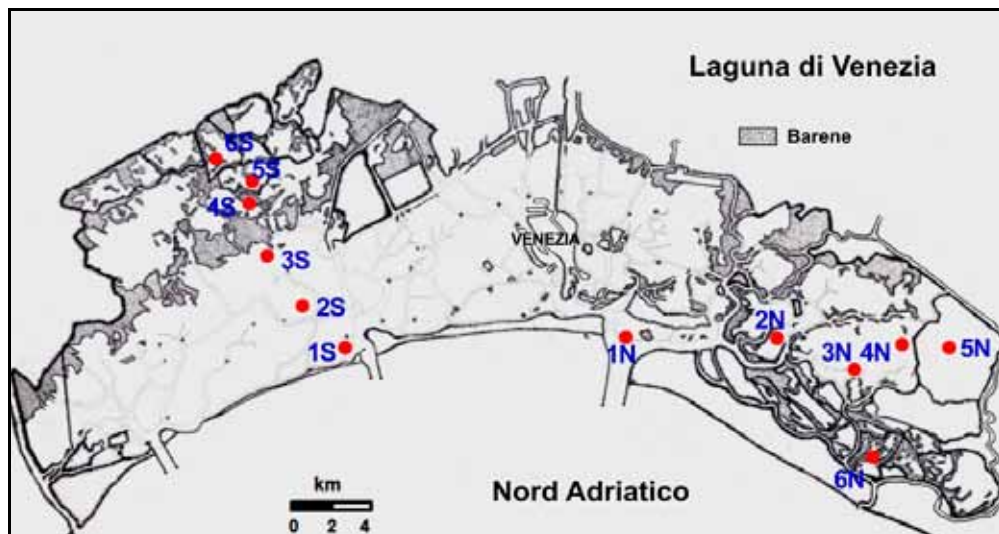


Fig. 1 - Stazioni di campionamento.

*Sampling stations.*

**Risultati** - Sono stati scelti due transetti tra il mare e la gronda lagunare, uno con caratteristiche prevalentemente marinizzate (bocca di Malamocco – Valli Laguna Sud) e l'altro caratterizzato da elevato confinamento (bocca del Lido – Valli Laguna Nord). In entrambi i transetti le ultime stazioni sono state scelte all'interno di alcune valli da pesca (Fig. 1).

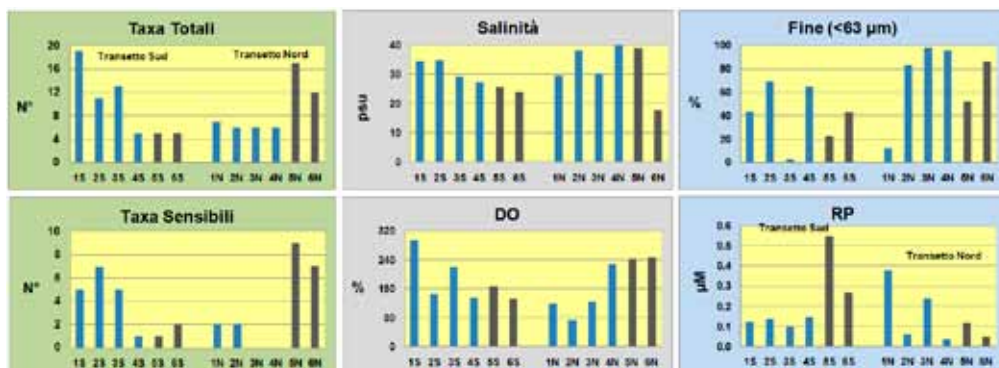
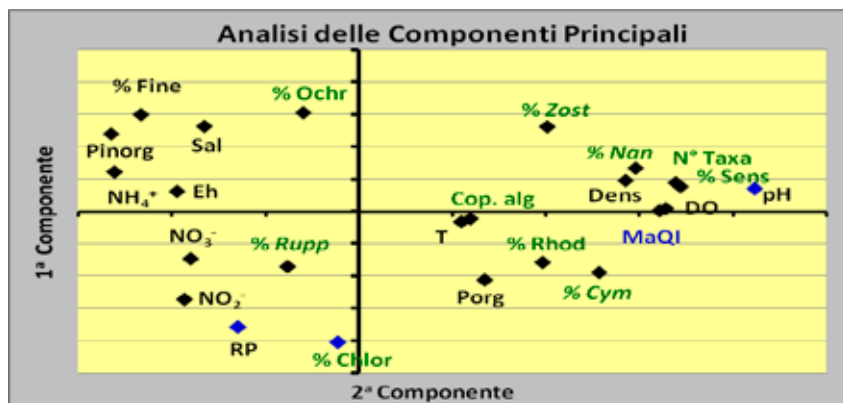


Fig. 2 - Valori di alcuni parametri biotici ed abiotici nelle stazioni di campionamento. Fine=frazione di sedimento <63μm; DO=ossigeno disciolto; RP=fosforo reattivo.

*Values of some biotic and abiotic parameters in the sampling stations.*

*Fine=sediment fraction <63 μm; DO=dissolved oxygen; RP=reactive phosphorus.*

I due transetti mostrano profonde differenze sia nella flora che in alcuni parametri ambientali (Fig. 2) come la salinità, la concentrazione di ossigeno e di ortofosfati. Tuttavia, questi ultimi sono fortemente influenzati dalla presenza della vegetazione e dall'impatto antropico come la pesca alle vongole filippine. Le valli da pesca mostrano un'inaspettata differenza tra la laguna Sud e la laguna Nord dovuta prevalentemente a differenti impatti antropici e in particolar modo alla continua movimentazione di sedimenti per scavare canali od erigere nuovi argini. Nel transetto Sud, il numero di taxa totali e quello delle specie di alta valenza ecologica (vedi liste riportate in Sfriso *et al.*, 2009 e Sfriso, 2010), decrescono col gradiente di salinità, lo stato di ossigenazione, la concentrazione di ortofosfati e la percentuale di frazione fine (salvo alcune aree come la stazione 3S dove è stata immessa sabbia a protezione delle barene). Le valli da pesca presentano poche specie e quasi tutte di scarsa valenza ecologica. Viceversa, la laguna Nord nella laguna aperta presenta condizioni molto alterate. Il numero di taxa, con eccezione della stazione della bocca di porto, è basso o nullo come la presenza di taxa di elevata qualità, un tempo molto abbondanti, mentre è molto elevato nelle valli da pesca. In tal caso, con eccezione di Val Cavallino che presenta un regime idraulico controllato, la salinità va aumentando per il maggior confinamento, assieme alla concentrazione d'ossigeno e alla componente fine dei sedimenti superficiali, ma la concentrazione di ortofosfati va decrescendo. Le valli della laguna Nord presentano una lussureggiante vegetazione ormai scomparsa nelle aree confinate della laguna aperta e specie algali altrove assenti come *Lamprothamnion papulosum* (Wallroth) J. Groves, *Valonia aegagropila* C. Agardh e *Polysiphonia spinosa* (C. Agardh) J. Agardh. Anche le piccole alghe calcarizzate appartenenti ai generi *Hydrolithon* e *Pneophyllum* sono abbondantissime mentre mancano quasi completamente nelle altre aree confinate e nelle valli della laguna Sud. Sono presenti dense praterie di *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande, ormai introvabile nella laguna aperta e di *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asherson e, al di fuori delle stazioni di campionamento che hanno un raggio di 15-20 m, sono molto comuni anche *Nanozostera noltii* (Hornemann) Tomlinson e Posluzny e *Zostera marina* Linnaeus.



T=temperatura/temperature, DO=ossigeno disciolto/dissolved oxygen, Sal=salinità/salinity, Pinorg=fosforo inorganico/inorganic phosphorus, Porg=fosforo organico/organic phosphorus, RP=fosforo reattivo/reactive phosphorus, Dens=densità del sedimento/sediment density, Sens=specie di alto valore ecologico/sensitive species, Nan=Nanozostera, Cym=Cymodocea, Zost=Zostera, Rupp=Ruppia, Ochr=Ochrophyta, Chlor=Chlorophyta, Rhod=Rhodophyta.

Fig. 3 - Analisi delle componenti principali di alcuni parametri ambientali e vegetazionali.

*Principal component analysis of some environmental parameters and vegetation taxa.*



La matrice di correlazione tra le variabili ambientali e quelle associate alle macrofite, a causa del basso numero di dati e dell'alta variabilità delle aree indagate, non mostra rilevanti correlazioni se non tra la percentuale di saturazione dell'ossigeno disciolto e il numero totale di taxa o il numero di taxa di elevata valenza ecologica. L'analisi delle componenti principali evidenzia le variabili che spiegano la maggior varianza del sistema ( $p > 0.7 = \text{pH, RP, \% Chlorophyta}$ ) ma dà anche un'evidenza spaziale di come si dispongono ed associano tra loro. Infatti, il pH, il DO e la densità dei sedimenti superficiali sono proiettati nella stessa direzione del numero dei taxa totali, del numero dei taxa sensibili, delle fanerogame *Nanozostera*, *Zostera* e *Cymodocea* e delle Rhodophyta, parametri che caratterizzano gli ambienti di migliore stato ecologico, mentre le concentrazioni di nutrienti nell'acqua, la percentuale di frazione fine, l'Eh, la salinità e il fosforo inorganico sono riuniti dalla parte opposta assieme alla percentuale di Ochrophyta, Chlorophyta e *Ruppia* la cui presenza è invece maggiormente legata a condizioni ambientali più compromesse o più ricche di nutrienti. Infatti, le Ochrophyta in questi campionamenti primaverili-autunnali sono rappresentate quasi esclusivamente dalla Xanthophyceae *Vaucheria submarina* (Lyngbye) Berkeley, specie di bassa valenza ecologica che riesce a colonizzare ambienti proibitivi per altre specie. *Ruppia*, nonostante sia una spermatofita, colonizza sedimenti fini ricchi di nutrienti e sostanza organica in decomposizione, pertanto caratterizza ambienti di stato ecologico inferiore a quello di *Cymodocea*, *Zostera* e *Nanozostera* come previsto dall'indice MaQI.

**Conclusioni** - La vegetazione e la flora presenti nei substrati incoerenti di stazioni poste in transetti di confinamento tra le bocche di porto della laguna veneta ed alcune valli da pesca poste lungo la gronda lagunare mostrano significative variazioni, spesso profondamente influenzate da attività antropiche come la pesca delle vongole *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) o la ricostruzione di barene con immissioni di sedimenti sabbiosi. Pertanto, in laguna Sud il numero di taxa di macrofite diminuisce col grado di confinamento mentre in laguna Nord, che presenta condizioni ambientali più impattate da diverse attività antropiche, mostra un trend opposto. Inoltre, nelle aree più confinate della laguna aperta sono scomparse le praterie di fanerogame, un tempo molto diffuse, e la vegetazione è rappresentata prevalentemente da Ulvaceae, Gracilariaceae e Solieriaceae in laguna Sud e da *Vaucheria submarina* in laguna Nord. Le valli da pesca, considerate "ambienti altamente modificati" e quindi non classificabili mediante l'applicazione della Direttiva 2000/60/EC, per quanto riguarda le macrofite, presentano invece alcune situazioni di ambiente incontaminato. Infatti, in Val Dogà e in Val Cavallino in laguna Nord vi sono estese praterie di fanerogame acquatiche e specie macroalgali di alta valenza ecologica come: *L. papulosum*, *V. aegagropila*, *P. spinosa*, etc. ormai scomparse dalle aree confinate del resto della laguna ma anche dalle altre lagune del Nord Adriatico.

## Bibliografia

- ISPRA (2008) - *Protocolli per il campionamento e la determinazione degli elementi di qualità biologica e fisico-chimica nell'ambito dei programmi di monitoraggio ex 2000/60/CE delle acque di transizione*. EL-PR-TW-Protocolli Monitoraggio-03.05: 34 pp.
- SFRISO A. (2010) - Macrophyte Quality Index (MaQI) per la valutazione dello stato ecologico dei sistemi di transizione dell'ecoregione-Mediterranea. In: Bonometto A., Gennaro P., Boscolo Brusà R. (eds), *Linee Guida per l'applicazione del Macrophyte Quality Index (MaQI). Implementazione della Direttiva (2000/60/CE)*. ISPRA: 1-34.
- SFRISO A., FACCA C., GHETTI P.F. (2009) - Validation of the Macrophyte Quality Index (MaQI) set up to assess the ecological status of Italian marine transitional environments. *Hydrobiologia*, **617**: 117-141.



A. CHIARORE, F.P. PATTI, M.C. BUIA

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italia.  
francesco.patti@szn.it

## VARIABILITÀ MORFOLOGICA E GENETICA DI *SARGASSUM VULGARE*. STUDIO PILOTA DI UNA POPOLAZIONE NELL'AREA ACIDIFICATA DEL "CASTELLO ARAGONESE" (ISCHIA, NAPOLI)

### *MORPHOLOGICAL AND GENETIC VARIABILITY OF SARGASSUM VULGARE. PILOT STUDY OF A POPULATION IN THE ACIDIFIED ZONE OF THE "CASTELLO ARAGONESE" (ISCHIA ISLAND, GULF OF NAPLES)*

**Abstract** - In this study we analysed the genetic and the morphotypes variability of the brown algae *Sargassum vulgare* C. Agardh. We considered two populations off the island of Ischia (Naples), the first one characteristic of an acidified zone, the second from a control area without CO<sub>2</sub> vents. The morphological observations revealed two different morphotypes. Molecular analysis (we used two markers: the plastidial marker *psbA* and the nuclear marker *28S*) indicated a variability of the nuclear genes.

**Key-words:** phenotypic variations, DNA, *Sargassum vulgare*, acidification.

**Introduzione** - *Sargassum vulgare* C. Agardh è un'alga bruna (Phaeophyceae) caratteristica di fondali rocciosi dall'infralitorale sino a 40 metri di profondità, cosmopolita, presente nel bacino del Mediterraneo ad eccezione dell'Adriatico settentrionale e del Golfo del Leone. Recenti osservazioni hanno evidenziato una drastica riduzione della specie in ambienti dove prima era abbondante (Buia, oss. pers.). Nuovi studi sulla distribuzione e caratterizzazione genetica della specie lungo le coste dell'isola di Ischia (NA) hanno evidenziato il forte carattere adattativo di *S. vulgare* a condizioni estreme di ambienti acidi (Buia *et al.*, 2007; Ciarlone, 2012). Nel presente studio sono state condotte osservazioni sulla distribuzione e morfologia della specie in un sito dell'isola d'Ischia caratterizzato da emissioni di CO<sub>2</sub> che abbassano il pH dell'acqua e in un sito di controllo dove i parametri di pH rientrano nei valori medi stagionali. Le tipicità morfologiche sono state confrontate con i risultati ottenuti da analisi molecolari volte a identificare la presenza di un morfotipo di *S. vulgare* geneticamente differenziato e caratteristico di ambienti con bassi valori di pH. Per la caratterizzazione genetica sono stati utilizzati due marcatori: un gene plastidiale (*psbA*) che codifica per la proteina D1 che lega la clorofilla nel fotosistema II; un gene nucleare (*28S*) che codifica per la subunità maggiore dei ribosomi.

**Materiali e metodi** - I campionamenti sono stati eseguiti in due siti: Castello Aragonese (acidificato) e San Pancrazio (controllo). Un singolo individuo (tallo) di *S. vulgare* è stato raccolto ad una profondità di circa un metro su tre transeetti, a distanza di un metro l'uno dall'altro. I campioni sono stati sciacquati vigorosamente con acqua di mare precedentemente filtrata, al fine di allontanare il fello epifita e ridurre il rischio di contaminazioni per le analisi molecolari. I singoli campioni, divisi in tre sub-campioni, sono stati successivamente conservati in azoto liquido. Prima dell'analisi molecolare sono state condotte osservazioni di morfologia classica utilizzando uno stereomicroscopio. Ogni sub-campione è stato pesato procedendo immediatamente all'estrazione del genoma seguendo un protocollo con CTAB. Per ogni marcatore è stato utilizzato un set di primers specifici. Per il gene plastidiale sono stati ottimizzati due primers, *PsbA-F* (5'-ATGACTGCTACTTTAGAAAGACG-3') e *PsbA-R* (5'- GCTAAATCTARWGGGAAGTTGTG -3'), costruiti sulla base del

lavoro di Tronholm *et al.* (2010) e modificati successivamente (Ciarlone, 2012). Per il gene nucleare sono stati utilizzati i primers universali ITS3 e D1R (Patti e Gambi, 2001) modificati secondo lo schema di Rousseau *et al.* (1997). I prodotti di PCR opportunamente purificati sono stati quindi affidati per il sequenziamento al Servizio di Biologia Molecolare della Stazione Zoologica Anton Dohrn.

**Risultati** - Le osservazioni morfologiche, al momento solo qualitative, suggeriscono un effetto dell'acidificazione sulla dimensione dei talli (minore nella zona acidificata), sulla pigmentazione e sulla copertura epifitica (assente nella zona acidificata). L'analisi delle sequenze nucleari ITS1 e 5.8S ha prodotto 645 paia di basi (bp). Le sequenze ITS2 sono risultate più lunghe, circa 800bp e più variabili con 7 sostituzioni che hanno differenziato le due popolazioni sulla base di due aplogruppi principali; nessuna differenza tra le popolazioni è emersa con l'analisi della variabilità dei geni plastidiali.

**Conclusioni** - Nell'area di studio del "Castello Aragonese" si è già riscontrato un adattamento di specie algali differentemente distribuite lungo tutto il gradiente di pH (Porzio *et al.*, 2011). Precedenti studi hanno dimostrato come le alghe siano un ottimo modello per studiare gli effetti dell'acidificazione sulla selezione di morfotipi particolari (Ciarlone, 2012). *Sargassum vulgare* sembra essersi adattato all'ambiente acido sia con un morfotipo differente caratterizzato da foglie piccole, sia con un aplotipo caratteristico dell'ambiente acido. Tuttavia la variabilità dell'ITS2 e la presenza di copie multiple evidenziate dal clonaggio può essere il risultato di una separazione di flusso genico non necessariamente legato all'ambiente acidificato. Tali studi si inseriscono in un progetto più ampio volto ad individuare i fattori di stress dell'alga ad uno stimolo esterno con l'ausilio dell'analisi di espressione genica. Tale approccio potrebbe aiutare a chiarire quali siano i geni responsabili dell'adattamento, i meccanismi di regolazione, nonché i fattori fisiologici coinvolti nei processi cellulari.

**Ringraziamenti:** Si ringraziano Vincenzo Rando e Bruno Iacono per il supporto a mare durante i campionamenti, e il Servizio di Biologia Molecolare SZN per il sequenziamento.

## Bibliografia

- BUIA M.C., PORZIO L., PATTI F.P. (2007) - The application of the "CARLIT method" to assess the ecological status of coastal waters in the Gulf of Naples. In: Pergent-Martini C., El Asmi S., Le Ravallec C. (eds), *Proceedings of the Third Mediterranean Symposium on Marine Vegetation*. CAR/ASP Publ., Tunis: 253-254.
- CIARLONE L. (2012) - *Variabilità genetica del genere Sargassum: studio pilota di una popolazione di Sargassum vulgare in una zona acidificata del Golfo di Napoli*. Tesi Sperimentale in Genetica, UNINA: 82 pp.
- PATTI F.P., GAMBI M.C. (2001) - Phylogeography of the invasive polychaete *Sabella spallanzanii* (Sabellidae) based on the nucleotide sequence of internal transcribed spacer 2 (ITS2) of nuclear rDNA. *MEPS*, **215**: 169-177.
- PORZIO L., BUIA M.C., HALL-SPENCER J.M. (2011) - Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **400**: 278-287.
- ROUSSEAU F., LECLERC M.C., DE REVIERS B. (1997) - Molecular phylogeny of European Fucales (Phaeophyceae) based on partial large-subunit rDNA sequence comparisons. *Phycologia*, **36**: 438-446.
- TRONHOLM A., STEEN F., THYBERGEIN L., LELIAERT F., VERBRUGGEN H., RIBERA SIGUAN M.A., DE CLERCK O. (2010) - Species delimitation, taxonomy and biogeography of *Dictyota* in Europe (Dictyotales, Phaeophyceae). *J. Phycol.*, **46**: 1301-1321.

A. FRANZO, A. KARUZA, C. COMICI, C. DE VITTOR, D. CIVILE, V. KOVACEVIC,  
D. DEPONTE, F. LORETO, P. DEL NEGRO

OGS (Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale),  
Borgo Grotta Gigante, 42/C - 34010 Sgonico (TS), Italia.  
Via A. Piccard, 54 - 34014 Trieste, Italia.  
pdelnegro@ogs.trieste.it

## DISTRIBUZIONE DEI PROCARIOTI LUNGO LE STRUTTURE SISMOGENETICHE DEL GOLFO DI SANT'EUFEMIA

### *PROKARYOTE DISTRIBUTION ALONG SEISMOGENETIC FAULTS IN THE GULF OF SANT'EUFEMIA*

**Abstract** - During the summer 2010 a well-targeted multidisciplinary survey in the frame of the ISTEGE project was performed using the R/V OGS-Explora. The multidisciplinary dataset, composed by geophysical, geological, oceanographic, geochemical and biological data, was acquired to study the earthquake that struck the Calabria region in the night of 8 September 1905. The distribution of prokaryotes along the seismogenetic faults is described.

**Key-words:** sediments, bacteria, organic matter, earthquake.

**Introduzione** - Il terremoto dell'8 settembre 1905 fu uno dei più devastanti tra quelli che hanno colpito la Calabria. A tutt'oggi non esiste una spiegazione univoca e completa riguardo la posizione epicentrale (Michelini *et al.*, 2006). Essendo un terremoto recente è plausibile che la struttura sismogenetica che lo ha causato abbia un'espressione morfologica, sotto forma di frattura, sul fondale marino. È noto che la morfologia del fondale influenza la distribuzione delle comunità bentoniche ed in particolare quella dei procarioti, i colonizzatori più abbondanti dei sedimenti profondi. Il presente lavoro si prefigge di valutare se la distribuzione dei procarioti e della sostanza organica nel sedimento possano essere influenzate dalla conformazione geologica dell'area e soprattutto dal suo potenziale sismogenetico.

**Materiali e metodi** - Durante l'estate 2010 è stata effettuata una campagna oceanografica multidisciplinare nel Golfo di Sant'Eufemia (Tirreno meridionale), nell'ambito del progetto ISTEGE, utilizzando la nave OGS-Explora. Sono stati acquisiti profili sismici Multicanale, profili sub-bottom Chirps e dati Multibeam al fine di ottenere un'immagine ad alta risoluzione del fondale e delle strutture geologiche sottostanti. Nell'area ritenuta sede della struttura sismogenetica è stato prelevato il sedimento superficiale tramite gravity cores in 12 stazioni posizionate lungo la faglia principale e in prossimità di strutture tettoniche secondarie. L'abbondanza procariotica è stata determinata in microscopia ad epifluorescenza previa colorazione con SYBR Green I (Ravenshlag *et al.*, 2000; Lunau *et al.*, 2005) e la valutazione delle concentrazioni di C totale e C biopolimerico è stata eseguita secondo Cibic *et al.* (2008) e bibliografia riportata. Le principali variabili, chimiche e biologiche, sono state sottoposte ad un'analisi delle componenti principali (PCA) secondo Burba *et al.* (2008).

**Risultati** - L'analisi dei dati geofisici ha consentito di determinare l'assetto morfo-strutturale del Golfo di Sant'Eufemia identificando un sistema di faglie con probabile movimento transpressivo orientato ONO-ESE nella parte centrale del bacino, una faglia normale orientata N30° posizionata al margine della piattaforma, e numerosi vulcani o biocostruzioni al cui tetto spesso si osservano intense fuoriuscite di fluidi. Le concentrazioni di C nei sedimenti superficiali risultano

comprese fra  $18,2 \pm 0,1$  e  $21,16 \pm 0,1$  mgC/g sed dw mentre la frazione organica varia tra  $6,2 \pm 0,1$  e  $8,2 \pm 0,1$  mgC/g sed dw. La componente proteica caratterizza la frazione biopolimerica con concentrazioni comprese tra  $888 \pm 18$  e  $1623 \pm 25$   $\mu$ gC/g sed dw. La disponibilità di lipidi e carboidrati è decisamente inferiore (lipidi  $229-24$   $\mu$ gC/g sed dw e carboidrati  $101-253$   $\mu$ gC/g sed dw). Le abbondanze procariotiche, comprese tra  $0,70 \pm 0,05$  e  $2,94 \pm 0,38$   $10^8$  cell/g sed dw, rientrano nell'intervallo di variabilità riportato in letteratura per i sedimenti profondi (Middelboe *et al.*, 2006) e sono confrontabili con i valori descritti da Danovaro *et al.* (2009) in un'area più profonda del Tirreno meridionale caratterizzata dalla presenza di rilievi sottomarini. La PCA ha evidenziato come la distribuzione della sostanza organica risulti influenzata dalla struttura geomorfologica del fondale. In prossimità della faglia i sedimenti sono caratterizzati dalle più elevate concentrazioni di C organico e biopolimerico che supportano le maggiori abbondanze procariotiche confermando un forte controllo bottom-up sullo sviluppo della comunità picobentonica.

**Conclusioni** - L'assetto morfo-strutturale del Golfo di Sant'Eufemia (Tirreno meridionale) è caratterizzato dalla presenza di una faglia attiva, rilevabile al fondale marino. È possibile ipotizzare che tale struttura possa modificare la circolazione a scala locale e, così come descritto per i rilievi sommersi (Pusceddu *et al.*, 2009), determinare un accumulo di sostanza organica che provvede al sostentamento del popolamento microbico bentonico.

#### Bibliografia

- BURBA N., FEOLI E., MALARODA M. (2008) - MATEDIT: a software tool to integrate information in decision making processes. In: Neves R., Baretta J.W., Mateus M. (eds), *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. Ist. Press, Lisboa: 123-127.
- CIBIC T., AQUAVITA A., ALEFFI F., BETTOSO N., BLASUTTO O., DE VITTOR C., FALCONI C., FALOMO J., FARESI L., PREDONZANI S., TAMBERLICH F., FONDA UMANI S. (2008) - Integrated approach to sediment pollution: a case study in the Gulf of Trieste. *Mar. Pol. Bull.*, **56**: 1650-1667.
- DANOVARO R., CORINALDESI C., LUNA G.M., MAGAGNINI M., MANINI E., PUSCEDDU A. (2009) - Prokaryote diversity and viral production in deep-sea sediments and seamounts. *Deep Sea Res. II*, **56**: 738-747.
- LUNAU M., LEMKE A., WALTHER K., MARTENS-HABBENA W., SIMON M. (2005) - An improved method for counting bacteria from sediments and turbid environments by epifluorescence microscopy. *Environ. Microbiol.*, **7**: 961-968.
- MICHELINI A., LOMAX A., NARDI A., ROSSI A. (2006) - La localizzazione del terremoto della Calabria dell'8 settembre 1905 da dati strumentali. In: Guerra I., Savaglio A. (eds), *8 settembre 1905, terremoto in Calabria*. Università della Calabria: 225-240.
- MIDDELBOE M., GLUD R.N., WENZHÖFER F., OGURIB K., KITAZATO H. (2006) - Spatial distribution and activity of viruses in the deep-sea sediments of Sagami Bay, Japan. *Deep Sea Res. I*, **53**: 1-13.
- PUSCEDDU A., GAMBI C., ZEPELLI D., BIANCHELLI S., DANOVARO R. (2009) - Organic matter composition, metazoan meiofauna and nematode biodiversity in Mediterranean deep-sea sediments. *Deep Sea Res. II*, **56**: 755-762.
- RAVENSCHLAG K., SAHM K., KNOBLAUCH C., JØRGENSEN B.B., AMANN R. (2000) - Community structure, cellular rRNA content, and activity of sulfate-reducing bacteria in marine Arctic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**: 3592-3602.

M. GIANI, C. COMICI, C. DE VITTOR, C. FABBRO, C. FALCONI, A. KARUZA, M. KRALJ,  
G. INGROSSO, M. LIPIZER, P. DEL NEGRO

Sezione di Oceanografia - OGS (Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale),  
Via A. Piccard, 54 - 34151 Trieste, Italia.  
mgiani@inogs.it

## VARIAZIONI DELL'ACIDITÀ, DEL SISTEMA CARBONATICO E DELL'ATTIVITÀ BATTERICA IN ACQUE COSTIERE NORD ADRIATICHE

### *VARIATIONS IN THE ACIDITY, CARBONATE SYSTEM AND BACTERIAL ACTIVITY IN THE NORTH ADRIATIC COASTAL WATERS*

**Abstract** - *The monthly distributions of prokaryotes, pH, and of the carbonate species were investigated in the coastal waters of the Northern Adriatic Sea. Strong decrease of pH occurred particularly during the stratification period in late summer when also an increase in prokaryotic abundances and their production took place.*

**Key-words:** *pH, alkalinity, bacteria, coastal waters.*

**Introduzione** - L'incremento delle emissioni di CO<sub>2</sub> nell'atmosfera sta causando l'acidificazione degli oceani i cui effetti sono evidenti anche nel Mediterraneo (Touratier e Goyet, 2011) e nell'Adriatico (Luchetta *et al.*, 2010). Nelle acque costiere, soggette a variazioni naturali di pH su scala giornaliera, stagionale ed anche interannuale (Cai *et al.*, 2011), l'acidificazione dovuta all'incremento della CO<sub>2</sub> atmosferica causa effetti che si sommano a quelli dovuti ai processi di produzione primaria, di respirazione e di degradazione della sostanza organica. L'obiettivo del presente lavoro è focalizzato sulla comprensione del ruolo dei processi biologici e degli apporti fluviali nel determinare la variabilità del pH e sistema carbonatico in ambienti costieri.

**Materiali e metodi** - Campioni d'acqua sono stati prelevati mensilmente da marzo 2011 per un anno, in una stazione (C1-LTER) del golfo di Trieste. I campionamenti sono stati effettuati con bottiglie Niskin da 5 L a 0,5, 5, 10, e 15 m. Le misure di pressione, salinità (conducibilità) e temperatura sono state effettuate con un CTD Seabird SBE 25. Le determinazioni analitiche dei nutrienti (NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>) sono state eseguite mediante Autoanalyzer III Bran Luebbe secondo i metodi riportati in Grasshoff *et al.* (1999). L'ossigeno disciolto è stato determinato mediante titolazione iodometrica di Winkler mentre la clorofilla *a* per via spettrofluorimetrica. pH<sub>T</sub> e alcalinità totale (A<sub>T</sub>) sono stati determinati rispettivamente per via spettrofotometrica e titolazione potenziometrica (Dickson *et al.*, 2007). L'abbondanza dei procarioti è stata valutata secondo il metodo di Porter e Feig (1980), distinguendo in microscopia ad epifluorescenza il popolamento eterotrofo (Heterotrophic Prokaryotes, HP) da quello autotrofo (Autotrophic Prokaryotes, AP). La produzione procariotica (Prokaryotic Carbon Production, PCP) è stata valutata utilizzando il metodo di incorporazione di <sup>3</sup>H-leucina (Smith e Azam, 1992).

**Risultati** - Nel periodo invernale le acque sono relativamente omogenee mentre da aprile inizia la stratificazione termica che assieme agli apporti di acque di origine fluviale determina la formazione di un marcato pycnoclino. La temperatura varia tra un minimo eccezionale di 4,79 °C (febbraio 2012), raggiunto in seguito ad un

prolungato raffreddamento causato dalla bora, ed un massimo di 26,16 °C (luglio 2011), con una media annua pari a  $15,21 \pm 6,10$  °C. Mentre durante il periodo invernale le acque sono prossime ai valori di saturazione dell'ossigeno in tarda estate nelle acque di fondo si raggiunge la massima sottosaturazione (62%, in settembre). I valori di pH più bassi si riscontrano nelle acque di fondo in settembre (7.978) mentre i valori massimi di alcalinità totale ( $2743 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ) si raggiungono in corrispondenza ai minimi di salinità in conseguenza agli apporti fluviali. Le variazioni mensili nella distribuzione dei nutrienti sono rilevanti, generalmente con massimi superficiali in corrispondenza agli apporti fluviali. Nel periodo di stratificazione tardo estiva invece, i massimi si riscontrano nelle acque di fondo in corrispondenza con i minimi di ossigenazione. Le abbondanze dei procarioti eterotrofi risultano comprese tra  $3,4$  e  $56,6 \times 10^8$  cell.  $\text{L}^{-1}$  con una media annua di  $15,6 \pm 12,5 \times 10^8$  cell.  $\text{L}^{-1}$  mentre gli autotrofi variano tra  $1,08$  e  $25,25 \times 10^7$  cell.  $\text{L}^{-1}$  con valore medio pari a  $5,28 \pm 6,07 \times 10^7$  cell.  $\text{L}^{-1}$ . La produzione procariotica media annua è di  $0,30 \pm 0,26 \mu\text{gC L}^{-1}$ . Il consumo di ossigeno che avviene nelle acque più profonde, generalmente al di sotto del picnoclino principale, risulta significativamente correlato con le concentrazioni del carbonio inorganico totale ( $r=0,745$ ,  $p<0,0001$ ), dei silicati ( $r=0,882$ ,  $p<0,0001$ ) e dell'ammonio ( $r=0,479$ ,  $p<0,01$ ) ed inversamente con il  $\text{pH}_{T_{\text{media}}=15,21 \text{ } ^\circ\text{C}}$  ( $r=-0,763$ ,  $p<0,0001$ ). PCP e AP risultano direttamente correlati con la temperatura ( $r=0,758$ ,  $p<0,00001$  e  $r=0,512$ ,  $p<0,01$ , rispettivamente). Il consumo di ossigeno nel periodo caldo (da giugno a ottobre) risulta correlato ( $r=0,485$ ,  $p<0,05$ ) con l'abbondanza di HP.

**Conclusioni** - La massima acidificazione avviene in tarda estate nelle acque povere di ossigeno prossime al fondo quando l'attività batterica degrada la sostanza organica che si è accumulata in seguito ai processi di produzione ed agli apporti fluviali (Cozzi *et al.*, in stampa) rigenerando i nutrienti.

## Bibliografia

- CAI W.-J., HU X.-J., MURRELL M.C., LEHRTER J.C., LOHRENTZ S.E., CHOU W.-C., ZHAI W., HOLLIBAUGH J.T., WANG Y., ZHAO P., GUO X., GUNDERSEN K., DAI M., GONG G.C. (2011) - Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nature Geoscience*, **4**: 766-770.
- COZZI S., FALCONI C., COMICI C., ČERMELJ B., KOVAC N., TURK V., GIANI M. (in stampa) - Recent evolution of river discharges in the Gulf of Trieste and their potential response to climate changes and anthropogenic pressure. *Estuar. Coastal Shelf Sci.*
- DICKSON A.G., SABINE C.L., CHRISTIAN J.R. (2007) - *Guide to the best practices for ocean CO<sub>2</sub> measurements*. Version 3.0, PICES Special Publication 3: 191 pp.
- GRASSHOFF K., EHRHARDT M., KREMLING K. (1999) - *Methods of Seawater Analysis*. Wiley-VCH: 600 pp.
- LUCHETTA A., CANTONI C., CATALANO G. (2010) - New observations of CO<sub>2</sub>-induced acidification in the northern Adriatic Sea over the last quarter century. *Chem. Ecol.*, **26**: 1-17.
- PORTER K.G., FEIG Y.S. (1980) - The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 943-948.
- SMITH D.C., AZAM F. (1992) - A simple economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using <sup>3</sup>H-leucine. *Mar. Microb. Food Webs*, **6**: 107-114.
- TOURATIER F., GOYET C. (2011) - Impact of the Eastern Mediterranean Transient on the distribution of anthropogenic CO<sub>2</sub> and first estimate of acidification for the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res. I*, **58**: 1-15.



M. RUOCO, C. BRUNET, M. LORENTI, C. LAURITANO,  
D. D'ESPOSITO, M. RICCIO, G. PROCACCINI

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale - 80121 Napoli, Italia.  
gpro@szn.it

## *POSIDONIA OCEANICA* PHOTOADAPTATION TO THE DEPTH GRADIENT

### *FOTOADATTAMENTO DI POSIDONIA OCEANICA AL GRADIENTE DI PROFONDITÀ*

**Abstract** - Seagrasses adaptation to light can imply changes at morphological, physiological and genetic levels. To investigate the molecular mechanisms of photo-acclimation in the seagrass *Posidonia oceanica* (Posidoniaceae), we selected nine genes of interest belonging to the photosynthetic apparatus as possible markers of the plant response to light availability and measured pigment composition as well as photosynthetic and photo-protective performances.

**Key-words:** gene expression, *Posidonia oceanica*, photoacclimation, light, pigments.

**Introduction** - *Posidonia oceanica* (L.) Delile, meadows have declined extensively in the Mediterranean basin due to anthropogenic-driven changes of environmental parameters, among which light is one of the more important. Photosynthesis is strongly influenced by light quantity and quality and plant growth, survival and depth distribution are directly linked to underwater irradiance (Dennison *et al.*, 1993). The aim of this study was to evaluate if *P. oceanica* exhibits differences in the adaptive response and in the modulation of gene expression at different depths, where meadows experience different light intensity and regime. Gene expression, assessed by RT-qPCR, was correlated with pigment composition estimated by HPLC and with photosynthetic performances estimated by PAM fluorimetry.

**Materials and methods** - *Sample collection*: Three shoots were collected by SCUBA diving in September 2011 from each of two different depths (–5 m and –20 m) in a meadow located in Lacco Ameno, Ischia (Gulf of Naples). Leaf tissue was cleaned from epiphytes and shock frozen in dry ice on the research vessel, soon after collection. The PAR (Photosynthetically active radiation) at sampling time was 370  $\mu\text{E}/\text{sq m}/\text{sec}$  at –5 m and 150  $\mu\text{E}/\text{sq m}/\text{sec}$  at –22 m. Leaf tissue collected at the two depths was also kept at high light for 20 min to investigate photo-protection properties.

*Total RNA extraction and cDNA synthesis*: Total RNA was extracted using the Aurum<sup>TM</sup> Total RNA Mini Kit (BioRad). RNA quantity and quality was assured by Nanodrop (Thermo Scientific) and Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). Total RNA (500 ng) from each sample was retro-transcribed in cDNA (complementary DNA) using the iScript<sup>TM</sup> cDNA synthesis kit (BioRad).

*Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR)*: The selected GOI (gene of interest) were: two subunits of Photosystem II (PsbS and D2), two subunits of Photosystem I (PsaJ and PsaG), four Chlorophyll a/b binding proteins associated to both photosystems (Lhcb2, Cp29, Lhca1 and Lhca4) and the Zeaxanthin epoxidase, (ZE) one of the enzymes involved in the Xanthophyll cycle, the most important photo-protection mechanism in plants. RT-qPCR was performed in MicroAmp Optical 384-Well reaction plate (Applied Biosystem) in a Viia7 Real Time PCR System (Applied Biosystem). Statistical analysis was performed using GraphPad Prim statistic software, V4.00 (GraphPad Software).

*Pigment composition* was assessed by HPLC, according to standard protocols.



**Results and conclusions** - Molecular and physiological responses agree in suggesting that *P. oceanica* is strongly adapted to grow along a wide bathymetric gradient. Photosynthetic efficiency and pigment composition is comparable between the two depths, while expression levels of GOI showed a general pattern of down-regulation in the deep stand (Fig. 1). Structural components of the photosystems show minor changes (PsaJ and D2 in Fig. 1). When leaf tissue collected at different depths is exposed to high light stress, deep plants show enhanced and rapid photo-protection capacities (Xanthophyll cycle and NPQ), in respect to shallow plants, due to their stronger shade adaptation strategy. Inversely, shallow plants are more light adapted and ready to cope with high light conditions.

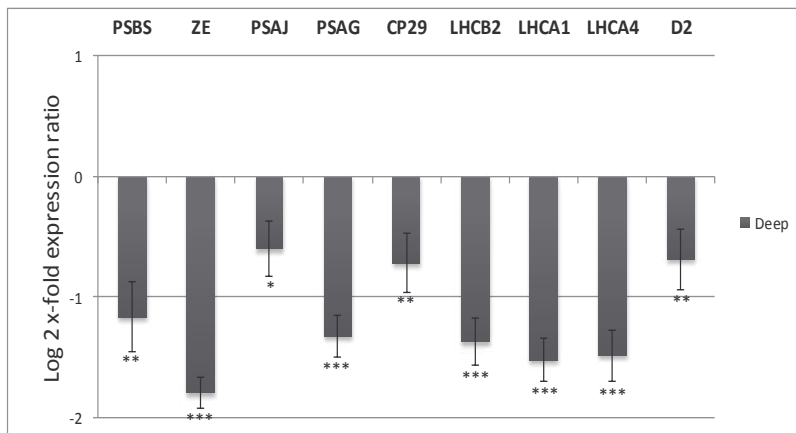


Fig. 1 - GOI expression levels in plants collected in deep condition, using the shallow condition as control and NTUBC, EF1A and L23 (Serra *et al.*, 2012) as reference genes (\*for  $p < 0.05$ , \*\*for  $p < 0.01$  and \*\*\*for  $p < 0.001$ ).

*Espressione genica dei GOI in piante campionate in profondità, usando piante campionate in superficie come condizione controllo e NTUBC, EF1A e L23 (Serra et al., 2012) come geni di riferimento (\*per  $p < 0.05$ , \*\*per  $p < 0.01$  e \*\*\*per  $p < 0.001$ ).*

## References

- DENNISON W.C., ORTH R.J., MOORE K.A., STEVENSON J.C., CARTER V., KOLLAR S., BERGSTROM P.W., BATIUK R.A. (1993) - Assessing water quality with submersed aquatic vegetation. *BioScience*, **43** (2): 86-94.
- SERRA I.A., LAURITANO C., DATTOLO E., PUOTI A., NICASTRO S., INNOCENTI A.M., PROCACCINI G. (2012) - Reference genes assessment for the seagrass *Posidonia oceanica* in different salinity, pH and light conditions. *Mar. Biol.*, **159**: 1269-1282.

## **Tema 3**

---

RAPPRESENTAZIONE CARTOGRAFICA  
(DI VARIABILI BIOTICHE E ABIOTICHE)  
PER LA GESTIONE DELL'AMBIENTE MARINO

L. TUNESI

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Via V. Brancati, 60 - Roma, Italia.  
leonardo.tunesi@isprambiente.it

## IL RUOLO DELLA CARTOGRAFIA A SUPPORTO DELLE VALUTAZIONI INTEGRATE DEGLI ECOSISTEMI MARINI

### *THE ROLE OF MAPPING FOR THE INTEGRATED ASSESSMENT OF MARINE ECOSYSTEMS*

**Abstract** - *An overview on the global agreements on conservation and management targets for the marine environment highlights the crucial role played by habitat and marine resources mapping. This work, taking in consideration the obligations provided by the Marine Strategy Framework Directive and the main international commitments, provides some consideration on the need of improving the structure of EUNIS, the European system of habitat classification, and the identification of criteria useful to integrate new described assemblages, in particular in the mesophotic zone, in the Mediterranean habitat classification.*

**Key-words:** *biodiversity, habitat, ecosystem, management, GIS.*

**Introduzione** - L'uso impressionante delle risorse e dei servizi ecosistemici marini verificatosi negli ultimi decenni ha provocato su di essi un impatto veramente pesante, sia a scala locale che globale, ed in modo talmente pervasivo che alcuni autori sono arrivati alla conclusione che non esistano regioni oceaniche che possano essere considerate incontaminate (Halpern *et al.*, 2008). La maggioranza degli stock ittici sono considerati sull'orlo del collasso, sia quelli bersaglio di specifiche attività di pesca, sia quelli di numerose specie accessorie (Pauly e Watson, 2005). La biodiversità marina in Mediterraneo, oltre che dall'*overfishing*, è minacciata dal degrado degli habitat, dall'inquinamento, dall'eutrofizzazione, dalle bioinvasioni provocate da specie non-indigene e dall'impatto dei cambiamenti climatici (Coll *et al.*, 2010). Questo contesto di progressivo degrado ha portato già alcuni anni orsono alcuni autori a considerare avverabili fenomeni un tempo considerati impossibili, quali l'estinzione di specie marine o la profonda alterazione di habitat particolarmente sensibili (Roberts e Hawkins, 1999).

Nonostante la situazione critica in cui versa l'ambiente marino e le sue risorse, l'economia marina è attualmente in piena espansione e si sta orientando verso orizzonti che solo pochi anni fa erano impensabili. Basti pensare che ad oggi il 10% delle centrali eoliche realizzate sono *off-shore* e che per il 2020 l'Associazione Europea dell'Energia Eolica prevede che questo valore raggiungerà il 30%, con una visione prospettica del 60% per il 2030 (DG MARE, 2012).

È quindi sempre più necessario che gli usi del mare e delle sue risorse siano affrontati in modo particolarmente attento ed adeguato, mediante l'applicazione di approcci gestionali quali la Pianificazione Spaziale Marina e la Gestione su Base Ecosistemica (Cogan *et al.*, 2009; Steizenmuller *et al.*, 2010), che si basano su di una valutazione integrata degli ecosistemi marini, realizzata in modo da disporre di elementi conoscitivi in grado di consentire ai *decision makers* di fare delle scelte dopo aver stimato gli effetti di differenti alternative gestionali (Douvere, 2008; Agardy *et al.*, 2011).

Tutto ciò richiede l'applicazione di un approccio che consenta la reale integrazione delle informazioni necessarie a supporto delle decisioni; informazioni che devono essere relative a tre, ben distinte, dimensioni (ambientale, economica e sociale - Ehler e Douvere, 2009), e che devono essere raccolte e gestite in modo "integrato", al fine di penetrarne le forti interdipendenze (Cogan *et al.*, 2009).

In questo contesto la cartografia (geomorfologica, di habitat, di risorse, di pressioni, ecc.) riveste un ruolo essenziale (Galparsoro *et al.*, 2010), perché le

tecniche sviluppate a supporto della pianificazione spaziale marina partono proprio dall'analisi della distribuzione spaziale degli habitat marini, delle risorse, e delle pressioni umane, note o previste/ipotizzate, al fine di consentire l'identificazione delle soluzioni gestionali più adeguate.

### Il modello DPSIR applicato alla valutazione integrata degli ecosistemi marini -

I prodotti cartografici marini costituiscono elementi conoscitivi indispensabili per rispondere in modo adeguato ai numerosi impegni internazionali, sia in materia di conservazione, sia per l'implementazione di legislazioni europee. Per quanto riguarda i primi, essi rivestono particolare valenza per l'attuazione dell'*Ecosystem Approach* (ECAP), strumento primario di applicazione della Convenzione sulla Diversità Biologica (CBD), per l'attuazione dei protocolli per le Aree Specialmente Protette di Interesse Mediterraneo (ASPIM) e per la Gestione Integrata della Zona Costiera (GIZC) afferenti alla Convenzione di Barcellona. Inoltre, in relazione alla necessità di rispondere in modo efficace a quanto richiesto dalla legislazione europea, la cartografia marina è indispensabile per l'implementazione delle Direttive Habitat (92/43/CEE), Quadro Acque (2000/60/CE) e quella Quadro per la Strategia Marina (MSFD - Direttiva del Consiglio 2008/56/CE - D.Lgs. 190/2010) (Tunesi *et al.*, 2008).

Proprio questa ultima prevede che le valutazioni integrate da realizzare sugli ecosistemi marini siano condotte mediante l'applicazione del modello DPSIR, adottato dall'Agenzia Europea per l'Ambiente, che si basa sulla compenetrazione di 5 elementi essenziali:

- **Drivers** - le forze che guidano il cambiamento nell'ambiente, materiale e sociale;
- **Pressioni** - i canali mediante i quali le forze agiscono sull'ambiente, materiale e sociale;
- **Stati** - gli stati risultanti dell'ambiente, comprendenti anche i suoi usi socio-economici;
- **Impatti** - gli impatti prodotti dalle pressioni e dagli stati sulla biodiversità e il benessere umano;
- **Risposte** - i modi in cui la società risponde ed i risultati di tali risposte.

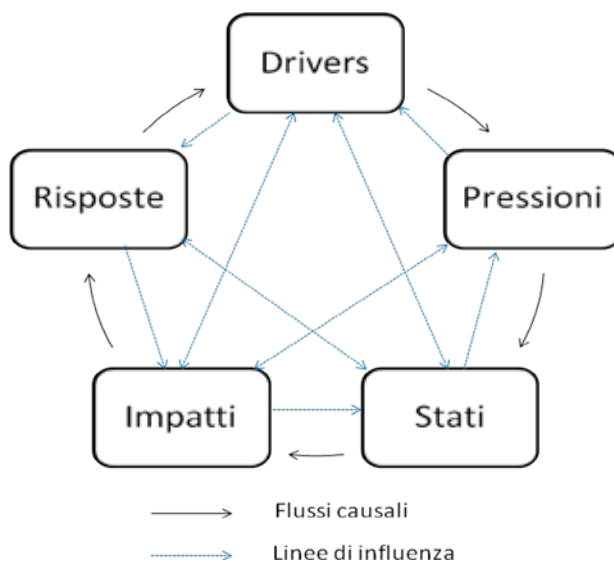


Fig. 1 - Elementi del modello di valutazione integrata DPSIR e relative relazioni.

*Elements of the DPSIR framework and links.*

L'efficacia dell'applicazione del modello DPSIR si basa sia su di un adeguato approfondimento conoscitivo degli elementi che lo contraddistinguono, sia su di una appropriata comprensione delle relazioni che tra essi intercorrono (Fig.1). Anche in questo ambito la cartografia è chiamata a giocare un ruolo essenziale per la rappresentazione e la successiva comprensione dei diversi elementi del modello. Ovviamente la cartografia deve essere realizzata e strutturata in modo da restituire al meglio le informazioni specifiche, proprie di ogni elemento, considerando la particolare complessità di alcuni di questi. A solo titolo di esempio si riporta in Tab.1 la lista classificata delle pressioni identificate per le regioni OSPAR, predisposta nel quadro delle attività afferenti all'implementazione della MSFD (OSPAR, 2011). In questo caso le pressioni sono state classificate (per importanza) adottando una valutazione basata su 8 componenti dell'ecosistema; va fatto presente che questo approccio è stato scelto dalla Convenzione di Barcellona per l'applicazione dell'ECAP in Mediterraneo (UNEP(DEPI), 2012).

Tab. 1 - Lista classificata delle pressioni per le regioni OSPAR basata sulla valutazione delle principali componenti dell'ecosistema (tratta da UNEP(DEPI), 2012).

*Ranked list of pressures for the OSPAR regions, based on assessments of the main ecosystem components (from UNEP(DEPI), 2012).*

		Summary - total impact per Region				
		I	II	III	IV	V
Climate change	Climate change	20	12	7	10	16
Hydrological pressures (local)	Temperature changes (local)	2	2	2	2	1
	Salinity changes (local)	2	2	2	2	1
	Changes in water flow, wave action & emergence regime (inshore/local)	2	2	2	2	1
Pollution & other chemical pressures	Contamination by hazardous substances	8	8	7	8	5
	Radionuclide contamination	0	0	0	0	0
	De-oxygenation	3	7	4	4	0
	Nitrogen & phosphorus enrichment	6	6	5	4	1
	Organic enrichment	5	7	4	4	1
Other physical pressures	Electromagnetic changes	1	1	1	1	1
	Litter	5	5	4	5	5
	Underwater noise	3	3	3	3	2
	Barrier to species movement	3	3	3	3	0
	Death or injury by collision	3	3	3	3	3
Habitat changes	Siltation rate changes	4	10	6	6	4
	Habitat damage	12	20	11	11	9
	Habitat loss	15	8	7	10	7
Biological pressures	Visual disturbance	0	0	0	0	0
	Genetic modification	0	0	0	0	0
	Introduction of microbial pathogens	2	2	2	2	2
	Introduction of non-indigenous species &	8	8	7	6	6
	Removal of species (target & non-target)	16	24	13	13	11

**La Direttiva Quadro sulla Strategia per l'ambiente Marino, la sfida per una valutazione integrata degli ecosistemi marini** - La MSFD, Direttiva 2008/56/CE, istituisce un quadro all'interno del quale gli Stati membri adottano le misure necessarie per conseguire o mantenere il buono stato ecologico dell'ambiente marino (*GES*) entro il 2020, per tutte le acque marine giurisdizionali ad essi afferenti.

L'Italia ha recepito la MSFD con il D.Lgs. 190/2010, dotandosi di un contesto giuridico atto ad affrontare organicamente la protezione dei suoi mari, basato sulla conoscenza effettiva dello stato dell'ambiente su scala nazionale.

Il sistema di *reporting* adottato per la MSFD è il WISE-MARINE (*Water Information System for Europe*) che, per la valutazione iniziale consta dei seguenti elementi, ciascuno corrispondente ad un gruppo di *reporting sheets*: caratteristiche dell'ecosistema (a loro volta suddivise in componenti), attività socioeconomiche e pressioni ed impatti.

La prima fase di tale processo è costituita dalla "valutazione iniziale" (art. 8, D. Lgs. 190/2010), per la cui realizzazione il decreto stabilisce che siano considerati tre aspetti principali (art. 8, c. 3):

- a) un'analisi degli elementi, delle caratteristiche essenziali e dello stato ambientale attuale della regione marina, sulla base dell'elenco indicativo degli elementi riportati nella Tabella 1 dell'Allegato III del D. Lgs. 190/2010;
- b) un'analisi dei principali impatti e delle pressioni che influiscono sullo stato ambientale della regione o sottoregione marina, sulla base dell'elenco indicativo degli elementi di cui alla Tabella 2 dell'Allegato III del D. Lgs. 190/2010, che deve considerare le tendenze rilevabili ed i principali effetti cumulativi e sinergici, e valutazioni pertinenti, condotte in base alla vigente legislazione comunitaria;
- c) un'analisi degli aspetti socio-economici dell'utilizzo dell'ambiente marino e dei costi del suo degrado

La "valutazione iniziale" dello stato dell'ambiente marino deve essere condotta solo sulla base dei dati e delle informazioni esistenti (art. 8, c. 1 del D. Lgs.) e il "Buono Stato Ambientale", concetto chiave della MSFD, deve essere conseguito per ognuna delle tre sub-regioni marine del Mediterraneo sulle quali si affaccia l'Italia: Mediterraneo occidentale, Adriatico, Ionio e Mediterraneo centrale.

La seconda fase è costituita dalla "determinazione del buono stato ambientale" (*GES*) (art. 9, D. Lgs. 190/2010). "Buon Stato Ambientale" che deve essere definito considerando 11 descrittori qualitativi dell'ambiente marino, che fanno riferimento a molteplici aspetti degli ecosistemi marini (Tab. 2), come la biodiversità, l'inquinamento, l'impatto delle attività produttive (allegato I del D. Lgs. 190/2010). La decisione della Commissione Europea del 1 settembre 2010 (2010/477/UE) delinea l'approccio da adottare per la determinazione del *GES* delineando ben 26 criteri e 56 indicatori associati agli 11 descrittori (Fig. 2). Questi criteri e indicatori comprendono una combinazione di elementi relativi a stato, impatti e pressioni e, mentre alcuni criteri sono già stati sviluppati a livello europeo e sono già operativi, per altri, allo stato attuale, sono necessari ulteriori approfondimenti.

La terza fase è costituita dalla "definizione dei traguardi ambientali" che aiuteranno a rilevare i progressi nel processo di conseguimento del buono stato ambientale.

La Direttiva Quadro sulla Strategia Marina richiede che gli Stati membri comunichino alla Commissione Europea i risultati della valutazione iniziale (art. 8), la determinazione del buono stato ambientale (*GES*) (art. 9) e la definizione dei traguardi ambientali (art. 10) mediante l'invio di specifici report (*Reporting Sheets*), la cui lista è riportata in Tab. 3. La Fig. 3 presenta invece il diagramma dello schema concettuale del *reporting WISE-MARINE*. Va precisato che i *reporting sheets*

Tab. 2 - Lista dei descrittori qualitativi per la determinazione del buono stato ecologico richiesti dalla *MSFD* (Allegato I della Direttiva 2008/56/CE e Allegato I del D.Lgs. 190/2010).

*Qualitative descriptors for determining good environmental status (Annex I of the Directive 2008/56/EC and Annex I of the Italian Legislative Decree 190/2010).*

<b>D 1</b>	La biodiversità è mantenuta. La qualità e la presenza di habitat nonché la distribuzione e l'abbondanza delle specie sono in linea con le prevalenti condizioni fisiografiche, geografiche e climatiche.
<b>D 2</b>	Le specie non indigene introdotte dalle attività umane restano a livelli che non alterano negativamente gli ecosistemi.
<b>D 3</b>	Le popolazioni di tutti i pesci e molluschi sfruttati a fini commerciali restano entro limiti biologicamente sicuri, presentando una ripartizione della popolazione per età e dimensioni indicativa della buona salute dello stock.
<b>D 4</b>	Tutti gli elementi della rete trofica marina, nella misura in cui siano noti, sono presenti con normale abbondanza e diversità e con livelli in grado di assicurare l'abbondanza a lungo termine delle specie e la conservazione della loro piena capacità riproduttiva.
<b>D 5</b>	È ridotta al minimo l'eutrofizzazione di origine umana, in particolare i suoi effetti negativi, come perdite di biodiversità, degrado dell'ecosistema, proliferazione dannosa di alghe e carenza di ossigeno nelle acque di fondo.
<b>D 6</b>	L'integrità del fondo marino è ad un livello tale da garantire che le strutture e le funzioni degli ecosistemi siano salvaguardate e gli ecosistemi bentonici, in particolare, non abbiano subito danni.
<b>D 7</b>	La modifica permanente delle condizioni idrografiche non influisce negativamente sugli ecosistemi marini.
<b>D 8</b>	Le concentrazioni dei contaminanti presentano livelli che non danno origine a effetti inquinanti.
<b>D 9</b>	I contaminanti presenti nei pesci e nei frutti di mare destinati al consumo umano non eccedono i livelli stabiliti dalla legislazione comunitaria o da altre norme pertinenti.
<b>D 10</b>	Le proprietà e le quantità di rifiuti marini non provocano danni all'ambiente costiero e marino.
<b>D 11</b>	L'introduzione di energia, comprese le fonti sonore sottomarine, è a livelli che non hanno effetti negativi sull'ambiente marino.

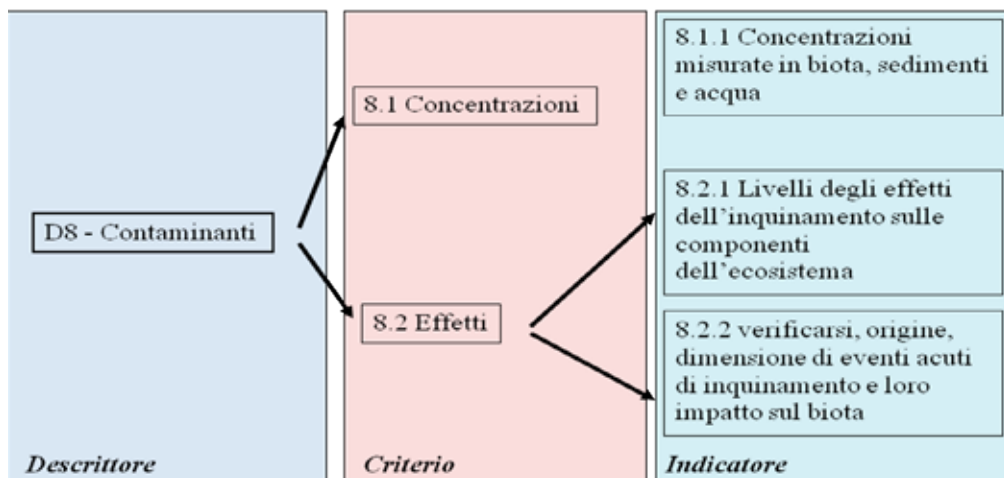


Fig. 2 - Esempio di schema di relazioni tra descrittore, criteri ed indicatori così come previsto dalla *MSFD*.

*Example of a scheme of relationships between descriptor, criteria and indicators as required by the MSFD.*



sono stati concepiti al fine che gli Stati membri compilino le informazioni raccolte seguendo un formato comune, di ausilio alla Commissione per valutare i “prodotti” nazionali, in un lasso di tempo previsto in sei mesi.

Tab. 3 - Lista dei *reporting sheets* previsti per l’implementazione della MSFD.  
*Reporting sheets provided for the implementation of the MSFD.*

Confini geografici	Rumore sottomarino
Cooperazione regionale	Rifiuti
Caratteristiche fisiche	Modificazioni all’idrologia e all’idrografia
Caratteristiche chimiche	Contaminanti
Habitat	Eventi di inquinamento acuto
Caratteristiche biologiche (gruppi funzionali)	Arricchimento di nutrienti
Caratteristiche biologiche (specie)	Patogeni microbici
Ecosistemi	Specie non-indigene, inventari NIS
Altre caratteristiche	Estrazione selettiva di specie
Perdita fisica	Valutazione economica e sociale - panoramica
Danno fisico	Usi/attività umane
	Servizi ecosistemici e altri approcci
	Costo del degrado
Determinazione del Buono Stato Ambientale (GES)	
Obiettivi ambientali e indicatori	
Lista dei termini	

La Commissione Europea ha richiesto l’invio dei report per singola sottoregione, consentendo inoltre di identificare delle “aree di valutazione” o “*assessment areas*”, più ristrette rispetto alle sotto-regioni, sulle quali effettuare l’analisi di caratteristiche,

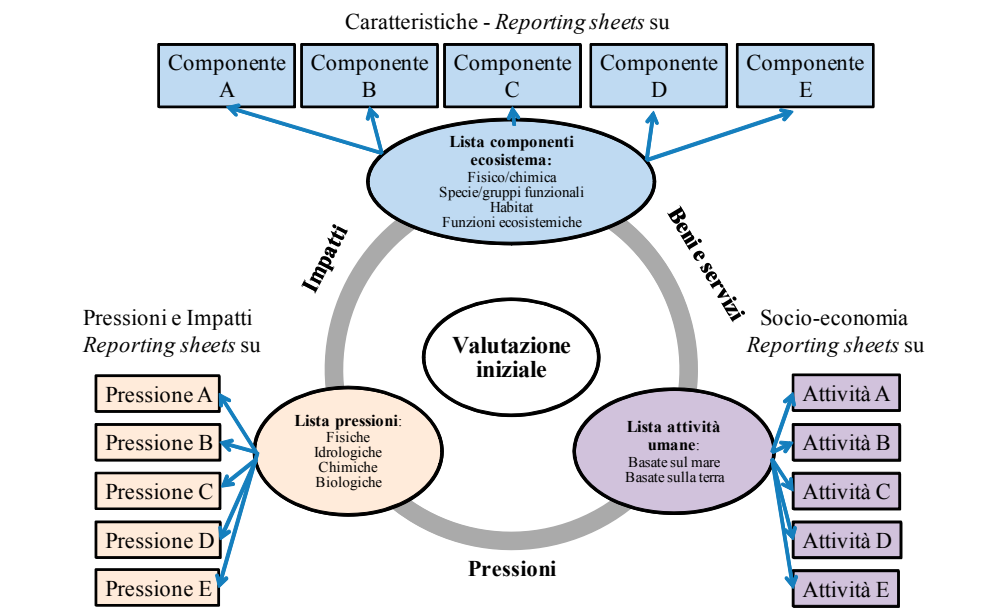


Fig. 3 - Diagramma dello schema concettuale del *reporting* WISE-MARINE.  
*Diagram of the conceptual scheme of the WISE-Marine reporting.*

pressioni ed impatti. A questo proposito si fa presente che i principali criteri per la definizione delle “aree di valutazione” sono:

- essere incluse all'interno di una sottoregione (possono coincidere con la sottoregione);
- essere rappresentative degli elementi rilevanti per caratteristica/pressione (es. habitat predominante, specie, aree di input di contaminati/nutrienti, ecc);
- includere pressioni/impatti o attività rilevanti per la caratteristica/pressione;
- il loro numero e la loro estensione per la singola caratteristica/pressione deve consentire di determinare il *GES* a scala di sottoregione;
- essere aree di monitoraggio e di conduzione di attività di misura.

Sulla base di detti criteri è possibile individuare delle “aree di valutazione” anche in assenza di dati, poiché le “aree di valutazione” sono anche uno strumento per indirizzare i programmi di monitoraggio e quelli di misura. È inoltre possibile individuare “aree di valutazione” anche in presenza di soli dati parziali, facendo ricorso all'*expert judgement*. A questo proposito è importante ricordare che le aree di valutazione” non sono giuridicamente vincolanti.

Al fine di fornire una visione d'insieme sulle classi tematiche afferenti al Descrittore 1 “Biodiversità”, si riportano di seguito gli elementi presi in considerazione a scala nazionale:

#### **Habitat:**

- Pelagici
- Bentonici
  - Tipi di habitat predominanti sul fondo marino
  - *Special habitats* - Posidonia
  - *Special habitats* - fondi duri
  - *Special habitats* - fondi mobili

#### **Specie/gruppi funzionali:**

- Popolazioni ittiche
- Stato popolazioni specie ittiche contemplate da legislazione comunitaria e/o da accordi internazionali
- Stato popolazioni specie bentoniche contemplate da legislazione comunitaria e/o da accordi internazionali
- Uccelli marini
- Rettili marini
- Mammiferi Marini

Ovviamente la cartografia svolge un ruolo essenziale in tutto il processo di valutazione integrato afferente alla *MSFD* perché questo si basa, come richiesto da ogni sistema di gestione su base ecosistemica, sull'analisi spaziale delle componenti ambientali, sociali ed economiche (Ruckelshaus *et al.*, 2008).

È quindi richiesto che tutte le informazioni raccolte siano restituite anche su base cartografica, per sottoregione, con unità di valutazione spaziale di almeno 10 km di lato (100 km<sup>2</sup>). La dimensione di questa unità di analisi, proposta come standard per i mari a nord dell'Europa, si ritiene possa essere applicata in Mediterraneo per le acque pelagiche, mentre si reputa sia necessario scendere a dimensioni molto minori (anche sino a 250 m di lato), per meglio rispondere alle necessità di un'analisi di maggior dettaglio, più adeguato alle aree costiere, a forte eterogeneità.

Quindi nel complesso sarà realizzato un sistema di *layers* (ognuno relativo ai valori stimati per singola classe tematica, riportati per singola cella spaziale) composti da unità di analisi perfettamente sovrapponibili, atte a consentire in modo spazialmente

esplicito di rappresentare le interazioni tra lo stato dei diversi ecosistemi, e delle loro principali componenti, e le pressioni presenti.

**La gestione su base ecosistemica e la cartografia degli habitat – L'importanza della classificazione** - La cartografia degli habitat può essere considerata l'elemento primario sul quale impostare le valutazioni degli ecosistemi marini per arrivare a costruire un sistema di gestione basato su di un approccio ecosistemico (Cogan *et al.*, 2009). Ciò perché alla cartografia degli habitat è riconosciuta la valenza di riuscire a rappresentare in forma sintetica le informazioni disponibili sulla biodiversità, fornite in modo indiretto grazie alla codifica dei popolamenti e delle specie afferenti alle diverse classi tematiche (Cogan e Noji, 2007).

La biodiversità può essere considerata un complesso multidimensionale di elementi strutturali, funzionali e compositivi in un intervallo di scale spaziali e temporali (Fig. 4). Vista sotto questa luce, la cartografia degli habitat marini costituisce uno strumento di sintesi essenziale per disporre di informazioni su elementi chiave della biodiversità quali, ad esempio, disturbi funzionali, struttura dell'habitat, fisionomia e componenti associate all'habitat, con specie e composizione delle comunità (Cogan *et al.*, 2009).

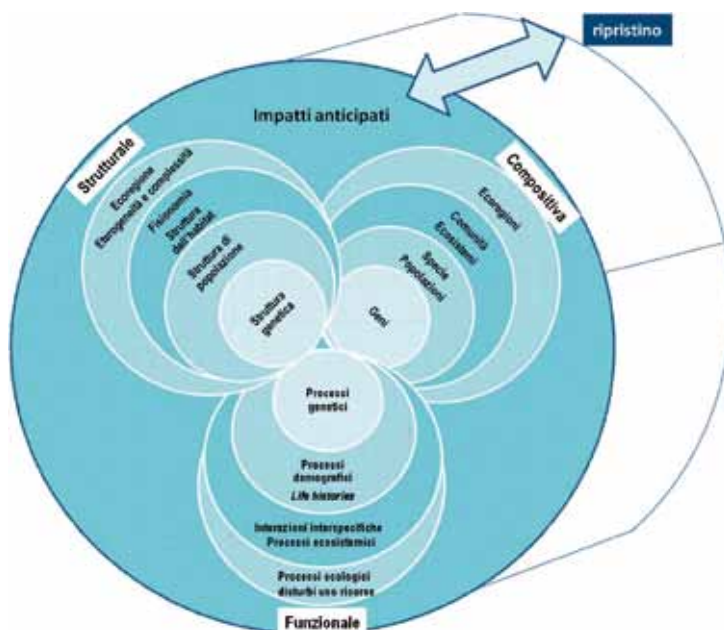


Fig. 4 - Elementi della biodiversità. Elementi della biodiversità strutturale, compositiva e funzionale, operanti su diverse scale spaziali e temporali. Ripristino e impatti anticipati si riferiscono a stati della biodiversità in passato che potranno cambiare a seguito di ripristino in futuro e futuri impatti in un sistema di biodiversità temporalmente dinamico. La Cartografia degli habitat si riferisce direttamente a diversi di questi elementi (da Cogan *et al.*, 2009 - modificato).

*Biodiversity elements. Structural, compositional and functional elements of biodiversity, operating on different spatial and temporal scales. Restoration and anticipated impacts refer to past biodiversity states that may be changed by future restoration and impacts in a temporally dynamic biodiversity system. Habitat mapping relates directly to several of these elements (from Cogan et al., 2009 – modified).*

La Fig. 5, schematizzando i punti essenziali che concorrono a caratterizzare un esempio di sistema funzionale alla gestione su base ecosistemica, evidenzia

l'importanza primaria di disporre di un adeguato sistema di classificazione degli habitat marini, strumento indispensabile per il buon fine dell'intero processo.

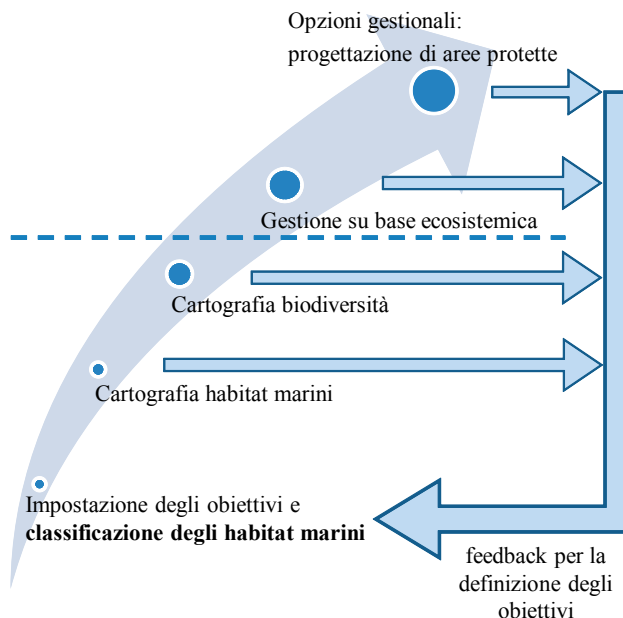


Fig. 5 - La cartografia degli habitat costituisce il punto di partenza della gestione su base ecosistemica. La linea tratteggiata rappresenta una classica (e potenzialmente problematica) divisione tra attività progettuale e responsabilità istituzionale o governativa (da Cogan *et al.*, 2009 - modificato).

*Habitat mapping is an early phase of the ecosystem-based management. The dashed line in the centre represents a typical (and potentially problematic) division between project activity and institutional or governmental responsibility (from Cogan et al., 2009 – modified).*

Negli ultimi anni l'avanzamento tecnologico ha consentito la messa a punto di strumenti per l'acquisizione di dati in remoto (*Side Scan Sonar, Multibeam* e *ROV*), accoppiati a sistemi di posizionamento molto precisi (*DGPS*), che hanno aperto nuovi orizzonti rispetto agli standard di soli pochi anni fa (Bianchi *et al.*, 2003), soprattutto per quanto riguarda lo studio della componente bentonica, permettendo di acquisire dati di qualità tale da consentire l'applicazione di principi dell'ecologia del paesaggio al mare (*seascape ecology* - Boström *et al.*, 2011).

Anche a questo proposito va ricordato che la possibilità di elaborare strumenti sempre più validi di supporto alla decisione, applicabili ad ampia scala ed a livello europeo, è strettamente legata anche alla necessità di disporre di schemi di classificazione degli habitat in grado di accogliere nuovi popolamenti in modo opportunamente armonizzato.

**Necessità di un sistema adeguato di classificazione degli habitat – suggerimenti per il miglioramento di EUNIS** - Su scala mondiale sono stati sviluppati diversi schemi di classificazione degli habitat marini per definire sistemi comuni di comprensione, terminologia e classificazione adeguati alle specificità dei diversi mari. Su scala europea il Centro Tematico Europeo per la Biodiversità (ETC/BD) ha sviluppato per l'Agenzia Europea per l'Ambiente l'*European Nature Information System* (EUNIS),

sistema realizzato con il fine di consentire un'inclusione armonizzata di tutti gli habitat europei, anche di quelli presenti in tutti i mari d'Europa.

EUNIS ospita al suo interno anche i principali habitat bentonici del Mediterraneo (Tunesi *et al.*, 2006), accolti facendo riferimento a quanto realizzato dal RAC/SPA-UNEP MAP di Tunisi. A questo proposito si ricorda che alla fine degli anni '90 il RAC/SPA avviò una serie di attività che consentirono che le principali biocenosi, *facies* ed associazioni bentoniche descritte da Pérès e Picard (1964) e da Pérès (1982) fossero listate e codificate ufficialmente, al fine di rispondere agli impegni previsti dal protocollo SPAMI della Convenzione di Barcellona (Relini, 2000).

Tuttavia l'applicazione di EUNIS in progetti di modellizzazione della distribuzione ad ampia scala di habitat bentonici nei mari europei (Tunesi *et al.*, 2010; Cameron e Askew, 2011), ha consentito di verificare per il Mediterraneo occidentale alcuni limiti nel modo in cui i popolamenti bentonici mediterranei sono stati classificati in EUNIS. Infatti un buon sistema di classificazione degli habitat deve essere in grado di consentire una restituzione cartografica delle diverse classi bionomiche in modo congruo in funzione della scala di rappresentazione, applicando intervalli gerarchici di classificazione congruenti con la risoluzione spaziale (Valentine *et al.*, 2005; Greene *et al.*, 2007).

In realtà l'attuale struttura di EUNIS presenta, al livello 2 di separazione degli habitat, la categoria "A5-sedimenti sub-litorali" che riunisce popolamenti di fondo mobile di due distinti Piani bionomici mediterranei: Infralitorale e Circalitorale. Allo stesso modo la categoria "A6-fondi profondi" raccoglie sia i popolamenti batiali che quelli abissali, ponendo inoltre insieme i fondi duri con i fondi mobili (Mo *et al.*, 2012).

Questi ed altri aspetti minori evidenziano la necessità di rivedere EUNIS, in modo da apportare cambiamenti strutturali al livello 2 di separazione; solo in questo modo sarà possibile prevedere già ad un livello iniziale, che corrisponde a cartografie a larga scala (i.e. 1:1.000.000), la suddivisione dei fondali più profondi anche sulla base della loro natura (fondi duri e mobili). In questo modo il sistema potrà essere veramente "gerarchico", consentendo un cambiamento di scala di restituzione della cartografia bentonica accompagnato dall'applicazione di una codifica "consistente" degli habitat.

Come abbiamo detto, EUNIS è un sistema di classificazione degli habitat realizzato per accogliere in modo armonico tutti gli habitat europei, anche quelli marini che, con alcune, opportune, modifiche può rispondere in modo adeguato alle necessità gestionali previste dall'ECAP e soprattutto dalla MSFD. Tuttavia EUNIS ha, al momento, accolto al suo interno solo gli "habitat" mediterranei a suo tempo descritti dalla "scuola di Endoume" (Pérès e Picard, 1964), la cui lista di biocenosi, *facies* e associazioni è stata ulteriormente emendata ed aggiornata dal punto di vista sistematico (Michez *et al.*, 2011). In realtà, proprio negli ultimi anni sia lo sviluppo delle nuove tecnologie di acquisizione dati in remoto (SSS, *multibeam*, ROV) in intervalli batimetrici prima difficilmente esplorabili, sia la conduzione di esperienze di modellizzazione della distribuzione di habitat, condotti partendo da set di dati fisici, batimetrici, geomorfologici e geologici hanno evidenziato la presenza di popolamenti per i quali non si dispone ancora di informazioni adeguate ad una loro caratterizzazione.

Nello specifico un recente studio di modellizzazione degli habitat (Cameron e Askew, 2011) ha permesso di identificare per il Mediterraneo occidentale l'esistenza di "nuovi habitat". Studi geologici/geomorfologici hanno infatti recentemente descritto la presenza di ampi tratti di fondale caratterizzati da sedimenti misti e da sabbie fangose nel piano batiale e di sabbie/sabbie fangose nel piano abissale; ambienti per i quali al momento non sono disponibili informazioni sui popolamenti biologici ad essi associati (Mo *et al.*, 2012).

Nel contempo l'impiego di strumenti di rilevamento remoto (ROV) stanno consentendo la prospezione di tratti di fondale in precedenza difficilmente studiabili (ad es. la zona mesofotica in Mediterraneo e la zona batiale alle Azzorre), permettendo il rinvenimento di popolamenti ad oggi non ancora opportunamente descritti (quindi non ancora chiaramente "inquadrati" dal punto di vista bionomico), al momento caratterizzati semplicemente dall'abbondanza di esemplari appartenenti a specie strutturanti e/o particolarmente vistose (Angiolillo *et al.*, 2012; Giusti *et al.*, 2012; Tempera *et al.*, 2012).

Proprio la possibilità di indagare in modo mirato con ROV "situazioni particolari", identificate mediante precedenti prospezioni con *Side Scan Sonar* e/o *multibeam*, hanno evidenziato un ulteriore aspetto di particolare rilevanza per quanto riguarda la predisposizione di un'unica classificazione degli habitat bentonici per tutti i mari d'Europa: l'esistenza di popolamenti caratterizzati (in gran parte) dalle stesse specie strutturanti che però presentano una "localizzazione" diversa (dal punto di vista batimetrico e, in alcuni casi, bionomico) per motivi biogeografici. Basti pensare alla biocenosi mediterranea dei coralli profondi, ed alla sua *facies* caratterizzata da *Lophelia pertusa*, che è batiale in Mediterraneo, mentre in Atlantico i fondi a *L. pertusa* compaiono già a partire dalla profondità di 80 m.

**Considerazioni conclusive** – A livello mondiale si assiste ad una crescente richiesta di prodotti cartografici, necessari per accrescere le conoscenze sull'ambiente marino e sulle sue risorse, sulla presenza delle attività umane e sulla allocazione ed importanza dei loro impatti; prodotti quindi molto importanti a supporto dell'implementazione di approcci gestionali quali la pianificazione spaziale marittima e la gestione su base ecosistemica, ma soprattutto indispensabili per l'avvio di adeguate misure di gestione dell'ambiente marino quali, per quanto riguarda l'Europa, sia la Direttiva Habitat che la *MSFD* (Tunisi *et al.*, 2008).

Il riconoscimento dell'importanza di prodotti cartografici indica la necessità di adeguati schemi di classificazione dei tematismi su di essi riportati. Questa esigenza è particolarmente cogente per la classificazione degli habitat bentonici, per i quali, a scala mondiale, sono stati sviluppati diversi schemi di classificazione, specifici per i diversi mari regionali.

Proprio la necessità di superare la "regionalizzazione" degli schemi attualmente in uso per classificare gli habitat marini ha spinto l'Agenzia Europea per l'Ambiente a chiedere all'ETC/BD di sviluppare EUNIS, il sistema di codifica degli habitat europeo che, come abbiamo ricordato, accoglie anche tutti gli habitat marini listati dalla Convenzione di Barcellona per il Mediterraneo.

Tuttavia attualmente EUNIS presenta alcuni problemi di natura strutturale che si ritiene debbano essere risolti al fine di consentire a detto sistema di rispondere in modo efficace non solo all'obiettivo primario per il quale è stato realizzato (costituire il sistema unico di codifica degli habitat per l'Europa), ma di rispondere anche alle necessità degli attuali sistemi cartografici, supportando adeguatamente le valutazioni integrate richieste dalla gestione ecosistemica delle attività umane, dalla *MSFD* e dagli altri impegni siglati a livello internazionale. A questo scopo si ritiene sia necessario che siano apportate modifiche strutturali al livello 2, per consentire la distinzione già a questo stadio dei popolamenti di fondo duro da quelli di fondo mobile per tutti i Piani, permettendo così ad EUNIS di divenire un "sistema gerarchico" di classificazione degli habitat, in grado di consentire il passaggio di scala di restituzione mantenendo una congruità dell'informazione (Mo *et al.*, 2012).

Un secondo aspetto che richiede di essere perfezionato in EUNIS, è costituito dalla necessità di integrare in modo adeguato la componente biogeografica nel sistema, al fine di inquadrare in modo appropriato popolamenti simili dal punto di



vista delle specie che li caratterizzano e che, tuttavia, presentano una collocazione bionomica distinta in mari diversi.

Indipendentemente dall'importanza di riuscire a perfezionare in modo adeguato EUNIS, le informazioni raccolte in questi ultimi anni forniscono spunti di particolare importanza prospettica per la comunità scientifica poiché evidenziano la necessità di approfondire le conoscenze su tutta una serie di nuovi popolamenti che dovranno essere studiati in modo adeguato al fine di disporre di informazioni che siano ecologicamente significative e quindi realmente utili per aumentare la comprensione degli ecosistemi marini.

### Bibliografia

- AGARDY T., DAVIS J., SHERWOOD K., VESTERGAARD O. (2011) - Taking Steps toward Marine and Coastal Ecosystem-Based Management - An Introductory Guide. *UNEP Regional Seas Reports and Studies*, **189**: 68 pp.
- ANGIOLILLO M., BO M., BAVESTRELLO G., GIUSTI M., SALVATI E., CANESE S. (2012) - Record of *Ellisella paraplexauroides* Stiasny, 1936 (Anthozoa: Alcyonacea: Ellisellidae) in Italian waters (Mediterranean Sea). *Marine Biodiversity Records*, **5**: e4.
- BIANCHI C.N., ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., COLANTONI P., DIVIACCO G., MORRI C., TUNESI L. (2003) - Capitolo 11. La cartografia del benthos. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 367-394.
- BOSTRÖM C., PITTMAN S.J., SIMENSTAND C., KNEIB R.T. (2011) - Seascape ecology of coastal biogenic habitats: advances, gaps, and challenges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **427**: 191-217.
- CAMERON A., ASKEW N. (eds.) (2011) - *EUSeaMap - Preparatory Action for development and assessment of a European broad-scale seabed habitat map final report*. Available at <http://jncc.gov.uk/euseamap>.
- COGAN C.B., NOJI T.T. (2007) - Marine classification, mapping, and biodiversity analysis. In: Todd B.J., Greene H.G. (eds), *Mapping the Seafloor for Habitat Characterization*. Geological Association of Canada, St John's, Newfoundland, Canada: 129-139.
- COGAN C.B., TODD B.J., LAWTON P., NOJI T.T. (2009) - The role of marine habitat mapping in ecosystem-based management. *ICES Journal of Marine Science*, **66**: 2033-2042.
- COLL M., PIRODDI C., STEENBEEK J., KASCHNER K., BEN RAIS LASRAM F., AGUZZI J., BALLESTEROS E., BIANCHI C.N., CORBERA J., DAILIANIS T., DANOVARO R., ESTRADA M., FROGLIA C., GALIL B.S., GASOL J.M., GERTWAGEN R., GIL J., GUILHAUMON F., KESNER-REYES K., KITSOS M.-S., KOUKOURAS A., LAMPADARIOU N., LAXAMANA E., LÓPEZ-FÉ DE LA CUADRA C.M., LOTZE H.K., MARTIN D., MOUILLOT D., ORO D., RAICEVICH S., RIUS-BARILE J., SAIZ-SALINAS J.I., SAN VICENTE C., SOMOT S., TEMPLADO J., TURON X., VAFIDIS D., VILLANUEVA R., VOULTSIADOU E. (2010) - The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS ONE*, **5** (8): 1-36.
- DG MARE (2012) - *Marine Strategy Framework Directive (MSFD) - Common Implementation Strategy - 5<sup>th</sup> meeting of the Working Group on data, Information and Knowledge Exchange (WG DIKE)*. DIKE 5/2012/11, Commission européenne: 1-15.
- DOUVERE F. (2008) - The importance of marine spatial planning in advancing ecosystem-based sea use management. *Mar. Policy*, **32**: 182-191.
- EHLER C., DOUVERE F. (2009) - Marine Spatial Planning: a step-by-step approach toward ecosystem-based management. Intergovernmental Oceanographic Commission and Man and the Biosphere Programme. *IOC Manual and Guides*, **53**, ICAM Dossier No. 6. Paris, UNESCO: 99 pp.
- GALPARSORO I., BORJA Á., LEGORBURU I., HERNÁNDEZ C., CHUST G., LIRIA P., URIARTE A. (2010) - Morphological characteristics of the Basque continental shelf (Bay of Biscay, northern Spain); their implications for Integrated Coastal Zone Management. *Geomorphology*, **118**: 314-329.
- GIUSTI M., BO M., BAVESTRELLO G., ANGIOLILLO M., SALVATI M., CANESE S. (2012) - Record of *Viminella flagellum* (Alcyonacea: Ellisellidae) in Italian waters (Mediterranean Sea). *Marine Biodiversity Records*, **5**: e34.



- GREENE H.G., BIZZARRO J.J., O'CONNELL V.M., BRYLINSKY C.K. (2007) - Construction of digital potential marine benthic habitat maps using a coded classification scheme and its application. In: Todd B.J., Greene H.G (eds), *Mapping the Seafloor for Habitat Characterization*. Geological Association of Canada, St John's, Newfoundland, Canada: 141-155.
- HALPERN B.S., WALBRIDGE S., SELKOE K.A., KAPPEL C.V., MICHELI F., D'AGROSA C., BRUNO E.M.P., PERRY M.T., SELIG E.R., SPALDING M., STENECK R., WATSON R., (2008) - A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, **319**: 948-952.
- MICHEZ N., DIRBERG G., BELLAN-SANTINI D., VERLAQUE M., BELLAN G., PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., LABRUNE C., FRANCOUR P., SARTORETTO S. (2011) - *Liste de référence française des biocénoses benthiques de Méditerranée*. SPN-MNHN/INPN: 48 pp.
- MO G., AGNESI S., EVANS D., POPULUS J., TUNESI L. (2012) - Mediterranean benthic EUNIS habitats: structural considerations and lessons learned from mapping. *Revista de Investigación Marina*, **19** (2): 48-50.
- OSPAR (2011) - *Identification of ecological monitoring parameters to assess Good Environmental Status of marine waters: An inventory in all OSPAR Contracting Parties that implement the MSFD*. [http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00554\\_inventory%20monitoring%202011.pdf](http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00554_inventory%20monitoring%202011.pdf)
- PAULY D., WATSON R. (2005) - Background and interpretation of the 'Marine Trophic Index' as a measure of biodiversity. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **360**: 415-423.
- PÉRÈS J.M. (1982) - Zonations. *Mar. Ecol.*, **5** (1): 9-45.
- PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **31** (47): 1-37.
- RELINI G. (2000) - Nuovi contributi per la conservazione della biodiversità marina in Mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **7** (3): 173-211.
- ROBERTS C.M., HAWKINS J.P. (1999) - Extinction risk in the sea. *TREE*, **14** (6): 241-246.
- RUCKELSHAUS M., KLINGER T., KNOWITON N., DEMASTER D.R. (2008) - Marine ecosystem-based management in practice: scientific and governance challenges. *Bioscience*, **58**: 53-63.
- STEIZENMULLER V., LEE J., SOUTH A., ROGERS S.I. (2010) - Quantifying cumulative impacts of human pressures on the marine environment: a geospatial modeling framework. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **398**: 19-32.
- TEMPERA F., NUNO PEREIRA J., BRAGA HENRIQUES A., PORTEIRO F., MORATO T., DE MATOS V., SOUTO M., GUILLAUMONT B., SERRÃO SANTOS R. (2012) - Cataloguing deep-sea biological facies of the Azores. *Revista de Investigación Marina*, **19** (2): 36-38.
- TUNESI L., AGNESI S., CAMERON A., COLTMAN N., HAMDI A., LOPEZ V., MO G., POPULUS J., SANZ ALONSO J., SARTORETTO S., CONNOR D. (2010) - EUSeaMap project: modelling European seabed habitats - a focus on the western Mediterranean. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **39**: 686.
- TUNESI L., AGNESI S., DI NORA T., MO G. (2008) - La conservazione della biodiversità marina alla luce delle iniziative europee. *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (1): 463-472.
- TUNESI L., MOSS D., EVANS D., MO G., DI MARTINO V. (2006) - The Mediterranean marine habitats in the "E.U.N.I.S." European system. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 224-225.
- UNEP(DEPI) (2012) - *Methodologies for setting targets relating to ecological objectives, to further the ecosystem approach in the Mediterranean Sea*. Mediterranean Action Plan, Workshop on the Application of the Ecosystem Approach by MAP. UNEP(DEPI)/MED WG.369/3: 25 pp.
- VALENTINE P.C., TODD B.J., KOSTYLEV V.E. (2005) - Classification of marine sublittoral habitats with application to the northeastern North America region. In: Barnes P.W., Thomas J.P. (eds), *Benthic Habitats and the Effects of Fishing*. American Fisheries Society Symposium, **41**: 183-200.

S. FRASCHETTI

Laboratory of Marine Biology, University of Salento, CoNISMa - 73100 Lecce, Italy.  
simona.fraschetti@unisalento.it

## MAPPING THE MARINE ENVIRONMENT: ADVANCES, RELEVANCE AND LIMITATIONS IN ECOLOGICAL RESEARCH AND IN MARINE CONSERVATION AND MANAGEMENT

### *LA MAPPATURA DELL'AMBIENTE MARINO: PROGRESSI, RILEVANZA E LIMITAZIONI NELLA RICERCA ECOLOGICA E NELLA GESTIONE E CONSERVAZIONE DELL'AMBIENTE MARINO*

**Abstract** - Here I discuss the need to integrate and combine the already existent information about habitat distribution and extent with a detailed assessment of pattern of distribution of human pressures. Without knowing what exists where, it is very difficult to formulate effective management initiatives. This task cannot be run without a throughout revision of habitat classification schemes. Most habitat mapping (both coastal and deep sea) is conducted on an ad hoc basis, with little consistency in terminology and ambiguous documentation. Environmental management and conservation require standardised classifications and terminology for habitats to enable consistent mapping and storage of information of the marine environment across all possible habitats. The limits in mapping efforts together with the importance of including the consideration of the socio-economical components are also discussed.

**Key-words:** habitat mapping, threats, classification lists, conservation strategies.

Marine ecosystems are under increasing human pressure: piecemeal regulation, lack of baseline information, adequate resources and systematic planning are major constraints for reversing present patterns of change. Habitat destruction is the most pervasive threat to the diversity, structure, and functioning of marine coastal ecosystems and to the goods and services they provide (Halpern *et al.*, 2008a; Claudet & Fraschetti, 2010). Systematic destruction of marine habitats has been occurring for at least 150 years (Airoidi & Beck, 2007). It is a ubiquitous phenomenon occurring at extended spatial scales (thousands of kilometres), which can impair the integrity and functioning of large-scale ecological processes. As such, habitat destruction can decrease population stability and alter patterns of connectivity, thereby isolating populations and communities. Habitat loss or fragmentation can also exacerbate overfishing by reducing fishable areas or decreasing productivity of marine environments, and may worsen the effects of global warming, affecting dispersal capacity of many species. Homogenization of habitat structure is suspected to be a major contributor to the sliding baselines that affect our ability to make ecological assessments of broad-scale changes in marine ecosystems (Perkol-Finkel & Airoidi, 2010). The need for research on the most basic information such as distribution of species and habitat types and whether and how different anthropogenic drivers interact is becoming central in present ecological research (Fraschetti *et al.*, 2008).

Given the difficulty in sampling species composition continuously across regions, habitats are often considered as good surrogates for species diversity. The greater the number of habitats in an area, the greater the number of species found there (Thrush *et al.*, 2006). Proponents argue that the selection of habitat as surrogate is effective, efficient, and is often the best way to proceed in regions for which few data on species are available and time for decision is restricted. Habitats are easier to resolve than species and can be mapped at large spatial scales with the use of tools limiting spatial gaps (Fraschetti *et al.*, 2008). Further, the conservation of marine habitats may serve as a practicable surrogate for conserving other scales of diversity

including species and ecosystems. However, selection of the habitat level may capture a large amount of regional biodiversity but it might miss essential species for effective conservation, e.g. rare or endangered species. In terrestrial systems, one of the most widely applied methods is the use of either vegetation or habitat maps to stratify units of diversity. In the marine environment, however, mapping activities are less developed and less frequently applied compared to the land because of the reluctance to consider the sea as a 'territory' and the evident operational difficulties involved (Parravicini *et al.*, 2012). Yet, also in the marine system, maps are either used directly as a surrogate for diversity or combined with environmental data to model patterns of species distributions. However, with few notable exceptions, studies with rigorous methodological frameworks reporting on what constitute effective surrogates in the marine realm are still scarce. Along tropical coastlines, some taxa (e.g., fish species) are weak surrogates of other taxa (e.g., molluscs), and the value of habitats and environmental factors as estimator surrogates is largely unknown, despite their potential as surrogates (Ward *et al.*, 1999). Indeed, the use of surrogates for conservation has been strongly criticized, and surrogate efficacy varies as a function of the spatial and temporal scales of observation, accuracy of surrogate classification, and degree to which the processes driving the distribution of the surrogates extend to the conservation features (e.g., species) of interest. Many studies attempt to mitigate this problem through the use of a range of complementary surrogates.

Habitat mapping is a fundamental requirement in providing inventories of habitat types and their statistics and in the identification of hot spots of habitat diversity. Maps permit changes in habitat cover to be detected, and allow boundary demarcation of multiple-use zoning schemes. Coastal habitats are manageable units and large-scale maps allow managers to visualise the spatial distribution of habitats, thus aiding the planning of networks of marine protected areas and allowing the degree of habitat fragmentation to be monitored (Gray, 1997; Mumby & Harborne, 1999). Although habitat maps have obvious uses in coastal management, the term habitat is rarely defined explicitly. The terminology employed in habitat maps often mixes geomorphology, physiognomy, ecology, and geological history. This is because the majority of habitat mapping is carried out non-systematically on an *ad hoc* basis where the definition of classes is subjective and usually based upon very limited field data (Fraschetti *et al.*, 2008). Environmental management and conservation require standardised classifications and terminologies for habitats to enable consistent mapping and storage of information on the environment across all possible habitats. In addition to the definition of habitat, several authors developed key concepts and considerations in designing marine habitat classifications focusing on the measurable features used to describe habitats, the scale and the hierarchical (or not hierarchical) framework to be used (Costello, 2009). These concepts represent a cornerstone for the implementation of a workable systematic basis for defining, managing and conserving biodiversity in the sea. However, conclusive results and shared classifications have not been identified yet. These limitations impede interpretation and integration of maps both for science and management, particularly at regional (international) scales. To date, a number of different classification systems have been developed with the aim of representing biological diversity in various regions of the globe including the USA, UK, British Columbia, Canada, New Zealand, and S.E. Australia (Zacharias *et al.*, 1999; Davies *et al.*, 2004; Connor *et al.*, 2005; Snelder *et al.*, 2007; Butler *et al.*, 2001). More recently a global level open ocean and deep-sea floor classification has also been produced (Ehler and Douvère, 2009). Also, a conceptual hierarchical framework for classifying marine biodiversity on the sea floor has been proposed, and used successfully for continental-scale bioregionalisation, and it was adopted to guide marine resource planning and management in Australia (Last *et al.*, 2010). Other

classification schemes have been proposed to aid in the implementation of marine protected area networks in the deep/high seas of the NE Atlantic, trying to overcome the tendency to focus on shallow habitats, revealing objective gaps of knowledge on deep-sea environments (Howell, 2010). The EUNIS habitat classification system is an attempt to produce a pan-European system (Davies *et al.*, 2004). In this framework, for the Mediterranean Sea, several international agreements require cataloguing of marine habitats. However, notwithstanding the efforts made by the environmental agencies such as the RAC/SPA and recent, parallel efforts by several Mediterranean countries, a shared classification system of marine habitats able to effectively respond to management needs of the basin is still to be identified. In the basin, most habitat mappings are still conducted with little consistency in terminology and ambiguous documentation, thus undermining the ability to effectively manage Mediterranean seascapes under increasing human pressure.

Knowing and acknowledging these problems is the basis for the formulation and implementation of future successful conservation strategies. In this framework, maps allow representative networks of habitats to be identified and spatially explicit data deriving from habitat mapping are critical in the application of reserve selection algorithms (Stewart *et al.*, 2003). These algorithms hold significant potential as tools for systematic marine reserve design and are especially suited for the design of reserve systems (rather than constructing single reserves), where the information required on any site needs to incorporate spatially explicit data and concepts such as adjacent land and sea uses, boundary lengths, connectivity and minimum reserve size. Ecological concepts such as complementarity, comprehensiveness and representativeness, adequacy and self-sustainability all rely on the knowledge of the distribution of habitats in space and time, together with their structure (physical organisation, e.g., habitat patches) and function (ecological and evolutionary processes) and are of critical importance for the successful application of these tools (Stewart *et al.*, 2003). Early approaches emphasized the need to integrate ecological habitat mapping with socioeconomic maps for coastal zone management, thus providing essential tools for implementing EBM and reserve-selection algorithms are increasingly incorporating also socioeconomic data on ecosystem services as costs (Chan *et al.*, 2011). By explicitly examining the role of habitats as surrogates for ecosystem services, the idea is to facilitate the incorporation of services within reserve-selection algorithms. Because ecosystem services can be important co-benefits or opportunity costs of conservation, there has been considerable interest in ecosystem services in planning. However, in the vast majority of cases the integration of services has been merely through biodiversity patterns or ecological processes that are assumed to be relevant for services. Thus, there is urgent need for research that investigates the advantages and disadvantages of alternative frameworks for planning for ecosystem services. In this framework, as the migration toward ecosystem services-based approaches for management increases, two key questions must be answered: (1) how well do biodiversity and ecosystem services correlate across space? And, given imperfect correlations, (2) how can we use existing planning tools to most effectively prioritize for a range of management considerations within a particular landscape and on a constrained budget?

Also human pressures have, by definition, a spatial component. Knowing the location and impacts of human activities on the marine ecosystems is critical to effective marine management (Halpern *et al.*, 2008a). This is why mapping activities are traditionally considered essential for the analysis and management of natural environments. Understanding the consequences of multiple human pressures on marine systems is also crucial to develop spatial plans whose main goal is the cartographic visualization of the results of different management alternatives.

However, spatial information on both the distribution and extent of marine habitats and on the potential sources of impact along the coasts is still scarce. Mapping human threat impacts in the marine environment is a recent scientific endeavour. In this framework, two issues seem to be particularly challenging. First, mapping of human threats is usually based on the use of coarse surrogates, that can be transferred across different regions and ecosystem types and that are extrapolated from local areas to broader regions. These maps are too inaccurate to be applicable to designing strategies for conservation and management at regional scales and to assess the actual local impacts of threats. For these approaches to be directly applicable to management and conservation, more detailed, regional analyses are needed. Secondly, most studies on the effects of cumulative impacts on marine systems often rely on an assessment of their vulnerability based on an expert knowledge. Costs, logistic and even ethical constraints often impair experiments at the large spatial and temporal scales that would be necessary to test predictions about the effects of some human-driven impacts. Without using real data on ecosystem status, expert- or literature-based techniques can hardly detect and understand the complex interactions that may exist among pressures (e.g., synergisms or antagonisms) (Halpern *et al.*, 2008b). Finally, the effects are spatially variable and extremely site-specific, making it difficult, if not impossible, to extrapolate general rules to be used a priori over vast spatial scales. Quantitative assessments of the effects of different human-driven stressors among and within habitats are critical for the development of a framework for understanding and predicting the cumulative impacts at a regional scale. These cross-habitats assessment are essential to refining our ability to effectively adapt and respond to the growing threats occurring in the marine environment.

In the Mediterranean Sea, important efforts have been carried out to identify threats at basin-scale and regional-scales that pose important impacts on species, habitats and ecosystems (Coll *et al.*, 2012). These studies assess how multiple pressures act in concert to influence Mediterranean ecosystems, to provide guidance regarding priority issues and focal areas for conservation action. However, even though these efforts have the critical merit to document the most relevant sources of threats, and where they are occurring at basin scale, an explicit use of this information to inform conservation planning and management has never been done. Also, they represent a simplistic interpretation of how they combine in space and time, since they do not have the potential to address the issue of synergies.

Systematic analyses of the distribution and intensity of coastal-marine threats combined to the assessment of spatial and temporal changes in the distribution of marine habitats together with the services they provide could be a critical strategy to greatly improve current management and conservation tactics of the marine environment and to provide guidance regarding issues to tackle, priorities for focal locations, and strategies for action.

## References

- AIROLDI L., BECK M.W. (2007) - Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **45**: 345-405.
- BUTLER E.C.V., BLACKBURN S.I., CLEMENTSON L.A., MORGAN P.P., PARSLow J.S., VOLKMAN J.K. (2001) - A survey strategy and environmental monitoring network for an estuary supporting finfish cage culture. *Ices J. Mar. Sci.*, **58**: 460-468.
- CHAN K.M.A., HOSHIKAKI L., KLINKENBERG B. (2011) - Ecosystem Services in Conservation Planning: Targeted Benefits vs. Co-Benefits or Costs? *PLoS ONE*, **6**: e24378. doi:10.1371/journal.pone.0024378.
- CLAUDET J., FRASCHETTI S. (2010) - Human-driven impacts on marine habitats: a regional meta-analysis in the Mediterranean Sea. *Biol. Conserv.*, **143**: 2195-2206.



- COLL M., PIRODDI C., ALBOUY C., BEN RAIS LASRAM F., CHEUNG W.W.L., CHRISTENSEN V., KARPOUZI V.S., GUILHAUMON F., MOUILLOT D., PALECZNY M., PALOMARES M.L., STEENBEEK J., TRUJILLO P., WATSON R., PAULY D. (2012) - The Mediterranean Sea under siege: spatial overlap between marine biodiversity, cumulative threats and marine reserves. *Global Ecol. Biogeogr.*, **21** (4): 465-480.
- CONNOR D.W., ALLEN J.H., GOLDING N., HOWELL K.L., LIEBERKNECHT L.M., NORTON K.O., REKER J.B. (2005) - *The marine habitat classification for Britain and Ireland, version 04.05*. Joint Nature Conservation Committee (JNCC), UK. Available: [www.jncc.gov.uk/page-1645](http://www.jncc.gov.uk/page-1645) (February 2008).
- COSTELLO M.J. (2009) - Distinguishing marine habitat classification concepts for ecological data management. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **397**: 253-268.
- DAVIES C.E., MOSS D., HILL M.O. (2004) - *EUNIS Habitat Classification Revised 2004*. European Topic Centre on Nature Protection and Biodiversity, Paris: 307 pp.
- EHLER C., DOUVERE F. (2009) - *Marine Spatial Planning: a step-by-step approach toward ecosystem-based management*. Intergovernmental Oceanographic Commission and Man and the Biosphere Programme. IOC Manual and Guides No. 53, ICAM Dossier No. 6. Paris, UNESCO: 99 pp.
- FRASCHETTI S., TERLIZZI A., BOERO F. (2008) - How many habitats are there in the sea (and where)? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **366**: 109-115.
- GRAY J.S. (1997) - Marine biodiversity: Patterns, threats and conservation needs. *Biodivers. Conserv.*, **6**: 153-175.
- HALPERN B.S., MCLEOD K.L., ROSENBERG A.A., CROWDER L.B. (2008b) - Managing for cumulative impacts in ecosystem-based management through ocean zoning. *Ocean Coast. Manage.*, **51**: 203-211.
- HALPERN B.S., WALBRIDGE S., SELKOE K.A., KAPPEL C.V., MICHELI F., D'AGROSA C., BRUNO J.F., CASEY K.S., EBERT C., FOX H.E., FUJITA R., HEINEMANN D., LENIHAN H.S., MADIN E.M.P., PERRY M.T., SELIG E.R., SPALDING M., STENECK R., WATSON R. (2008a) - A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, **319**: 948-952.
- HOWELL K.L. (2010) - A benthic classification system to aid in the implementation of marine protected area networks in the deep/high seas of the NE Atlantic. *Biol. Conserv.*, **143**: 1041-1056.
- LAST P.R., LYNE V.D., WILLIAMS A., DAVIES C.R., BUTLER A.J., YEARSLEY G.K. (2010) - A hierarchical framework for classifying seabed biodiversity with application to planning and managing Australia's marine biological resources. *Biol. Conserv.*, **143**: 1675-1686.
- MUMBY P.J., HARBORNE A.R. (1999) - Development of a systematic classification scheme of marine habitats to facilitate regional management and mapping of Caribbean coral reefs. *Biol. Conserv.*, **88**: 155-163.
- PARRAVICINI V., ROVERE A., VASSALLO P., MICHELI F., MONTEFALCONE M., MORRI C., PAOLI C., ALBERTELLI G., FABIANO M., BIANCHI C.N. (2012) - Understanding relationships between conflicting human uses and coastal ecosystems status: a geospatial modeling approach. *Ecological Indicators*, **19**: 253-263.
- PERKOL-FINKEL S., AIROLDI L. (2010) - Loss and recovery potential of marine habitats: an experimental study of factors maintaining resilience in subtidal algal forests at the Adriatic Sea. *PLoS ONE*, **5**: e10791. doi:10.1371/journal.pone.0010791.
- SNELDER T.H., LEATHWICK J.R., DEY K.L., ROWDEN A.A., WEATHERHEAD M.A., FENWICK G.D., FRANCIS M.P., GORMAN R.M., GRIEVE J.M., HADFIELD M.G., HEWITT J.E., RICHARDSON K.M., UDDSTROM M.J., ZELDIS J.R. (2007) - Development of an ecologic marine classification in the New Zealand region. *Environ. Manage.*, **39**: 12-29.
- STEWART R.R., NOYCE T., POSSINGHAM H.P. (2003) - Opportunity cost of ad hoc marine reserve design decisions: an example from South Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **253**: 25-38.
- THRUSH S.F., GRAY J.S., HEWITT J.E., UGLAND K.I. (2006) - Predicting the effects of habitat homogenization on marine biodiversity. *Ecol. Appl.*, **16**: 1636-1642.
- WARD T.J., VANDERKLIFT M.A., NICHOLS A.O., KENCHINGTON R.A. (1999) - Selecting marine reserves using habitats and species assemblages as surrogates for biological diversity. *Ecol. Appl.*, **9**: 691-698.
- ZACHARIAS M.A., MORRIS, M.C., HOWES, D.E. (1999) - Large-scale characterization of intertidal communities using a predictive model. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **239**: 223-242.

C. TRUFFARELLI, A. BELLUSCIO, A. CRISCOLI, G.D. ARDIZZONE

Dipartimento di Biologia Ambientale, Università di Roma "La Sapienza",  
Viale dell'Università, 32 - 00185 Roma, Italia.  
giandomenico.ardizzone@uniroma1.it

INTERPRETAZIONE DI IMMAGINI SONAR  
NELLA CARTOGRAFIA DI *POSIDONIA OCEANICA*.  
ANALISI E DESCRIZIONE DEI SONOGRAMMI

*INTERPRETATION OF SONAR IMAGES  
IN THE POSIDONIA OCEANICA CARTOGRAPHY.  
SONOGRAMS ANALYSIS AND DESCRIPTION*

**Abstract** - *In this paper a series of characteristics of Posidonia meadows of the central Tyrrhenian Sea are described based on a detailed analysis of SSS sonograms and ROV images. The correct interpretation of SSS signals is fundamental to have detailed maps of Posidonia oceanica meadows and, in some cases, particular aspects of the meadows characteristics could create errors.*

**Key-words:** *Posidonia oceanica meadows, Side Scan Sonar, Remote Operated Vehicle.*

**Introduzione** - Da tempo ormai la metodica cartografica per la Posidonia comprende la sovrapposizione di informazioni raccolte con immagini da satellite, sonogrammi da Side Scan Sonar e verità mare con immagini video registrate mediante telecamere trainate o ROV (Bianchi *et al.*, 2003). Il miglioramento tecnologico dei nuovi Side Scan Sonar consente di avere immagini con dettagli acustici di estrema accuratezza impensabili un tempo e questo può permettere un'interpretazione della condizione delle praterie che non è più la semplice indicazione di presenza di Posidonia, come per anni è stato fatto, ma consente una più complessa analisi di come è strutturata la prateria. Nella logica di un monitoraggio, la condizione della Posidonia deve essere rappresentativa della sua struttura per permettere di valutare l'ampiezza dei fenomeni regressivi. Ad esempio Posidonia su matte in buone condizioni, Posidonia a bassa densità intervallata con matte morta o matte morta priva di Posidonia non possono più essere considerate un unico sistema ed oggi è fondamentale interpretare le diverse condizioni presenti e delimitarne le relative superfici.

Obiettivo di questo lavoro è quello di analizzare criticamente un complesso di immagini sonar realizzate nell'ambito di uno studio sulla distribuzione delle praterie di Posidonia del Lazio, confrontarle con immagini video e sintetizzare categorie di struttura di prateria identificabili. Il fine è quello di cercare di ottenere il massimo dettaglio dalla semplice analisi dei sonogrammi riducendo al minimo le lunghe e costose ispezioni dirette per verifica di segnali dubbi. Allo stesso tempo sono messi in evidenza i rischi di bias derivanti da una cattiva interpretazione del segnale causati da fattori particolari dell'operatività delle attrezzature sonar.

**Materiali e metodi** - L'area di studio è compresa tra il confine del Lazio con la Toscana e il porto di Civitavecchia. In questi fondali si osservano cinque distinte praterie che sono state descritte in varie indagini nel corso degli ultimi cinquant'anni (Ardizzone e Belluscio, 1996). I dati di questo lavoro sono stati raccolti nell'ambito di una nuova indagine cartografica su finanziamento della Regione Lazio. Sono stati effettuati rilievi acustici paralleli alla linea di costa per 87 km di estensione, per mezzo di un Side Scan Sonar ad alta risoluzione EDGETECH 4125P con frequenza operativa compresa tra 400 e 1250 kHz. La mosaicatura dei sonogrammi è stata ottenuta mediante il programma GEOSURVEY 4.0.7. I fotomosaici georeferenziati sono stati gestiti per la restituzione con ArcGIS 9.3. Dai sonogrammi ottenuti sono



state selezionate le aree dove compiere i controlli in mare mediante telecamera trainata dotata di profundimetro (Ardizzone, 1992) con sistema di posizionamento e di registrazione delle immagini a bordo dell'imbarcazione appoggio.

Sono stati effettuati in totale 28 transetti video ortogonali alla costa da cui sono state ricavate 1328 immagini fotografiche del fondale che sono state sovrapposte ai sonogrammi per la decodifica del segnale acustico. I segnali così rielaborati sono stati ricondotti a sette categorie di struttura di prateria, esemplificatrici dello stato della Posidonia. Tali categorie sono state utilizzate come legenda per la realizzazione della futura cartografia bionomica. L'individuazione di questi segnali può fornire un valido contributo al fine di ottenere allo stesso tempo dettaglio cartografico e velocità nei tempi di restituzione.

**Risultati** - Va innanzitutto premesso che nell'area studiata la densità di fasci è sempre inferiore ai 300 per mq e questo ci mostra una condizione di praterie in generale sofferenza e lontana dalle condizioni ottimali che nel Lazio sono osservabili quasi esclusivamente nelle isole pontine dove le densità arrivano a 700 fasci per metro quadro.

Una prima osservazione va all'aspetto ondulado di una serie di segnali caratteristici della matte di Posidonia. Infatti, in tutte le categorie in cui è presente la matte, è stato riscontrato almeno un gruppo di segnali dalla morfologia ondulata che ricorda in qualche modo i ripple marks che si formano su sedimenti liberi, ma con altezza e lunghezza maggiori, ma presentano un andamento meno regolare. Anche l'orientamento, generalmente parallelo alla costa, è analogo tra matte e sedimenti. Un simile segnale è stato descritto in Corsica in un recente lavoro (Clabaut *et al.* 2010). L'idrodinamismo agisce in maniera sincrona sia sulla matte che sui sedimenti liberi ma la presenza della pianta con i rizomi e le radici stabilizza le ondulazioni.

I segnali ondulati sono determinati dall'andamento del fondale, che in questo caso non è direttamente visibile nelle immagini video, infatti risulta complessa l'osservazione della matte sottostante la copertura vegetale. Questo aspetto ondulado è stato osservato però in chiazze di matte morta all'interno delle praterie, frequenti nell'area di studio in quanto caratterizzata come detto da basse densità dei fasci (Fig. 1).

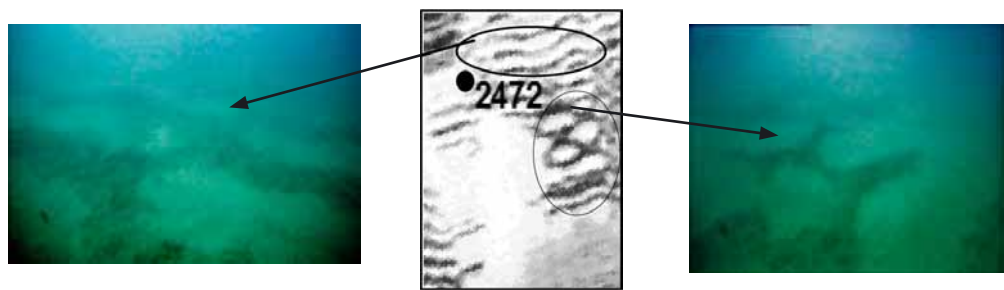


Fig. 1 - Sonogramma e immagini fotografiche in cui è possibile notare l'aspetto ondulado della matte morta.

*Sonogram and photographic images of corrugated shape of dead matte.*

L'andamento ondulado dei segnali, e di conseguenza della matte, segue un gradiente batimetrico. Infatti all'aumentare della profondità si attenua la morfologia ondulata. Le cause sono da ricercarsi nella minore densità della pianta, nella riduzione dell'idrodinamismo costiero, nella perdita di compattezza della matte morta, nella sua erosione e nel ricoprimento sedimentario.

I segnali relativi a praterie rade e in regressione si discostano molto da quelli osservati in praterie dense come nell'arcipelago pontino, dove il segnale non si presenta ondulado ma ha una fisionomia piuttosto piatta, omogenea e compatta (Fig. 2).




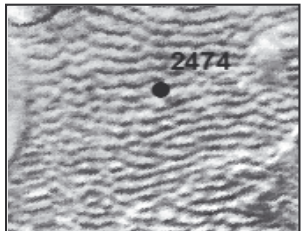
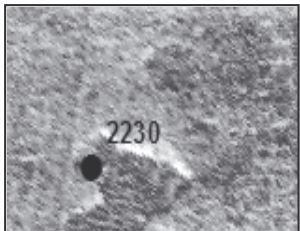
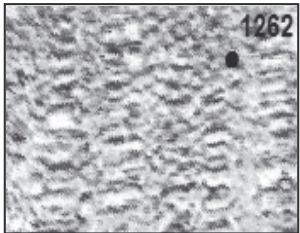
Fig. 2 - Il sonogramma con una prateria Posidonia ad elevata densità (Isola di Ponza).  
*The sonogram showing a high density Posidonia meadow (Ponza Island).*

Dal confronto dei sonogrammi con le immagini fotografiche è risultata una discreta variabilità dei segnali descrittivi di ogni categoria morfostrutturale. Le diverse tipologie di sonogrammi riconducibili alle sette categorie morfostrutturali delle praterie osservate possono essere sintetizzate come segue:




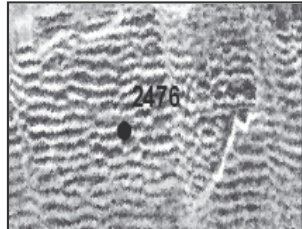
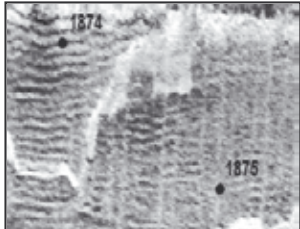
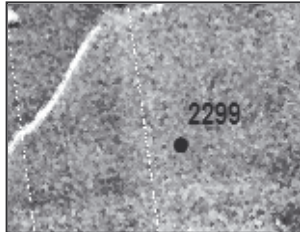
1. *Posidonia oceanica* su matte (ricoprimento della Posidonia pari all'80-100% e della matte morta pari allo 0-20%): morfologia dall'aspetto ondulato con alternanza di zone più chiare e zone più scure. All'aumento di profondità e quindi al diminuire dell'idrodinamismo, diminuisce l'altezza delle ondulazioni e si passa alla successiva categoria. Le ondulazioni possono essere marcate e continue o in altri casi presentare delle interferenze dovute alla roccia o ai sedimenti.
2. *Posidonia oceanica* su matte e matte morta (ricoprimento Posidonia 20-80%, matte morta 80-20%): variando molto la copertura di Posidonia il segnale è molto eterogeneo e va dall'ondulato al quasi piatto in condizioni di dominanza di matte morta. Possono esserci rischi di errata interpretazione in assenza di immagini video.
3. Matte morta e Posidonia a fasci isolati (matte morta oltre 80%, ricoprimento Posidonia inferiore 20%): segnali generalmente piatti, alcuni lisci e chiari altri ruvidi e scuri (tipici della Posidonia a chiazze). I singoli fasci non sono in grado di dare segnale e quindi possono essere evidenziati solo con video.
4. Matte morta (in percentuale prossima al 100%): è caratterizzata da due gruppi di segnali, il primo, a batimetrie profonde (limite inferiore), è piatto e grigio tipico di una matte insabbiata interpretabile dalla presenza di gradini, il secondo più superficiale è ondulato ma con un colore più chiaro come matrice di fondo.
5. Posidonia su sabbia o matte insabbiata: è una condizione incontrata occasionalmente, spesso in unione con le altre tipologie. È rappresentata da una granulazione del segnale e dall'assenza di ondulazioni.
6. Roccia con presenza di Posidonia (Posidonia a fasci o chiazze isolate): il segnale tipico della roccia è ben distinguibile per la presenza di ombre accentuate e segnali scuri dovuti all'elevata intensità del backscatter. La Posidonia, presente a fasci isolati o a piccole chiazze, non è identificabile acusticamente e necessita di controlli video.
7. *Posidonia oceanica* su roccia (copertura continua della Posidonia su roccia): i segnali sono generalmente identici a quelli della precedente categoria; tuttavia in alcuni casi in cui la densità di Posidonia su roccia è elevata, è possibile osservare dei tratteggi paralleli tra loro (simili a quelli della Posidonia sulla matte). Potrebbe trattarsi di un segnale dovuto alla presenza della pianta sulla roccia, però tale situazione non essendo una costante, necessita sempre di un controllo video di conferma.

Le figure seguenti illustrano le categorie appena descritte:

Categoria “*Posidonia oceanica* su matte” (copertura della *Posidonia* pari all’80-100% e della matte morta pari allo 0-20%)

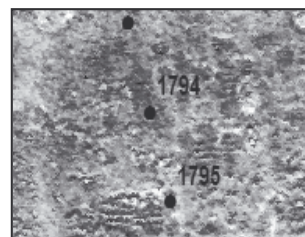
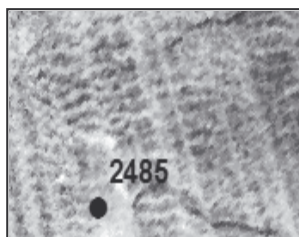
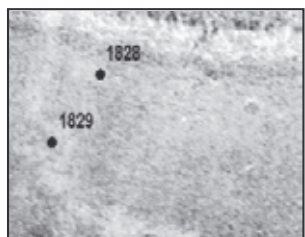
Gruppo di segnali con alternanza di onde chiare-scure, continue e marcate	Gruppo di segnali piatto, elevata sedimentazione e matte bassa ma visibile	Gruppo di segnali con interferenze dovute a piccole lenti di sabbia o a blocchi di roccia tra la matte
		
		

Categoria “*Posidonia oceanica* su matte e matte morta” (copertura della *Posidonia* pari al 20-80% e della matte morta pari all’80-20%)

Gruppo di segnali ondulato e con bande di contrasto grigio scuro-bianco	Segnale a patch	Gruppo di segnali piatti, ruvidi, scuri e omogenei
		
		

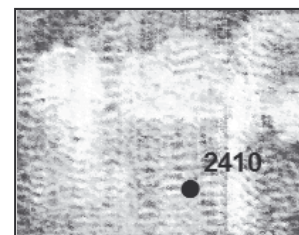
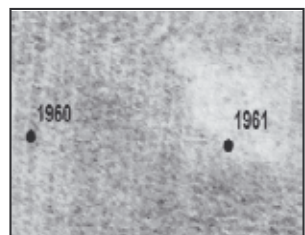
Categoria “Matte morta e *Posidonia oceanica* a fasci isolati” (matte morta oltre 80%, ricoprimento *Posidonia* inferiore 20%)

Segnali generalmente piatti, alcuni lisci e chiari altri ruvidi di colore scuro, in ogni caso omogenei	Segnali con ondulazioni poco contrastate, di colore grigio chiaro	Segnale distinto dalla presenza di abbondanti sedimenti che ricoprono la matte o formano lenti accostate
--	---	--




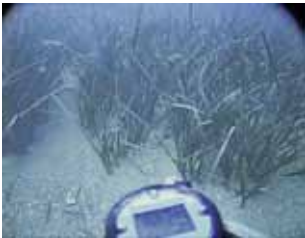

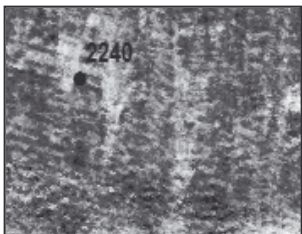
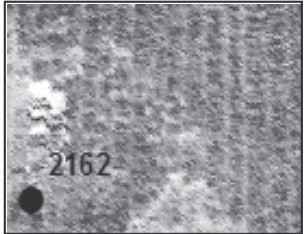
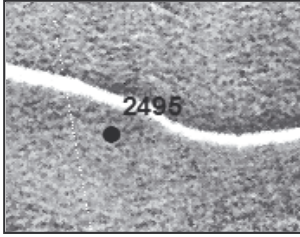
Categoria “Matte morta” (in percentuale prossima al 100%)

Tessitura appiattita e di colore grigio non troppo scuro e omogeneo	Segnale ondulato dove i lineamenti ondulati grigi si trovano in una matrice di fondo bianca, tipico della matte morta superficiale
---	--




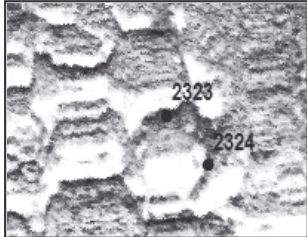
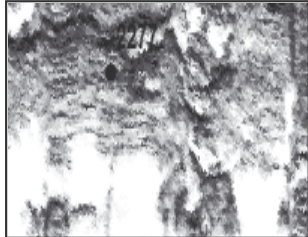
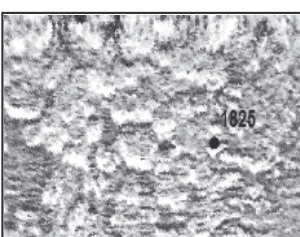







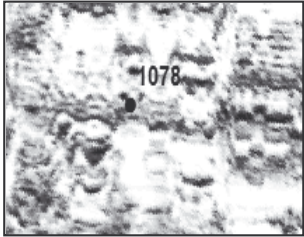
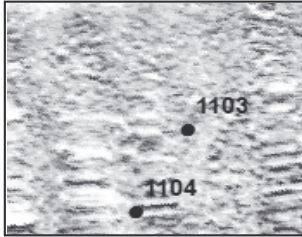
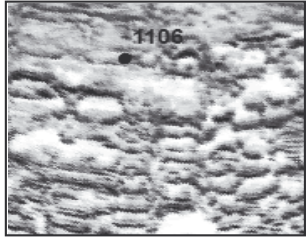
Categoria “*Posidonia oceanica* su sabbia o matte bassa” (copertura della *Posidonia* pari all’80% e della matte morta pari allo 0-20%)

Segnale lievemente ondeggiato, matte bassa e insabbiata	Segnale piatto, granulare grigio scuro	Segnale piatto ma ruvido
		
		

Categoria “roccia con presenza di *Posidonia oceanica*”

Gruppo di segnali derivati dall’elevata intensità di backscatter della roccia, che va a mascherare la presenza della <i>Posidonia</i>		
		
		

### Categoria “Posidonia oceanica su roccia”

Gruppo di segnali dalla morfologia tipica della roccia	Gruppo di segnali con andamento alternato di tratteggi chiari e scuri
	
	
	
	

In seguito a quanto detto e osservato vanno riportate alcune precisazioni.

I sonogrammi risultano fondamentali per una corretta caratterizzazione dei fondali. Ad esempio in situazioni di copertura del 100% della pianta è praticamente impossibile, con la telecamera subacquea, osservare il fondale su cui si sviluppa, mentre il Side Scan Sonar ci fornisce sempre questa importante informazione. Nel contempo l'uso della telecamera in modo complementare è basilare per ottenere delle informazioni che sfuggono allo strumento, come la presenza della Posidonia sulla roccia.

Dall'analisi dei sonogrammi è risultata complessa l'individuazione della matre morta al limite inferiore quando si presenta bassa, ricoperta di sedimenti e priva di scalini. In questi casi è caratterizzata da segnali simili a quelli del sedimento fine.

Inoltre nel Lazio sono frequenti dei fondali molto eterogenei, in cui sabbia, matre e roccia sono distribuite a formare un “mosaico” sul fondale. In questi casi dai sonogrammi è possibile distinguere le varie tipologie, ma risulta complesso porre i limiti cartografici per delimitare le diverse categorie presenti.

Altrettanto rischioso può essere un effetto che si genera in fase di elaborazione del fotomosaico. La sovrapposizione dei sonogrammi infatti può portare ad anomalie del segnale, causate dall'incrocio delle ombre, esaltando artificialmente certe morfologie.

**Conclusioni** - *Posidonia oceanica* è la più importante Fanerogama dei mari mediterranei ed è andata acquisendo una crescente attenzione in questi ultimi anni in relazione al suo stato di regressione presente in molte delle coste più antropizzate. Proporzionalmente alla necessità di conoscenza, e di tutela, delle praterie di Posidonia si sono sviluppate ampie indagini lungo tutte le coste italiane finalizzate alla realizzazione di cartografie dei fondali dove la pianta è presente. Tali conoscenze risalgono in molti casi ad oltre venti anni fa e consentono oggi di effettuare nuovi

approfondimenti per confrontare la condizione attuale rispetto a quella passata. Questo tipo di monitoraggio permette di valutare la velocità di regressione o viceversa di verificare la stabilità del sistema studiato. In una stessa regione come il Lazio ad esempio sono presenti fondali in cui la *Posidonia* si è ridotta del 60% (Ardizzone *et al.*, 2006) e altri in cui appare assolutamente stabile (isole pontine). Il problema del confronto tra cartografie diverse è quello di avere un simile livello di accuratezza nell'interpretazione e nella restituzione del dato raccolto e questo purtroppo non è sempre presente.

Le moderne strumentazioni SSS consentono oggi di acquisire dettagli estremamente accurati del fondale e le praterie di *Posidonia* nella loro complessità possono essere indagate a fondo mediante lo studio dei sonogrammi. Tale dettaglio però può se ben interpretato fornire importanti elementi strutturali delle praterie ma anche essere fonte di cattive interpretazioni ed errori di restituzione.

### Bibliografia

- ARDIZZONE G.D. (1992) - Cartografia bentonica con sistemi video controllati a distanza. *Oebalia*, **17** (Suppl.): 441-452.
- ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A. (1996) - Le praterie di *Posidonia oceanica* lungo le coste laziali. In: *Il mare del Lazio*. Università degli Studi di Roma - Regione Lazio: 194-217.
- ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., MAIORANO L. (2006) - Long-term change in the structure of a *Posidonia oceanica* landscape and its reference for a monitoring plan. *Mar. Ecol.*, **27**: 299-309.
- BIANCHI C.N., ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., COLANTONI P., DIVIACCO A., MORRI C., TUNESI L. (2003) - La Cartografia del Benthos. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 367-394.
- CLABAUT P., PERGENT-MARTINI C., PERGENT G., AUGRIS C., PASQUALINI V., CHAMLEY (2010) - Les relations entre les herbiers de posidonies, leur substrat et l'hydrodynamisme. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Mediterranean Symposium on Marine Vegetation*. Yasmine-Hammamet, 2-4 December 2010: 49-54.



I. BITETTO, M.T. FACCHINI, M.T. SPEDICATO, G. LEMBO

COISPA Tecnologia e Ricerca, Stazione Sperimentale per lo Studio delle Risorse del Mare,  
Via dei Trulli, 18/20 - 70126 Bari, Italia.  
bitetto@coispa.it

**SPATIAL LOCATION OF GIANT RED SHRIMP  
(*ARISTAEOMORPHA FOLIACEA*, RISSO, 1827)  
IN THE CENTRAL-SOUTHERN TYRRHENIAN SEA**

***LOCALIZZAZIONE SPAZIALE DEL GAMBERO ROSSO  
(ARISTAEOMORPHA FOLIACEA, RISSO, 1827)  
NEL TIRRENO CENTRO-MERIDIONALE***

**Abstract** - Spatial indicators are descriptors of the spatial distribution of populations and population stages, useful to identify space occupation along time. This study aims to investigate the spatial occupation of juveniles and spawners of *Aristaeomorpha foliacea* in the central-southern Tyrrhenian Sea (GSA 10) along 17 years. The mapping of spatial indicators pinpoints an higher aggregations for recruits then for spawners. Big and rather stable aggregations of both life stages have been located offshore the coasts of Calabria, between Capo Bonifati and Capo Suvero.

**Key-words:** spatial indicators, spawners, juveniles, trawl survey, spatial management.

**Introduction** - The relevance of indicators to fisheries management has became more widely acknowledged in recent years as indicators might contribute to the progress of the Ecosystems Approach to Fisheries Management (EAFM) and to an holistic fisheries evaluation. Indicators are useful to complement the assessment framework established so far for a still small number of top-valued species and fisheries (Cotter *et al.*, 2009). Indicators allow to account for stock dynamics and for interactions among ecological, spatial, social and economic components of the ecosystems (FAO, 1999). Spatial indicators are descriptors of the spatial distribution of populations and population stages across time, hence allowing the detection of relevant spatial occupation changes. There can often be reasons to expect that the geographic distribution of fish stocks will change in response to fishing pressures, or to variations in oceanographic conditions or climate. Spatial indicators therefore provide another way of looking at a fish stock (Woillez *et al.*, 2009), especially when combined in pairwise relationships with abundance. Spatial indicators can be represented in combination with other biological or physical components of the ecosystem, providing useful information for spatial-based management. The aim of this study was to outline the spatial location and occupation of juveniles and spawners of *Aristaeomorpha foliacea*, a key biological and fishery resource in the central-southern Tyrrhenian Sea (GSA10). Spatial pattern was evaluated and represented in a time horizon of 17 years.

**Materials and methods** - Data were collected during MEDITS trawl surveys (Spring 1994-2010) conducted in GSA10 following a stratified random sampling design. Indices of abundance of juveniles and spawners were standardized ( $N/km^2$ ) to the area inhabited by the species (200-800 m depth). Juveniles were identified using the Bhattacharya method to extract the first modal component of the length frequency distributions, whilst spawners were selected using the maturity ogive of females estimated in the study area on data from both MEDITS surveys and sampling of commercial landings obtained in the Data Collection

Framework. The spatial indicators were those proposed by Woillez *et al.* (2009) and successfully applied to evaluate the pattern of the spatial distribution of red mullet in the same GSA (Spedicato *et al.*, 2007). A summary of characteristics and properties of the spatial indicators used in this study, that were those not influenced by 0 catches, are reported in Tab. 1. Among the spatial indicators, spatial patches are particularly suitable to be used for management purposes, because they convey relevant information on:

- 1) the geographical positions of all major aggregations;
- 2) the aggregations with abundance higher than a threshold;
- 3) the percentage of abundance in these aggregations;
- 4) the percentage of area covered by the retained patches.

The Global Index of Collocation (GIC) is instead suitable to detect the stability of the spatial occupation of each population stage (or for the whole population) along the time.

Tab. 1 - Spatial indicators used in the studied area not influenced by 0 catches (from Woillez *et al.*, 2009, mod.).

*Indicatori spaziali non influenzati dalle catture nulle (cfr. Woillez et al., 2009, mod.).*

Indicator	Symbol	Description and properties
Centre of gravity	CG	Mean location of the individuals of a population. A shift may reflect effects of fishing. CG is sensitive to high fish densities
Inertia	I	Variance of the location of the individuals of a population. Indicates dispersal but is sensitive to high densities of fish
Global index of collocation	GIC	Measures the geographic distinctness or overlap of two populations of fish
Positive area	PA	Measures the area where fish of a species occur. PA is greatly increased when fish occur at low densities over a large area
Spatial patches	SP	The number of spatial patches with abundance >(threshold) gives information about the number of significant fish aggregations in the area and the percentage of area covered by the patches

**Results** - The centre of gravity of the 2 life stages is generally located at the same latitude; recruits being on average positioned slightly northwards (Fig. 1). The estimation of the centre of gravity shows that the mean spatial occupation is less stable for recruits than for spawners. Recruits are slightly more aggregated, though variability is higher as highlighted by the Inertia. Different patches along the years were detected, but only 1 contains more than 50% of abundance of recruits. This big aggregation of recruits (on average 73% of the abundance) is more frequently located between Capo Bonifati and Capo Suvero and covers on average 43% of the area between 200 and 800 m (Fig. 2). Also the patch of spawners (on average 62% of the abundance) is more frequently located between Capo Bonifati and Capo Suvero and covers 34% of the area.

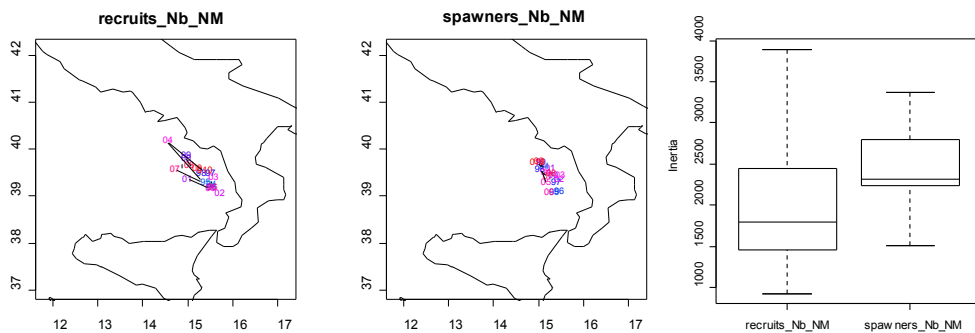


Fig. 1 - Mean location (CG) and mean dispersion (Inertia) of recruits and spawners of *A. foliacea*.  
Localizzazione (CG) e dispersione media (Inertia) di reclute e riproduttori di *A. foliacea*.

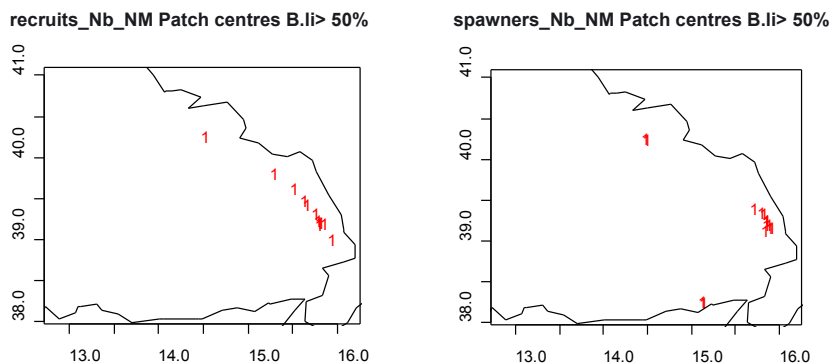


Fig. 2 - Spatial patches with more than 50% of abundance for recruits and spawners of *A. foliacea*.  
Aggregazioni spaziali contenenti più del 50% dell'abbondanza per reclute e riproduttori di *A. foliacea*.

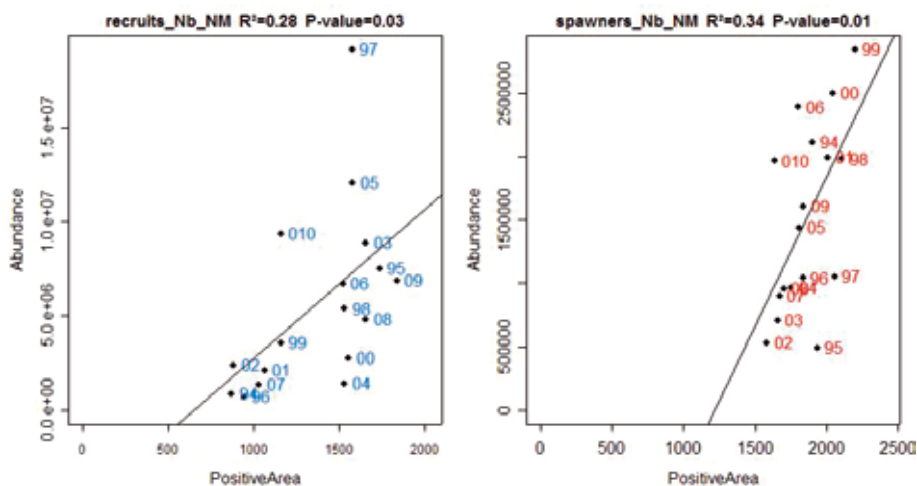


Fig. 3 - Relationship between abundance and positive area of recruits and spawners of *A. foliacea*.  
Relazione fra abbondanza ed area positiva di reclute e riproduttori di *A. foliacea*.

For recruits, 78.7% of GIC values were between 0.8 and 1, highlighting a rather stable spatial occupation along the time, that appears also more stable for spawners for which the percentage of values in the same range increases to 99.7%. Finally, a positive significant correlation between abundance and positive area has been observed both for recruits (Pvalue=0.03) and spawners (Pvalue=0.01) (Fig. 3), thus when more abundant the population tend to spread out, regardless of the life stage.

**Conclusions** - *A. foliacea* represents one of the more valuable fishery resources in the central-southern Tyrrhenian Sea, distributed on the bathyal bottoms, where juveniles generally occupy the upper depth levels (Spedicato *et al.*, 1998). The time of the MEDITS survey is coincident with both the spawning and recruitment seasons of the giant red shrimp (gonad maturation peak from June to August; Spedicato *et al.*, 1999) and thus appropriate to identify peculiar spatial pattern and aggregations. With few exceptions, spatial indicators pinpoint that the mean location area of the giant red shrimp in the GSA10, is offshore the coasts of Calabria, between Capo Bonifati and Capo Suvero where wide bathyal bottoms are located and the circulation of water masses is influenced by the inflow from the Sicily Strait. Despite some years where spatial patches also appear in different locations, the coasts of Calabria between Capo Bonifati and Capo Suvero represent a stable elective zone for both recruits and spawners, with aggregations accounting respectively for ~70 and 60% of the life stage abundance. As expected the raise of the positive area with increasing density was observed (Woillez *et al.*, 2009). Worth mentioning that the continental shelf of the same geographical zone was also identified as a rather stable mean location of *M. barbatus* life stages in GSA10 (Spedicato *et al.*, 2007).

## References

- COTTER J., PETITGAS P., ABELLA A., APOSTOLAKI P., MESNIL B., POLITOU C.Y., RIVOIRARD J., ROCHET M.J., SPEDICATO M.T., TRENKEL V.M., WOILLEZ M. (2009) - Towards an ecosystem approach to fisheries management (EAFM) when trawl surveys provide the main source of information. *Aquat. Living Resour.*, **22**: 243-254.
- FAO (1999) - Indicators for sustainable development of marine capture fisheries. *FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries*, **8**. FAO, Rome: 68 pp.
- SPEDICATO M.T., LEMBO G., SILECCHIA T., CARBONARA P. (1998) - Contributo alla valutazione dello stato di sfruttamento del gambero rosso (*Aristaeomorpha foliacea*, Risso, 1827) nel Tirreno Centro-Meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (2): 252-261.
- SPEDICATO M.T., SILECCHIA T., CARBONARA P. (1999) - *Aristaeomorpha foliacea*. In: Relini G., Bertrand J., Zamboni A (eds), Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo Centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 503-516.
- SPEDICATO M.T., WOILLEZ M., RIVOIRARD J., PETITGAS P., CARBONARA P., LEMBO G. (2007) - Usefulness of the spatial indices to define the distribution pattern of key life stages: an application to the red mullet (*Mullus barbatus*) population in the south Tyrrhenian Sea. *ICES CM 2007/O*: 10 pp.
- WOILLEZ M., RIVOIRARD J., PETITGAS P. (2009) - Notes on survey-based spatial indicators for monitoring fish populations. *Aquat. Living Resour.*, **22**: 155-164.

Data used in this paper were collected in the Data Collection Framework supported by the Italian Ministry of Agriculture, Food and Forestry Policy (MiPAAF) and by the European Commission.

L.A. CHESSA, A. COSSU\*

Dip. di Agraria, Sez. Economia e Sistemi Arborei e Forestali, Lab. di Idrobiologia ed Ecologia  
Marina, Università di Sassari, Viale Italia, 39 - 07100 Sassari, Italia.  
chessa@uniss.it

\*Dip. di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Univ. di Sassari, Via Piandanna, 4 - 07100 Sassari, Italia.

## ANALISI ED INTERPRETAZIONE DELLA CARTOGRAFIA BIOCENOTICA DELL'ISOLA ASINARA NELL'AMBITO DEL PROGETTO "4 A.M.P." DEL MINISTERO DELL'AMBIENTE-CONISMA

### ANALYSIS AND INTERPRETATION OF BIOCENOTIC CARTOGRAPHY OF THE ASINARA ISLAND IN THE "4 M.P.A." PROJECT OF MINISTRY OF THE ENVIRONMENT-CONISMA

**Abstract** - A critical analysis of the available cartographical material and of new data emerged from the "4 M.P.A." project of the Italian Ministry of the Environment and CoNISMa has been made. The cartography included geomorphological maps, S.S.S. 100 MHz tracing, as well as high resolution ortoplan aerial photos. The limits of biocoenoses were reported, they were verified by means of 13 underwater transects and a lot of video and photo surveys. A list of habitat was also compiled referring to SPA/RAC protocol. The presence of biocoenoses of significant environmental value, such as *Coralligenous* in 'enclave' associations with *Lithophyllum* and with *Cystoseira* were underlined, as well as rare or endangered species.

**Key-words:** *bionomic cartography, marine habitat, Asinara, endangered species.*

**Introduzione** - Lo studio iniziato nel settembre 2006 in attuazione di un progetto nel Ministero dell'Ambiente-CoNISMa, riguardava sia l'analisi e la valutazione dello stato degli ecosistemi marini delle zone *a* e *b* in quattro aree marine protette, sia l'efficacia delle misure di gestione delle stesse. Il progetto, articolato in diverse fasi, prevedeva la produzione di carte biocenotiche dettagliate e un primo inquadramento degli *habitat* in formato GIS. Il rilevamento delle biocenosi bentoniche e delle principali *facies* è stato realizzato, mediante tecniche di censimento visivo, lungo transetti e raccolta di campioni negli stessi siti dai ricercatori dei diversi settori coinvolti con l'intento di realizzare un prodotto cartografico derivante da un interazione multidisciplinare. L'Isola dell'Asinara ha una superficie di 52 km<sup>2</sup> ed uno sviluppo costiero di 100 km con notevole eterogeneità di macro e di microambienti marini. Ubicata in prossimità della scarpata continentale, presenta due versanti principali: quello occidentale è caratterizzato da ripidi pendii che proseguono nella parte sommersa, qui la morfologia del fondo marino risulta costituita da falesie, con franate ricche di anfratti, canaloni e spaccature. Il versante orientale ha solo un debole declivio che porta gradualmente fino a -50 m. Il fondo ha un basamento costituito da una massa scistosa attraversata da filoni, vene di quarzo. I substrati incoerenti sono costituiti da sabbie grossolane di detrito organogeno da cui frequentemente emergono grossi affioramenti rocciosi (Ulzega *et al.*, 1986). I venti determinano i maggiori effetti nel differenziare le comunità biologiche più superficiali dei due versanti. Quelli provenienti da ovest sono i prevalenti e hanno anche maggiore intensità. I caratteri di unicità della flora e della vegetazione marina di questa Isola sono stati illustrati in diversi lavori (Cossu *et al.*, 1992a,b).

**Materiali e metodi** - Le biocenosi bentoniche sono state definite dall'analisi:

- a) tracciati S.S.S. forniti dal MATTM (Progetto censimento Posidonia Sardegna);
- b) foto ortoplanimetriche in HD (MATTM-Parco Nazionale dell'Isola dell'Asinara);

c) transetti videosub con spot fotografici HD (Progetto 4AMP, MATTM-CoNISMa); d) quadro biocenotico derivato da rilievi in immersione ARA su flora e fauna di fondi duri e mobili, secondo Pérès e Picard (1964) (Progetto 4AMP, MATTM-CoNISMa).

La cartografia biocenotica è stata realizzata su base ARCGIS sovrapponendo i diversi *layers* e perimetrando le aree omogenee sulla base delle diverse informazioni acquisite.

La carta è stata prodotta su scala 1:75.000 ma su base informativa 1:10.000 ed interessa i fondali fino a -50 m nel versante orientale e fino a -100 m in quello occidentale.

**Risultati** - L'area marina interessata dalla presente indagine si estende per più di 12.500 ha e comprende il tratto di mare sia a levante che a ponente dell'Isola. La prateria a *Posidonia oceanica* è distribuita lungo tutto il periplo su una superficie di 5.200 ha. La porzione più cospicua è quella orientale su un fondale che ha declività graduale e costituisce una delle formazioni più estese della Sardegna. Il tipo più diffuso è su sabbia che rappresenta circa il 78% del complessivo, mentre quella su roccia è circa il 12,5%. La *Posidonia* sia a matite morta sia in fase regressiva è stimata poco meno del 6% ed è quasi tutta concentrata nella porzione più interna di Cala Reale, dove danno fonda le grandi navi durante le tempeste di maestrale. Sempre nella stessa area, sono da segnalare discontinuità della *matte* originate da attrezzi da pesca (Fig. 1). La seconda biocenosi come estensione è la SGCF con oltre 2.200 ha, in prevalenza nel settore orientale. Questa biocenosi indicata come "remarkable" dall'UNEP (Relini e Giaccone, 2009), definita anche ad "elevato valore", ospita comunità ittiche che sono soggette a pesca intensiva che qui godono dell'effetto riserva. Altra formazione di notevole interesse è la biocenosi RIHC (oltre 800 ha); è caratterizzata dall'*habitat* prioritario a *Cystoseira spinosa*, protetto dalla Convenzione di Barcellona. *Laminaria rodriguezii* si insedia su substrati mobili circolitorali ed alla base di grossi affioramenti rocciosi (Fig. 1). *Palinurus elephas* è particolarmente abbondante in formazioni rocciose circolitorali (*tor*), particolarmente diffuse nell'Isola. Un coralligeno ben strutturato si sviluppa, nelle sue diverse espressioni soprattutto nelle porzioni più profonde delle falesie sommerse del versante occidentale, con le diverse *facies* ad *Eunicella singularis*, a *Eunicella cavolinii*, a *Paramuricea chamaleon* e le piattaforme coralligene (associazione *Lithophyllo* - *Halimodetum tunae*) (Cossu *et al.*, 2009). Un altro aspetto di rilevante attenzione è la larga diffusione delle specie ad elevato interesse naturalistico come *Lithophyllum byssoides* e *Patella ferruginea* la cui distribuzione è rappresentata in cartografia (Fig. 1); *Epinephelus marginatus*, *Sciaena umbra* e *Umbrina cirrosa* sono ampiamente diffuse nel versante occidentale dove è facile incontrare individui di taglia considerevole.

**Conclusioni** - Questo progetto è stata l'occasione per costituire un gruppo di esperti che ha interagito con giovani ricercatori con scopi di alta formazione, attraverso la supervisione del CoNISMa. La cartografia biocenotica prodotta, data la sua complessità e il dettaglio, ha visto il coinvolgimento dei diversi ricercatori delle differenti discipline ma è comunque anche frutto di una lunga serie di campagne di ricerca precedenti che si sono protratte fino ad oggi. Si sottolinea lo stato di integrità e la notevole estensione del posidonieto; la presenza di biocenosi poco diffuse in Mediterraneo, e di specie rare e meritevoli di protezione come *Laminaria rodriguezii*, *Patella ferruginea*, *Epinephelus marginatus*, *Palinurus elephas*. I risultati emersi hanno nel loro complesso evidenziato l'altissimo valore naturalistico dell'area marina dell'Isola dell'Asinara che rappresenta indiscutibilmente un nucleo di elevata biodiversità per il Mediterraneo.



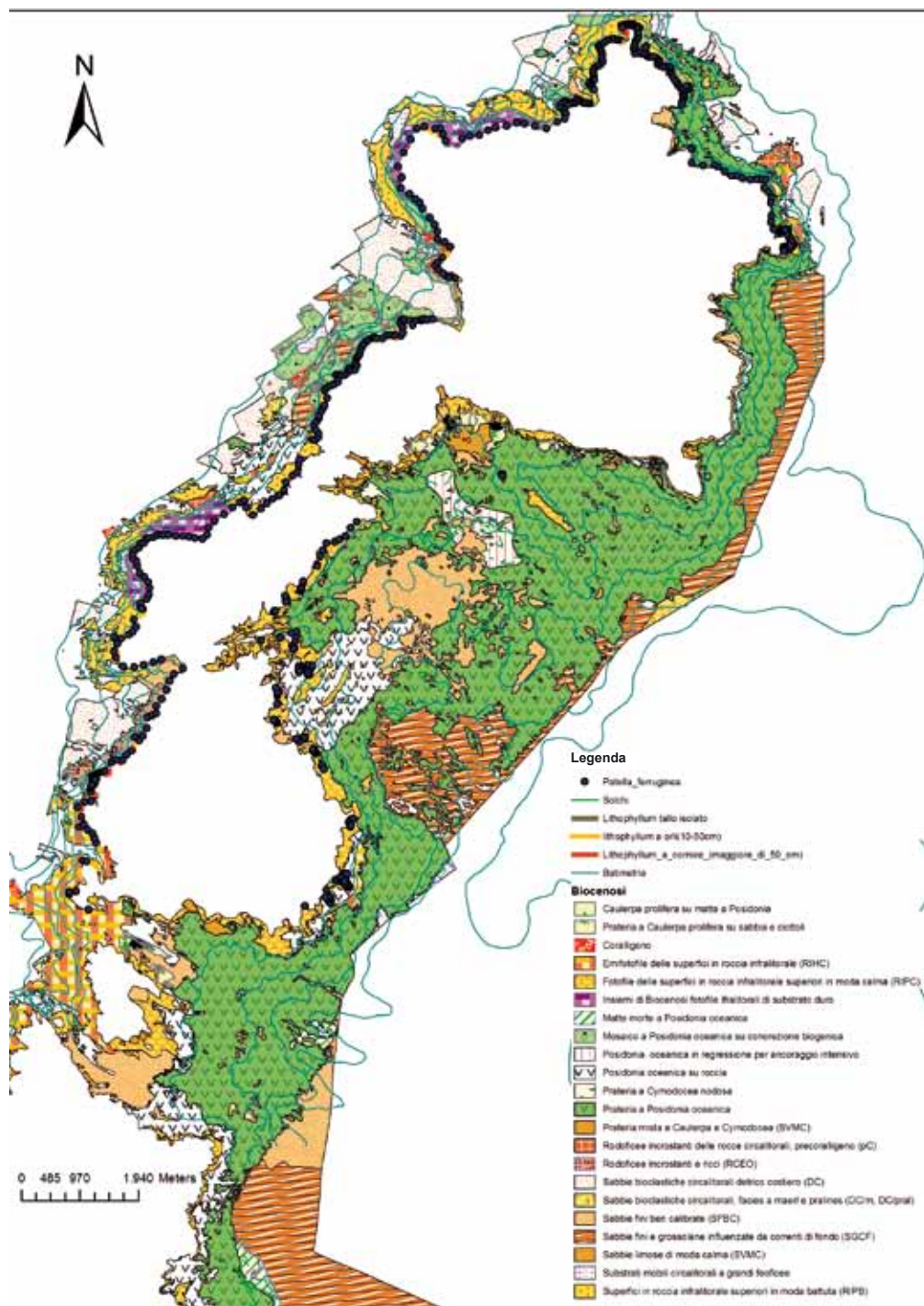


Fig. 1 - Biocenosi bentoniche dell'Isola dell'Asinara.  
*Benthic biocoenoses of the Asinara Island.*



Tab. 1 - Biocenosi bentoniche dell'Isola dell'Asinara con nomenclatura RAC/SPA, relative estensioni, valutazione dell'habitat e vulnerabilità (UNEP-OCA/MED WG 149/5 Rev.1).  
*Benthic biocoenoses of the Asinara Island with RAC/SPA nomenclature, extension, habitat value and vulnerability (UNEP-OCA/MED WG 149/5 Rev.1).*

Hab.*	Vul.*	Biocenosi	RAC-SPA	Area-ha
P	E	Prateria a <i>Posidonia oceanica</i>	III.5.1 Praterie di <i>P. oceanica</i>	5003
R	E	Sabbie fini e grossolane influenzate da correnti di fondo (SGCF)	III.3.2 Sabbie grossolane a corrente fondo	2207
R	I	Sabbie grossolane	III.3 Sabbie grossolane +/- infangate	1123
R	E	Sabbie fini ben calibrate (SFBC)	III.2.2 Sabbie fini ben calibrate	963
P	E	Emifotofile delle superfici in roccia infralitorale (RIHC)	III.6.1.19 Associazione a <i>Cystoseira spinosa</i>	852
R	I	Sabbie bioclastiche circa litorali, detritico costiero (DC)	IV.2.2 Detritico costiero	634
P	E	Superfici in roccia infralitorale superiori in moda battuta (RIPB)	III.6.1.2 Associazione a <i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>stricta</i>	474
R	B	Fotofile delle superfici in roccia infralitorale superiori in moda calma (RIPC)	III.6.1.16 Associazione a <i>Cystoseira crinita</i>	428
OH	E	Matte morte a <i>Posidonia oceanica</i>	III.5.1.3 Facies a rizomi morti di <i>P. oceanica</i>	195
P	E	Insiemi di Biocenosi fotofile infralitorali di substrato duro	III.6.1 Biocenosi delle alghe infralitorali (fondi duri)	152
P	E	Rodofeece incrostanti e ricci (RCEO)	III.6.1.1 Facies di pascolo ricci e rodofeece incrostanti	54
R	E	<i>Caulerpa prolifera</i> su matte a <i>Posidonia</i>	III.5.1.4 Associazione a <i>Caulerpa prolifera</i>	53
R	B	Fotofile delle superfici in roccia infralitorale superiori in moda calma (RIPC)	III.6.1.23 Associazione a <i>Stypocaulon scoparium</i>	52
P	E	Substrati mobili circolitorali a grandi feofeece	IV.2.2.X-Facies a <i>Phyllaripsis brevipes</i>	49
OH	B	Sabbie limose di moda calma (SVMC)	III.2.3 Sabbie e fango superficiale riparato	48
R	E	Prateria mista a <i>Caulerpa</i> e <i>Cymodocea</i> (SVMC)	III.2.3.4 <i>Cymodocea</i> sabbia infangata sup. acque riparate	34
P	E	Sabbie bioclastiche circolitorali, facies a maerl e pralines (DC/m, DC/pral)	IV.2.2.2. Ass. a <i>L. corallioides</i> e <i>P. calcareum</i>	31
R	E	Rodofeece incrostanti delle rocce circolitorali, precoralligeno (pC)	IV.3.1. Coralligeno	27
R	E	Prateria a <i>Cymodocea nodosa</i>	III.2.3.4. <i>C. nodosa</i> su sabbia infangata sup. acque calme	17
P	E	Coralligeno	IV.3.1.7 Associazione a <i>L. frondosum</i> e <i>H. tuna</i>	15
OH	E	Prateria a <i>Caulerpa prolifera</i> su sabbia e ciottoli	III.2.3.6 <i>Caulerpa prolifera</i>	7
P	E	Coralligeno	IV.3.1.11 Facies a <i>E. singularis</i>	2

\*P=habitat prioritario; R= habitat rimarchevole; OH=altri habitat. E=alta; I=intermedia; B=bassa

\*P=priority habitat; R=remarkable habitat; OH=other habitat. E=high; I=intermediate; B=low

## Bibliografia

- COSSU A., CHESSA L.A., GAZALE V., RAGAZZOLA F. (2009) - On the circolittoral benthic communities in the Asinara marine park. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (1): 256-257.
- COSSU A., GAZALE V., BAROLI M. (1992a) - La flora algale della Sardegna. Inventario delle alghe bentoniche. *Gior. Bot. Ital.*, **126** (5): 651-707.
- COSSU A., GAZALE V., MONNI A. (1992b) - Primo contributo allo studio del fitobenthos dell'Isola Asinara. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **25** (339): 179-194.
- PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau manuel de Bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Recueil des Travaux de la Station Marine d'Endoume*, **47** (31): 3-137.
- RELINI G., GIACCONE G. (2009) - Gli habitat prioritari del protocollo SPA/BIO (Convenzione di Barcellona) presenti in Italia. Schede descrittive per l'identificazione. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (Suppl. 1): 1-372.
- ULZEGA A., COSTA C., CUOMO M., DE MURO S., LOI L., ORRU P., PANIZZA V., PORCU G.P., SANNA C. (1986) - Linee di riva sommerse nel golfo dell'Asinara (Sardegna settentrionale). *Rend. Sem. Fac. Sc. Univ. Cagliari*, **56** (1): 91-106.

Progetto finanziato dal MATTM - CoNISMa.

R. DI DONATO, F. DI STEFANO, G.F. RUSSO

Dipartimento di Scienze per l'Ambiente (DiSAmb), Università di Napoli Parthenope,  
Centro Direzionale, Isola C4 - 80143 Napoli, Italia.  
giovanni.russo@uniparthenope.it

## DISTRIBUZIONE SPAZIALE DEGLI HABITAT E DELL'USO DEL TERRITORIO NELL'AMP DI CAPO RIZZUTO: VALUTAZIONE DELLA MIGLIORE ZONAZIONE

### *SPATIAL DISTRIBUTION OF HABITATS AND SEA USES IN THE AMP OF CAPO RIZZUTO: EVALUATION OF BEST ZONING*

**Abstract** - Present zoning of Capo Rizzuto MPA (Ionian Sea) has been evaluated by using spatial data of habitats and of human activities and by implementing Marxan software. The zoning doesn't protect adequately coastal and benthic biodiversity, therefore a new effective and efficient schema has been proposed, that determines a minimal impact on human activities.

**Key-words:** marine reserves, mapping, habitats, GIS, maritime spatial planning.

**Introduzione** - La cartografia tematica riveste un ruolo importante per la pianificazione e la gestione di aree marine protette (AMP), ma i dati spaziali disponibili sulle caratteristiche e sugli usi del territorio marino sono per lo più esigui ed estremamente eterogenei. La disponibilità di dati cartografici rappresenta, difatti, un presupposto indispensabile per l'applicazione di metodologie finalizzate all'individuazione di siti da tutelare e per la definizione di appropriate misure di conservazione (Chemello e Russo, 2001; Villa *et al.*, 2002; Frascchetti *et al.*, 2009). La finalità di questo lavoro è stata quella di valutare l'adeguatezza dello schema di zonazione dell'AMP di Capo Rizzuto, in relazione alla distribuzione spaziale degli habitat e degli usi del territorio marino, secondo un approccio sistematico e quantitativo (Margules e Pressey, 2000).

**Materiali e metodi** - L'Area Marina Protetta di Capo Rizzuto (Crotone) è stata oggetto di un'approfondita indagine di carattere naturalistico e socio-economico nell'ambito di un progetto affidato al Consorzio Nazionale Interuniversitario per le Scienze del Mare (CoNISMa) dal Ministero dell'Ambiente. I dati raccolti sono stati archiviati e cartografati (scala 1:10000) in ambiente GIS, per essere poi elaborati con l'applicativo Marxan (Ball *et al.*, 2009), un software solo di recente impiegato in Italia per la pianificazione e gestione di aree marine protette (Di Donato, 2008; Frascchetti *et al.*, 2009). Marxan implementa un efficiente algoritmo di ottimizzazione (*simulated annealing*) per selezionare quei siti che consentono di raggiungere gli obiettivi di conservazione al minor costo possibile (Klein *et al.*, 2008). L'area di studio è stata suddivisa in quadrati di 100 m di lato (unità di pianificazione). Sono stati quindi individuati gli habitat marini (popolamenti bentonici) e le tipologie costiere rilevanti per la conservazione (*conservation feature*) e per ciascuno di essi è stato definito un ammontare minimo da tutelare (*target*) (Tab. 1), in base sia alle raccomandazioni dell'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN), sia al valore di ciascun habitat in termini di beni e servizi ecosistemici, vulnerabilità e rarità. L'estensione delle caratteristiche di conservazione in ciascuna unità di pianificazione è stata calcolata con procedure automatizzate di analisi spaziale (*overlay*) (Di Donato, 2008). Il costo di ciascuna unità di pianificazione è stato stimato con tecniche d'analisi spaziale multicriterio (Malczewski, 1999), tenendo conto dell'impatto della conservazione sugli usi del territorio marino (balneazione, diportismo, pesca,

immersioni, visite guidate) e degli oneri di gestione e sorveglianza. I dati così processati sono stati inseriti nell'applicativo Marxan, eseguendo 100 volte l'algoritmo di *simulated annealing*. Il software ha restituito la mappa della "soluzione migliore" e la mappa della "soluzione sommata". La soluzione migliore comprende le unità di pianificazione che consentono di raggiungere il livello minimo di rappresentazione delle caratteristiche di conservazione al minor costo possibile. La soluzione sommata, invece, riporta la frequenza di selezione delle unità di pianificazione nell'ambito di tutte le esecuzioni, rappresentativa dell'importanza (priorità) che ciascuna di esse riveste per il raggiungimento degli obiettivi di conservazione (Stewart e Possingham, 2005).

Tab. 1 - Caratteristiche e target di conservazione.

*Conservation features and targets.*

Habitat	Estensione	Target (%)
Alghe Fotofile (AP)	2441 ha	20
Coralligeno (C)	808 ha	40
<i>Cymodocea nodosa</i> (HCn)	136 ha	30
Detritico Infangato (DE)	4851 ha	20
Fanghi Terrigeni Costieri (VTC)	22 ha	20
<i>Posidonia oceanica</i> su matte (HP su matte)	32 ha	40
<i>Posidonia oceanica</i> su sabbia (HP su sabbia)	248 ha	40
Sabbie Fini Ben Calibrate (SFBC)	647 ha	20
Sabbie grossolane e Ghiaie fini soggette a Correnti di Fondo (SGCF)	1780 ha	30
Roccia alta	27,2 km	10
Roccia bassa	1,2 km	20

**Risultati** - L'estensione dell'AMP di Capo Rizzuto è di circa 15000 ha, di cui più della metà (61%) ricade in Zona B ed appena il 5% in Zona A (Fig. 1). L'attuale Zona A garantisce la tutela di 8/11 caratteristiche di conservazione (Fig. 2), delle quali solo 1 è presente con un'estensione pari o superiore al target prestabilito (roccia alta). Gli habitat prioritari per conservazione sono o del tutto assenti (HP su matte) o tutelati con una percentuale inferiore ai target prestabiliti (C, HP su sabbia). Le attività antropiche si svolgono prevalentemente in Zona B ed il tratto di mare maggiormente frequentato per scopi multipli è quello compreso tra Capo Rizzuto e Le Castella. Da risultati forniti da Marxan emerge che le 3 attuali Zone A comprendono per lo più unità di pianificazione selezionate con una frequenza elevata. S'individuano, tuttavia, altri siti meritevoli di protezione con un minimo sugli usi del territorio marino: tra Capo Colonna e Capo Cimiti, dove sono presenti habitat di fondo molle (SFBC, SGCF) e posidonia su sabbia (HP su sabbia), a sud-ovest di Capo Cimiti dove si trova un'estesa prateria di *Cymodocea* (HCn), ed a est di Le Castella in corrispondenza di zone di scarso interesse antropico (Fig. 1). In uno schema di zonazione più efficiente i limiti delle 3 Zone A potrebbero essere ampliati (Fig. 1), fino a coprire il 10% dell'estensione totale dell'AMP. Queste

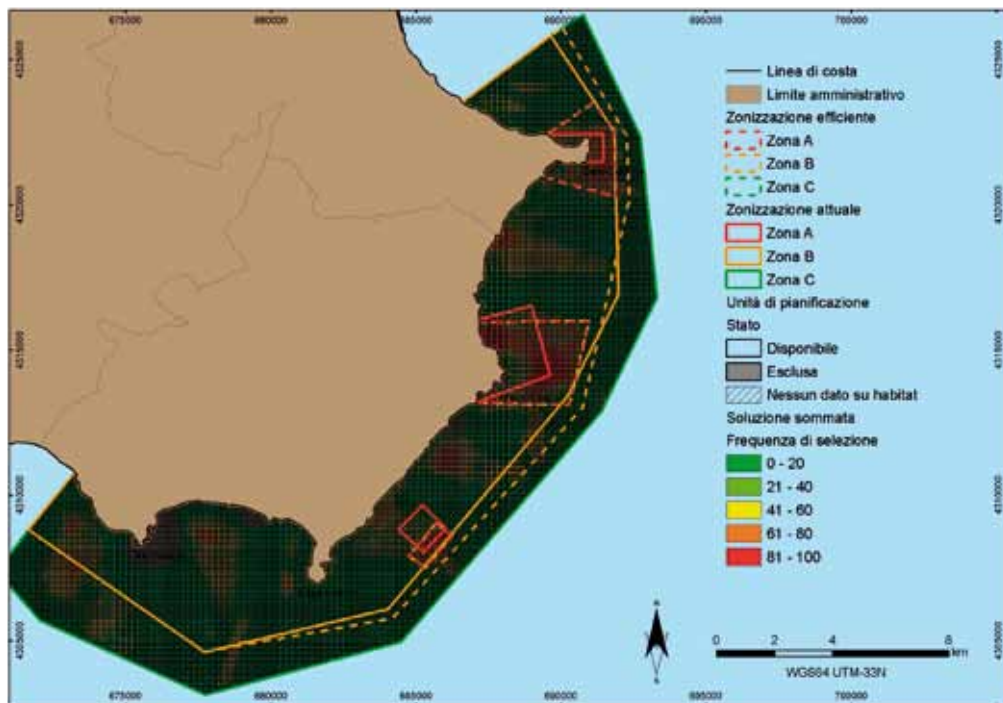


Fig. 1 - Siti prioritari per una zonizzazione efficiente.  
*Priority sites for an efficient zoning.*

nuove zone assicurerebbero la tutela di un numero maggiore di caratteristiche di conservazione (10/11 vs 8/11), incluse le praterie di posidonia su matte (HP su matte) (Fig. 2). Tali caratteristiche, pur non raggiungendo i target prefissati, sarebbero presenti con un'estensione superiore a quella attuale, mentre gli habitat prioritari per la conservazione (C e HP) raggiungerebbero un'estensione di circa il 20%. Riguardo agli aspetti antropici, la zonizzazione proposta determinerebbe un impatto moderato sul diportismo e lieve sulla balneazione e sulla subacquea, per l'inclusione in Zona A di alcuni siti di ormeggio, balneazione ed immersione intorno a Capo Colonna.

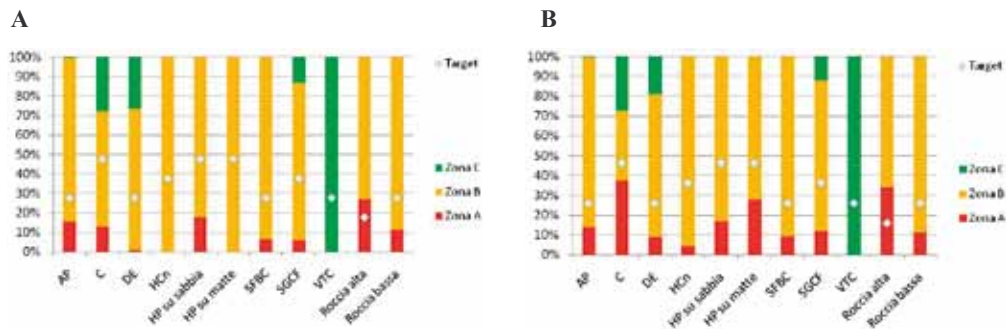


Fig. 2 - Estensione degli habitat in relazione alla zonizzazione attuale (A) e proposta (B).  
*Habitat amount versus current (A) and proposed (B) zoning.*

**Conclusioni** - La cartografia degli aspetti naturalistici ed antropici dell'ambiente marino rappresenta un elemento imprescindibile per una pianificazione e gestione efficace ed efficiente. L'analisi della distribuzione spaziale degli habitat e degli usi del territorio in rapporto alle misure di conservazione, infatti, ha evidenziato come l'attuale schema di zonazione dell'AMP di Capo Rizzuto risulti inefficace nel tutelare interamente ed adeguatamente la biodiversità marina, in conformità a quanto accade anche in altre AMP italiane (Fraschetti *et al.*, 2005; Di Donato, 2008). In questo studio gli habitat bentonici e le tipologie costiere sono stati considerati rappresentativi della biodiversità dell'intera AMP, ma la disponibilità di dati spaziali su ulteriori fattori biotici e abiotici (ad es. distribuzione di specie, processi ecosistemici, parametri chimico-fisici della colonna d'acqua) consentirebbe un'analisi ancora più accurata ed anche una migliore stima dell'ammontare minimo da tutelare per ciascuna caratteristica di conservazione.

### Bibliografia

- BALL I.R., POSSINGHAM H.P., WATTS M. (2009) - Marxan and relatives: Software for spatial conservation prioritisation. In: Moilanen A., Wilson K.A., Possingham H.P. (eds), *Spatial conservation prioritisation: Quantitative methods and computational tools*. Oxford University Press, Oxford, UK: 185-195.
- CHEMELLO R., RUSSO G.F. (2001) - *MaREP - Marine Reserve Evaluation Procedures. Una metodica per la valutazione della qualità ambientale nelle aree marine protette*. Edizioni Valtrend, Napoli: 46 pp.
- DI DONATO R. (2008) - *Sviluppo di basi di dati GIS e procedure d'analisi multicriterio per la pianificazione e la gestione di aree marine protette*. Tesi di dottorato in Scienze e Ingegneria del Mare, Università degli Studi di Napoli Federico II: 167 pp.
- FRASCHETTI S., D'AMBROSIO P., MICHELI F., PIZZOLANTE F., BUSSOTTI S., TERLIZZI A. (2009) - Planning Marine Protected Areas in a human-dominated seascape. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **375**: 13-24.
- FRASCHETTI S., TERLIZZI A., BUSSOTTI S., GUARNIREI G., D'AMBROSIO P., BOERO F. (2005) - Conservation of Mediterranean seascapes: analyses of existing protection schemes. *Mar. Environ. Res.*, **59**: 309-332.
- KLEIN C.J., CHAN A., KIRCHER L., CUNDIFF A.J., GARDNER N., HROVAT Y., SCHOLZ A., KENDALL B.E., AIRAMÉ S. (2008) - Striking a Balance between Biodiversity Conservation and Socioeconomic Viability in the Design of Marine Protected Areas. *Conserv. Biol.*, **22**: 691-700.
- MALCZEWSKI J. (1999) - *GIS and Multicriteria Decision Analysis*. John Wiley & Sons, New York: 392 pp.
- MARGULES C.R., PRESSEY R.L. (2000) - Systematic conservation planning. *Nature*, **405**: 243-253.
- STEWART R.R., POSSINGHAM H.P. (2005) - Efficiency, costs and trade-offs in marine reserve system design. *Environ. Model. Assess.*, **10** (3): 203-213.
- VILLA F., TUNESI L., AGARDY T. (2002) - Zoning marine protected areas through spatial multiple-criteria analysis: The case of the Asinara Island National Marine Reserve of Italy. *Conserv. Biol.*, **16** (2): 515-526.

F. DI STEFANO, A. DE VITA\*, G. SENSALÉ, L. APPOLLONI, A. PAGLIARANI, M. RENZI,  
R. SANDULLI, L. SBRESCIA, G.F. RUSSO

Dipartimento di Scienze per l'Ambiente (DiSAM), Università di Napoli Parthenope,  
Centro Direzionale, Isola C4 – 80143 Napoli, Italia.  
floriana.distefano@uniparthenope.it

\*Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano (PNCVD), Italia.

## CARTOGRAFIA TEMATICA PER LA GESTIONE SOSTENIBILE DELLA NAUTICA DA DIPORTO NELL'AMP DI COSTA INFRESCHI E MASSETA

### *THEMATIC CARTOGRAPHY FOR THE SUSTAINABLE MANAGEMENT OF RECREATIONAL BOATING IN THE MPA OF THE COSTA INFRESCHI AND MASSETA*

**Abstract** - *The management of anchoring and mooring in a MPA requires special attention to ensure both the purposes of conservation and of tourist use. Cartographic tools have been used to address underwater surveys, to represent human activities and to define anchoring and mooring areas in the MPA of 'Costa degli Infreschi e della Masseta', with the aim to reduce conflicts.*

**Key-words:** *coastal zone management, marine reserves, GIS, recreational boating.*

**Introduzione** - L'Italia, per la sua particolare conformazione costiera, cultura e tradizioni, ha una forte vocazione al turismo nautico, che rappresenta un settore in continua espansione e trainante per l'intera economia del paese, nonostante la recente crisi economica mondiale (UNICA, 2010). Proprio perché la nautica costituisce un'importante fonte di reddito per le popolazioni della costa è opportuno regolamentarla per evitarne uno sviluppo incontrollato, che potrebbe provocare impatti di diverso tipo sull'ambiente marino costiero, non ultimo il disturbo alle comunità biologiche per l'azione degli ancoraggi (Cattaneo Vietti e Tunesi, 2007). La gestione delle attività diportistiche rappresenta, quindi, uno dei punti cruciali nel regolamento di un'Area Marina Protetta e nelle due AMP del Cilento è stato sviluppato un progetto, cofinanziato dall'ente gestore (PNCVD), atto a definire nelle zone B e C le aree idonee per la messa in opera di campi boe per l'ormeggio o fondali idonei per l'ancoraggio e i relativi disciplinari. Nel presente lavoro viene illustrata la metodologia adottata per la produzione di carte tematiche dell'AMP di Costa degli Infreschi e della Masseta, rinviando a Sbrescia *et al.* (2012) per ciò che riguarda l'AMP di Santa Maria di Castellabate.

**Materiali e metodi** - La prima fase di lavoro ha previsto un accurato reperimento dell'informazione in parte già prodotta in precedenti analisi del territorio costiero emerso e sommerso (Russo e Di Stefano, 2003; Russo *et al.*, 2008). Sulla base di tali informazioni, nel maggio 2011 sono stati effettuati survey preliminari che, per ottimizzare le attività di campo, hanno consentito di suddividere il territorio in 18 settori di costa ("unità ambientali" in Chemello e Russo, 2001), e di implementare, con l'ausilio del GIS, carte propedeutiche ai rilevamenti in situ. Durante la seconda fase, svolta tra giugno e settembre 2011, l'area di studio è stata indagata attraverso 61 transetti costa-largo di "rilevamento visivo" e 33 transetti "batimetrici" integrativi, al fine di integrare le informazioni preesistenti sugli aspetti caratteristici del paesaggio subacqueo, nonché la tipologia e la distribuzione su grande scala dei popolamenti bentonici. I transetti sono stati svolti dalla linea di costa verso il largo, hanno avuto lunghezza variabile, dipendente dalla profondità (5-30 m) e dalla morfologia costiera (cala, falesia, spiaggia), e distanza inter-transetto variabile (50 m per le cale e 100/150



m per i tratti prospicienti le spiagge). Il rilevamento è stato eseguito impiegando coppie di operatori subacquei (uno munito di lavagnetta grafica e l'altro, con il compito di guida, provvisto di bussola e boa galleggiante di segnalazione); ed una barca d'appoggio con 2 operatori a bordo (uno responsabile della navigazione e l'altro addetto al posizionamento georeferenziato del galleggiante di segnalazione). Per evitare il conflitto tra il posizionamento delle aree di ormeggio (campi boe) e le altre attività presenti nell'area di studio (AA.VV., 2007), nello stesso periodo sono state effettuate indagini sull'uso del territorio marino, attraverso interviste agli operatori interessati (*diving*, noleggi, visite guidate, ecc.). Integrando l'informazione ottenuta dai transetti visivi con quella sull'uso del territorio marino, sono state poi cartograficamente individuate le aree idonee per la messa in opera dei campi boe. In una terza fase, su tali aree è stata sovrapposta una griglia di punti distanziati tra loro di 60 m, lunghezza che definisce il cosiddetto “raggio libero” dell'ormeggio e che, oltre ad assicurare la privacy degli utenti e la sostenibilità paesaggistica ed ambientale, deve garantire all'imbarcazione di muoversi liberamente “alla ruota”, anche con velocità angolare diversa dalla barca vicina. In tali punti è stato ispezionato il fondale per raccogliere ulteriori informazioni ambientali utili per stabilire le tipologie di ancoraggio delle boe. I dati di raccolti nelle diverse fasi sono stati tutti archiviati in una base dati GIS, implementata con ArcGIS 9, in cui le informazioni sono state organizzate e georeferenziate nel sistema cartografico WGS84-UTM, al fine di elaborare carte tematiche di dettaglio, a supporto delle attività del progetto e di pianificazione e gestione dell'AMP (Russo *et al.*, 2010).

**Risultati** - Per individuare gli specchi d'acqua idonei all'ormeggio e all'ancoraggio sono state realizzate in totale 95 carte tematiche a scala variabile in base all'eterogeneità del territorio: 17 carte batimetriche (1:1000 – 1:5000), 16 carte bionomiche (1:1000 – 1:3500), 20 carte sull'uso del territorio marino (1:1000 – 1:6000), 8 carte delle zone di ancoraggio (1:2000 – 1:4000) e 14 carte delle zone di ormeggio (1:5000 – 1:6000). Infine, per non creare conflitto tra le zone di ormeggio e gli altri usi del territorio marino, sono state realizzate 20 “carte di fruibilità” (1:1000 – 1:6000) che propongono una sintesi ottimale dei vari tipi di utilizzo del sito. Le aree di ancoraggio individuate nell'AMP sono 10 in totale. Sono state definite sia in funzione della facilità di controllo, sia per le loro caratteristiche nautiche (tipo di fondale e sua capacità di tenuta, profondità non eccessiva, ridotto da venti dominanti). Sono posizionate in zona B e C e sono accessibili a “natanti” fino a 7 metri l.f.t., situate a breve distanza dalla costa e ad una profondità inferiore ai 5-10 m. Le biocenosi presenti sono: Alghe Fotofile (AP), Sabbie Fini Ben Calibrate (SFBC), praterie di *Posidonia oceanica* con copertura inferiore al 20% (HHP). Dove possibile, le zone, sono state individuate con un poligono a quattro vertici, sui quali si potrà posizionare un gavitello di segnalamento. In tratti di costa lunghi e relativamente stretti, le zone potranno essere segnalate con gavitelli distanziati, consentendo l'ancoraggio all'interno della loro linea di traguardo. In totale, sono stati individuati 58 punti-boe, distribuiti in 14 aree di ormeggio, localizzate in zone particolarmente frequentate dal diportismo, sia per il loro valore paesaggistico e naturalistico sia perché offrono riparo dai locali venti regnanti e dominanti. Inoltre, si tratta di aree in cui i sistemi sommersi permanenti delle boe non interferiscono con la pesca costiera locale, costituendo “afferrature” per gli attrezzi. In queste aree, il fondale va da un massimo di 26 m ad un minimo di 4 m, con una media di 14,5 m; è poco inclinato, generalmente con copertura di *P. oceanica* superiore al 40%, impiantata su SFBC, e distante dal ciglio di scarpate, il che esclude eventuali problemi di instabilità dei fissaggi delle boe di ormeggio. Il posizionamento dei gavitelli di delimitazione delle aree di ancoraggio e di ormeggio rivoluzioneranno in parte l'attuale utilizzo delle cale e dei tratti di costa (riportato



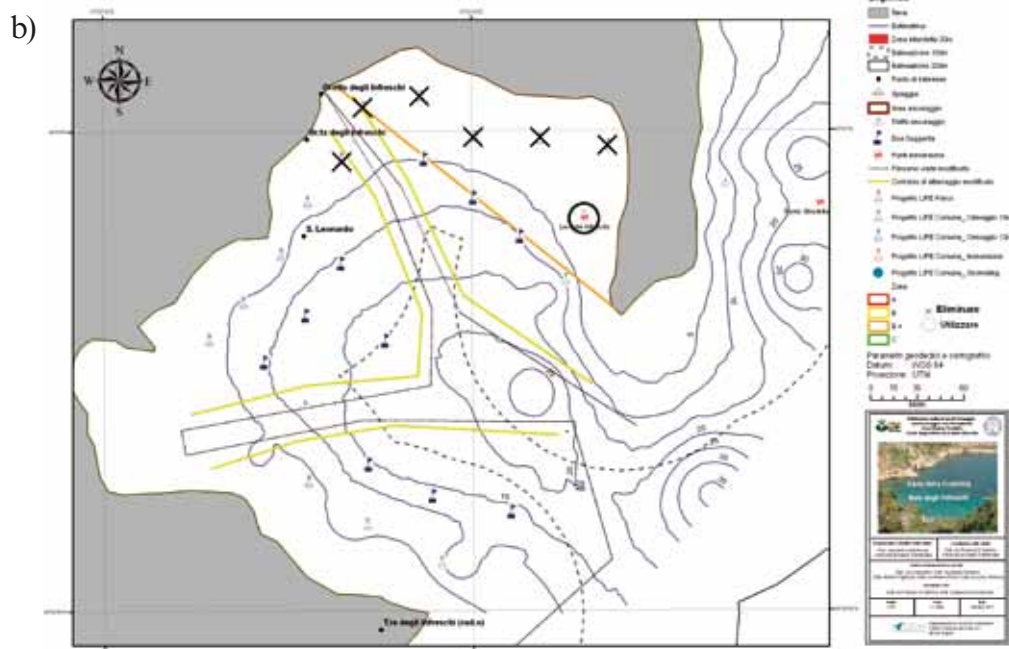
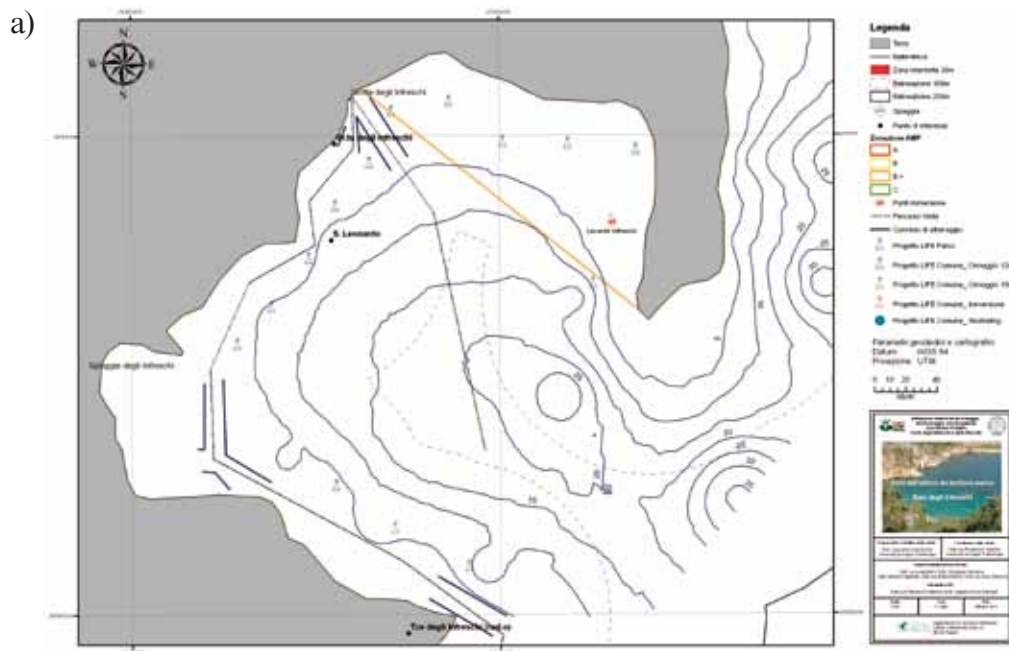


Fig. 1 - Baia degli Infreschi: a) Carta dell'utilizzo del territorio marino; b) Carta Fruibilità futura.  
Baia degli Infreschi: a) Map of present sea use; b) Map of future usability.

nelle “carte di utilizzo”), soprattutto da parte degli operatori delle visite guidate e dei *diving* e per questo motivo sono state realizzate “carte di fruibilità” futura. Come esempio si riporta il settore di costa più complesso, denominato Baia degli Infreschi, fulcro dell'AMP, porto naturale ben riparato e frequentatissimo, che ricade in zona B, con una parte B+ per la presenza di un “campo di nacchere” (*Pinna nobilis*) particolarmente denso. Oltre alle sue peculiarità naturalistiche, è anche sito di molteplici attività socio-economiche, che comprendono: una spiaggia con pontile mobile e zona balneare, un punto di ristoro galleggiante, 15 boe di ormeggio, visite guidate alla Grotta (semisommersa) degli Infreschi, due siti di immersione. Dato l'elevato interesse economico-turistico dell'area e l'errato posizionamento in zona B+ di alcune boe di ormeggio, il progetto ha previsto una riorganizzazione degli spazi per mitigare le conflittualità d'uso della Baia, come si può osservare dal confronto tra la “carta di utilizzo” (Fig. 1a) e la “carta di fruibilità” (Fig. 1b) del territorio marino. In sintesi la proposta prevede: la modifica della rotta delle unità navali che accedono alla baia, individuando nella sua parte centrale un “corridoio di atterraggio” a forma di “V”, a doppio senso, per raggiungere da un lato il pontile della spiaggia, dov'è presente il punto di ristoro galleggiante e, dall'altro, la Grotta degli Infreschi; alle preesistenti, sono state aggiunte 10 boe di ormeggio e ne sono state eliminate 5 (boe con x, in Fig. 1b), installate in zona B+, ed una antistante la Grotta degli Infreschi; infine, una delle boe preesistenti (boa con cerchio, in Fig. 1b) è stata riutilizzata dedicandola ai *diving* come punto immersione.

**Conclusioni** - In conclusione, la metodologia adottata per la produzione di carte tematiche dell'AMP di Costa degli Infreschi e della Masseta, ha consentito di integrare in maniera sintetica e speditiva l'informazione sull'ambiente marino costiero con quella relativa alla sua fruizione. Ne è risultata una proposta che, oltre a mitigare l'impatto sull'ambiente delle attività antropiche, attenua i conflitti tra i portatori d'interesse. Inoltre, le 95 cartografie tematiche prodotte costituiscono un utile strumento di lavoro per i tavoli tecnici tra le autorità competenti, gli amministratori locali e gli operatori economici interessati.

## Bibliografia

- AA.VV. (2007) - *Tavolo tecnico per la nautica sostenibile presso il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare*. Roma.
- CATTANEO VIETTI R., TUNESI L. (2007) - *Le aree marine protette in Italia, problemi e prospettive*. Aracne editrice, Roma: 249 pp.
- CHEMELLO R., RUSSO G.F. (2001) - *MaREP - Marine Reserve Evaluation Procedures .Una metodica per la valutazione della qualità ambientale nelle aree marine protette*. Ed. Valtrend, Napoli: 46 pp.
- RUSSO G.F., DI DONATO R., DI STEFANO F. (2008) - Gli Habitat sottomarini delle coste della Campania. *Biologi Italiani, Ecodinamica*, **6**: 36-40.
- RUSSO G.F., DI STEFANO F. (2003) - Gli studi di fattibilità per l'istituzione di aree marine protette: esperienze in Campania. In: Carrada G.C., Coiro P., Russo G.F. (eds), *Le aree marine protette del Mediterraneo*. Electa, Napoli: 83-88.
- RUSSO G.F., DI STEFANO F., ONORI L., NATALE M.G. (2010) - La Costa del Cilento: analisi multicriteri per un modello di gestione. *Quaderni ISPRA-Ambiente e Società*, **2**: 103 pp.
- SBRESCIA L., DE VITA A., DI STEFANO F., SENSALÉ G., GIORDANO G., SANDULLI R. (2012) - Cartografia tematica per la definizione di aree di ormeggio e di ancoraggio nell'AMP di Santa Maria di Castellabate. *Biol. Mar. Mediterr.*, **19** (1): 114-115.
- UNICA (2010) - *La Nautica in Cifre – Analisi del mercato per l'anno 2009*. Genova: 160 pp.

N. PATICCHIO, A. BELLUSCIO, A. CRISCOLI, G.D. ARDIZZONE

Dipartimento di Biologia Ambientale, Università di Roma "La Sapienza",  
Viale dell'Università, 32 – 00185 Roma, Italia.  
nicoletta.paticchio@uniroma1.it

## LA CARTOGRAFIA COME STRUMENTO DI ANALISI PER I PAESAGGI MARINI. LE PRATERIE DI *POSIDONIA OCEANICA*: UN CASO STUDIO

### *THE CARTOGRAPHY AS A TOOL FOR ANALYSIS OF MARINE SEASCAPES. THE POSIDONIA OCEANICA MEADOWS: A CASE STUDY*

**Abstract** - In this study the regression of a *Posidonia oceanica* meadow of central Tyrrhenian Sea is analyzed through a detailed study of actual and historic cartography. A seascape analysis was carried out on the current map to evaluate the habitat fragmentation. Moreover this approach enabled us to test the efficiency of a landscape study for the management of a coastal ecosystem.

**Key-words:** *Posidonia oceanica* meadows, seascape ecology, Central Tyrrhenian Sea.

**Introduzione** - *Posidonia oceanica* è considerata una specie chiave del Mediterraneo per gli equilibri ecologici e fisici che sostiene nel sistema litorale. La sua scomparsa o alterazione provoca effetti a catena su una grandissima varietà di organismi, apportando danni sia ecologici che economici all'ambiente costiero. Lungo i 350 chilometri di costa laziale sono presenti, in diverso stato di conservazione, 19 praterie di *Posidonia*, per un'estensione totale di circa 200 chilometri quadrati (Diviacco *et al.*, 2001). In considerazione degli evidenti fenomeni regressivi che interessano le praterie del Lazio, è in costante aumento la richiesta di misure di tutela e gestione efficaci e di rapida attuazione. In contesti di questo tipo si rivela di estrema importanza l'impiego di cartografie tematiche che rappresentino con appropriato dettaglio l'evoluzione storica e l'attuale stato delle praterie. A tal proposito, la combinazione di varie tecniche di acquisizione dei dati oggi disponibili (fotografie aeree e satellitari, indagini con sonar a scansione laterale, esplorazioni con telecamere filoguidate e immersioni subacquee), permette di esaminare aree molto estese in tempi relativamente brevi, e di produrre cartografie di elevato dettaglio. L'analisi di tali cartografie consente di descrivere le praterie in tutta la loro estensione, dal limite superiore fino ad oltre quello inferiore, determinandone lo stato di salute e le dinamiche del paesaggio sottomarino che la *Posidonia* forma. Per lo studio delle fanerogame marine si è, infatti, ormai diffusa l'applicazione dei principi della *seascape ecology* (Bostrom *et al.*, 2011), ovvero la trasposizione in mare dell'ecologia del paesaggio nata per lo studio delle specie e degli habitat terrestri. Tale disciplina descrive e quantifica, con adeguate metriche, l'eterogeneità dei paesaggi sommersi e la loro evoluzione. Scopo del presente lavoro è di descrivere dal punto di vista paesaggistico il caso di una prateria di *P. oceanica* del Lazio settentrionale soggetta ad importanti fenomeni di regressione, comunemente descritti con l'arretramento dei margini superiori ed inferiori, ma anche soggetta a fenomeni di frammentazione, meno evidenti attraverso una generica descrizione. L'applicazione delle metriche in uso nella *seascape ecology* risulta uno strumento importante per comprendere le dinamiche della regressione ed evidenziare come i disturbi naturali ed antropici agiscono nella modificazione dei paesaggi a praterie e quindi sulla gestione della zona costiera.

**Materiali e metodi** - La prateria in esame si trova nella parte più settentrionale della costa laziale, estendendosi dai confini con la Toscana per 9 km in direzione

Est, presso la foce del fiume Fiora. I sonogrammi ottenuti dall'indagine con SSS, successivamente validati mediante rilievi diretti con ROV e immersioni subacquee in 102 punti di controllo, sono stati georeferenziati ed elaborati in ambiente GIS. Alla cartografia ottenuta, tramite l'estensione "*Hawths Tools*" di ArcMap (Esri), è stata applicata una griglia di 500×500 m; in ogni singolo quadrato, con una risoluzione pari ad 1:1.000, sono state individuate e classificate le porzioni di paesaggio osservate, definendo come area minima cartografabile le *patch* di dimensione maggiore o uguale a 10 m<sup>2</sup> (area minima distinguibile a tale risoluzione). La tipologia di ogni *patch* è stata definita in base ai valori di copertura di *Posidonia* presente, arrivando ad una classificazione basata su 4 categorie: "prateria di *P. oceanica* su matte e/o sabbia" (PP, copertura della *Posidonia* pari al 100%), "prateria di *P. oceanica* su matte e matte morta" (PM, copertura dal 20% all'80%), "matte morta e *P. oceanica* a fasci isolati" (MP, copertura inferiore al 20%), "matte morta" (MM, copertura assente). Tale cartografia è stata confrontata con le carte storiche disponibili (Fusco, 1959; Diviacco, 2001 - dati rilevati negli anni 1989-94), opportunamente georeferenziate. La prima è stata utilizzata soprattutto per valutare l'evoluzione dei margini, mentre la seconda presenta scala di riferimento e sistemi di posizionamento analoghi al presente lavoro e pertanto è ritenuta valida anche per lo studio di eventuali cambiamenti nella morfologia della prateria. Successivamente, la cartografia di dettaglio più recente è servita da base per un'analisi del paesaggio tramite l'estensione "*Patch Analyst*" di ArcGis, suddividendo la prateria in 3 aree di uguale estensione, ognuna con al centro un tracciato ROV. Dalle immagini video le caratteristiche del paesaggio sono state misurate al variare della copertura della *Posidonia* tramite gli indici: *Number of Patch*, *Patchiness Index* (rapporto tra numero di *patch* e lunghezza del transetto, moltiplicato per 100) ed *Edge density* (somma di tutti i perimetri delle *patch* diviso per l'area totale della categoria analizzata).

**Risultati** - La prateria a nord della foce del Fiora si estende per 11,07 Km<sup>2</sup>, da 14 a 21 metri di profondità. La categoria "PP" occupa il 23% della superficie totale, "PM" il 54%, "MP" il 13% e infine "MM" l'8%. Dal confronto con le cartografie storiche (Fig. 1) si osserva una forte regressione della prateria, con una perdita complessiva di 8,75 km<sup>2</sup> dal 1959 al 1994 e di 4,6 km<sup>2</sup> dal 1994 al 2009, per un totale di 13,35 km<sup>2</sup> in quasi 50 anni. In questo arco temporale si registra anche un aumento della tipologia "Prateria di *P. oceanica* su matte e matte morta" con conseguente ulteriore diminuzione dei valori di copertura effettiva della pianta. Evidente l'arretramento del limite superiore sia in termini di profondità (da 13 m nel 1959, a 14 m nel 1994 e 14,5 m nel 2009) che di spostamento lineare da costa verso il largo (29 m tra il 1959 e il 1994 e ulteriori 19 m tra il 1994 e il 2009), ed un arretramento del limite inferiore (da circa 26 m nel 1959 a 21 m nel 1994 e 18 m nel 2009) con spostamenti lineari pari a 842 m tra il 1959 e il 1994 e ulteriori 238 m tra il 1994 e il 2009. Seppure i termini della regressione emergano in maniera drammatica già attraverso il confronto cartografico, con l'analisi del paesaggio si evidenzia la tendenza della prateria alla frammentazione. Analizzando in dettaglio la prateria per classi di copertura e *patch*, la categoria che presenta attualmente il maggior numero di *patch* è "PM" (39%), seguita da "MP" (35%), mentre le categorie "PP" e "MM" presentano un numero di *patches* molto più basso (13% e 12%). Esaminando i valori del *Patchiness index* e della *Edge density* per transetto, si osserva un aumento del numero di *patches* e del perimetro delle stesse andando da ovest verso est, soprattutto per le due categorie con valori di copertura più bassi (MP e PM). Tali andamenti indicano una diminuzione della superficie effettivamente coperta dalla *Posidonia* che, suddividendosi in *patch* più piccole e numerose, provoca un aumento della fragilità della prateria e maggiori possibilità di ulteriore erosione.

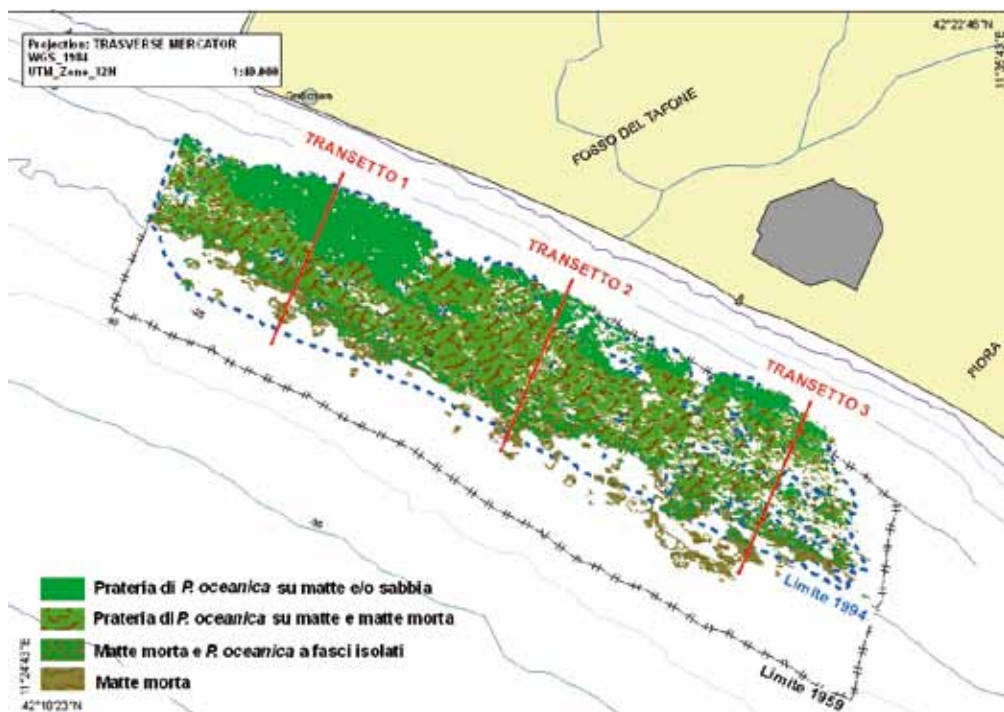


Fig. 1 - Stato attuale ed evoluzione temporale della prateria in esame e i 3 transetti video utilizzati per l'analisi del paesaggio. Riduzione da scala originale 1:40.000.

*Actual status and temporal evolution of the studied meadow and the 3 video transects used for the seascape analysis. Reduced from original scale 1:40,000.*

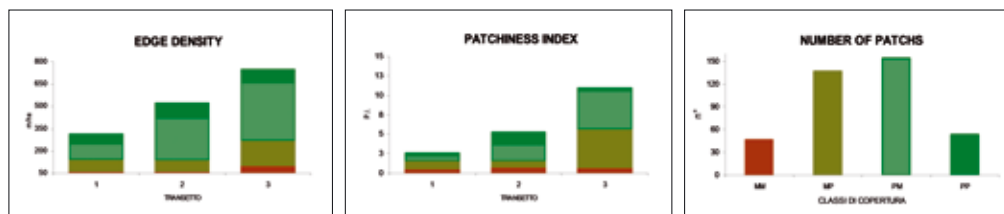


Fig. 2 - I risultati dell'analisi del paesaggio.

*Results of the seascape analysis.*

**Conclusioni** - Il presente studio, che si inserisce in un più ampio recente lavoro di cartografia delle praterie di Posidonia delle coste laziali, descrive lo stato attuale della prateria più settentrionale. Questa carta, confrontata con una serie storica di dati disponibile per la stessa zona, evidenzia un forte trend regressivo nel tempo (in particolare del limite inferiore) a partire dal 1959, con una generale diminuzione della copertura di Posidonia e conseguente aumento della *matte* morta. Sebbene il confronto tra cartografie storiche possa talvolta portare ad un'errata valutazione dei fenomeni regressivi, sia per la differenza di scala che per la minore precisione nel



posizionamento delle carte più antiche, le cartografie utilizzate nel presente studio sono state reputate valide per lo scopo prefissato. La velocità di regressione è stata maggiore nel periodo tra il 1959 il 1994 rispetto al periodo tra il 1994 e il 2009 (24 m/anno e 21 m/anno rispettivamente). Le metriche della *seascape ecology* indicano un'elevata frammentazione dell'habitat in atto soprattutto nella zona orientale della prateria, a carico delle aree di prateria in condizioni di mosaico tra *Posidonia* e *matte* morta (MP). Questo andamento lascia presupporre come il disturbo alla prateria di maggiore intensità provenga sia dal largo (pesca a strascico illegale, con la sua azione diretta ma anche con il rimescolamento della frazione fine del sedimento sui fondali) sia dai continui apporti di sedimenti fini (e conseguente torbidità dell'acqua) provenienti dai fiumi posti in prossimità della prateria (Fiora, Tafone), a monte della corrente prevalente in zona, ipotesi già indicata relativamente alla situazione del 1994 da Diviacco *et al.* (2001). Tale tipologia di disturbo persiste negli anni (come le foto aeree dimostrano), causando la continua frammentazione della prateria. Una forte regressione a carico del margine inferiore di una prateria di *Posidonia* con analoghe modalità nella velocità era già stata segnalata nel Lazio meridionale, con una perdita del 60% di prateria in 45 anni (Ardizzone *et al.*, 2006), a testimoniare un fenomeno ormai generalizzato lungo la costa continentale laziale. La frammentazione provoca effetti a catena non solo sull'ecosistema marino, ma anche nella protezione del litorale. Uno studio di questi habitat, quantificando le proprietà geometriche della superficie cartografata, permette di evidenziare la relazione tra pattern spaziali e processi ecologici (Gustafon, 1998). Per tale motivo recentemente anche nei programmi di monitoraggio viene indicata la necessità di inserire nei rapporti i trend di frammentazione dei paesaggi a fanerogame (Sleeman *et al.*, 2005).

### Bibliografia

- ARDIZZONE G.D., BELLUSCIO A., MAIORANO L. (2006) - Long-term change in the structure of a *Posidonia oceanica* landscape and its reference for a monitoring plan. *Mar. Ecol.*, **27**: 299-309.
- BOSTRÖM C., PITTMAN S.J., SIMENSTAND C., KNEIB R.T. (2011) - Seascape ecology of coastal biogenic habitats: advances, gaps, and challenges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **427**: 191-217.
- DIVIACCO G., SPADA E., VIRNO LAMBERTI C. (2001) - Le Fanerogame marine del Lazio. Descrizione e cartografia delle praterie di *Posidonia oceanica* e dei prati di *Cymodocea nodosa*. *Quaderno ICRAM*: 113 pp.
- FUSCO N. (1959) - Carta da Pesca n. 1. Dal promontorio dell'Argentario a Fiumicino. Ministero Marina Mercantile. Direzione Generale Pesca Marittima. Roma.
- GUSTAFON E.J. (1998) - Quantifying landscape spatial pattern: What is state of the art? *Ecosystems*, **1**:143-156.
- SLEEMAN J.D., KENDRICK G.A., BOGGS G.S., HEGGE J.J. (2005) - Measuring fragmentation of seagrass landscapes: which indices are most appropriate for detecting change? *Mar. Freshwater Res.*, **56**: 851-864.



A. PERDICHIZZI, A. PROFETA, F. FIORENTINO\*, T. BOTTARI, P. RINELLI

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero IAMC – CNR,  
Spianata S. Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.  
anna.perdichizzi@iamc.cnr.it

\*IAMC-CNR, Via Luigi Vaccara, 61 - Mazara del Vallo (TP), Italia.

## UTILIZZO DEL GIS PER LA RAPPRESENTAZIONE DI AREE DI NURSERY DEI GAMBERI PROFONDI *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA* E *ARISTEUS ANTENNATUS*

### USE OF GIS FOR REPRESENTATION OF NURSERY AREAS OF DEEP SHRIMPS *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA* AND *ARISTEUS ANTENNATUS*

**Abstract** - *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) and *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (*Aristaeidae*, *Decapoda*) are among the most important demersal resources of the Tyrrhenian Sea. Since recent studies have shown a reduction in the abundance of shrimp stocks along the Tyrrhenian coast of Sicily, it was considered appropriate to improve knowledge of these stocks and give advice for fishing management. In this study Geographic Information System (GIS) was utilized to examine trends in nursery area over a sixteen year period and associate these areas with important physical habitat features. Results indicate that nursery areas are found mainly on slopes off the bays or close to promontories.

**Key-words:** cartography, demersal fisheries, nursery, southern Tyrrhenian Sea.

**Introduzione** - I crostacei decapodi aristeidi delle specie *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (gambero rosso) e *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (gambero viola) costituiscono le più pregiate risorse della pesca demersale profonda nel Tirreno siciliano. Recenti studi (Giordano *et al.*, 2006) hanno mostrato una riduzione delle abbondanze degli stock di gamberi profondi lungo le coste tirreniche siciliane. Questi risultati, uniti alle conoscenze sulla biologia delle specie ed alla situazione di crisi della pesca, costituiscono un forte stimolo ad una analisi approfondita delle informazioni e dei dati disponibili sugli stock di *Aristaeomorpha foliacea* e *Aristeus antennatus*. Lo scopo del presente lavoro è quello di utilizzare il Geographic Information System al fine di rappresentare le aree di nursery dei due gamberi profondi e associarle con caratteristiche fisiche dell'ambiente.

**Materiali e metodi** - I dati provengono da trawl surveys effettuati nell'ambito dei programmi di ricerca nazionali ed internazionali GRUND (Relini, 2000) e MEDITS (Bertrand *et al.*, 2002) dal 1994 al 2010. L'identificazione della frazione giovanile (reclute) è stata realizzata adottando la procedura standardizzata proposta da Fiorentino *et al.* (2003). I valori di cut-off ottenuti nei singoli anni sono stati mediati al fine di ottenere un unico valore per specie. Per ogni cala è stato stimato l'Indice di Densità delle Reclute (IDR) dato dal numero delle reclute per unità di superficie ( $R/km^2$ ). Gli indici di densità sono stati sistemati in ordine decrescente ed è stata calcolata la frequenza cumulativa di distribuzione. Il valore di  $R/Km^2$  corrispondente al 75% della densità cumulata è stato scelto come valore soglia per identificare le cale con maggiore concentrazione di reclute nell'anno analizzato. Sono state ricavate delle rappresentazioni cartografiche mediante l'utilizzo di un software GIS (ArcGIS Desktop 9.3, della ESRI) nelle quali vengono messe in evidenza le aree di nursery. Per valutare la stabilità temporale dei modelli spaziali osservati è stato calcolato l'Indice di Persistenza (IP) sovrapponendo le mappe dell'intera serie storica e contando quante volte un'area viene classificata come area di nursery. Il valore così

ottenuto, diviso per il numero di anni che compongono la serie storica, costituisce l'IP, che può assumere valori che variano da 0 ad 1, dove 1 indica "Area di Nursery stabile" e 0 "Assenza di Nursery" (Garofalo *et al.*, 2010).

**Risultati** - La taglia di cut-off media usata per definire le reclute è di 33 mm LC per il gambero rosso e 30 mm LC per il gambero viola. Le aree di nursery del gambero rosso, durante le campagne MEDITS, si collocano soprattutto nel Golfo di Sant'Eufemia, lungo le coste calabresi, a profondità comprese tra 508 e 634 metri; questo risultato è confermato dall'elevato valore dell'Indice di Persistenza osservato nel golfo. Nelle campagne GRUND non si osserva una così netta collocazione e le aree di nursery sono presenti lungo tutte le coste del Tirreno meridionale (range: 503-644 m). La presenza di aree di nursery del gambero viola, sia durante i surveys MEDITS che GRUND, si registra in pochi anni; queste appaiono distribuite lungo le coste siciliane, a profondità comprese tra 529 e 644 m e presentano delle abbondanze decisamente inferiori rispetto quelle del gambero rosso. I valori più alti dell'Indice di Persistenza si registrano nel Golfo di Castellamare.

**Conclusioni** - Le aree di nursery delle specie studiate risultano significativamente persistenti in corrispondenza di zone caratterizzate da fenomeni di sprofondamento di masse d'acqua che trasportano materiali (sostanze disciolte, gas e particelle insolute) con la probabile conseguenza di influenzare i processi di reclutamento delle due specie in esame. In particolare, la scarpata continentale della Sicilia occidentale è influenzata dallo sprofondamento di una parte significativa delle Acque Profonde del Mediterraneo Orientale (Sparnocchia *et al.*, 1999), mentre le coste calabresi sono influenzate da eventi locali di downwelling, provocati dai venti (Azzaro *et al.*, 2006), che causano una maggiore disponibilità di risorse trofiche negli strati più profondi.

## Bibliografia

- AZZARO F., RAFFA F., MARINI A., RINELLI P. (2006) - Caratteristiche idrobiologiche del Golfo di S. Eufemia (Tirreno sud orientale): estate 2005. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 228-229.
- BERTRAND J.A., GIL DE SOLA L., PAPA-CONSTANTINO C., RELINI G., SOUPLET A. (2002) - The general specifications of the MEDITS surveys. *Sci. Mar.*, **66** (Suppl. 2): 9-17.
- FIORENTINO F., GAROFALO G., DE SANTI A., BONO G., GIUSTO G.B., NORRITO G. (2003) - Spatio-temporal distribution of recruits (0 group) of *Merluccius merluccius* and *Phycis blennoides* (Pisces, Gadiformes) in the Strait of Sicily (Central Mediterranean). *Hydrobiologia*, **503**: 223-236.
- GAROFALO G., CERIOLO L., GRISTINA M., FIORENTINO F., PACE R. (2010) - Nurseries, spawning grounds and recruitment of *Octopus vulgaris* in the Strait of Sicily, central Mediterranean Sea. *ICES J. Mar. Sci.*, **67**: 1363-1371.
- GIORDANO D., BUSALACCHI B., CONSOLI P., PERDICHIZZI A., RINELLI P., GRECO S. (2006) - Analisi dei trend di abbondanza di alcune specie di importanza commerciale nel Tirreno meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 246-249.
- RELINI G. (2000) - Demersal trawl survey in Italian Seas: a short review. *Actes de Colloques IFREMER*, **26**: 76-93.
- SARDÀ F., CALAFAT A., FLEXAS M.M., TSELEPIDES A., CANALS M., ESPINO M., TURSI A. (2004) - An introduction to Mediterranean deep-sea biology. *Sci. Mar.*, **68** (Suppl. 3): 7-38.
- SPARNOCCHIA S., GASPARINI G.P., ASTRALDI M., BORGHINI M., PISTEK P. (1999) - Dynamics and mixing of the Eastern Mediterranean out flow in the Tyrrhenian basin. *J. Mar. Syst.*, **20**: 301-317.

L. SBRESCIA, A. DE VITA\*, F. DI STEFANO, G. SENSALÉ, G. GIORDANO, R. SANDULLI

Dipartimento di Scienze per l'Ambiente (DiSA), Università di Napoli 'Parthenope',  
Centro Direzionale, Isola C4 - 80143 Napoli, Italia.  
luisa.sbrescia@uniparthenope.it

\*Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano, Italia.

## CARTOGRAFIA TEMATICA PER LA DEFINIZIONE DI AREE DI ORMEGGIO E DI ANCORAGGIO NELL'AMP DI SANTA MARIA DI CASTELLABATE

### *THEMATIC CARTOGRAPHY TO CHOOSE MOORING AND ANCHORING AREAS IN SANTA MARIA DI CASTELLABATE MPA*

**Abstract** - The effects of boat anchoring on *Posidonia oceanica* (L.) Delile were taken into account to choose mooring and anchoring areas in the MPA of Santa Maria di Castellabate (Salerno, Central Tyrrhenian Sea). Thematic cartography was realized to represent both seagrass beds and human activities.

**Key-words:** anchoring, cartography, marine protected area, *Posidonia oceanica*.

**Introduzione** - L'incremento della nautica da diporto e della presenza di natanti in aree di grande interesse naturalistico ha reso l'ancoraggio una delle cause principali di degrado, su piccola scala spaziale, delle praterie di *Posidonia oceanica* (Garcia-Charton *et al.*, 1993; Francour *et al.*, 1999). Nell'AMP di Santa Maria di Castellabate, situata all'estremità settentrionale dell'acrocoro cilentano, sono state cartografate le vaste praterie di *P. oceanica*, caratterizzanti il paesaggio subacqueo, al fine di definire le aree di ormeggio ed ancoraggio nell'AMP. Obiettivo del presente studio è stato quello di realizzare carte tematiche a supporto delle attività di pianificazione e gestione dell'AMP.

**Materiali e metodi** - Da maggio a settembre 2011, sono state eseguite e georeferenziate 81 ricognizioni, subacquee e dalla superficie con batiscopio, con tecniche di rilevamento visivo (transetti) lungo la costa delle zone di riserva parziale e generale dell'AMP. L'estensione dell'area indagata è stata di circa 6500 ettari, i transetti sono stati svolti dalla linea di costa fino a circa 25 m di profondità, in relazione alla morfologia costiera, la distanza inter-transetto è dipesa dalla eterogeneità del territorio (tra 50 m e 200 m). Sono state registrate le coordinate e la profondità dei punti di discontinuità del substrato utilizzando un modello combinato GPS/ecoscandaglio. I punti di discontinuità sono stati individuati classificando il substrato (fondo molle, fondo duro) e valutando il rango di ricoprimento dei posidonieti (20-40%, 40-60%, >60%). È stata organizzata una scheda riassuntiva delle attività antropiche in cui inserire informazioni relative a visite guidate, immersioni subacquee, diportismo, pesca, presenza di boe di ormeggio posizionate a seguito di precedenti progetti, ordinanze della Capitaneria di Porto vigenti. I dati raccolti sono stati archiviati in una base dati GIS, implementata con ArcGis9, e riguardano aspetti geomorfologici dei fondali (batimetrie), biologici (biocenosi) e di uso del territorio marino (punti di immersione, rotte diportistiche, zone di ancoraggio, ecc.). La prima categoria di dati ha consentito di produrre carte batimetriche, la seconda carte bionomiche, la terza carte dell'uso del territorio marino. Il sistema di riferimento spaziale adottato è WGS 84-UTM. Le carte batimetriche, con scala variabile in base all'eterogeneità del territorio, sono state realizzate processando in ambiente GIS i punti georeferenzati nel corso delle attività di campo. Per avere una soluzione continua delle quote dal

substrato, sono stati interpolati i punti noti, tramite il “Kriging”. Le biocenosi sono state rappresentate mediante campiture di colore uniforme; nel caso dei popolamenti misti, le coperture a fanerogame sono state rappresentate con dei retini trasparenti che consentono l'individuazione del substrato di impianto (Russo *et al.*, 2008).

**Risultati** - Le carte tematiche sono state prodotte sulla base di uno stile cartografico realizzato *ad hoc*, secondo criteri di leggibilità e rappresentatività. In sintesi sono state prodotte 11 carte batimetriche (scala da 1:5000 a 1:10000) e 11 carte bionomiche (scala da 1:7000 a 1:10000). A seguito di una ricognizione di tutte le attività legate all'uso del territorio marino, sono state prodotte, inoltre, 5 carte di utilizzo del territorio (scala da 1:14000 a 1:20000) riportanti i punti d'immersione, i porti, le aree di concessione per l'ormeggio, le aree di concessione per gli stabilimenti, la presenza di boe già esistenti, tutti i dati sono stati georeferenziati. Il paesaggio sottomarino dell'AMP è risultato caratterizzato dalla biocenosi delle Alghe Fotofile (AP), dalla Biocenosi delle Sabbie Fini Ben Calibrate (SFBC), e dalla dominante Biocenosi della prateria di *P. oceanica*. Essa è presente nel 60% circa dei fondali dell'AMP indagati, di cui circa il 75% è costituito da praterie con copertura superiore al 50% (HP) ed il 25% da *Posidonia* rada a ciuffi o chiazze sparse (semipraterie, HHP). Alla luce dei dati raccolti, per consentire una fruizione corretta del litorale, compatibilmente con le esigenze di tutela dei fondali, sono state realizzate 5 carte di sintesi per l'utilizzo del territorio.

**Conclusioni** - Col presente studio, vengono proposte nell'AMP di Santa Maria di Castellabate 7 aree per l'ancoraggio e 5 aree per l'ormeggio di imbarcazioni da diporto. La cartografia tematica è uno strumento importante per la gestione e per la conservazione dell'ambiente marino e, quindi, di un'AMP (Di Donato e Russo, 2004). Difatti, la realizzazione di carte tematiche ha consentito l'individuazione delle suddette aree, non solo garantendo la protezione dei fondali più sensibili all'ancoraggio, quali praterie di *P. oceanica*, minimizzando l'impatto meccanico delle ancore sui posidonieti ed evitandone l'erosione, ma razionalizzando altresì l'utilizzo del territorio (diportismo, centri *diving*, pesca ricreativa).

**Ringraziamenti:** Si ringrazia il prof. G.F. Russo per gli utili suggerimenti e per l'analisi critica dei risultati.

### Bibliografia

- DI DONATO R., RUSSO G.F. (2004) - Implementazione di un GIS per analisi a fini gestionali dell'ecologia del paesaggio bentonico nell'AMP di Punta Campanella. *Annali della Facoltà di Scienze e Tecnologie, Università degli Studi di Napoli Parthenope*, **68**: 173-200.
- FRANCOUR P., GANTEAUME A., POULAIN M. (1999) - Effects of boat anchoring in *Posidonia oceanica* seagrass beds in the Port-Cros National Park (north-western Mediterranean Sea). *Aquat. Conserv.*, **9**: 391-400.
- GARCIA-CHARTON J.A., BAYLE J.T., SANCHEZ-LIZASO J.L., CHIESA P., LLAURDO F., PEREZ C., DJIAN H. (1993) - Respuesta de la pradera de *Posidonia oceanica* y su ictiofauna asociada al anclaje de embarcaciones en el parque Nacional de Port-Cros Francia. *Publ. Espec. Inst. Esp. Ocean.*, **11**: 423-430.
- RUSSO G.F., DI DONATO R., DI STEFANO F. (2008) - Gli Habitat sottomarini delle coste della Campania. *Biologi Italiani, Ecodinamica*, **6**: 36-40.



## **Tema 4**

---

STRATEGIE RIPRODUTTIVE  
IN AMBIENTE MARINO NATURALE  
E SOTTOPOSTO A STRESS



A. TERLIZZI

Laboratorio Zoologia e Biologia Marina,  
Dip. Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.),  
Università del Salento, CoNISM - 73100 Lecce, Italia.  
antonio.terlizzi@unisalento.it

## SOSTANZE XENOBIOTICHE, SPECIE ALIENE ED AGENTI PATOGENI: IMPATTI SUBDOLI SUI PATTERN RIPRODUTTIVI DI ORGANISMI MARINI

### *XENOBIOTICS, ALIEN SPECIES AND PATHOGENS: INSIDIOUS IMPACTS ON REPRODUCTIVE PATTERNS OF MARINE ORGANISMS*

**Abstract** - During the evolutionary processes, under the force of natural selection acting on the genetic and morphological characteristics of organisms, species have developed several reproductive strategies to cope with the changing environmental conditions. This has led to the development of numerous and extraordinary reproductive tactics that allowed them to achieve the maximum fitness. Nowadays, however, the organisms are increasingly undergoing multiple stresses from which they can not readily defend themselves with negative consequences on the survival of the adults or the reproductive activities (eg. anticipating or delaying sexual maturity and the time of ovulation or spawning, reducing the quality of gametes and offspring). Understanding the consequences of multiple stress at the population level is therefore essential in studies of conservation and management of wild populations. Several examples of impacts able to determine severe alterations of reproductive potential of the marine organisms are here described, with special emphasis on the effects of invasive species, pathogens and endocrine disruptors on wild species.

**Key-words:** reproductive behaviour, man-induced effects, introduced species, imposex, diseases.

**Introduzione** - Una strategia riproduttiva può essere definita come l'insieme complesso di adattamenti favoriti dalla selezione naturale e codificati nel genoma di ciascuna specie (Stearns, 1992) che permettono il raggiungimento della massima *fitness* (Fleming, 1996).

Associato al concetto di strategia, vi è quello di tattica che corrisponde ai fenotipi alternativi (risposte comportamentali, fisiologiche o neurologiche) che un individuo può sviluppare in funzione del contesto ambientale. Esistono diverse e alternative tattiche riproduttive associate a ciascuna strategia, e un organismo sceglie, in funzione del contesto, quale delle alternative a disposizione utilizzare. Un esempio di tattiche alternative è dato dalla possibilità di decidere se combattere per avere accesso all'accoppiamento o, in alternativa, nascondersi per evitare il combattimento quando le possibilità di vincerlo sono basse.

Oltre alla grossolana suddivisione in due grandi categorie - riproduzione asessuata e riproduzione sessuata - le strategie sviluppate per raggiungere la massimizzazione del successo riproduttivo sono molteplici e variano dalla possibilità di bilanciare il *sex-ratio* della progenie negli organismi gonocorici alla possibilità di cambiare sesso negli ermafroditi. L'ermafroditismo, molto comune in ambiente marino sia negli invertebrati che nei vertebrati, si distingue in simultaneo, quando entrambe le gonadi maschili e femminili sono attive contemporaneamente, e sequenziale, quando gli individui sviluppano prima un sesso e successivamente l'altro. In quest'ultimo caso si parla di proterandria, quando gli individui sviluppano prima le gonadi maschili per poi divenire femmine, e proteroginia, in cui, al contrario, la prima funzione a svilupparsi è quella femminile. Vi sono anche specie (es. alcuni gobidi) che hanno evoluto la possibilità di mutare più volte sesso nel loro ciclo vitale (Kobayashi *et al.*,

2005). L'input all'inversione molto spesso è dettato da stimoli sociali (densità della popolazione, *sex-ratio*, status sociale) e/o ambientali. In alcune specie proteroginiche, per esempio, la rimozione di individui di sesso maschile dal gruppo stimola una o più femmine (tipicamente la più grossa) a cambiare sesso (Cole e Shapiro, 1995).

Il cambiamento del sesso è favorito anche quando la taglia di un sesso condiziona la fecondità. Spesso, ad esempio, femmine più grosse producono più uova, che danno origine ad una progenie più numerosa e forte rispetto a quella proveniente da uova più piccole; in queste specie, la maturazione di gonadi femminili negli individui più grandi è quindi una tattica riproduttiva più vantaggiosa.

Le strategie riproduttive riguardano anche la modalità di fecondazione che può cioè essere esterna (quando uova e spermatozoi vengono rilasciati nell'ambiente), interna (quando gli spermatozoi sono rilasciati all'interno del corpo della femmina tramite copulazione) oppure *in situ* (quando gli spermatozoi sono rilasciati in acqua e captati dalla femmina). La fecondazione esterna è comune in alcuni invertebrati, nei pesci e negli anfibi e con questa strategia si tende a produrre più zigoti rispetto alla fecondazione interna, ma la sopravvivenza è più bassa.

Anche per le fasi successive alla fecondazione esistono differenti strategie. Molti invertebrati marini producono larve pelagiche la cui sopravvivenza nell'ambiente dipenderà da diversi fattori, tra cui la disponibilità di nutrimento nella colonna d'acqua. In base alla disponibilità di riserve energetiche è possibile distinguere tra larve lecitotrofiche, che possono sopravvivere senza ricavare nutrimento dall'ambiente esterno in quanto utilizzano l'energia immagazzinata nel vitello, e larve planctotrofiche, la cui capacità di dispersione dipende dalla disponibilità di alimento nell'ambiente circostante, poiché per sopravvivere hanno bisogno di nutrirsi di plancton. Poiché la produzione del vitello comporta una notevole spesa energetica da parte della madre il numero di larve lecitotrofiche è generalmente inferiore a quello delle larve planctotrofiche. Per altri organismi invece, le larve non vivono sospese nella colonna d'acqua e subiscono il processo di metamorfosi immediatamente dopo la schiusa.

La produzione dei gameti rappresenta in alcuni animali la principale fonte di spesa energetica. Ulteriori energie da parte dei genitori possono poi essere impiegate nella cura della prole. Il costo energetico, spesso elevato, derivante da questa attività è però compensato da notevoli benefici, tra cui una maggiore probabilità di sopravvivenza della progenie. Le cure parentali rappresentano in questo senso una forma di "investimento" finalizzato a massimizzare il successo riproduttivo. Sebbene comunemente si tenda ad associare questo fenomeno ai vertebrati, anche per gli invertebrati esistono strategie di questo tipo. Una forma di cura parentale è rappresentata, ad esempio, dall'ossigenazione degli embrioni, che avviene in molti taxa nonostante le diverse modalità di sviluppo (Fernández *et al.*, 2000).

Le strategie riproduttive si manifestano anche nel numero di volte in cui l'evento riproduttivo ha luogo. Per alcune specie, le semelpare, questo avviene una sola volta nell'arco del ciclo vitale dopodiché, in molti casi, subentra la morte. Al contrario, per le specie iteropare, la riproduzione ha luogo in cicli successivi, con cadenza annuale o stagionale. In condizioni naturali, l'iteroparità non è obbligata, ma diventa una scelta per la sopravvivenza in determinati contesti che richiedono l'adattamento a nuove condizioni ambientali (Boletzky, 1986).

I molteplici stress a cui gli organismi sono sempre più sottoposti, hanno la potenzialità di modificare il comportamento riproduttivo degli individui (ad esempio scelta del compagno o del sito di deposizione delle uova) portando alla lunga ad alterazioni del pool genetico di una popolazione. Quando un organismo è sottoposto a condizioni di stress entra nel cosiddetto "stato allostatico", uno stato di alterata attività fisiologica fondamentale per la sopravvivenza. Il mantenimento

di questo alterato stato fisiologico comporta un dispendio di energia che non sarà più disponibile per altre e importanti funzioni vitali. In condizioni di stress un organismo deve quindi attuare dei compromessi sull'energia da spendere per lo sforzo riproduttivo, la crescita somatica e la sopravvivenza. Il più comune compromesso nel regno animale implica la riduzione della fecondità a vantaggio della sopravvivenza (Schreck, 2000).

Gli effetti di uno stress variano al variare dei tempi di esposizione (esposizioni a lungo termine determinano, ad esempio, la compromissione permanente delle funzionalità riproduttive) e dello stadio di sviluppo dell'animale.

L'impatto dei fattori stressanti si esercita o direttamente, pregiudicando la sopravvivenza degli adulti (Pottinger e Pickering, 1990), o indirettamente, attraverso il fallimento delle attività riproduttive (ad es. ritardando o anticipando la maturità sessuale e il tempo di ovulazione o di deposizione delle uova, riducendo la qualità dei gameti e della progenie) (Campbell *et al.*, 1992).

Comprendere le conseguenze di stress antropici a livello di popolazione è quindi fondamentale nell'ambito degli studi di conservazione e gestione delle popolazioni naturali (Schreck *et al.*, 2001).

Di seguito vengono riportati una serie di esempi che vogliono rappresentare uno spunto di riflessione di quanto fattori di disturbo imputabili ad attività antropiche possano determinare severe alterazioni del potenziale riproduttivo di organismi marini.

**Sostanze chimiche ad attività endocrina** - Gli interferenti endocrini (IE) sono un gruppo strutturalmente eterogeneo di composti che possono influire negativamente sulla salute degli esseri umani, della fauna selvatica o della loro progenie.

Essi includono prodotti chimici organici utilizzati in passato in modo eccessivo nell'industria e nell'agricoltura, come i bifenili policlorurati e pesticidi organoclorurati o sostanze chimiche attualmente utilizzate, come i plastificanti e i tensioattivi.

La maggior parte di essi sono considerati contaminanti ubiquitari e risultano essere particolarmente resistenti alla degradazione naturale.

A causa della natura lipofila e persistente della maggior parte degli IE e dei loro metaboliti, molti di essi si bioaccumulano e biomagnificano in diversi comparti ambientali, compreso il biota marino.

La maggior parte dei dati sugli effetti biologici e sui meccanismi di azione degli IE negli organismi marini proviene da studi sui vertebrati, in particolare sui pesci, mentre la comprensione dei meccanismi di azione degli IE negli invertebrati è stata ostacolata a lungo dalla mancanza di una conoscenza dettagliata della loro endocrinologia (Rotchelle e Ostrander, 2003).

Questo comparto rappresenta però una componente molto importante degli ecosistemi marini, richiedendo quindi l'urgenza di ulteriori studi sui bersagli molecolari degli IE negli invertebrati.

Poco si sa anche sugli effetti di queste sostanze sui *top predator*, individui che svolgono un ruolo chiave nelle catene alimentari, e sul possibile contributo del sistema endocrino al declino generale della comunità ittiche.

Tra gli effetti osservati negli invertebrati, lo sviluppo di *imposex* come conseguenza dell'esposizione al tributilstagno (TBT) è uno degli esempi più espliciti di alterazione del sistema endocrino indotto chimicamente (Terlizzi *et al.*, 2004).

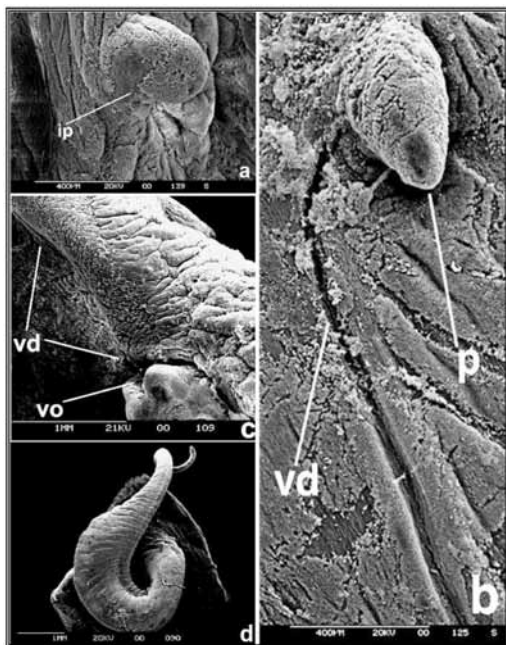
Il tributilstagno (TBT) e i suoi derivati sono stati definiti come i composti più tossici rilasciati intenzionalmente nell'ambiente marino da parte dell'uomo (Fent, 1996). La presenza di queste sostanze deriva principalmente dal massiccio utilizzo di vernici antivegetative che utilizzavano il TBT come biocida. Gli effetti tossici dei composti organostannici su organismi non-bersaglio hanno fatto sì che molte

nazioni emanassero leggi per contenerne l'uso (Terlizzi *et al.*, 2001). Gli effetti più evidenti dell'attività del TBT a livello endocrino sono stati dimostrati nei gasteropodi marini ed hanno luogo a concentrazioni dell'ordine dei pochi ng/l. L'azione del TBT si esercita a livello del metabolismo ormonale, con l'aumento del livello di androgeni (Spooner *et al.*, 1991) che ha portato in circa 118 specie (Fioroni *et al.*, 1991) all'imposizione di caratteri maschili, quali il pene e il dotto deferente, su femmine di gasteropodi gonocorici (Fig. 1). Questo fenomeno è stato riscontrato anche in Aree Marine Protette (Terlizzi *et al.*, 2004).

Gli effetti dell'imposex variano a seconda della specie. In alcuni casi, questo fenomeno non arriva a compromettere la riproduzione (Gibbs *et al.*, 1991), in altri invece, in conseguenza del fallimento riproduttivo l'imposex può portare al declino della popolazione e, in casi estremi ad estinzioni localizzate (ten Hallers-Tjabes *et al.*, 1996).

Fig. 1 - *Hexaplex trunculus*. Microscopia a scansione elettronica di (a) stadio 1, presenza di un pene incipiente (ip); (b) stadio 3, presenza di un pene (p) con un vaso deferente ben sviluppato (vd); (c) stadio 4, vaso deferente che raggiunge l'apertura vaginale (vo); (d) pene in una femmina (lunghezza della conchiglia di 61.3 mm) al 4 stadio di imposex (modificato da Terlizzi *et al.*, 2004).

*Hexaplex trunculus*. SEM photographs of (a) stage 1, presence of an incipient penis (ip); (b) stage 3, presence of a penis (p) with a well-developed vas deferens (vd); (c) stage 4, vas deferens reaching vaginal opening (vo); (d) penis in a female (shell length 61.3 mm) at a 4 stage of imposex (modified from Terlizzi *et al.*, 2004).



### **Impatto dei metaboliti algali sul potenziale riproduttivo di specie autoctone -**

L'introduzione di specie aliene in grado di colonizzare il nuovo ambiente diventando invasive, ha un forte impatto sull'ecosistema invaso, in quanto in grado di modificare le condizioni ecologiche locali alterando la crescita, la riproduzione e lo sviluppo di specie autoctone.

L'ibridazione tra specie aliena e specie nativa compromette la dispersione della variabilità genetica della popolazione nativa e porta alla formazione di individui che non sono più in grado di riprodursi, portando così la specie all'estinzione (Mack *et al.*, 2000; Pimentel *et al.*, 2005; Byrnes *et al.*, 2007).

Un aspetto subdolo e ancora poco studiato è l'effetto esercitato negli ecosistemi invasi dai metaboliti secondari sintetizzati dalle specie aliene. La mancanza di un passato evolutivo di coesistenza rende, verosimilmente, le popolazioni autoctone più

suscettibili agli effetti di tali composti. È questo il caso degli effetti dei bloom algali, chimicamente mediati, che hanno provocato morie di pesci, mammiferi e uccelli acquatici, con considerevole perdita di risorse alimentari e diminuzione delle rese di pesca.

Altri esempi degli effetti di metaboliti algali da specie invasive riguardano l'induzione di fenomeni abortivi, malformazioni su uccelli, alterazioni dell'apparato sessuale, con possibile alterazione della funzionalità degli ecosistemi e delle connessioni trofiche (Miralto *et al.*, 1999). L'invasione biologica dell'alga verde *Caulerpa racemosa* in Mediterraneo ha esercitato, a scala di bacino, il cambiamento più importante nei pattern naturali di biodiversità degli ambienti sublitorali poco profondi del Mediterraneo degli ultimi decenni. Tra i fattori che hanno contribuito a determinare il potenziale di invasione di *C. racemosa* sembrerebbero svolgere un ruolo fondamentale i metaboliti secondari sintetizzati dall'alga e implicati in attività di competizione interspecifica (Raniello *et al.*, 2007). Recenti osservazioni (Terlizzi *et al.*, 2011) sui contenuti stomacali del sarago maggiore *Diplodus sargus* hanno messo in luce che l'alga aliena è divenuta una componente molto importante della dieta del pesce (Fig. 2).



Fig. 2 - Esemplare adulto di *Diplodus sargus* intento a brucare su fondo roccioso con piccole percentuali di copertura di *Caulerpa racemosa* (foto di G. Guarnieri).

*Adult specimen of Diplodus sargus grazing on the rocky bottom with low coverage percentages of Caulerpa racemosa (photo by G. Guarnieri).*

A seguito di tale dieta, è stato dimostrato che *D. sargus* accumula uno dei metaboliti sintetizzati da *C. racemosa*, l'alcaloide caulerpina, a concentrazioni che variano da poche unità a centinaia di  $\mu\text{g/g}$ , a seconda del tessuto analizzato, con le maggiori concentrazioni che si riscontrano nel cervello, nel muscolo rosso e nel fegato.

Indagini ecotossicologiche svolte sugli stessi individui hanno rivelato alterazioni a carico di alcuni dei principali sistemi antiossidanti, una significativa induzione



del sistema di biotrasformazione del citocromo P450 e un incremento dell'indice epatosomatico negli individui esposti ai metaboliti algali. Inoltre è stato osservato un decremento dell'indice gonadosomatico (GSI) nei pesci che si cibano di caulerpa rispetto agli individui di controllo. GSI è utilizzato come misura generale della maturazione delle gonadi e della capacità riproduttiva. La relazione significativa tra l'indice gonadosomatico (GSI) e l'accumulo del metabolita caulerpina porta ad ipotizzare possibili effetti della dieta a base di caulerpa sulla morfologia delle gonadi.

È stato osservato che la riduzione della massa delle gonadi si verifica in risposta all'esposizione ad interferenti endocrini. Una riduzione dell'indice gonadosomatico è stata osservata, per esempio, in pesci esposti a 17 $\beta$ -estradiolo (Bjerselius *et al.*, 2001; Chang e Lin, 1998) o ad altri distruttori endocrini con conseguente riduzione del numero di spermatozoi (Baatrap e Junge, 2001).

È stato inoltre osservato che l'attività epatica del citocromo P450 è inversamente correlata alla vitalità delle uova, al successo del processo di fecondazione e a quello del successivo sviluppo, dalla fecondazione fino alla schiusa (van der Oost *et al.*, 2003) suggerendo che l'induzione dell'attività del citocromo P450 possa interferire con la capacità di regolare gli steroidi sessuali.

Questi dati sembrerebbero sottolineare dunque che, in relazione ad un importante fenomeno di invasione nel Mediterraneo quale quello causato dalla diffusione di *Caulerpa racemosa*, come conseguenza di cambiamenti nelle abitudini trofiche del pesce, i metaboliti secondari di *C. racemosa* possano in qualche modo influenzare negativamente i pattern riproduttivi (Felline *et al.*, 2012).

**Agenti patogeni** - Tra le varie minacce che interessano l'ambiente marino, una delle questioni più importanti ed urgenti riguarda la crescente diffusione di nuove patologie infettive, ritenute responsabili, insieme alla distruzione di habitat ed alla sovrapesca, dell'attuale declino degli stock ittici (Gozlan *et al.*, 2005). Gli agenti patogeni sono in grado di influenzare non solo la sopravvivenza ma anche il comportamento, il tasso di crescita e la fertilità dei loro ospiti, e per questo giocano un ruolo fondamentale nel regolare le dinamiche di popolazione dell'ospite e nel determinare la struttura delle comunità marine (Harvell *et al.*, 2004). Nonostante ciò essi vengono spesso trascurati negli studi ecologici.

La regolazione della fertilità rappresenta uno degli effetti più subdoli che un agente patogeno può avere in una popolazione naturale. Sebbene alcuni patogeni non uccidano il loro ospite essi sono in grado di determinarne la densità, influenzandone il potenziale riproduttivo.

Weil *et al.* (2009) hanno evidenziato una significativa riduzione dell'output riproduttivo in colonie di *Montastraea faveolata* affette da *Yellow Band Disease*, una delle più importanti patologie che interessano i coralli tropicali, legata a batteri patogenetici appartenenti al genere *Vibrio*.

Kim e Harvell (2004) hanno documentato l'impatto di un fungo patogeno responsabile dell'aspergillosi su una popolazione di gorgonie (*Gorgonia ventalina*), il quale, oltre ad un'elevata mortalità ha causato anche una significativa riduzione della capacità riproduttiva delle colonie, ostacolando quindi il recupero della popolazione in seguito al focolaio infettivo. L'aspergillosi ha interessato prevalentemente le gorgonie di dimensioni maggiori, e poiché le dimensioni sono importanti nel determinare l'output riproduttivo della colonia (Beiring e Lasker, 2000), la perdita delle gorgonie più grandi, combinata con una soppressione della capacità riproduttiva di quelle sopravvissute, è in grado di influenzare pesantemente l'entità del pool larvale. Petes *et al.* (2003) hanno dimostrato come anche piccole lesioni dovute a questo particolare tipo di micosi, siano in grado di sopprimere il potenziale riproduttivo di un'intera colonia.



Tra le patologie virali in grado di affliggere pesantemente la riproduzione in popolazioni ittiche va sicuramente annoverata l'Encefaloretinopatia Virale (ERV), una malattia ben nota nel settore dell'acquacoltura perché causa di ingenti perdite economiche, con mortalità del pesce allevato che può raggiungere percentuali elevatissime. L'agente eziologico si concentra prevalentemente nell'encefalo dove causa vacuolizzazione cellulare, necrosi e degenerazione neuronale (Munday *et al.*, 2002), e nelle gonadi, portando ad una bassissima percentuale di schiusa ed un'alta mortalità larvale e giovanile (Bovo *et al.*, 1999), in quanto il virus può essere trasmesso verticalmente alla progenie (Mushiake *et al.*, 1994).

Questo fenomeno, ampiamente documentato per i pesci d'allevamento, può avere pesanti implicazioni ecologiche nel momento in cui eventi patologici legati alla presenza del virus si dovessero verificare nell'ambiente naturale. Questa eventualità appare tutt'altro che remota, dal momento che studi recenti hanno evidenziato elevate percentuali di positività al virus in pesci selvatici appartenenti ad un gran numero di specie. Particolarmente allarmanti sono i risultati di uno studio preliminare condotto da Terlizzi *et al.* (2012), che mostrano come il virus sia presente anche in aree poste sotto regime di protezione. Qualora tra i soggetti positivi si dovesse innescare un focolaio infettivo, la compromissione della funzionalità riproduttiva associata alla patologia potrebbe portare in breve tempo al declino della popolazione e quindi, nel caso di popolazioni protette, alla compromissione degli sforzi di protezione (Fig. 3).



Fig. 3 - Individuo adulto di *E. marginatus* trovato morto sul fondale a causa di un'infezione da Encefaloretinopatia Virale (ERV) (foto di P. Patarnello).

*Dead adult specimen of E. marginatus on the bottom as a consequence of Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER) infection (photo by P. Patarnello).*

Oltre a virus, batteri e funghi, anche i parassiti sono in grado di influenzare la fecondità, alterando la fisiologia, il bilancio energetico, il comportamento riproduttivo dell'ospite e/o il sex ratio delle popolazioni interessate (Gulland, 1995; Alker *et al.*, 2004).

Alcuni parassiti sono in grado di "usurpare" attraverso la castrazione, il fenotipo dell'ospite, o più precisamente l'energia destinata allo sforzo riproduttivo (Baudoin,

1975). Nel caso più semplice tali castratori possono limitare il loro consumo energetico ad una quantità corrispondente allo sforzo riproduttivo dell'ospite, in modo tale da non intaccare le energie necessarie alla crescita ed alla sopravvivenza (Hechinger *et al.*, 2009). Nei casi di elevata prevalenza (percentuale di ospiti parassitati) ciò comporta una notevole riduzione dell'output riproduttivo della popolazione di ospiti (Lafferty, 1991).

I parassiti castratori possono determinare un impatto significativo su specie ecologicamente e commercialmente importanti (Kuris e Lafferty, 1992). Il fenomeno interessa una grande varietà di organismi marini fra i quali più frequentemente gli invertebrati. Alcuni esempi sono le infestazioni da trematodi in molluschi gasteropodi (Kuris e Lafferty, 1994; Smith, 2001) e quelle da cirripedi rizocefali nei crostacei (Thresher *et al.*, 2000; Calado *et al.*, 2005). Più rari sono invece gli studi che riguardano i pesci, per i quali esempi di parassiti castratori sono rappresentati dai copepodi *Sarcotretes scopeli*, *Cardiodectes medusaeus* e dal cirripede *Anelasma squalicola* (Hickling, 1963; Gjøsæter, 1971; Moser e Taylor, 1978).

Fogelman *et al.* (2009) hanno studiato gli effetti dell'isopode cimotoide *Anilocra apogonae* sulla riproduzione del pesce cardinale pentastrato *Cheilodipterus quinquelineatus*, evidenziando come le femmine di questa specie, quando parassitate, producano meno uova, che per di più maturano in una percentuale relativamente bassa se confrontata con quella relativa a femmine non parassitate. Per quanto riguarda i maschi parassitati è stata osservata una capacità di incubazione orale significativamente inferiore, in termini sia di percentuale di soggetti nell'atto di incubare sia di numero di uova incubate, rispetto a soggetti non parassitati.

Oltre alla castrazione "meccanica" esiste anche una riduzione dell'output riproduttivo dovuta ad alterazioni comportamentali. Questo è stato osservato, ad esempio, per alcune specie di pesci, per i quali la presenza di una parassitosi in corso può influenzare la scelta del partner. È stato osservato come le femmine di spinarello (*Gasterosteus aculeatus*) evitino i maschi parassitati basandosi sulla colorazione della livrea, andando a scegliere partner che presentano colori più vivaci e che sono quindi più sani (Milinski e Bakker, 1990). Sasal (2006) ha osservato una maggiore perdita di uova nei pesci donzella (*Segastes planifrons*) parassitati, sebbene non sia chiaro se ciò sia dovuto ad una minore capacità di proteggere il nido dai predatori o alla fame indotta dalla parassitosi, che spinge i maschi di questa specie a nutrirsi delle loro stesse uova.

Per ovviare a tutto questo molte specie hanno evoluto adattamenti comportamentali, fisiologici e morfologici al fine di evitare l'infezione, o comunque minimizzarne gli effetti patologici. Alcuni ospiti ad esempio sono in grado di modificare le proprie storie vitali per incrementare le possibilità di riprodursi prima che avvenga la castrazione. È il caso ad es. del gasteropode marino *Cerithidea californica*, che raggiunge la maturità sessuale a taglie inferiori in popolazioni che presentano una elevata prevalenza di parassiti trematodi castratori (Lafferty, 1993). Secondo alcuni autori questo meccanismo è in realtà un *trade-off* tra l'attività riproduttiva presente (individui di dimensioni maggiori hanno generalmente un potenziale riproduttivo maggiore) e le probabilità di riuscire a riprodursi in futuro (Stearns, 1989).

Talvolta però i cambiamenti nella composizione, abbondanza e virulenza degli agenti patogeni nell'ambiente naturale avvengono su scale temporali troppo brevi per consentire alle specie ospiti di evolvere strategie riproduttive tali da compensare e/o mitigare l'impatto del patogeno sul proprio output riproduttivo. Sebbene infatti parassiti ed altri agenti patogeni siano naturalmente presenti nell'ambiente naturale, le attività antropiche possono andare ad influenzare, sia direttamente che indirettamente questo equilibrio. Particolare preoccupazione destano, a tal proposito, le attività di acquacoltura ed in modo particolare quelle che utilizzano gabbie a mare.

Queste attività possono infatti favorire il verificarsi di focolai infettivi a causa delle condizioni innaturali e stressanti alle quali sono sottoposti gli animali allevati, e tali infezioni possono poi estendersi alla fauna selvatica dell'ambiente circostante (Naylor *et al.*, 2005). Le attività di acquacoltura sono anche responsabili dell'introduzione di nuovi agenti patogeni in aree precedentemente incontaminate, attraverso il trasporto di pesce infetto (Chi *et al.*, 2003).

Un effetto indiretto delle attività antropiche sull'incremento di virulenza dei patogeni è rappresentato dal riscaldamento globale. È stato osservato infatti che molti agenti patogeni rispondono positivamente all'innalzamento di temperatura dell'acqua, incrementando la propria patogenicità (Bally e Garrabou, 2007). Questo è il caso, ad esempio, dell'agente eziologico responsabile dell'ERV, che mostra una maggiore virulenza al crescere della temperatura (Tanaka *et al.*, 1998). Il riscaldamento globale può anche favorire la diffusione di specie aliene, che possono essere vettori di nuovi agenti patogeni in grado di infettare le popolazioni indigene (Gozlan *et al.*, 2006).

**Ringraziamenti:** Questo contributo sintetizza i risultati di lavori e discussioni a cui hanno contribuito diversi colleghi, collaboratori, amici. Tra questi mi piace ricordare innanzitutto Sebastiano Geraci. Si ringraziano inoltre (in ordine alfabetico): Ferdinando Boero, Roberto Caricato, Adele Cutignano, Anna Lucia Delos, Francesca Garaventa, Peter E. Gibbs, Stefania Gorbi, Marco Faimali, Serena Fellingine, Simonetta Frascchetti, Maria Giulia Lionetto, Ernesto Mollo, Pierpaolo Patarnello, Francesco Regoli, Danilo Scuderi, Perla Tedesco.

## Bibliografia

- ALKER A.P., KIM K., DUBE D.H., HARVELL C.D. (2004) - Localized induction of a generalized response against multiple biotic agents in Caribbean sea fans. *Coral Reefs*, **23**: 397-405.
- BAATRAP E., JUNGE M. (2001) - Antiandrogenic pesticides disrupt sexual characteristics in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). *Environ. Health Perspect.*, **109**: 1063-1070.
- BALLY M., GARRABOU J. (2007) - Thermodependent bacterial pathogens and mass mortalities in temperate benthic communities: a new case of emerging disease linked to climate change. *Glob. Change Biol.*, **13**: 2078-2088.
- BAUDOIN M. (1975) - Host castration as a parasitic strategy. *Evolution*, **29**: 335-352.
- BEIRING E.A., LASKER H.R. (2000) - Egg production by colonies of a gorgonian coral. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **196**: 169-177.
- BJERSELIUS R., LUNDSTEDT-ENKEL K., OLSEN H., MAYER I., DIMBERG K. (2001) - Male goldfish reproductive behaviour and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17 $\beta$ -estradiol. *Aquat. Toxicol.*, **53**: 139-152.
- BOLETZKY S. (1986) - Reproductive strategies in cephalopods: variation and flexibility of life-history patterns. In: Porchet M., Andries J.C., Dhainaut A. (eds), *Advances in Invertebrate Reproduction 4*. Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), Amsterdam: 379-389.
- BOVO G., NISHIZAWA T., MALTESE C., BORGHESEAN F., MUTINELLI F., MONTESI F., DE MAS S. (1999) - Viral encephalopathy and retinopathy of farmed marine fish species in Italy. *Virus Res.*, **63**: 143-146.
- BYRNES J.E., REYNOLDS P.L., STACHOWICZ J.J. (2007) - Invasions and extinctions reshape coastal marine food webs. *PLoS One*, **2**: e295.
- CALADO R., BARTILOTTI C., NARCISO L. (2005) - Short report on the effect of a parasitic isopod on the reproductive performance of a shrimp. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **321**: 13-18.
- CAMPBELL P.M., POTTINGER T.G., SUMPTER J.P. (1992) - Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biol. Reprod.*, **47**: 1140-1150.
- CHANG C.F., LIN B.Y. (1998) - Estradiol-17 $\beta$  stimulates aromatase activity and reversible sex change in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *J. Exp. Zool.*, **280**: 165-173.
- CHI S.C., SHIEH J.R., LIN S.J. (2003) - Genetic and antigenic analysis of betanodaviruses isolated from aquatic organisms in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, **55**: 221-228.
- COLE K.S., SHAPIRO D.Y. (1995) - Social facilitation and sensory mediation of adult sex change in a cryptic, benthic marine goby. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **186**: 65-75.
- FELLINE S., CARICATO R., CUTIGNANO A., GORBI S., LIONETTO M.G., MOLLO E., REGOLI F., TERLIZZI A. (2012) - Subtle effects of biological invasions: cellular and

- physiological responses of fish eating the exotic pest *Caulerpa racemosa*. *PlosOne*, **7** (6): e38763.
- FENT K. (1996) - Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Sci. Total. Environ.*, **185**: 151-159.
- FERNÁNDEZ M., BOCK C., PÖRTNER H.O. (2000) - The cost of being a caring mother: the ignored factor in the reproduction of marine invertebrates. *Ecol. Lett.*, **3**: 487-494.
- FIORONI P., OEHLMANN J., STROBEN E. (1991) - The pseudohermaphroditism of Prosobranchs; morphological aspects. *Zool. Anz.*, **226**: 1-26.
- FLEMING I.A. (1996) - Reproductive strategies of Atlantic salmon: ecology and evolution. *Rev. Fish. Biol. Fisher.*, **6**: 379-416.
- FOGELMAN R.M., KURIS A.M., GRUTTER A.S. (2009) - Parasitic castration of a vertebrate: effect of the cymothoid isopod, *Anilocra apogonae*, on the cardinalfish, *Cheilodipterus quinquelineatus*. *Int. J. Parasitol.*, **39**: 577-583.
- GIBBS P.E., PASCOE P.L., BRYAN G.W. (1991) - Tributyltin-induced imposex in stenoglossan gastropods: pathological effects on the female reproductive system. *Comp. Biochem. Physiol.*, **100**: 231-235.
- GJØSAETER J. (1971) - *Sarcotretes scopeli*, a lernaeid copepod new to Norway. *Sarsia*, **46**: 97-100.
- GOZLAN R.E., ST-HILAIRE S., FEIST S.W., LONGSHAW M., PEELER E.J. (2006) - The effect of microbial pathogens on the diversity of aquatic populations, notably in Europe. *Microb. Infect.*, **8**: 1358-1364.
- GOZLAN R.E., ST-HILAIRE S., FEIST S.W., MARTIN P., KENT M.L. (2005) - Biodiversity: disease threat to European fish. *Nature*, **435**: 1046.
- GULLAND F.M.D. (1995) - The impact of infectious diseases on wild animal populations - a review. In: Grenfell B.T., Dobson A.P. (eds), *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge: 20-51.
- HARVELL C.D., ARONSON R., BARON N., CONNELL J., DOBSON A., ELLNER S., GERBER L., KIM K., KURIS A., MCCALLUM H., LAFFERTY K., MCKAY B., PORTER J., PASCUAL M., SMITH G., SUTHERLAND K., WARD J. (2004) - The rising tide of ocean diseases: unresolved problems and research priorities. *Fron. Ecol. Environ.*, **2**: 375-382.
- HECHINGER R.F., LAFFERTY K.D., MANCINI F., WARNER R.R., KURIS A.M. (2009) - How large is the hand in the puppet? Ecological and evolutionary factors affecting body mass of 15 trematode parasitic castrators in their snail host. *Evol. Ecol.*, **23**: 651-667.
- HICKLING C.F. (1963) - On a small deep-sea shark *Etmopterus spinax* L., and its cirripede parasite *Anelasma squalicola* (Lovén). *Zool. J. Linn. Soc.*, **45**: 17-24.
- KIM K., HARVELL C.D. (2004) - The rise and fall of a six-year coral fungal epizootic. *Amer. Nat.*, **164** (Suppl.): S52-S63.
- KOBAYASHI Y., SUNOBE T., KOBAYASHI T., NAGAHAMA Y., NAKAMURA M. (2005) - Gonadal structure of the serial-sex changing gobiid fish *Trimma okinawae*. *Dev. Growth. Differ.*, **47**: 7-13.
- KURIS A.M., LAFFERTY K.D. (1992) - Modelling crustacean fisheries: effects of parasites on management strategies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**: 327-336.
- KURIS A.M., LAFFERTY K.D. (1994) - Community structure - larval trematodes in snail hosts. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **25**: 189-217.
- LAFFERTY K.D. (1991) - *Effects of parasitic castration on the salt marsh snail, Cerithidea californica*. Ph. D. Thesis, Univ. of California, Santa Barbara.
- LAFFERTY K.D. (1993) - The marine snail, *Cerithidea californica*, matures at smaller sizes where parasitism is high. *Oikos*, **68**: 3-11.
- MACK R.N., SIMBERLOFF D., LONSDALE W.M., EVANS H., CLOUT M., BAZZAZ F.A. (2000) - Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. *Ecol. Appl.*, **10**: 689-710.
- MILINSKI M., BAKKER T.C.M. (1990) - Female sticklebacks use male coloration in mate choice and hence avoid parasitized males. *Nature*, **344**: 330-333.
- MIRALTO A., BARONE G., ROMANO G., POULET S.A., IANORA A., RUSSO G.L., BUTTINO I., MAZZARELLA G., LAABIR M., CABRINI M., GIACOBBE M.G. (1999) - The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, **402**: 173-176.
- MOSER M., TAYLOR S. (1978) - Effects of the copepod *Cardiodectes medusaeus* on the lanternfish *Stenobrachius leucopsarus* with notes on hypercastration by the hydroid *Hydrichthys* sp. *Can. J. Zool.*, **56**: 2372-2376.

- MUNDAY B.L., KWANG J., MOODY N. (2002) - Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish. Dis.*, **25**: 127-142.
- MUSHIAKE K., NISHIZAWA T., NAKAI T., FURUSAWA I., MUROGA K. (1994) - Control of VNN in striped jack: selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR). *Fish. Pathol.*, **29**: 177-182.
- NAYLOR R., HINDAR K., FLEMING I.A., GOLDBURG R., WILLIAMS S., VOLPE J., WHORISKEY F., EAGLE J., KELSO D., MANGEL M. (2005) - Fugitive salmon: assessing the risks of escaped fish from Net-Pen aquaculture. *BioScience*, **55**: 427-437.
- PETES L.E., HARVELL C.D., PETERS E.C., WEBB M.A.H., MULLEN K.M. (2003) - Pathogens compromise reproduction and induce melanization in Caribbean sea fans. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **264**: 167-171.
- PIMENTEL D., ZUNIGA R., MORRISON D. (2005) - Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecol. Econ.*, **52**: 273-288.
- POTTINGER T.G., PICKERING A.D. (1990) - The effect of cortisol administration on hepatic and plasma estradiol-binding capacity in immature female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **80**: 264-273.
- RANIELLO R., MOLLO E., LORENTI M., GAVAGNIN M., BUIA M. (2007) - Phytotoxic activity of caulerpenyne from the Mediterranean invasive variety of *Caulerpa racemosa*: a potential allelochemical. *Biol. Invasions*, **9**: 361-368.
- ROTCHELLE J.M., OSTRANDER G.K. (2003) - Molecular effects of endocrine disrupters in aquatic organisms. *J. Toxicol. Environ. Health B*, **6**: 453-495.
- SASAL P. (2006) - Nest guarding in a damselfish: evidence of a role for parasites. *J. Fish. Biol.*, **68**: 1215-1221.
- SCHRECK C.B. (2000) - Accumulation and long-term effects of stress. In: Moberg G.P., Mench J.A. (eds), *The Biology of Animal Stress: Assessment and Implications for Welfare*. CAB International, Wallingford.
- SCHRECK C.B., CONTRERAS-SANCHEZ W., FITZPATRICK M.S. (2001) - Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, **197**: 3-24.
- SMITH N.F. (2001) - Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. *Oecologia*, **127**: 115-122.
- SPOONER N., GIBBS P.E., BTYAN G.W., GOAL L.J. (1991) - The effect of tributyltin upon steroid titres in the female dogwhelk *Nucella lapillus*, and the development of imposex. *Mar. Environ. Res.*, **32**: 37-49.
- STEARNS S.C. (1989) - Trade-offs in life-history evolution. *Funct. Ecol.*, **3**: 259-268.
- STEARNS S.C. (1992) - *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.
- TANAKA S., AOKI H., NAKAI T. (1998) - Pathogenicity of the nodavirus detected from diseased seven band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fish. Pathol.*, **33**: 31-36.
- TEN HALLER-TJABBES C.C., EVERAARTS J.M., MENSINK B.P., BOON J.P. (1996) - The decline of the North Sea Whelk (*Buccinum undatum* L.) between 1970 and 1990: a natural or a human-induced event? *Mar. Ecol.*, **17**: 333-343.
- TERLIZZI A., DELOS A.L., GARAVENTA F., FAIMALI M., GERACI S. (2004) - Limited effectiveness of marine protected areas: imposex in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda, Muricidae) populations from Italian marine reserves. *Mar. Pollut. Bull.*, **48**: 164-192.
- TERLIZZI A., FELLINE S., LIONETTO M.G., CARICATO R., PERFETTI V., CUTIGNANO A., MOLLO E. (2011) - Detrimental physiological effects of the invasive alga *Caulerpa racemosa* on the Mediterranean white seabream *Diplodus sargus*. *Aquat. Biol.*, **12**: 109-117.
- TERLIZZI A., FRASCHETTI S., GIANGUZZA P., FAIMALI M., BOERO F. (2001) - Environmental impact of antifouling technologies: state of the art and perspectives. *Aquat. Conserv. Mar. Freshwat. Ecosyst.*, **11**: 311-317.
- TERLIZZI A., TEDESCO P., PATARNELLO P. (2012) - Spread of Pathogens from Marine Cage Aquaculture - A Potential Threat for Wild Fish Assemblages Under Protection Regimes? In: Carvalho E.D., David G.S., Silva R.J. (eds), *Health and Environment in Aquaculture*. InTech: 403-414.
- THRESHER R.E., WERNER M., HOEG J.T., SVANE I., GLENNER H., MURPHY N.E., WITTEW C. (2000) - Developing the options for managing marine pests: specificity trials on the parasitic castrator, *Sacculina carcini*, against the European crab, *Carcinus maenas*, and related species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **254**: 37-51.



- VAN DER OOST R., BEYER J., VERMEULEN N.P.E. (2003) - Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Phar.*, **13**: 57-149.
- WEIL E., CRÓQUER A., URREIZTIETA I. (2009) - Yellow band disease compromises the reproductive output of the reef-building coral *Montastraea faveolata* (Anthozoa, Scleractinia). *Dis. Aquat. Org.*, **87**: 45-55.



S. CANEPA<sup>1</sup>, D. PELLEGRINI<sup>1</sup>, M. FAIMALI<sup>2</sup>, I. BUTTINO<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ISPRA, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale,  
Viale Nazario Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.  
canepasara@gmail.com

<sup>2</sup>Institute of Marine Science - CNR, Via de Marini, 6 - 16149 Genova, Italia.

<sup>3</sup>Staz. Zool. Anton Dohrn, Napoli, Italia.

## EFFETTI SUBLETALI DEL CLORURO DI NICHEL SULLA RIPRODUZIONE DI *ACARTIA TONSA* (COPEPODA, CALANOIDA)

### *SUBLETHAL EFFECTS OF NICKEL CHLORIDE ON ACARTIA TONSA (CALANOID, COPEPOD) REPRODUCTION*

**Abstract** - Lethal and sublethal toxicity of Nickel was investigated using the calanoid copepod *Acartia tonsa* as biological model. Specimens, collected in the Lagunar area in the Northern Adriatic Sea (Comacchio Valley), were reared in laboratory for ecotoxicological bioassays. Acute and chronic toxicity were evaluated after 48-h and 7 gg exposure to  $\text{NiCl}_2$ , respectively.  $\text{LC}_{50}$  values were 0.19-0.25 mg/l  $\text{NiCl}_2$  after 48h and 0.038-0.063 mg/l  $\text{NiCl}_2$  after 7 gg. In order to assess sublethal effects of Ni on copepods, *A. tonsa* were exposed to  $\text{NiCl}_2$  concentrations below  $\text{LC}_{50}$ . Reproduction and swimming velocity were analyzed. Swimming velocity were detected with an innovative system Swimming Behaviour Recorder (SBR). In a period of 4-day laboratory experiment, the effects of different Ni concentrations on egg production, hatching success of the copepod *Acartia tonsa* were examined. The results showed that egg production and hatching success were not significantly reduced by Ni exposure.

**Key-words:** egg production, toxicity, swimming behaviour, *Acartia tonsa*.

**Introduzione** - Il nichel è un elemento metallico ubiquitariamente presente nell'ambiente, derivante dalla lisciviazione diretta delle rocce e dei suoli. Tuttavia elevate concentrazioni si possono rilevare negli scarichi derivanti da industrie metalliche, minerarie, dalle raffinerie, dalle centrali elettriche o dagli inceneritori (Denkhaus e Salnikow, 2002). Quantitativi rilevanti di Ni possono essere trovati nelle acque, in forma disciolta o in particelle sospese insolubili, con concentrazioni variabili da 15 a 20  $\mu\text{g/l}$  in superficie e da 0,1-0,5  $\mu\text{g/l}$  nelle acque profonde (Denkhaus e Salnikow, 2002). Tra gli organismi acquatici il Ni risulta tossico per il cladocero *Daphnia magna*, produce alterazioni della sintesi delle metallotioneine nel copepode *Tigriopus japonicus* (Pane *et al.*, 2003) e diminuisce sia il successo riproduttivo sia la percentuale di schiusa delle uova nei copepodi *Apocyclops borneoensis* e *Acartia pacifica* (Mohammed *et al.*, 2010). I copepodi sono organismi ampiamente diffusi e sono i maggiori rappresentanti dello zooplankton negli ecosistemi marini. Proprio per questo motivo è importante conoscere le risposte dei copepodi agli stress ambientali e come queste possono riflettersi sulla produttività dell'ecosistema acquatico. La tossicità dei metalli negli invertebrati marini è proporzionale alla soglia di concentrazione del metallo metabolicamente disponibile e differisce da una specie all'altra. Oltre la soglia di concentrazione si rilevano gli effetti tossici, inizialmente subletali e successivamente letali (Lee *et al.*, 2008). Gli effetti sub letali di diversi metalli pesanti sulla crescita, sviluppo, produzione e tasso di schiusa delle uova dei copepodi marini sono stati studiati da diversi autori (Lee *et al.*, 2008). In particolare, la riproduzione dei copepodi è un sensibile indicatore degli effetti subletali degli inquinanti in grado evidenziare gli effetti sulla densità di popolazione e di conseguenza sulla produttività secondaria. Recentemente, Buttino *et al.* (2011) hanno dimostrato che dosi subletali di Nichel inducono apoptosi in nauplii appena schiusi quando le uova vengono incubate in cloruro di Ni. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare gli effetti tossici del Nichel in seguito ad esposizione di adulti ed embrioni a concentrazioni di Cloruro di Nichel al di sotto dell' $\text{LC}_{50}$ . In particolare si è proceduto: (1) alla

determinazione dell' $LC_{50}$  nelle 48 ore di esposizione degli embrioni di *A. tonsa*, (2) alla determinazione dell' $LC_{50}$  dopo 7 giorni di esposizione dei nauplii, (3) alla valutazione di possibili alterazioni della velocità del nuoto, utilizzando un innovativo sistema di analisi del comportamento natatorio (Garaventa *et al.*, 2010) e (4) alla valutazione del tasso riproduttivo degli adulti esposti a 3 diverse concentrazioni sub letali, valutando il numero di uova deposte per femmina ed il corrispondente tasso di schiusa.

**Materiali e metodi - Allevamento e coltura degli organismi.** Il copepode calanoide *Acartia tonsa* proveniente da ceppi della Valle di Comacchio gentilmente forniti da G. Gorbi e S. Sei (Università degli Studi di Parma) è stato allevato in laboratorio in acquari contenenti circa 10 litri di acqua marina naturale a salinità (28÷30)‰ e pH  $8,2 \pm 0,1$ , filtrata su filtri di cellulosa (porosità  $0,45 \mu m$ ) e aerata attraverso pietra porosa a porosità fine. Gli acquari sono stati mantenuti alla temperatura costante di  $(20 \pm 1) ^\circ C$ , con un fotoperiodo di 14 h di luce e 10 h di buio, intensità luminosa (500÷600) lux mediante lampade a luce fredda. Periodicamente gli organismi sono stati alimentati utilizzando una miscela di 2 specie di alghe unicellulari: *Isochrysis galbana*, *Rhinomonas reticulata* in crescita esponenziale (con densità: *I. galbana*  $> 1,3 \times 10^6$  cellule/ml; *R. reticulata*  $> 0,4 \times 10^6$  cellule/ml).

**Test acuto.** Il saggio è stato eseguito utilizzando uova di *A. tonsa* deposte, nell'arco delle 15-16 h circa precedenti l'inizio della prova, da adulti mantenuti in allevamento nelle condizioni precedentemente definite. Cinque concentrazioni di Cloruro di Nichel, sono state testate: 0,1; 0,16; 0,25; 0,4; 0,63 mg/l, unitamente ad un controllo con acqua di mare filtrata a  $0,22 \mu m$ . Il test prevede per ogni concentrazione da testare l'incubazione di un uovo per ogni pozzetto contenente 2,5 ml della soluzione, per un totale di 8 uova in triplicato. A 24 h e 48 h è stata verificata la schiusa delle uova e la vitalità naupliare mediante stereomicroscopio.

**Test cronico.** Per il test di tossicità cronico, le uova sono state trasferite in cristallizzatori contenenti 10 ml di acqua di mare filtrata  $0,22 \mu m$  (uova di controllo) o soluzione tossica (concentrazioni pari a 0,005; 0,010; 0,025 mg/l di  $NiCl_2$ ) e alimentati con *I. galbana* ( $5 \times 10^4$  cell/ml) e *R. reticulata* ( $1 \times 10^4$  cell/ml). Le alghe sono state aggiunte precedentemente alla sostanza tossica e all'acqua di diluizione. Le piastre, sono state poi messe in camera climatizzata a  $20 \pm 1 ^\circ C$ . Il rinnovo della soluzione è avvenuto dopo 48 ore e dopo 5 giorni, trasferendo il nauplio vivo e/o immobilizzato in nuove piastre contenenti le medesime soluzioni. Ad ogni rinnovo, sono stati registrati il numero di nauplii vivi, morti e immobilizzati. Dopo 7 giorni è stata valutata la sopravvivenza e l'immobilità dei nauplii.

**Alterazione della velocità di nuoto.** L'allestimento del test ha previsto il trasferimento delle uova in piastre multipozzetto (circa 8 uova per pozzetto) contenenti le diverse concentrazioni della sostanza tossica: 0,025; 0,065; 0,1 mg/l di  $NiCl_2$ , e il controllo con acqua di mare filtrata a  $0,22 \mu m$ . Sono state allestite tre repliche per ogni concentrazione e per il controllo. Dopo 24 ore è stata valutata l'alterazione della velocità del nuoto dei nauplii tramite l'utilizzo dell'apparecchiatura Swimming Behavior Recorder (SBR) che ha consentito l'analisi videografica della velocità lineare degli organismi mediante un apposito software di analisi di immagini. La velocità media è stata ricavata dalle velocità di ogni individuo presente nel campione; anche gli organismi immobili sono stati considerati nel computo della media.

**Test di tossicità mediante analisi dei tassi riproduttivi e della percentuale di schiusa.**

Dall'acquario sono state selezionate femmine mature e maschi, senza visibili difetti morfologici, e ciascuna coppia è stata isolata in cristallizzatori da 100 ml contenenti 50 ml di acqua con le soluzioni a diverse concentrazioni del tossico (0,025; 0,065; 0,1 mg/l  $NiCl_2$ ) e una per il controllo con acqua di mare filtrata a  $0,22 \mu m$ . Per ciascuna soluzione è stata aggiunta un'aliquota di alga, *Rhinomonas reticulata* alla

concentrazione di  $1 \times 10^4$ . L'esperimento è stato condotto per 4 giorni. Ogni 24 ore gli animali sono stati trasferiti in nuovi cristallizzatori con nuove soluzioni (tossiche e di controllo) e sono state contate il numero di uova deposte. La percentuale di schiusa è stata determinata dopo 48 h dalla deposizione delle uova e la conta dei nauplii e/o delle uova non schiuse è stata effettuata dopo aggiunta di 5 ml di alcool etilico per immobilizzare i nauplii.

**Espressione dei risultati.** Sia per il test acuto (48 ore di esposizione) sia per il test cronico (7 gg di esposizione) è stato calcolato il valore  $LC_{50}$  usando il numero totale di organismi trattati (U) e il numero totale di organismi immobilizzati (I) per ciascuna concentrazione. La  $LC_{50}$  è stata calcolata con il metodo Probit e applicando la correzione di Abbot (Finney, 1971) ([www.epa.gov/ncea/bmds/index.html](http://www.epa.gov/ncea/bmds/index.html)). Per la velocità dell'alterazione del nuoto naupliare, i risultati delle prove sono stati espressi come alterazione percentuale media della velocità di nuoto (V) secondo la formula:

$$\text{Alterazione velocità del nuoto lineare (\%)} = 100 * (V_{\text{CONTROLLO}} - V_{\text{TRATTATO}}) / V_{\text{CONTROLLO}}$$

**Risultati - Test acuto e test cronico.** I risultati dei test mostrano che, nel test acuto, il valore dell' $LC_{50}$  dopo 48 ore di esposizione risulta essere di 0,19-0,25 mg/l  $NiCl_2$  mentre, nel test cronico, dopo 7 giorni di esposizione, risulta essere di 0,038-0,063 mg/l  $NiCl_2$ . Dopo 48 ore, indipendentemente dalla concentrazione, la maggior parte dei nauplii (morivano, si immobilizzavano o avevano una ridotta mobilità).

**Conclusioni -** Il nostro studio mostra come il copepode calanoide *A. tonsa* risulti essere un organismo sensibile al Nichel. I valori delle concentrazioni letali riscontrate concordano con quelli riportati da ISO (1999) per il test di tossicità acuta con *A. tonsa* eseguita secondo il metodo ISO 14669:1999(E) e con quelli determinati da Buttino *et al.* (2011). *A. tonsa* è ampiamente utilizzata come modello biologico in quanto è tra le specie indicate dalla International Organization for Standardization (ISO) per la valutazione della tossicità acuta letale di contaminanti marini. Medina *et al.* (2002) hanno rilevato che le femmine adulte di quest'organismo, esposte al fluorantene PAH, sono due volte più tolleranti dei maschi e che le fasi naupliari sono fino a un ordine di grandezza più sensibili degli adulti al sintetico piretroide cipermetrina. Barata *et al.* (2002) hanno riportato che gli effetti letali sui nauplii si sono verificati a concentrazioni più basse di cipermetrina rispetto a qualsiasi altro effetto osservato su uova e adulti (tassi di sopravvivenza e produzione di uova) e hanno mostrato che gli effetti tossicologici a breve termine sull'alimentazione dei copepoditi e sulla sopravvivenza naupliare sono stati in grado di spiegare le risposte demografiche a lungo termine. Bielmyer *et al.* (2006), esponendo le alghe al Ni hanno dimostrato l'importante contributo della dieta algale contaminata nel determinare la tossicità del metallo per gli adulti di *Acartia tonsa*. Una volta determinati i valori di Ni che causano la mortalità del 50% della popolazione, lo scopo del nostro lavoro si è quindi concentrato su valori di concentrazione inferiori al fine di individuare gli eventuali effetti subletali sull'organismo modello. Proprio per questo, è stata prevista un'ulteriore caratterizzazione di una metodologia di indagine che prevede, sfruttando come modello biologico la fase larvale del copepode *Acartia tonsa*, la misura simultanea di alcuni end-point (mortalità, immobilità, alterazione della velocità di nuoto) mediante un sistema automatico di registrazione e analisi videografica della mobilità della fase larvale (SBR). Questo ci ha permesso di stabilire e individuare eventuali effetti tossici a valori prossimi alla concentrazione che causa apoptosi. Appare quindi evidente come la possibilità di sviluppare un biosaggio ecotossicologico rapido, in grado di fornire risposte multiple a diversi livelli di sensibilità, facilmente correlabili e registrabili da un sistema automatizzato, sia estremamente utile per questo particolare settore dell'ecotossicologia marina (multi end-point bioassay).

**Bibliografia**

- BARATA C., MEDINA M., TELFER T., BAIRD D.J. (2002) - Determining demographic effects of cypermethrin in the marine copepod *Acartia tonsa*: Stage-specific short tests versus life-table tests. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **43**: 373-378.
- BIELMYER G.K., GROSSEL M., BRIX K.V. (2006) - Toxicity of silver, zinc, copper, and nickel to the copepod *Acartia tonsa* exposed via a phytoplankton diet. *Environ. Sci. Technol.*, **40**: 2063-2068.
- BUTTINO I., PELLEGRINI D., ROMANO G., HWANG J.S., LIU T.M., SARTORI D., SUN C.K., MACCHIA S., IANORA A. (2011) - Study of apoptosis induction using fluorescent and higher harmonic generation microscopy techniques in *Acartia tonsa* nauplii exposed to chronic concentrations of nickel. *Chemistry and Ecology*, **27**: 97-104.
- DENKHAUS E., SALNIKOW K. (2002) - Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **42** (1): 35-56.
- GARAVENTA F., GAMBARDELLA C., DI FINO A., PITTORE M., FAIMALI M. (2010) - Swimming speed alteration of *Artemia* sp. and *Brachionus plicatilis* as a sub-lethal behavioural end-point for ecotoxicological surveys. *Ecotoxicology*, **19**: 512-519.
- LEE K-W., RAISUDDIN S., HWANG D.S., PARK H.G., DAHMS H.U., AHN I.Y., LEE J-S. (2008) - Two generation toxicity study on the copepod model species *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, **72**: 1359-1365.
- MEDINA M., BARATA C., TELFER T., BAIRD D.J. (2002) - Age- and sex-related variation in sensitivity to the pyrenoid cypermethrin in the marine copepod *Acartia tonsa* Dana. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **42**: 17-22.
- MOHAMMED E.H., WANG G., JIANG J. (2010) - Effects of nickel on the reproductive ability of three different marine copepods. *Ecotoxicology*, **19**: 911-916.
- PANE E.F., SMITH C., MCGEER J.C., WOOD C.M. (2003) - Mechanisms of acute and chronic waterborne nickel toxicity in the freshwater cladoceran, *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.*, **19**: 4382-4389.

L. ORSI RELINI, G. RELINI

Centro di Biologia Marina del Mar Ligure (BIOLMAR),  
Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova,  
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.  
largepel@unige.it

## MODIFIED REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS IN *ARISTEUS ANTENNATUS*

### *CAMBIAMENTI DEI PARAMETRI RIPRODUTTIVI IN ARISTEUS ANTENNATUS*

**Abstract** - Reductions of female *Aristeus antennatus* minimum spawning size, registered in the Ligurian Sea from 1987 onward, are discussed in terms of possible relationships with natural and/or anthropogenic causes.

**Key-words:** minimum spawning size, overfishing, North Atlantic climate, global warming.

**Introduction** - The large vertical distribution of *Aristeus antennatus* includes both surface waters, where larval stages are found (Heldt, 1955), and deep muddy bottoms (up to 3300 m, Sardà *et al.*, 2004) where adult and especially small specimens have been sampled. Female spawners reach the highest densities in a slope belt generally located between 500 and 750 m and, as they are the largest specimens and the most valuable fraction of the population, this fact has encouraged a specific deep trawling addressed to them. The link between deep trawling and shrimps reproduction generally places the study of reproductive characteristics at the beginning of the knowledge of shrimp biology in each fishing area. Having studied the reproduction of *A. antennatus* in the Ligurian Sea in the seventies (Orsi Relini and Relini, 1979) we are sure that an important reproductive parameter, i.e. the minimum spawning size of the female shrimp, at present results to be changed from 31 to 19 mm CL (Orsi Relini *et al.*, 2012). A modified minimum spawning size deserves considerations and comments; the problem is whether climatic changes and/or anthropogenic causes, for instance overfishing, were involved.

**Materials and methods** - The old datum of a minimum spawning size of 31 mm CL, derived from the study of 26 days of fishing on commercial vessels during the years 1977-1979, with a total of 8440 females measured and studied in terms of maturation stage; the recent datum, m.s.s.=19 mm CL, from national (GRUND) and Mediterranean (MEDITS) trawl surveys in 1994-2004 with 6338 studied females.

**Results and conclusions** - The shift in the reproductive size, in terms of age and growth, means a difference of five growth instars, which correspond to one year of life (Tab. 1). In fished stocks of fish similar shifts are generally related to overfishing. As often as a problem regards a species caught by trawling, the concept of overfishing peeps out, because trawling is in general considered a destructive way of fishing.

Tab. 1 - Size (CL mm)/age key for *A. antennatus* female (Orsi Relini *et al.*, 2012).

*Chiave taglia (mm LC)letà per le femmine di A. antennatus (Orsi Relini et al., 2012).*

Instar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
MEDITS	18	22	24				34		37		42	45	47		52		56	59	61	64
GRUND	19	22	24	26	29	32	34	36	38	40	43		48	50		54				64
Pooled	19	22	24	26	29	32	34	36	38	40	43	45	47	50	52	54	56	59	61	64
Age	1					2					3			4	5	6	7	8	9	10+

However, the case of *A. antennatus* is somewhat different from other species. In fact a part of its population, mainly composed by small individuals, lives at depth not reached by trawlers (Sardà *et al.*, 1994; D'Onghia *et al.*, 2009). This fraction could act as an abundant reserve (Sardà *et al.*, 2003), yet it is necessary to remember that such reserve, if any, is short-lasting unless a continuous renewal is assured.

As a matter of fact, cases of *A. antennatus* serious reductions did occur.

We have observed in the Gulf of Genoa, the decline and the absence of shrimps in the period 1981-1984. In that occasion we have discussed a series of possible causes, both natural and anthropogenic (overfishing, pollution) of shrimp failure (Relini and Orsi Relini, 1987). At present, discussing with fishermen the historical steps of local exploitation of *A. antennatus*, their opinion is that the dumping of industrial wastes of a Tuscan factory (Scarlino red muds) near the Eastern Ligurian deep fishing grounds was lethal for the resource and, of course, for their work. On the contrary, the hypothesis of overfishing in that case appeared unrealistic. In the case of limited areas, anthropogenic causes of damage are plausible. In other cases we can face large-scale events. In 1987 we observed a huge recovery of *A. antennatus* fishery in the Gulf of Genoa, due to a massive appearance of young individuals. Such appearance was not limited to the fishing grounds of the Central - Eastern Ligurian Sea but it was also traced in the Western Ligurian Sea, to the French border. The very abundant small shrimps, which were studied in terms of age and growth (Orsi Relini and Relini, 1998) showed the first substantial change of minimum spawning size: 24 mm CL instead of 31 mm CL. The process continued in the following decade when 19 mm CL was recorded (Fig. 1).

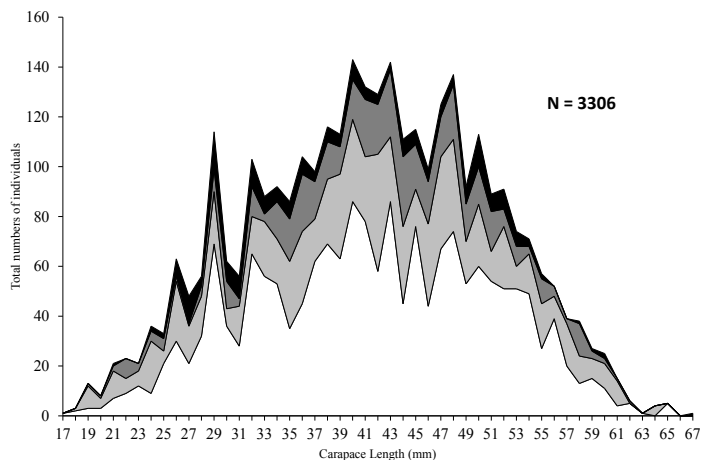


Fig. 1 - Length/frequency distribution and reproductive characteristics of *A. antennatus* females recorded during GRUND surveys 1994-2004. Ovarian maturation is indicated by a sequence of colours. All figured instars, from 19 mm CL onward, are reproductive.

*Distribuzione llf e caratteristiche riproduttive delle femmine di A. antennatus rilevate durante le campagne GRUND 1994-2004. La maturazione ovarica è indicata da una sequenza di colori. Tutti gli instars, a partire da 19 mm LC sono riproduttivi.*

In recent years, much attention has been paid to climatic factors, which possibly influence shrimp abundance. In fact, in landings of different areas, oscillating trends, with peaks at about ten years of distance, can be observed (Carbonell *et al.*, 1999); in Liguria after the 1987 event, a second peak of abundance of small shrimps was



registered during 1997. Recent peaks of this kind, observed in Catalonia and Mallorca (in the years 1992 and 2002) have been related to cascading events along the canyons (Company *et al.*, 2008), to NAO oscillations (Maynou, 2008a,b) and to an increased presence of LIW over the fishing grounds (Massuti *et al.*, 2008). What is not clear are the time lags between the correlated events: e.g. 3-4 years after a cascading; 1-4 years in 5 different ports of Catalonia after a positive NAO, a variability of places and times scarcely consistent with large scale climatic factors. Moreover years of small shrimps abundance are different in Spanish and Italian waters (Fig. 2). The most recent studies about climatic changes in the Mediterranean describe a regime shift (i.e. abrupt changes encompassing a multitude of physical properties and ecosystem variables) that occurred in the Western Mediterranean and culminated exactly during the 1987 (Conversi *et al.*, 2010). Changes in zooplankton abundance, measured off Villefranche, resulted mainly due to several gelatinous components, both herbivorous and carnivorous, and to some copepod species (Molinero *et al.*, 2008). Parallel and synchronous transformations of the pelagic ecosystem including small pelagic fish were observed in the North Adriatic. Extending the observations to the other European basins, such as the North, Baltic and Black Seas, synchronous shifts all occurring at the ends of the 1980 were evidenced (Conversi *et al.*, 2010). So a plenty of different and independent studies indicate the role of North Atlantic climate, expressed, in its more than secular series, by an unprecedented sequence of high Winter NAO values during the eighties (Fig. 2). Young *A. antennatus* arrived in Liguria in the summer 1987 and 1997 apparently were part of these transformations. The recovery of the fishery in the Gulf of Genoa was not a return to a previous condition, but something new in terms of biological characteristics. Is the problem of overfishing set apart? Probably not, because the shrimps could respond both to global warming and to anthropogenic stresses. Large scale climatic events such as global warming during the last 30 years seem to have had effects on the crustaceans decapods living on the slope, both in terms of biological parameters as in the case of *A. antennatus*, of diffusion of south Mediterranean species toward northern areas, such as *Munida rutilanti* (Orsi Relini and Garibaldi, 2012) and also with the arrival of tropical species which in large Mediterranean areas are representing new fishery resources.

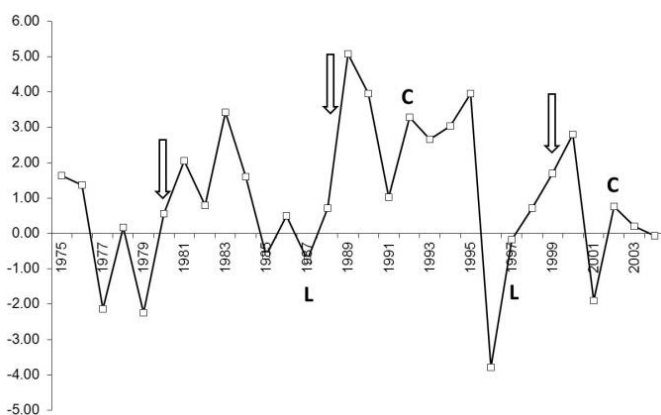


Fig. 2 - Hurrell winter NAO series (<http://www.LFEO.COLUMBIA.EDU/NAO>) in the studied period. Arrows: years with cascading events (Bethoux *et al.*, 2002). L and C years of small shrimps abundance in Liguria and in Catalonia.

Serie Hurrell winter NAO nel periodo studiato (<http://www.LFEO.COLUMBIA.EDU/NAO>). Freccie: anni con eventi di cascading (Bethoux *et al.*, 2002). L e C anni di abbondanza di giovani gamberi in Liguria e Catalogna.

## References

- BÉTHOUX J.P., DURRIEU DE MADRON X., NYFFELER F., TAILLIEZ D. (2002) - Deep water in the Western Mediterranean: peculiar 1999 and 2000 characteristics, shelf formation hypothesis, variability since 1970 and geochemical inferences. *J. Marine Syst.*, **33-34**: 117-131.
- CARBONELL A., CARBONELL M., DEMESTRE M., GRAU A., MONSERRAT S. (1999) - The red shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) fishery and biology in the Balearic Island, Western Mediterranean. *Fish. Res.*, **44**: 1-13.
- COMPANY J.B., PUIG P., SARDÁ F., PALANQUES A., LATASA M., SCHAREK R. (2008) - Climate Influence on Deep Sea Populations. *PloS ONE*, **3** (1): e1431.
- CONVERSI A., FONDA UMANI S., PELUSO T., MOLINERO J.C., SANTOJANNI A., EDWARDS M. (2010) - The Mediterranean Sea Regime Shift at the End of the 1980s, and Intriguing Parallelisms with Other European Basins. *PloS ONE*, **5** (5): e10633.
- D'ONGHIA G., MAIORANO P., CAPEZZUTO F., CARLUCCI R., BATTISTA D., GIOVE A., SION L., TURSI A. (2009) - Further evidences of deep-sea recruitment of *Aristeus antennatus* (Crustacea: Decapoda) and its role in the population renewal on the exploited bottoms of the Mediterranean. *Fish. Res.*, **95**: 236-245.
- HELDT J.H. (1955) - Contribution a l'étude de la biologie des crevettes peneides *Aristaeomorpha foliacea* (Risso) et *Aristeus antennatus* (Risso) (formes larvaires). *Bull. Soc. Sci. Nat. Tunisie*, **8** (1-2): 9-33 + Tav. 1-17.
- MASSUTÍ E., MONSERRAT S., OLIVER P., MORANTA J., LÓPEZ-JURADO J.L., MARCOS M., HIDALGO M., GUIJARRO B., CARBONELL A., PEREDA P. (2008) - The influence of oceanographic scenarios on the population dynamics of demersal resources in the western Mediterranean: hypothesis for hake and red shrimp off Balearic Islands. *J. Marine Syst.*, **71**: 421-438.
- MAYNOU F. (2008a) - Environmental causes of the fluctuations of red shrimp (*Aristeus antennatus*) landings in the Catalan Sea. *J. Marine Syst.*, **71**: 294-302.
- MAYNOU F. (2008b) - Influence of the North Atlantic oscillation on Mediterranean deep-sea shrimps landings. *Climate Res.*, **36**: 253-257.
- MOLINERO J.C., IBANEZ F., SOUISSI S., BUECHER E., DALLOT S., NIVAL P. (2008) - Climate control on the long-term anomalous changes of zooplankton communities in the Northwestern Mediterranean. *Glob. Change Biol.*, **14**: 11-26.
- ORSI RELINI L., GARIBALDI F. (2012) - *Munida rutllanti* Zariquiey Alvarez, 1952 (Crustacea, Decapoda) e specie congeneri batiali in Mar Ligure. *Biol. Mar. Mediterr.*, **19** (1): 182-183.
- ORSI RELINI L., MANNINI A., RELINI G. (2012) - Updating knowledge on growth, population dynamics, and ecology of the blue and red shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), on the basis of the study of its instars. *Mar. Ecol.*, doi: 10.1111/j.1439-0485.2012.00528.x.
- ORSI RELINI L., RELINI G. (1979) - Pesca e riproduzione del gambero rosso *Aristeus antennatus* (Decapoda, Penaeidae) nel Mar Ligure. *Quaderni Civ. Staz. Idrobiol. Milano*, **7**: 39-62.
- ORSI RELINI L., RELINI G. (1998) - Seventeen instars of adult life in female *Aristeus antennatus* (Decapoda Aristeidae). A new interpretation of life span and growth. *J. Nat. Hist.*, **32**: 1719-1734.
- RELINI G., ORSI RELINI L. (1987) - The decline of red shrimps stocks in the Gulf of Genoa. *Invest. Pesq.*, **51** (Suppl. 1): 245-260.
- SARDÁ F., CARTES J.E., NORBIS W. (1994) - Spatio-temporal structure of the deep-water shrimp *Aristeus antennatus* (Decapoda: Aristeidae) population in the western Mediterranean. *Fish. B-NOAA*, **92**: 599-607.
- SARDÁ F., COMPANY J.B., MAYNOU F. (2003) - Deep-sea shrimp *Aristeus antennatus* Risso 1816 in the Catalan Sea, a review and perspectives. *J. N W Atlantic Fish. Science*, **31**: 127-136.
- SARDÁ F., D'ONGHIA F., POLITOU C.Y., COMPANY J.B., MAIORANO P., KAPIRIS K. (2004) - Deep-sea distribution, biological and ecological aspects of *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) in the western and central Mediterranean Sea. *Sci. Mar.*, **68** (3): 117-127.

C. PORCU, M.F. MARONGIU, A. BELLODI, A. MULAS, M.C. FOLLESA

Dip. di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Macrosez. di Biologia Animale ed Ecologia,  
Univ. di Cagliari, Via T. Fiorelli, 1 - 09126 Cagliari, Italia.  
cporcu@unica.it

## REPRODUCTIVE STRATEGY OF A VIVIPAROUS DEEP-WATER SHARK, *ETMOPTERUS SPINAX*, FROM THE CENTRAL WESTERN MEDITERRANEAN SEA

### *STRATEGIA RIPRODUTTIVA DI UNO SQUALO VIVIPARO BATIALE, ETMOPTERUS SPINAX, NEL MEDITERRANEO CENTRO OCCIDENTALE*

**Abstract** - In this work, the reproductive biology of *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae) is analyzed. A total of 475 specimens (275 females and 200 males) were collected at depth of 390-1573 m in 2008-2012 in Sardinian waters. The species is sexually dimorphic with females growing to a larger size than males and attaining greater size at first maturity (at around 83% of the maximum observed size in both sexes). The immature, mature, resting females and mature males were recorded in all seasons while expecting and expectant females were caught in spring and winter respectively. The presence of active males only in winter suggested that the mating could occur at this time. It has an alternate reproductive cycle with the ovarian and uterine phases occurring separately. It has a low fecundity, with a mean ovarian fecundity of 17 oocytes. The estimated coefficients indicate that this species has a vulnerable life cycle, typical of deep-water squalid sharks.

**Key-words:** *Etmopterus spinax*, maturity, size at first maturity, fecundity, Sardinian waters.

**Introduction** - The velvet belly lantern shark *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) is a deep-water squaliform, viviparous lecithotrophic (yolk-sac), that occurs in the Eastern Atlantic and in the Mediterranean, where is known to live on the upper and middle slopes (Compagno *et al.*, 2005). *E. spinax* specimens are commonly captured and discarded as by-catch by the bottom trawl fishery, making biological data of this species difficult to gather. Given the relatively high levels of fishing mortality of this species, the paucity of studies on reproduction in the Mediterranean (Vacchi and Relini Orsi, 1979; Cecchi *et al.*, 2004; Coelho *et al.*, 2010) and its vulnerable life cycle (slow growth, late attainment of sexual maturity, long lifespan, and low fecundity), there is a need for population dynamics studies on this species (Coelho and Erzini, 2008). The aim of this paper is to provide some biological information in order to determine the reproductive strategy of *E. spinax* from the Central-Western Mediterranean Sea.

**Materials and methods** - The data were collected during experimental trawl surveys (MEDITS, Gru.N.D., deep-water surveys) and commercial fisheries at depths from 390 to 1573 m in Sardinian deep-waters between June 2008 and February 2012. For each individual, the total length (TL) in centimeters, the total mass (M), the gonads mass (GM) and liver mass (LM) were recorded. Specimens were sexed and the maturity stages were determined following the maturity stages scale of Stehmann (2002). The Kolmogorov-Smirnov (KS) two-sampled test was used to test for significant differences in the length frequencies by sex. The evolution of the mean length, for males and females, along depth strata (intervals of 100 m) was analyzed using ANOVA. Sex-Ratio (SR) was estimated for the whole population, at different depth intervals. The significance of deviation from the 1:1 null hypothesis was tested by the  $\chi^2$  test. Maturity ogives, to estimate the size at first maturity ( $L_{50}$ ), were fitted (to males and females separately) by non-linear least squares regression. The reproductive cycle for both sexes was studied through the seasonal evolution of the Gonado-

Somatic Index ( $GSI = 100 \cdot MG \cdot M^{-1}$ ) and the Hepato-Somatic Index ( $HSI = 100 \cdot ML \cdot M^{-1}$ ). Kruskal-Wallis (K-W) test was used to test significant differences between GSI and HIS values for the different maturity stages. Furthermore, spawning-period was also confirmed through the percentage analysis of maturity stages. The ripe oocytes in mature females were counted and measured to determine total fecundity.

**Results** - A total of 475 specimens (275 females and 200 males) were analyzed. Both male and female samples had a wide length range with females attaining substantially larger size than males. Specifically, females varied from 10 to 45.7 cm TL (mean  $\pm$  S.D.,  $22.62 \pm 8.61$  cm), while males ranged from 9.7 to 41.8 cm TL (mean  $\pm$  S.D.,  $20.39 \pm 6.39$  cm). Results of the KS two-sample test indicated a significant difference ( $P < 0.05$ ) in length frequency distributions for each sex. The mean TL of females seemed to increase with depth from 300 to 1600 m, while the mean TL of males was constant between 300 and 700 m and increased in the deepest strata. Females outnumbered males overall ( $SR = 0.58$ ;  $\chi^2 = 5.96$   $P < 0.05$ ) and in almost all size classes. Taking into account the bathymetric strata, in the shallower stratum (300-400 m) the sexes were equally distributed, while females were more abundant between 500 and 1100 m (but statistically significant only from 500 to 600 m,  $\chi^2$  test,  $P < 0.05$ ). In general, females of *E. spinax* matured at higher sizes than males (females 33-45.7 cm TL;  $L_{50} = 37.48$ ; males: 26.2-41.8 cm TL;  $L_{50} = 34.39$ ) with significant differences between sexes (KS,  $P < 0.05$ ). The annual variation of the occurrence (%) of the maturity stages showed that the mature (stage 3) and resting females (stage 7) occurred throughout the year. Pregnant females were only caught in winter and spring (Fig. 1a). Mature males (stage 3) were found in spring and summer, while active males occurred only in winter (Fig. 1b).

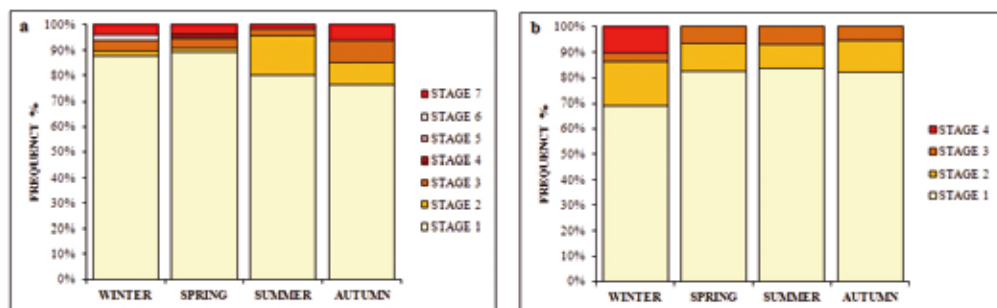


Fig. 1 - Seasonal evolution of the maturity stages for females (a) and males (b) of *Etmopterus spinax*.  
Evoluzione stagionale degli stadi maturativi nelle femmine (a) e nei maschi (b) di *Etmopterus spinax*.

In general, the GSI values of mature females were higher and statistically different (ANOVA,  $P > 0.05$ ) during the summer than the rest of the year. A clear pattern in GSI values was observed in the maturity stages of both sexes (Fig. 2a). In females, this index, very low in immature specimens (stage 1 and 2), increased to the highest value in stage 3. In pregnant females, GSI fell to values similar to those immature specimens. In resting females, there was a slight increase of the GSI, reaching values similar to stage 2. In males, there was an increase of the GSI with the evolution of the maturity stages, with the highest differences observed when specimens reached maturity (between stage 2 and 3). In both sexes, significant differences were recorded

between the GSI values of the different maturity stages (K-W,  $P < 0.05$ ). *E. spinax* individuals had relatively small liver: about 11.5% of body weight for females (S.D.=4.9) and 10.6% (S.D.=4) for males. The average HSI of females differed according to maturity stages. It increased during ovarian stages and started to decline during all the uterine stages. Resting specimens had increasing values. In males, HSI values grew with advancing the maturity (Fig. 2b).

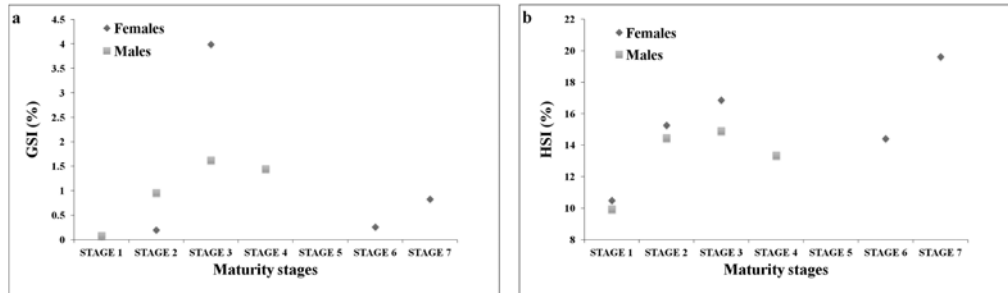


Fig. 2 - Proportion of Gonado-Somatic Index (GSI%) (a) and Hepatosomatic Index (HSI%) (b) given by maturity stages for both sexes of *Etmopterus spinax*.

Valori dell'Indice Gonado-Somatico (GSI%) (a) ed Epato-Somatico (HSI%) (b) per stadi maturativi in entrambi i sessi di *Etmopterus spinax*.

The ovarian fecundity in mature females varied from 6 to 27 ripe oocytes (mean 17.0 oocytes) with a mean diameter of 9.80 mm ( $\pm 1.34$  mm). The pregnant female caught in final pregnancy carried seven completely formed embryos.

**Conclusions** - Differences in length distributions among sexes of *E. spinax* were found, with females attaining greater sizes than males. Sexual dimorphism is very common among other squalid sharks and was already recorded for *E. spinax* in Southern Portugal (Coelho and Erzini, 2005), Azores (Aranha *et al.*, 2009) and in the Tyrrhenian Sea (Cecchi *et al.*, 2004). In females, the increase of mean TL from 600 mm may suggest segregation by size as reported by Cecchi *et al.* (2004) and Vacchi and Relini Orsi (1979). Females of *E. spinax* were more numerous than males in the total of population and their number increased, also, with the depth as confirmed for the North Eastern Atlantic (Aranha *et al.*, 2009). In the velvet belly lantern shark, the size at first maturity was significantly higher for females than males, a common feature for this species (Coelho and Erzini, 2005; Aranha *et al.*, 2009) and for sharks in general. Moreover, in Sardinian seas both sexes matured at around 83% of the maximum observed size as reported for the Western Mediterranean population (Coelho *et al.*, 2010), while in the NE Atlantic population both sexes matured at around 75% of the maximum observed size (Coelho *et al.*, 2010). Immature, mature and resting females were recorded in every season, while expecting and expectant females were caught in spring and winter respectively. Mature males were observed all around the year and the presence of active males only in winter suggested that the mating could occur at this time. Females showed different GSI values indicating that this species has an alternate reproductive cycle with the ovarian and uterine phases occurring separately. In this type of reproductive strategy, while females are pregnant the oocytes remain immature and the gonads do not develop, remaining relatively small. The increase of GSI in stage 7 probably is due to the fact that in some specimens the oocytes are already starting to develop in order to start a new

ovarian cycle. In males, the increase of GSI advanced progressively with the maturity as reported by Coelho and Erzini (2008). The liver of *E. spinax* was larger in females than in males, probably due to the energy resource that females face during the reproductive cycle; the variation of HSI reflected the relationship between the liver weight and the maturity stages. HSI values in both sexes followed similarly those of GSI and their increase during ovarian development could be related with a production of vitellogenin by the liver in order to guarantee the development of embryos as observed by Aranha *et al.* (2009). *E. spinax* showed a low fecundity with a maximum of 27 mature oocytes, but higher than that reported by Coelho *et al.* (2010) in the Western Mediterranean (15 mature oocytes) and North-Eastern Atlantic (21 mature oocytes). Because the number of oocytes that females carry is dependent on their size (Coelho and Erzini, 2008), the highest number of ripe oocytes recorded is probably due to the fact that the mature female had the highest size reported in the bibliography (TL=45.7 cm). In conclusion, this study supports the vulnerability to fishing mortality of *E. spinax* in the Mediterranean Sea, due to its particular life cycle characterized by the late maturation, low fecundity and long life span, typical of deep-water squalid sharks.

## References

- ARANHA A., MENEZES G., PINHO M.R. (2009) - Biological aspects of the velvet belly lantern shark *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) off the Azores, North East Atlantic. *Mar. Biol. Res.*, **5**: 257-267.
- CECCHI E., MANCUSI C., PAJETTA R., SERENA F. (2004) - Contributo alla conoscenza della biologia di *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) (Chondrichthyes, Etmopteridae). *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 564-568.
- COELHO R., ERZINI K. (2005) - Length at first maturity of two species of lantern sharks (*Etmopterus spinax* and *Etmopterus pusillus*) off southern Portugal. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **85**: 1163-1165.
- COELHO R., ERZINI K. (2008) - Life history of a wide-ranging deepwater lantern shark in the north-east Atlantic, *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae), with implications for conservation. *J. Fish. Biol.*, **73** (6): 1419-1443.
- COELHO R., REY J., GIL DE SOLA L., FERNANDEZ DE CARVALHO J., ERZINI K. (2010) - Comparing Atlantic and Mediterranean populations of the velvet belly lanternshark, *Etmopterus spinax*, with comments on the efficiency of density-dependent compensatory mechanisms. *Mar. Biol. Res.*, **6**: 373-380.
- COMPAGNO L., DANDO M., FOWLER S. (2005) - *Sharks of the World*. Princeton University Press, Princeton N.J.: 480 pp.
- STEHMANN M.F.W. (2002) - Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). *Arch. Fish. Mar. Res.*, **50**: 23-48.
- VACCHI M., RELINI ORSI L. (1979) - Aspetti riproduttivi in *Etmopterus spinax* L. (Chondrichthyes, Squalidae). *Quad. Civ. Staz. Idrobiol. Milano*, **7**: 64-74.



S. CABIDDU, G. ATZORI, A. MULAS, C. PORCU, M.C. FOLLESA

Department of Life Science and Environment, University of Cagliari,  
Via T. Fiorelli, 1 - 09126 Cagliari, Italy.  
cabiddus@unica.it

## REPRODUCTIVE PERIOD OF *DIPTURUS OXYRINCHUS* (ELASMOBRANCHII: RAJIDAE) IN SARDINIAN SEAS

### *PERIODO RIPRODUTTIVO DI DIPTURUS OXYRINCHUS* (ELASMOBRANCHII: RAJIDAE) NEI MARI SARDI

**Abstract** - The reproduction of longnosed skate, *Dipturus oxyrinchus* (Elasmobranchii: Rajidae) was studied using 334 specimens from Sardinian waters. Total length of females ranged from 130 to 1155 mm and of males ranged from 154 to 995 mm. The analysis of the monthly distribution of maturity stages shows that this species has a long spawning period.

**Key-words:** reproduction, Rajidae, *Dipturus oxyrinchus*, Sardinian seas.

**Introduction** - *Dipturus oxyrinchus* L., 1758, a benthic species found on sandy and muddy bottoms from 90 to 900 m in depth, is distributed in Mediterranean and in the Eastern Atlantic from central Norway to Senegal, including the Faroe Islands, Skagerrak, and the Canary and Madeira islands (Stehmann and Bürkel, 1984; Froese and Pauly, 2009). This species is highly vulnerable to fisheries due to the large body size and low intrinsic rate of population growth and is considered near threatened in the northeast Atlantic (IUCN 2011). However, the knowledge of the reproductive biology is scanty. *D. oxyrinchus* is oviparous and the egg-cases are laid from spring to early summer (Stehmann and Bürkel, 1984; Notarbartolo di Sciara and Bianchi, 1998; Serena, 2005). The aim of this study is to contribute to the knowledge on the reproductive biology of *D. oxyrinchus* by examining, for both sexes, the monthly variations of the percentage distribution of the developmental stages, in order to identify the reproductive period of this species.

**Materials and methods** - The specimens were caught during National and International trawl surveys (MEDITS and GruND), carried out during the years 2005-2008 in the seas surrounding Sardinia between 200 and 700 m in depth. In the months without specific collection efforts, specimens were obtained from the fraction of waste derived from commercial trawls. For each specimen the total length (TL) was measured and sex identified. The determination of maturity stages of the females was performed using macroscopic evaluations according to a five-stage scale (stage 1, immature; stage 2, maturing; stage 3, mature; stage 4, spawning; stage 5, post-spawning). For males the developmental stages were defined according to a four-stage scale (stage 1, immature; stage 2, sub-adult; stage 3, adult; stage 4, mature). The sex ratio was calculated as the relationship between the females and the total population. The reproductive period was identified by analysing the monthly evolution in the percent frequency of the maturity stages.

**Results** - A total of 334 specimens were analysed, of which 174 were females and 160 were males. The total number of females sampled was slightly higher than that of males (sex ratio=0.53). Females showed a range in size between 130 mm and 1155 mm TL (mean $\pm$ SD=492 $\pm$ 287), while males showed a range in size between 154 mm and 995 mm (mean $\pm$ SD=485 $\pm$ 248). Both sexes were caught at depths between 200 m and 700 m, with a preference between 300 m and 600 m. The analysis of the monthly distribution of maturity stages shows, for both sexes, a constant and

dominant presence of specimens at stage 1 (immature) (Fig. 1). Specimens at stage 2 (sub-adults) are almost present in whole year. Mature females (stage 3, with yolky eggs, but not egg-cases) only in February and March and spawning females (stage 4, with formed egg-cases) were found from January to October. Males at stage 3 (adult) and 4 stage (mature) were found from January to August.

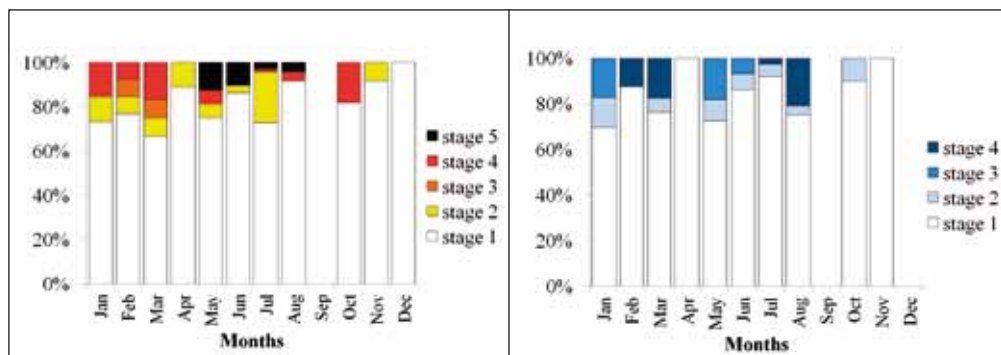


Fig. 1 - Monthly changes in percentage occurrence of different maturity stages in *Dipturus oxyrinchus*: (A) females, (B) males.

*Variazione mensile della percentuale dei diversi stadi di maturità in Dipturus oxyrinchus: (A) femmine, (B) maschi.*

**Conclusions** - *D. oxyrinchus* shows sexual differences in growth, with females longer than males as documented in other Elasmobranchs. The reproductive period of this species in Sardinian waters appears to be longer than in other areas. In fact, as shows by the analysis of the monthly evolution in the percent frequency of the maturity stages, the females are ready to spawn almost over the year differently to other areas where this species has a spawning period from February to April (Stehmann and Burkel 1984; Notarbartolo di Sciara and Bianchi, 1998), and between February and May (Serena, 2005). Moreover, males result to be mature discontinuously in several months from February to August. In conclusion, our results suggest that this species has a long-term reproductive period.

## References

- FROESE R., PAULY D. (2009) - Fishbase World Wide Web Electronic Publication. <http://www.fishbase.org>, version (05/2009).
- NOTARBARTOLO DI SCIARA G., BIANCHI I. (1998) - *Guida degli squali e delle razze del Mediterraneo*. Franco Muzzio Editore, Padova: 388 pp.
- SERENA F. (2005) - *Field identification guide to the sharks and rays of the Mediterranean and Black Sea*. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome: 109 pp.
- STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) - Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.-L., Hureau J.-C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*. Vol. 1. UNESCO, Paris: 163-196.
- WALMSLEY-HART S.A., SAUCER W.H.H., BUXTON C.D. (1999) - The biology of the skates *Raja wallacei* and *R. pullopunctata* (Batoidea: Rajidae) on the Agulhas Bank, South Africa. *S. Afr. J. Mar. Sci.*, **21**: 165-179.

F. CACCIATORE, M. CORNELLO, R. BOSCOLO BRUSÀ

ISPRA – Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale,  
Loc. Brondolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.  
federica.cacciatore@isprambiente.it

**MATURAZIONE GONADICA DELLA VONGOLA  
*RUDITAPES PHILIPPINARUM* (ADAMS & REEVES, 1850)  
SOTTOPOSTA A STRESS**

***GONAD MATURATION OF MANILA CLAMS  
RUDITAPES PHILIPPINARUM (ADAMS & REEVES, 1850)  
UNDER STRESS CONDITIONS***

**Abstract** - The effects of stress conditions on Manila clams (*Ruditapes philippinarum*) reproductive cycle were investigated by transplanting clams from a polluted area to two rearing areas of the lagoon of Venice. Results showed that contaminants did not affect the gonad maturation thus providing promising perspective on the clams recovery from polluted areas.

**Key-words:** gonads, *Ruditapes philippinarum*, lagoons, pollution effects.

**Introduzione** - La vongola filippina, *Ruditapes philippinarum*, è un mollusco bivalve, sessile, fossorio che vive su fondali fangosi o sabbiosi a livello intertidale e subtidale. Le vongole sono gonocoriche e non presentano segni esterni di dimorfismo sessuale. Oltre alla temperatura, generalmente considerata il principale fattore ambientale che regola la gametogenesi e i processi di emissione, esistono altri fattori, sia esogeni che endogeni, che influenzano il ciclo gonadico (Giese, 1959). Tra questi, le condizioni ambientali avverse, derivanti anche da attività antropiche, giocano un ruolo importante e, come dimostrato in *R. decussatus*, alterazioni nella struttura e composizione del tessuto riproduttivo si possono osservare in presenza di inquinanti (Morcillo e Porte, 2000). In questo studio è stato effettuato un esperimento di trapianto di vongole *R. philippinarum*, pescate nella zona centrale della Laguna di Venezia, in un'area antistante Porto Marghera, e successivamente seminate in laguna sud, in due aree in concessione per l'allevamento delle vongole. Lo scopo della ricerca era di indagare la possibile diminuzione dei livelli dei contaminanti presenti nelle carni delle vongole pescate in aree inquinate e trasferite in zone di concessione per l'allevamento dei molluschi, oltre che valutare lo stato fisiologico di molluschi sottoposti a condizioni di stress ambientali. Al fine di verificare eventuali effetti sulla riproduzione dei molluschi dovuta ai contaminanti, sono state quindi associate alle analisi chimiche dei principali contaminati anche misure della stadiazione della fase di maturazione gonadica.

**Materiali e metodi** - Gli esemplari di *R. philippinarum* sono stati prelevati in prossimità della zona industriale di Porto Marghera e seminate in due allevamenti della Laguna sud di Venezia, uno di fronte alla bocca di porto di Chioggia (sito AD), l'altro più interno (sito AZ). Lo sviluppo gonadico delle vongole è stato osservato al momento del prelievo (maggio) e dopo 30, 60, 180 e 365 giorni dalla semina. Per ogni campione sono stati dissezionati 40 individui a cui è stato assegnato uno stadio di sviluppo gonadico, usando un microscopio ottico, secondo la scala proposta da Lucas (1965) e modificata per la specie in esame da Laurelle *et al.* (1994) (A: non è possibile identificare il sesso; B: sesso distinguibile con gonadi poco sviluppate e spermatozoi non del tutto mobili. C: gonadi pienamente sviluppate, spermatozoi mobili e oociti liberi numerosi).

Per valutare l'associazione tra stadio gonadico e sesso degli organismi è stato applicato il test del  $\chi^2$  e sono state elaborate le tavole di contingenza per ciascun campione.

**Risultati** - La presenza di vongole con gonadi svuotate e in fase B secondo la scala proposta da Laurelle *et al.* (1994) indicano che il campione pescato a maggio a PM era costituito prevalentemente da organismi in fase di emissione dei gameti. A giugno e luglio gli organismi trapiantati hanno mostrato invece gonadi in stadio B e C, ovvero ben sviluppate e prossime ad una seconda emissione. A novembre le vongole sono risultate in riposo sessuale, mentre, a distanza di un anno dal trapianto, si sono osservate nuovamente gonadi in pieno sviluppo, ma non ancora svuotate dall'emissione. In quest'ultimo caso nell'allevamento AZ si sono osservati più organismi in stadio C (78%) rispetto a quelli dell'altro sito (35%) e questo può essere dipeso dalla temperatura dell'acqua rilevata tendenzialmente più alta in AZ (23 °C) rispetto ad AD (19,5 °C). Un'altra ipotesi sul diverso grado di maturazione delle gonadi nei due allevamenti potrebbe essere legata alla diversa *sex ratio* rilevata, considerando lo sfasamento degli stadi di sviluppo nei due sessi, con i maschi in stadio C e le femmine prevalentemente in stadio B. È stato osservato che in *R. philippinarum* l'inizio della spermatogenesi coincide con l'inizio dell'ovogenesi. Tuttavia la prima generazione di spermatozoi appare prima di quella degli ovociti maturi. Esistono peraltro molti fattori esogeni che inducono o ritardano la maturazione gonadica dell'uno o l'altro sesso, o di entrambi, come per esempio i contaminanti che agiscono come inibitori dell'aromatasi del citocromo P450, l'enzima responsabile della conversione degli androgeni in estrogeni (Morcillo e Porte, 2000).

**Conclusioni** - La maturazione gonadica delle vongole *R. philippinarum* trapiantate da un sito contaminato, come quello dell'area antistante Porto Marghera in Laguna di Venezia, a due allevamenti della Laguna sud, non ha presentato andamenti discordanti rispetto a quanto riportato in bibliografia per il ciclo gametogenico di questa specie (Valli *et al.*, 1995; Meneghetti *et al.*, 2004). I risultati di questo studio hanno dimostrato che i livelli di contaminazione a cui erano esposti gli organismi non sembrano alterare il normale ciclo gametogenico delle vongole. Risulta quindi ipotizzabile un recupero della risorsa sia dal punto di vista strettamente ambientale, che da quello alimentare, fermo restando che il prodotto trapiantato abbia i requisiti previsti dalla normativa per il consumo umano.

#### Bibliografia

- GIESE A.C. (1959) - Comparative physiology, annual reproductive cycles of marine invertebrates. *Annu. Rev. Physiol.*, **21**: 547-576.
- LAURELLE F., GUILLOU J., PAULET Y.M. (1994) - Reproductive pattern of the clam *Ruditapes decussata* and *R. philippinarum* on intertidal flats in Brittany. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.*, **74**: 351-366.
- LUCAS A. (1965) - Recherche sur la sexualité des mollusques bivalves. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, **99**: 115-247.
- MENEGHETTI F., MOSCHINO V., DA ROS L. (2004) - Gametogenic cycle and variations in oocyte size of *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Aquaculture*, **240**: 473-488.
- MORCILLO Y., PORTE C. (2000) - Evidence of endocrine disruption in clams - *Ruditapes decussata* - transplanted to a tributyltin-polluted environment. *Environ. Pollut.*, **107**: 47-52.
- VALLI G., MAZZOLINI D., RAIMONDI V. (1995) - Ciclo riproduttivo e biometria in *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) dell'Alto Adriatico durante un ciclo annuale. *Hydrores*, **13**: 41-53.

S. COLELLA, A. SANTOJANNI

CNR – Istituto Scienze Marine (ISMAR), Largo Fiera della Pesca, 2 - Ancona, Italia.  
s.colella@ismar.cnr.it

ASPETTI DELLA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA  
DI *NEPHROPS NORVEGICUS* L., 1758 (CRUSTACEA: DECAPODA)  
NEL MARE ADRIATICO CENTRALE: RISULTATI PRELIMINARI

REPRODUCTIVE ASPECTS  
OF *NEPHROPS NORVEGICUS* L., 1758 (CRUSTACEA: DECAPODA)  
IN THE CENTRAL ADRIATIC SEA: PRELIMINARY RESULTS

**Abstract** - The aim of this study was to investigate some reproductive aspects of Norway lobster females (*Nephrops norvegicus*), such as season of ovarian maturation, brooding period, size at first maturity, sex ratio, in the central Adriatic Sea. The ovaries were examined macroscopically and classified into six stages of development. The relative frequency of females in different stages of maturation and berried conditions were observed during different seasons. The reproductive period was evaluated both in terms of "ovarian maturation" than "brooding period". The ovarian maturation starts in April and reach a peak in June, while brooding period shows maxima values in November. Berried females were very abundant in autumn when they increased their burrowing behavior and the sex ratio showed a shift towards males. The length at first maturity was 29.98 mm carapace length.

**Key-words:** *Nephrops norvegicus*, sex ratio, sexual maturity, brooding season, Adriatic Sea.

**Introduzione** - Lo scampo, *Nephrops norvegicus* L., è una specie con ampia distribuzione geografica, largamente diffusa nel bacino Mediterraneo e intensamente sfruttata dalla pesca a strascico nei mari italiani. Data l'importanza dal punto di vista della pesca commerciale, è fondamentale la conoscenza della biologia riproduttiva strettamente connessa con le fluttuazioni delle popolazioni di scampo nelle diverse aree di pesca, ai fini di una gestione corretta e sostenibile di questa risorsa. In Adriatico, gli studi di biologia riproduttiva di *Nephrops norvegicus* risalgono in maggior misura agli anni ottanta (Froglià e Gramitto, 1981; Gramitto e Froglià, 1980): lo scopo della presente nota è quindi quello di fornire dei risultati preliminari relativi ad aspetti di biologia riproduttiva, in relazione allo stato attuale di questa risorsa.

**Materiali e metodi** - I campioni analizzati nel presente studio, provenienti dalla flotta a strascico delle marinerie del mare Adriatico centrale (Ancona, Giulianova e San Benedetto del Tronto), sono stati raccolti dal maggio 2007 al dicembre 2009, con frequenza di almeno due campioni per stagione. Complessivamente sono stati analizzati circa 3800 individui, di cui oltre a rilevare i parametri biometrici (lunghezza carapace, peso individuale, ecc.), è stato identificato il sesso sulla base della morfologia esterna del primo paio dei pleiopodi. Delle femmine è stato identificato macroscopicamente lo stadio di maturità della gonade, utilizzando la scala proposta da Farmer (1975) che prevede 5 stadi di sviluppo, introducendo un sesto stadio per identificare le femmine ovigere. Il rapporto sessi è stato calcolato come il rapporto tra le femmine e il numero totale di individui di cui è stato identificato il sesso. È stata inoltre valutata la distribuzione degli stadi di maturità degli ovai nelle diverse stagioni dell'anno. Il periodo riproduttivo è stato valutato sia in termini di "maturazione dell'ovario" che sulla base della "presenza delle femmine ovigere". È stata inoltre calcolata la proporzione delle femmine mature per classe di lunghezza del carapace (1 mm). La taglia di prima maturità ( $L_{50}$ ), la taglia alla quale il 50% delle femmine è sessualmente maturo, è stata determinata calcolando l'equazione logistica (Prager *et al.*, 1994):

$$p = [1 + e^{-r(x - \frac{x}{50})}]^{-1}$$

**Risultati** - Il rapporto sessi è spostato a favore delle femmine (individui analizzati 1494) in primavera (0,57), mentre la proporzione dei maschi, su 1197 individui analizzati, ha mostrato un incremento in autunno (0,39): questo valore, ottenuto dall'analisi di 547 individui, diventa poi fortemente spostato a favore dei maschi in inverno (0,18). Per quanto riguarda le femmine con ovario maturo, la percentuale maggiore è stata osservata in primavera ed estate, mentre le femmine ovigere hanno rappresentato in autunno il 74% di tutte le femmine analizzate. Il ciclo riproduttivo ha mostrato un certo grado di stagionalità sia in termine di "maturazione dell'ovario" che di "presenza di femmine ovigere". La percentuale di femmine con ovario maturo ha raggiunto valori massimi dalla tarda primavera fino all'estate (da aprile a luglio) mostrando un picco in giugno in entrambi gli anni di osservazione. La presenza di femmine ovigere ha evidenziato valori massimi in ottobre e novembre nel 2008. Nel 2009 la percentuale massima di femmine ovigere è stata osservata in Maggio (60%), pur mostrando in novembre e dicembre valori molto alti (rispettivamente 38 e il 46%). Con riferimento al carapace, la taglia di prima maturità ottenuta dall'equazione logistica è risultata essere 29,98 mm.

**Conclusioni** - Il rapporto sessi nel periodo autunno-inverno ha confermato la tendenza delle femmine ovigere a un comportamento fossorio, in accordo con i dati ottenuti da Froglia e Gramitto (1981). La stagione riproduttiva, considerando quindi sia la maturazione dell'ovario che la presenza delle femmine ovigere, si protrae dalla primavera all'autunno, in accordo con i risultati ottenuti da Orsi Relini *et al.* (1998). La taglia di prima maturità ottenuta è leggermente inferiore di quella calcolata da Gramitto e Froglia (1980) ma in accordo con lo studio più recente di Orsi Relini *et al.* (1998). Questo risultato è in linea con la variabilità solitamente osservata per questo parametro, il quale si ritiene sia influenzato da diversi fattori, quali per esempio, la densità della popolazione nell'area di studio e la relativa competizione per lo spazio e disponibilità di nutrimento, che generalmente possono subire variazioni temporali.

### Bibliografia

- FARMER A.S.D. (1975) - Synopsis of biological data on the Norway lobster *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758.). *FAO Fish. Synop.*, **112**: 97 pp.
- FROGLIA C., GRAMITTO M.E. (1981) - Summary of biological parameters on the Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.) in the Adriatic Sea. *FAO Fish. Rep.*, **253**: 165-178.
- GRAMITTO M.E., FROGLIA C. (1980) - Osservazioni sul potenziale riproduttivo dello scampo (*Nephrops norvegicus*) in Adriatico. *Memorie di Biologia Marina e di Oceanografia*, **10** (Suppl.): 213-218.
- ORSI RELINI L., ZAMBONI A., FIORENTINO F., MASSI D. (1998) - Reproductive pattern in Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.) of different Mediterranean areas. *Sci. Mar.*, **62** (Suppl. 1): 43-60.
- PRAGER M.H., SAILA S.B., RECKSIEK C.W. (1994) - "FISHPARM: A microcomputer program for parameter estimation of nonlinear models in fishery science". *Old Dominion University Ocean. Tech. Rep.*, **87** (10): 1-18.



G. GIORDANO, V. MASTASCUSA, G.F. RUSSO

Dipartimento di Scienze per l'Ambiente, Università degli Studi di Napoli "Parthenope",  
Centro Direzionale, Isola C4 - 80143 Napoli, Italia.  
giuseppe.giordano@uniparthenope.it

**RIPRODUZIONE DI *MAASELLA EDWARDSI*  
(CNIDARIA: ANTHOZOA) NELL'AREA MARINA PROTETTA  
DI SANTA MARIA DI CASTELLABATE**

***REPRODUCTION OF MAASELLA EDWARDSI  
(CNIDARIA: ANTHOZOA) IN THE MARINE PROTECTED AREA  
OF SANTA MARIA DI CASTELLABATE***

**Abstract** - *Maasella edwardsi* (de Lacaze-Duthiers, 1888) is an endemic Mediterranean alcyonacean. Very little is known about its ecology and reproductive biology. Here we report about eggs release (observed in June 2011) and first estimates of reproductive potential in a *Maasella edwardsi* population, which strong characterizes the infralittoral hard substrates of the Marine Protected Area of Santa Maria di Castellabate (Salerno, Italy).

**Key-words:** *Maasella edwardsi*, alcyonacean, reproduction, Marine Protected Areas, surface brooding.

**Introduzione** - *Maasella edwardsi* (de Lacaze-Duthiers, 1888) è un alcionaceo zooxantellato distribuito nel bacino occidentale del Mar Mediterraneo e in Mar Adriatico. Forma colonie costituite da polipi riuniti in gruppi, che fuoriescono da "pedicelli" collegati da stoloni. È considerata specie alquanto rara e le notizie presenti in letteratura sulla sua biologia riproduttiva sono davvero scarse: Viguier (1888) descrive *M. edwardsi* come gonocorica e segnala la presenza di uova all'interno dei polipi di alcune colonie prelevate nel mese di maggio, nella Baia di Algeri. Nell'agosto del 2006, in Mar Adriatico Settentrionale, è stata segnalata la presenza di polipi contratti e ricoperti da uova (Fava e Ponti, 2007). *M. edwardsi* è risultata essere alquanto comune nell'Area Marina Protetta (AMP) di Santa Maria di Castellabate (Salerno), ove colonizza i fondi duri a *flysch*, a partire da 1 m di profondità. Il presente lavoro costituisce una prima indagine sulla biologia riproduttiva della specie in quest'area, sulla base sia di osservazioni *in situ* delle colonie, sia di analisi istologiche dei polipi durante il periodo riproduttivo.

**Materiali e metodi** - Il sito di campionamento è la Secca di Vatolla (profondità 7 m) situata due miglia al largo di Punta Licosa all'interno della Zona B dell'AMP. Mediante immersioni subacquee effettuate nel mese di giugno 2011, sono stati condotti rilevamenti *in situ* e prelievi di colonie per osservazioni allo stereomicroscopio e per analisi istologiche. Per l'identificazione delle gonadi maschili e femminili, singoli pedicelli di *M. edwardsi* sono stati inclusi in paraffina, previa decalcificazione e disidratazione, e con un microtomo rotativo sono state ottenute sezioni da 10 µm di spessore, colorate successivamente con ematossilina-eosina. Sono state misurate le dimensioni di 250 sacchi spermatici e 250 oociti, in 10 colonie (5 maschi e 5 femmine) selezionate casualmente. Su un totale di 100 pedicelli analizzati (50 per ciascun sesso) è stato rilevato il numero massimo di oociti o sacchi spermatici per pedicello. Per la misura della *sex ratio*, sono state prelevate 50 colonie situate ad almeno 2 m di distanza l'una dall'altra, in modo da evitare l'errore di campionamento dovuto alla riproduzione vegetativa per stolonizzazione. La percentuale di ricoprimento delle colonie sul substrato e la densità dei pedicelli (numero cm<sup>-2</sup>) sono state valutate mediante 10 repliche casuali di campionamento fotografico (area dell'immagine 16×21 cm).

**Risultati** - Colonie femminili ricoperte di uova sono state osservate *in situ* alla fine del mese di giugno 2011 (temperatura dell'acqua: 22 °C). Le colonie si presentavano con polipi sia contratti che distesi. L'osservazione al microscopio ha mostrato la presenza di sacchi spermatici e oociti maturi all'interno della cavità gastrovascolare dei polipi. L'analisi istologica ha consentito di distinguere chiaramente le strutture riproduttive maschili e femminili. I sacchi spermatici hanno una forma tondeggianti o poligonale, mentre gli oociti sono pressoché sferici o lievemente ellissoidali in sezione. Tutti i pedicelli di una singola colonia presentano lo stesso grado di maturazione delle gonadi. Sia gli oociti che i sacchi spermatici mostrano un aspetto bruno/giallastro per la presenza di uno strato esterno di endoderma contenente zooxantelle. La dimensione media dei sacchi spermatici è di 315.6  $\mu\text{m}$  ( $\pm 80.4$  DS). Nelle colonie femminili sono state osservate 2 coorti ben distinte di oociti, con diametro medio rispettivamente di 473  $\mu\text{m}$  ( $\pm 34$ ) e 128  $\mu\text{m}$  ( $\pm 30$ ). In un singolo pedicello di colonia femminile sono stati contati fino a 380 oociti maturi, mentre in un singolo pedicello maschile sono stati osservati fino a 470 sacchi spermatici. La *sex ratio* (F:M) osservata è di 1.17:1 e non si discosta significativamente dal valore atteso di 1:1 ( $\chi^2=0.32$ ;  $p=0.57$ ). Il ricoprimento percentuale medio è risultato pari al 33.5% ( $\pm 12.5$  DS), con un valore massimo del 56%. Per quanto riguarda la densità, è stato rilevato un valore massimo di 2.1 pedicelli  $\text{cm}^{-2}$ , con un potenziale riproduttivo massimo stimato di circa 400 oociti  $\text{cm}^{-2}$ .

**Conclusioni** - L'evento riproduttivo di *M. edwardsi* nell'A.M.P. di S. M. di Castellabate si è verificato all'inizio dell'estate del 2011. Come in altri ottocoralli, il processo di *spawning* può essere innescato dall'innalzamento di temperatura e/o regolato dalle fasi lunari. Il rilascio delle uova è avvenuto in corrispondenza dell'ultimo quarto di luna, a differenza di quanto è stato osservato da Fava e Ponti (2007) in Mar Adriatico (luna piena). Non è ancora noto se la fecondazione delle uova sia interna oppure abbia luogo sulla superficie delle colonie. Tuttavia, è risultato evidente che almeno le prime fasi di sviluppo embrionale avvengano sulle colonie, essendo stati osservati alcuni giovani embrioni dalla forma allungata. Le uova emesse restano attaccate alla superficie dei pedicelli, disposte ad anello alla base del gruppo di polipi, dove probabilmente completano l'intero sviluppo embrionale. Tali osservazioni consentono di concludere, quindi, che *M. edwardsi* presenta una modalità di sviluppo embrionale, nota come *surface brooding*, ad oggi riscontrata solo in alcune specie di antozoi (Coma *et al.*, 1995) e considerata un adattamento per massimizzare il successo riproduttivo. Lo sviluppo degli embrioni sulla superficie delle colonie, anziché nella cavità gastrovascolare, consentirebbe un incremento del loro numero e, al contempo, una relativa protezione dai danni meccanici da abrasione (Benayahu e Loya, 1983).

### Bibliografia

- BENAYAHU Y., LOYA Y. (1983) - Surface brooding in the Red Sea soft coral *Parerythropodium fulvum fulvum* (Forskil, 1775). *Biol. Bull.*, **165**: 353-369.
- COMA R., RIBES M., ZABALA M., GILI J.M. (1995) - Reproduction and cycle of gonads development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **117**: 173-183.
- FAVA F., PONTI M. (2007) - Distribuzione geografica di *Maasella edwardsi* e *Paralcyonium spinulosum* (Octocorallia: Paraclyoniidae). *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 180-181.
- VIGUIER C. (1888) - Étude sur les animaux inférieurs de la baie d'Alger. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **6**: 351-373.



# Poster

---

P. CARBONARA, W. ZUPA, G. LEMBO

COISPA Tecnologia e Ricerca, Stazione Sperimentale per lo Studio delle Risorse del Mare,  
Via dei Trulli, 18/20 - 70126 Bari, Italia.  
carbonara@coispa.it

## SWIMMING PERFORMANCES AND ENERGETIC EXPENDITURE IN *PAGRUS PAGRUS PAGRUS* (LINNAEUS, 1758)

### *PERFORMANCE DI NUOTO E METABOLISMO ENERGETICO IN PAGRUS PAGRUS PAGRUS (LINNAEUS, 1758)*

**Abstract** - The aim of this work was to estimate the baseline of the swimming performances of the red porgy (*Pagrus pagrus pagrus*), during the critical swimming tests ( $U_{crit}$ ), together with the energetic expenditure at the different size of the fish.

**Key-words:** red porgy,  $U_{crit}$ , metabolic rate.

**Introduction** - In fish, swimming is the most important factor influencing the Darwinian success. It is mainly studied through prolonged swimming exercises and assessed by means of the critical swimming test ( $U_{crit}$ ), which represents the maximum aerobic activity a fish could express (Plaut, 2001). The  $U_{crit}$  is strictly linked with the fish physiological condition and, for this reason, it is often used as a welfare indicator. Critical swimming speed allows also to assess fish responses to many kinds of stressors (FSBI, 2002) that generally have the effect of reducing the fish swimming capacity. Moreover, the muscular activity is strictly correlated with the oxygen consumption rate, that increases proportionally with the swimming speed, acting as an index of the activity of the aerobic metabolism (Smit *et al.*, 1971). The energy mobilization follows a pattern in which the amount of oxygen consumption is proportional to the work done during the muscular activity (Beamish, 1978). Aim of this work, is to get insight into the energetic physiology of red porgy, a species included in the IUCN red list and thus requiring particular management measures.

**Materials and methods** - 17 red porgies (21.3-37.6 cm total length) were randomly chosen for the  $U_{crit}$  test and were fasted for at least 12 hours before the swimming tests. Each fish was kept into the Blažka style swimming chamber for at least 60 minutes in resting water, and then was exposed to a low ( $0.1 \text{ m s}^{-1}$ ) speed water flux for 30 minutes (Brett, 1964). This was successively increased of  $0.1 \text{ m s}^{-1}$  every 15 minutes, until fish reached the fatigue condition. The absolute  $U_{crit}$  value was estimated according to Brett (1964). Relative  $U_{crit}$  was estimated as absolute  $U_{crit}$  per total fish length and expressed as body length per second. For the specimens whose maximum width was greater than the 10% of the inner diameter of the respirometer, the correction of the  $U_{crit}$  value was computed according to Smit *et al.* (1971). For 13 out of the 17 fish the  $U_{crit}$  test was coupled with the assessment of the metabolic rate. The oxygen consumption rate ( $\text{mg O}_2/\text{kg}/\text{hour}$ ) was assessed in the closed respirometer, during the last 5 minutes of each single swimming speed step, by means of the DAQ-1 respirometer (Loligo Systems), whose probe was located in the inner part of the swimming tunnel. The correlation between swimming speed and relative  $U_{crit}$  was tested using Spearman's rank correlation test. The differences between the mean relative  $U_{crit}$  in red porgy and seabass (Carbonara *et al.*, 2006) were tested with the Kruskal-Wallis test. The Aerobic Metabolic Scope (AMS) was calculated as the Active Metabolic Rate (AMR) minus the Standard Metabolic Rate (SMR), computed as the Metabolic Scope extrapolated respectively at the  $U_{crit}$  and at  $0 \text{ m s}^{-1}$ .

**Results** - The mean relative  $U_{crit}$  of red porgy was  $2.71 \pm 0.43$  BL  $s^{-1}$ , a lower value than estimated in sea bass (mean relative  $U_{crit} = 3.91 \pm 0.36$  BL  $s^{-1}$ ; Carbonara *et al.*, 2006). The correlation between relative  $U_{crit}$  and the body size was not statistically significant ( $p > 0.05$ ) (Fig. 1-A), while the correlation between swimming speed and oxygen consumption rate resulted positively significant ( $p < 0.01$ ) (Fig. 1-B). The AMS of the red porgy resulted 171.76 mg  $O_2$ /kg/hour.

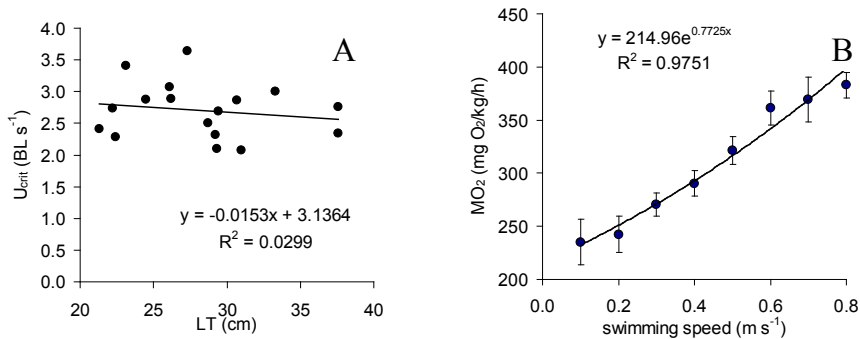


Fig. 1 - Baselines of the swimming performances (A) and of the oxygen consumption (B).

Baseline delle performance di nuoto (A) e del consumo di ossigeno (B).

**Conclusions** - In this study red porgy showed lower swimming performances ( $p > 0.05$ ) in comparison with other aquaculture species, such as seabass of the same size range. The low swimming capacity of red porgy is also highlighted by the lower AMS value in comparison to other species, like sea bass (Luna-Acosta *et al.*, 2011) and coho salmon (Lee *et al.*, 2003). Such interspecific differences could be related to the species morphology, strengthening the idea that  $U_{crit}$  is an important ecological species-specific indicator, as well as the AMS, and both can help to better understand the energetic physiology of red porgy.

## References

- BEAMISH F.W.H. (1978) - Swimming capacity. In: Hoar W.S., Randall D.J. (eds), *Fish Physiology*. Academic Press, New York: 101-187.
- BRETT J.R. (1964) - The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *J. Fish. Res.*, **21**: 1183-1226.
- CARBONARA P., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M.T., LEMBO G., ZUPA W., MCKINLEY R.S. (2006) - Swimming performances as a well being indicator of reared sea-bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). Preliminary results. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 488-491.
- FSBI (2002) - *Fish welfare*. Briefing paper 2: 27 pp.
- LEE C.G., DEVLIN R.H., FARRELL A.P. (2003) - Swimming performance, oxygen consumption and excess post-exercise oxygen consumption in adult transgenic and ocean-ranched coho salmon. *J. Fish Biol.*, **62**: 753-766.
- LUNA-ACOSTA A., LEFRANÇOIS C., MILLOT S., CHATAIN B., BÉGOUT M. (2011) - Physiological response in different strains of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Swimming and aerobic metabolic capacities. *Aquaculture*, **317**: 162-167.
- PLAUT I. (2001) - Critical swimming performance: its ecological relevance. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, **131**: 41-50.
- SMIT H., AMELINK-KOUTSTAAL J., VIJVERBERG J., VON VAUPEL-KLEIN J. (1971) - Oxygen consumption and efficiency of swimming goldfish. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, **39**: 1-28.



R.A. CAVALLO<sup>1</sup>, M.I. ACQUAVIVA<sup>1</sup>, G. ALABISO<sup>1</sup>, M. MILILLO<sup>1</sup>,  
M. NARRACCI<sup>1</sup>, L. STABILI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC), CNR, UOS Taranto,  
Via Roma, 3 - 74123 Taranto, Italia.  
rosanna.cavallo@iamc.cnr.it

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università del Salento,  
Via per Monteroni - 73100 Lecce, Italia.

## STUDY OF AQUACULTURE PATHOGENIC VIBRIOS IN THE MAR PICCOLO OF TARANTO (IONIAN SEA, ITALY)

### *VIBRIONI PATOGENI IN ACQUACOLTURA NEL MAR PICCOLO DI TARANTO (MAR IONIO, ITALIA)*

**Abstract** - We studied the dynamic of potentially aquaculture pathogenic *Vibrio* in the Mar Piccolo of Taranto where many mussel farm plants are located. Our results evidenced the presence of *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. ordalii*, *V. salmonicida* and *V. vulnificus*. Particularly, *V. ordalii* and *V. salmonicida* reached the highest percentage of isolation in the autumn-winter period, while all the other species reached the maximum in the spring-summer seasons.

**Key-words:** *Vibrio*, coastal waters, sediments, aquaculture.

**Introduction** - Climate change can affect productivity of aquaculture systems and can increase vulnerability to diseases of reared species thus reducing the gain of farmers. From the microbiological perspective, the increase of water temperatures promotes the growth of microorganisms, including pathogenic *Vibrio*, leading to the development of diseases in farmed species with implications for food safety and human health (Thompson *et al.*, 2004; Cavallo *et al.*, 2009). Although recent studies identified links between climate variability and occurrence of microbial agents in water, these relationships need further quantification (Lipp *et al.*, 2002). Advances in monitoring are necessary to enhance early-warning and prevention capabilities. In this framework we studied over two years (from 2008 until 2009) the dynamic of vibrios potentially pathogenic for fish and shellfish in water and sediment samples collected in the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea, Italy).

**Materials and methods** - To enumerate the potentially aquaculture pathogenic *Vibrio* water and sediment samples were seasonally collected in three points located in I and II Inlet of Mar Piccolo in Taranto. The samples, opportunely diluted, were filtered and the disks were aseptically placed onto TCBS agar added with 2% NaCl and incubated at 25 and 37 °C. The emerging colonies were counted according to the colony-forming (CFU) method and identified using morphological, biochemical and cultural tests (Bauman & Schubert, 1984; Alsina & Blanch 1994). Temperature were measured with an Idromar IM52 probe.

**Results** - Results evidenced that the non pathogenic vibrios represented about the 80% of the isolates. *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. ordalii*, *V. salmonicida* and *V. vulnificus* were identified among the potentially pathogenic vibrios. *V. ordalii* and *V. salmonicida* reached the highest percentage of isolation in the autumn-winter period (temperature mean value 12.65 °C), while all the other species reached the maximum in the spring-summer seasons (temperature mean value 25.13 °C) (Tab. 1).

Tab. 1 - Percentage of *Vibrio* species.

Valori percentuali delle specie di vibrioni.

	Spring-Summer 2008		Autumn-Winter 2008		Spring-Summer 2009		Autumn-Winter 2009	
	Water	Sediment	Water	Sediment	Water	Sediment	Water	Sediment
<i>V. salmonicida</i>	1.17	0	0	15.79	0.59	0	7.89	4.26
<i>V. ordalii</i>	2.92	0	0	26.31	0	0	6.58	0
<i>V. vulnificus</i>	2.34	4.11	0	5.26	1.18	0.97	1.32	4.26
<i>V. harveyi</i>	9.36	9.59	0	0	11.83	6.8	2.63	2.13
<i>V. alginolyticus</i>	2.92	0	0	0	11.24	5.83	0	4.26
<i>V. anguillarum</i>	0	1.37	0	0	1.18	0	0	0
Aquaculture non pathogenic vibrios	81.29	84.93	100	52.63	73.96	86.41	81.58	85.11

**Conclusions** - Mass mortality events recently occurred in aquaculture bivalves farms in different European countries, procuring economic losses. Mar Piccolo hosts many mussel culture plants with an estimated production of more than 50,000 tons per year; to prevent great shrinkage in productive sector it is necessary to design a control of potentially pathogenic organisms. Our results suggest the necessity of a continuous monitoring in order to better understand the survival strategies and distribution of aquaculture pathogenic vibrios in the studied environment. Thus, further investigations will be developed to control infectious diseases in aquaculture plants of Mar Piccolo.

## References

- ALSINA M., BLANCH A.R. (1994) - A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *J. Appl. Bacteriol.*, **76**: 79-85.
- BAUMAN P., SCHUBERT R.H.W. (1984) - Vibrionaceae. In: Krieg N.R., Holt J.G. (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. Williams & Willkins, Baltimore: 516-548.
- CAVALLO R.A., ACQUAVIVA M.I., LO NOCE R., STABILI L., NARRACCI M. (2009) - Vibrionaceae potenzialmente patogene e indicatori di contaminazione fecale nel Mar Piccolo di Taranto. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (1): 394-395.
- LIPP E.K., HUQ A., COLWELL R. (2002) - Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**: 757-770.
- THOMPSON F.L., ILDA T., SWINGS J. (2004) - Biodiversity of vibrios. *Microbiol. Mol. Rev.*, **68**: 403-431.

A. FABBROCINI, M.M.A. MASELLI, R. D'ADAMO

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze Marine, UOS Lesina,  
Via Pola, 4 - 71010 Lesina (FG), Italia.  
adele.fabbrocini@fg.ismar.cnr.it

## EFFETTI DEL REGIME ALIMENTARE E DI ILLUMINAZIONE SULLE GONADI DEL RICCIO DI MARE *PARACENTROTUS LIVIDUS* (LMK, 1816)

### *EFFECTS OF FEEDING AND LIGHT REGIME ON THE GONAD OF THE SEA URCHIN PARACENTROTUS LIVIDUS (LMK, 1816)*

**Abstract** - *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) adult specimens were reared in a recirculating aquarium under controlled conditions up to 4 weeks to evaluate the effect of the light and feeding regime on gonad growth. Gonad yield and reproductive conditions were influenced by feeding regime, while light regime proved to have no effect on them.

**Key-words:** sea urchin, *Paracentrotus lividus*, recirculating aquarium, gonad index, reproductive cycle.

**Introduzione** - I ricci di mare della specie *Paracentrotus lividus* sono allevati sia per l'elevato valore commerciale che per la produzione di gameti da utilizzare in laboratorio (Fabbrocini e D'Adamo, 2011). La sincronizzazione del ciclo riproduttivo negli esemplari in allevamento è fondamentale per il successo della procedura di induzione della maturazione sessuale. Regime alimentare e fotoperiodo sono considerati fattori chiave per il controllo del loro ciclo riproduttivo (Shpigel *et al.*, 2004; McCarron *et al.*, 2010). Obiettivo di questo lavoro è stato la valutazione degli effetti combinati di due diversi regimi alimentari e di illuminazione sulle gonadi di *P. lividus* adulti, sottoposti a periodi brevi di stabulazione (4 settimane).

**Materiali e metodi** - Quaranta esemplari adulti di *P. lividus* sono stati allevati per 4 settimane in un sistema a circuito chiuso ( $18 \pm 1$  °C, 36‰) sperimentando due diverse condizioni di alimentazione (digiuno; mangime artificiale, 1.5% biomassa/die) e di illuminazione (buio; fotoperiodo naturale: 15h luce/9h buio). Dieci animali al t0 e tutti gli esemplari (40) al termine della prova sono stati sacrificati per il calcolo dell'indice gonadico (GI) e l'analisi istologica delle gonadi (Fabbrocini e D'Adamo, 2010a); le condizioni riproduttive delle gonadi sono state classificate secondo Byrne (1990). Gli effetti sul GI del regime alimentare e di illuminazione sono stati valutati mediante ANOVA a due vie e Tukey's *post hoc* test.

**Risultati** - L'indice gonadico (Fig. 1A) rimane intorno a 12 durante le 4 settimane di allevamento negli esemplari alimentati, mentre scende intorno a 4 in quelli tenuti a digiuno. L'alimentazione ha un significativo effetto sul GI ( $F=48.59$ ,  $P<0.001$ ), che risulta sempre significativamente maggiore negli esemplari alimentati ( $P<0.001$ ); nessuna significativa differenza è stata invece riscontrata in relazione alle due diverse condizioni di illuminazione. Dopo 4 settimane di alimentazione (Fig. 1B), gli esemplari allevati in regime di fotoperiodo naturale sono quasi tutti nella fase di emissione (V), con gonadi piene di gameti maturi o in via di maturazione; anche negli esemplari in fase VI sono comunque presenti grandi quantità di gameti non ancora emessi; negli esemplari allevati al buio, invece, la presenza di gonadi con gameti maturi ed in via di maturazione (stadi IV-V) risulta meno frequente, anche se ancora una volta gli esemplari in fase VI hanno gonadi ricche di gameti non ancora emessi. Gli esemplari non alimentati sono quasi tutti in fase di post-emissione (VI),

con le gonadi ormai vuote e pochi gameti relitti in via di riassorbimento, in accordo con i valori di GI significativamente inferiori.

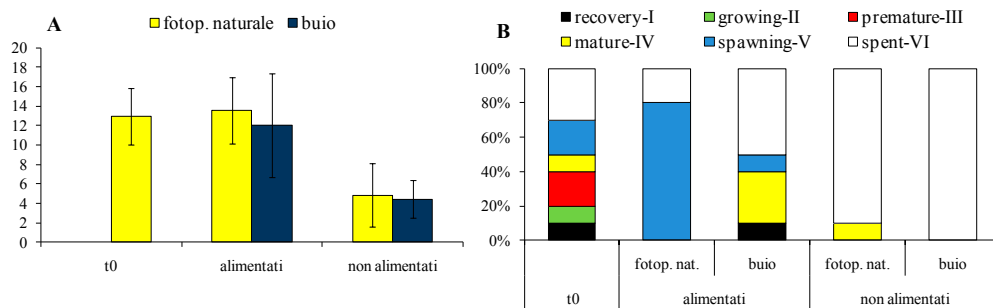


Fig. 1 - Indice gonadico (A) e stadio riproduttivo delle gonadi (B) al momento del prelievo (t0) ed al termine delle 4 settimane nelle varie condizioni sperimentali.

*Gonad Index (A) and gonad reproductive conditions (B) on sampling (t0) and after 4-wk rearing in the various experimental conditions.*

**Conclusioni** - La maggior parte degli esemplari di riccio di mare presentavano al momento del prelievo (t0, Aprile) gonadi ricche di gameti maturi ed in maturazione (stadi IV-V), come già riscontrato in quest'area (Fabbrocini e D'Adamo, 2010b). L'elevata disponibilità di cibo ha poi favorito la maturazione delle gonadi, che invece sono regredite in assenza di alimentazione (Fabbrocini e D'Adamo, 2010a). Sebbene per tempi di allevamento medio-lunghi (12-24 settimane) in *P. lividus* la crescita delle gonadi sia maggiore quando maggiori sono le ore di buio (Shpigel *et al.*, 2004) e l'assenza di illuminazione induca un aumento della velocità di ingestione del cibo (McCarron *et al.*, 2010), per tempi molto ridotti l'alimentazione risulta essere il fattore fondamentale per l'induzione della maturazione gonadale. In conclusione, quando le condizioni riproduttive consentono brevi periodi di stabulazione, la sincronizzazione delle gonadi verso gli stadi di emissione o di regressione può essere indotta controllando semplicemente il regime alimentare, senza necessità di stressare gli animali alterando il fotoperiodo cui erano esposti in ambiente naturale.

## Bibliografia

- BYRNE M. (1990) - Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *P. lividus* from an exposed intertidal and sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Mar. Biol.*, **104**: 275-289.
- FABBROCINI A., D'ADAMO R. (2010a) - Gamete maturation and gonad growth in fed and starved sea urchin *P. lividus* (Lmk, 1816). *J. Shellfish Res.*, **29** (4): 1051-1059.
- FABBROCINI A., D'ADAMO R. (2010b) - Histological examination of the gonads of *P. lividus* (Lmk, 1816) from the Southern Adriatic coast. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 272-273.
- FABBROCINI A., D'ADAMO R. (2011) - Gametes and embryos of sea urchins (*P. lividus*, Lmk 1816) reared in confined conditions: their use in toxicity bioassays. *Chem. & Ecol.*, **27** (2): 105-115.
- MCCARRON E., BURNELL G., KERRY J., MOUZAKITIS G. (2010) - An experimental assessment on the effects of photoperiod treatments on the somatic and gonadal growth of the juvenile European purple sea urchin *P. lividus*. *Aquacult. Res.*, **41** (7): 1072-1081.
- SHPIGEL M., MCBRIDE S.C., MARCIANO S., RON, S., BEN-AMOTZ A. (2004) - Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *P. lividus*. *Aquaculture*, **245**: 101-109.

M. GENOVESE, F. CRISAFI, G. MARICCHIOLO, R. DENARO, S. GANGEMI\*,  
M. YAKIMOV, L. GENOVESE

Institute for Coastal Marine Environment (IAMC), Messina Section,  
Spianata S. Raineri, 86 - 98122 Messina, Italy.  
maria.genovese@iamc.cnr.it

\*University Policlinic "G. Martino", Messina, Italy.

## PRELIMINARY DATA ON THE EXPRESSION OF INTERLEUKINS IL-1 $\beta$ AND IL-10 IN *DICENTRARCHUS LABRAX* AFFECTED BY *VIBRIO ANGUILLARUM* INFECTION

### *ESPRESSIONE DI INTERLEUCHINE IL-1 $\beta$ E IL-10 IN SPIGOLE AFFETTE DA VIBRIOSI (VIBRIO ANGUILLARUM)*

**Abstract** - Interleukins IL-1 $\beta$  and IL-10 expression in *Dicentrarchus labrax* (Teleostei, Moronidae) during the late phase of a naturally occurring infection caused by *Vibrio anguillarum* has been investigated. Results obtained show, the fourth day of infection, a differential expression of IL-1 $\beta$  just in head kidney, while IL-10 is still actively expressed in the intestine, head kidney and gills.

**Key-words:** interleukins, IL-1 $\beta$ , IL-10, *Vibrio anguillarum*, *Dicentrarchus labrax*.

**Introduction** - The European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, is one of the most sensitive species to vibriosis, mostly caused by *Vibrio anguillarum* (Sepulcre, 2007). Today, many commercial vaccines against vibriosis are available, but, in some case, vaccination protocols can fail to exert a substantial effect (Bonaldo *et al.*, 2007) because the mechanism of immune response still remains little known. Recently, researches on immune response regulation of fish (in particular on the interleukins) are rapidly intensifying because of their importance for disease control in aquaculture industry (Secombes and Scheerlinck, 1999). In this study, we have selected interleukins IL-1 $\beta$  and IL-10 because of their role in the immune response of teleosts and their connection with the anti-inflammatory processes which follow a bacterial infection (Bird *et al.*, 2002). We decided to study the late phase of a naturally occurring *V. anguillarum* infection, because literature lacks of observations regarding IL-1 $\beta$  and IL-10 expression after 24h post-injury.

**Materials and methods** - Diagnosis of *V. anguillarum* infection in adult seabass was confirmed by plating tissues on TCBS agar (22 °C for 24-48h) and PCR assay by specific primers (Crisafi *et al.*, 2011). Four days after the onset of the disease, 10 dying fish (with objective evidence of disease) were subjected to euthanasia by an overdose of anaesthesia (MS-222 >250 mg/L) and head kidney, liver, spleen, intestine and gills were collected. The same organs were obtained by healthy sea bass used as control. From 0,01 g of each organ the total RNA was isolated with the RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen), according to the manufacture's and cDNA synthesis was performed using SuperScriptII Reverse Trascriptase (Invitrogene); the cDNA was used as a template for further Real Time PCR analysis. Primers set specific for the IL-1 $\beta$  and IL-10 genes (IL-1 $\beta$  F CAC AAG GAT GGA GAG GAG CC, IL-1 $\beta$  R GAT GTT GAA GGCT CGG TGG - Buonocore *et al.*, 2005; DLIL10FW3 GAA TTT TTC TCT TCT GAC CT, DLIL10RV3 GTC TTC GAC AGTC TGG TCTA - Pinto *et al.*, 2007) of *D. labrax* was used to quantify the expression of the target genes in each organ collected.

**Results** - The expression of IL-1 $\beta$  gene was no detected in the intestine of both infected and control fish, while the infected liver showed an expression level

comparable to that of controls which correspond to a basal value. IL-1 $\beta$  gene was up-regulated in the head-kidney, about three fold higher than controls. On the contrary, IL-1 $\beta$  gene, seems to be down-regulated in the gills, where the relative expression was two-fold lower than controls. A different behavior was shown by IL-10, the expression in the intestine was three times higher in the infected organs than controls. The spleen, as IL-1 $\beta$  gene, showed expression only in the controls. In the head kidney there was an up-regulation, about two fold higher than basal expression, as well as, in the gills. While in the liver, IL-10 expression was two-fold higher in controls than in infected (Fig. 1a-b).

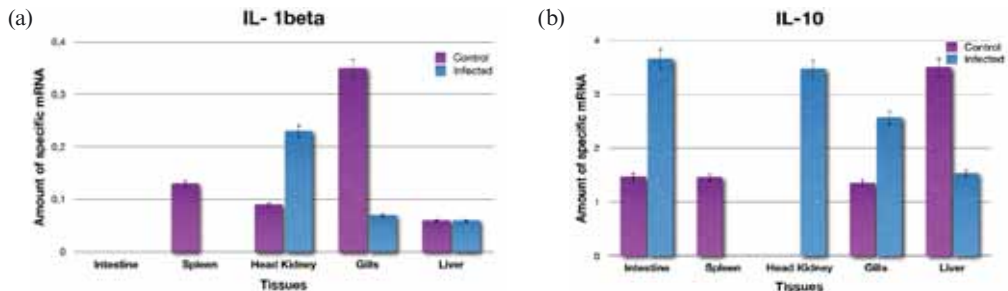


Fig. 1 - Absolute quantization of the amount of mRNA of IL-1 $\beta$  (a) and IL-10 (b) genes in control and infected tissues.

*Real Time quantitative assoluta dell'mRNA dei geni IL-1 $\beta$  (a) e IL-10 (b) in tessuti di controllo e infetti.*

**Conclusions** - In this study we detected a differential expression of IL-1 $\beta$  just in head-kidney, while IL-10 is still actively expressed in the intestine, head kidney and gills. This is in agreement with Sepulcre *et al.*, 2007 that suggest that the role of anti-inflammatory IL-10 might offset the strong induction of inflammatory cytokine. Of course, further study are necessary to understand the time-course of this interleukins during *V. anguillarum* infection.

## References

- BIRD S., ZOU J., WANG T., MUNDAY B., CUNNINGHAM C., SECOMBES C.J. (2002) - Evolution of interleukin-1 $\beta$ . *Cytokine Growth Factor Rev.*, **13**: 483-502.
- BONALDO A., THOMPSON K.D., MANFRIN A., ADAMS S., MURANO E., MORDENTI A.L., GATTA P.P. (2007) - The influence of dietary  $\beta$ -glucans on the adaptive and innate immune responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) vaccinated against vibriosis. *Ital. J. Anim. Sci.*, **6**: 151-164.
- BUONOCORE F., FORLENZA M., RANDELLI E., BENEDETTI E., BOSSU P., MELONI S., SECOMBES C.J., MAZZINI M., SCAPIGLIATI G. (2005) - Biological activity of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) recombinant interleukin-1 $\beta$ . *Mar. Biotechnol.*, **7**: 609-617.
- CRISAFI F., DENARO R., GENOVESE M., CAPPELLO S., MANCUSO M., GENOVESE L. (2011) - Comparison of 16SrDNA and toxR genes as targets for detection of *Vibrio anguillarum* in *Dicentrarchus labrax* kidney and liver. *Res. Microbiol.*, **162** (3): 223-230.
- PINTO R.D., NASCIMENTO D.S., REIS M.I.R., DO VALE A., DOS SANTOS N.M.S. (2007) - Molecular characterization, 3D modelling and expression analysis of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) interleukin-10. *Mol. Immunol.*, **44**: 2056-2065.
- SECOMBES C.J., SCHEERLINCK J.P.Y. (1999) - Cytokines as antimicrobials in animals. *Microbiology Australia*, **20**: 9-10.
- SEPULCRE M.P., LÓPEZ-CASTEJÓN G., MESEGUER J., MULERO V. (2007) - The activation of gilthead seabream professional phagocytes by different PAMPs underlines the behavioural diversity of the main innate immune cells of bony fish. *Mol. Immunol.*, **44**: 2019-2026.



A. PAIS, S. SABA, P. CAMPUS, A. GORLA\*

Sezione di Scienze Zootecniche, Dipartimento di Agraria, Università di Sassari,  
Via E. De Nicola, 9 - 07100 Sassari, Italia.  
pais@uniss.it

\*Compagnia Ostricola Mediterranea, San Teodoro (OT), Italia.

**SOPRAVVIVENZA E CRESCITA DELL'OSTRICA PIATTA  
(*OSTREA EDULIS* LINNAEUS, 1758)  
NELLO STAGNO DI SAN TEODORO (SARDEGNA NORD ORIENTALE)**

***SURVIVAL AND GROWTH OF THE FLAT OYSTER  
(OSTREA EDULIS LINNAEUS, 1758)  
IN THE SAN TEODORO LAGOON (NORTH EASTERN SARDINIA)***

**Abstract** - Sub-adults of *Ostrea edulis* were grown in two distinct groups of *pôches* and baskets at a *Crassostrea gigas* farm in a northern Sardinian lagoon from July to November 2011. Survival and morphometric characters of the molluscs were recorded monthly. At the end of the trial, no differences in oyster survival were found, whereas significant differences among the two groups for length, width and total weight were detected.

**Key-words:** mollusc culture, *Ostrea edulis*, coastal lagoons, Mediterranean Sea.

**Introduzione** - L'ostrica piatta *Ostrea edulis* Linnaeus, 1758 è un bivalve nativo delle coste europee il cui allevamento viene effettuato in diverse zone del Mediterraneo e dell'Atlantico (Zrnčić *et al.*, 2007). Di recente, sono stati condotti alcuni studi sulla possibilità di allevare questa specie in aree costiere dell'Italia meridionale utilizzando strutture portanti (*long-line*) specifiche per la mitilicoltura (Pais *et al.*, 2007; Carlucci *et al.*, 2010). Scopo della presente ricerca, invece, è stato quello di valutare sopravvivenza e crescita dell'ostrica piatta all'interno di un impianto specializzato nella produzione dell'ostrica concava *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), ubicato nello Stagno di San Teodoro (Sardegna Nord orientale; Spiga *et al.*, 2010).

**Materiali e metodi** - Per la prova sono stati utilizzati 360 sub-adulti di *Ostrea edulis* (lunghezza media=64,6±5,5 mm; larghezza media=61,2±5,2 mm; peso totale medio=55,6±10,5 g) provenienti da banchi naturali dell'Alto Adriatico. I molluschi sono stati divisi in 2 gruppi sperimentali ed immessi nelle acque dello stagno nel periodo Giugno-Novembre 2011. Il primo gruppo è stato collocato all'interno di 6 *pôches* rettangolari galleggianti (densità 30 individui per unità), mentre per il secondo, mantenendo la stessa densità, è stato utilizzato un equivalente numero di contenitori cilindrici (*Australian baskets*) comunemente usati per l'allevamento di *Crassostrea gigas*. Mensilmente è stata calcolata la sopravvivenza delle ostriche in entrambi i lotti e sono stati misurati i valori di lunghezza (LU), larghezza (LA) e peso totale (PT) di 10 esemplari per ciascuna unità sperimentale. Al fine di valutare eventuali differenti tassi di sopravvivenza dei molluschi nei 2 gruppi è stato utilizzato il test del Chi-quadrato, mentre per evidenziare possibili differenze di accrescimento dovute alle 2 diverse modalità di allevamento (i.e. *pôches* vs. *baskets*) è stata usata l'Analisi della Varianza (ANOVA) previa applicazione del test C di Cochran per verificare l'omogeneità delle varianze. Infine, è stato applicato il test *a posteriori* di Student-Newman-Keuls (SNK) per trovare ipotesi alternative (Underwood, 1997).

**Risultati** - I valori di sopravvivenza osservati nei 2 gruppi sperimentali sono stati molto simili (60,0% nelle *pôches* vs. 59,4% nei *baskets*) ed il test del Chi-quadrato non ha rilevato differenze significative tra di essi. Dal punto di vista dell'accrescimento,

invece, i risultati dell'ANOVA (Tab. 1) hanno evidenziato differenze altamente significative per tutte e 3 le variabili morfometriche considerate (LU=79,3±2,3 mm nelle *pôches* vs. 74,8±3,6 mm nei *baskets*; LA=71,0±2,1 mm nelle *pôches* vs. 68,2±2,6 mm nei *baskets*; PT=104,4±5,7 g nelle *pôches* vs. 94,7±9,4 g nei *baskets*). Il test SNK ha confermato un maggiore tasso di crescita delle ostriche allevate nelle *pôches*.

Tab. 1 - Risultati dell'ANOVA (p=*pôches*, b=*baskets*; differenze significative in grassetto).  
ANOVA results (p=*pôches*, b=*baskets*; significant differences in bold).

Fonte di variabilità	gdl	Lunghezza			Larghezza			Peso totale		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Attrezzo	1	631,1	22,3	<b>0,0000</b>	238,3	11,7	<b>0,000</b>	2842,1	11,5	<b>0,000</b>
Residui	118	28,3			20,4			246,4		
Cochran test				ns			ns			ns
SNK test				<b>b&lt;p</b>			<b>b&lt;p</b>			<b>b&lt;p</b>

**Conclusioni** - Alla luce dei risultati ottenuti, l'allevamento dell'ostrica piatta appare una pratica acquacolturale sicuramente realizzabile nello Stagno di San Teodoro, sebbene i valori di sopravvivenza osservati non siano stati ottimali. L'impiego di esemplari di origine Adriatica, tuttavia, può avere inciso sulla mortalità dei molluschi allevati. Per quanto concerne gli accrescimenti, invece, gli incrementi morfometrici da noi riscontrati in soli 6 mesi risultano piuttosto incoraggianti, soprattutto se confrontati con quelli registrati in altre esperienze di allevamento della stessa specie effettuate in diverse zone del Mediterraneo centrale (Agius *et al.*, 1978; Zrnčić *et al.*, 2007; Carlucci *et al.*, 2010) ed occidentale (Cano e Rocamora, 1996).

### Bibliografia

- AGIUS C., JACCARINI V., RITZ D.A. (1978) - Growth trials of *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* in inshore waters of Malta (central Mediterranean). *Aquaculture*, **15** (3): 195-218.
- CANO J., ROCAMORA J. (1996) - Growth of the European flat oyster in the Mediterranean Sea (Murcia, SE Spain). *Aquacult. Int.*, **4** (1): 67-84.
- CARLUCCI R., SASSANELLI G., MATARRESE A., GIOVE A., D'ONGHIA G. (2010) - Experimental data on growth, mortality and reproduction of *Ostrea edulis* (L., 1758) in a semi-enclosed basin of the Mediterranean Sea. *Aquaculture*, **306** (1-4): 167-176.
- PAIS A., CHESSA L.A., SERRA S., RUIU A., MELONI G. (2007) - Suspended culture of *Ostrea edulis* (Bivalvia, Ostreidae) in the Calich lagoon (North western Sardinia, Italy): preliminary results. *Ital. J. Anim. Sci.*, **6** (Suppl. 1): 810.
- SPIGA B., FENZI G., SALATI F. (2010) - Prove di trattamento dell'infezione da *Polydora ciliata* in *Crassostrea gigas*. *Ittiopatologia*, **4** (3): 207-213.
- UNDERWOOD A.J. (1997) - *Experiments in ecology. Their logic design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge: 504 pp.
- ZRNČIĆ S., ORAIĆ D., MIHALJEVIĆ Ž., ZANELLA D. (2007) - Impact of varying cultivation depths on growth rate and survival of the European flat oyster *Ostrea edulis*, L. *Aquac. Res.*, **38** (12): 1305-1310.

S. SABA, E. ANTUO FERMO\*, B. MANUNZA, M. PINNA, A. PISANO\*, A. PAIS

Sezione di Scienze Zootecniche, Dipartimento di Agraria, Università di Sassari,  
Via E. De Nicola, 9 - 07100 Sassari, Italy.  
pais@uniss.it

\*Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari, Italy.

## A COMPUTER-BASED METHOD FOR ASSESSING GONADAL MATURITY OF THE GROOVED CARPET SHELL *RUDITAPES DECUSSATUS* (LINNAEUS, 1758)

### UN METODO COMPUTERIZZATO PER LA VALUTAZIONE DELLA MATURITÀ GONADICA DELLA VONGOLA VERACE *RUDITAPES DECUSSATUS* (LINNAEUS, 1758)

**Abstract** - Samples of the grooved carpet-shell, *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758), were collected fortnightly from natural banks in the Porto Pozzo lagoon (northern Sardinia, Italy) from July 2009 to July 2010. Histological techniques and an image-analysis method were used to assess the gametogenic cycle of this species in this biotope. The results obtained showed that the population studied had a single annual spawning event in late summer.

**Key-words:** shellfish, sexual maturity, *Ruditapes decussatus*, computer programs, Mediterranean Sea.

**Introduction** - The grooved carpet shell *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) is a Mediterranean autochthonous species that in Italy is heavily harvested from natural banks. In Sardinia, the culture of this bivalve was recently tested using commercial hatchery seed (Chessa *et al.*, 2005; Pais *et al.*, 2006). The aim of this study was to assess, using a computer-based method, the natural gonadic cycle of *R. decussatus* in order to form a broodstock for its captive breeding in a Sardinian lagoon.

**Materials and methods** - Fifteen adult specimens of *Ruditapes decussatus* were collected fortnightly in the Porto Pozzo lagoon (northern Sardinia, Italy) from July 2009 to July 2010. The molluscs were immediately opened, and their soft body (390 in total) immersed in a 4% aqueous solution of formaldehyde. The visceral mass was separated from the other organs, and longitudinally divided in 2 nearly identical halves. Each sample was dehydrated, embedded in paraffin blocks, sectioned using a microtome to obtain 3 sections 4 µm thick, and stained with Harris' hematoxylin and eosin. For each slide, 9 fields at 20× power (corresponding to 3 different depth levels of the clam body) were randomly chosen to obtain histological pictures of the gonads. Images were digitalised, reduced to a grey-scale colour, and analysed using the ImageJ software package (Abramoff *et al.*, 2004). Sexual gender and *sex-ratio* (expressed as percentage of the specimens collected) were determined. Molluscs sexually immature were classified as "unidentified". Finally, an appropriate macro-routine was developed to calculate the Gonadal Occupation Index (GOI) for each slice obtained as: area occupied by gametes/total area analysed × 100 (Delgado & Pérez Camacho, 2003).

**Results** - On the whole, the ratio females/males showed a stable proportion throughout the year (about 1:1), with the exception of the winter period when a gradual decrease of both sexes and a dramatic appearance of undifferentiated specimens occurred. The highest GOI values of both male (50.73% in July 2009; Fig. 1) and female (22.92% in July 2010; Fig. 1) populations were recorded in summer months, while they steadily decreased in autumn. New increases of the GOI were registered in spring, up to values characteristic of the summer season. In contrast, due to the state

of sexual inactivity of this species in winter months, it was not possible to calculate the GOI for many specimens collected between November and January.

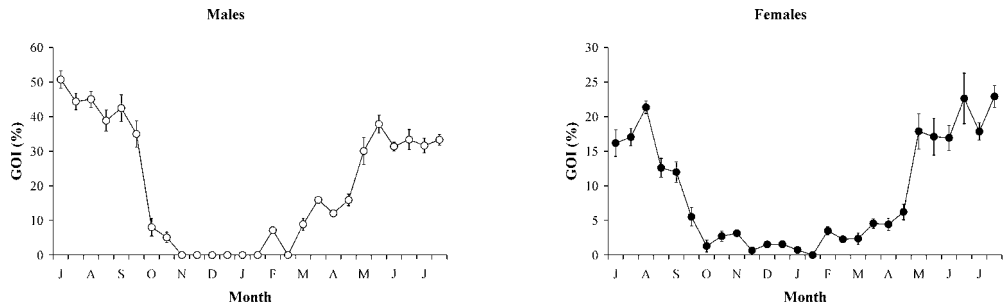


Fig. 1 - Mean GOI ( $\pm$ SE) values in male and female *Ruditapes decussatus* specimens.

Valori medi del GOI ( $\pm$ SE) negli esemplari di sesso maschile e femminile di *Ruditapes decussatus*.

**Conclusions** - Studies on the reproductive cycle of *Ruditapes decussatus* in Italy are still scarce, and up to now no investigations on this subject have been carried out in Sardinia. As far as the *sex-ratio* is concerned, our observations are very similar to those reported from other European coastal areas (Xie & Burnell, 1994). Furthermore, similarly to previous studies from temperate regions (Beninger & Lucas, 1984), the maximum gonadal development (and consequently the highest GOI percentages) of *R. decussatus* was observed at the Porto Pozzo lagoon during late summer. The outcomes of this research confirm the validity and reliability of the method used for assessing gonadal maturity of the grooved carpet shell. Therefore, they can be used as a support for improving bivalve hatchery techniques in many Mediterranean regions.

## References

- ABRAMOFF M.D., MAGELHAES P.J., RAM S.J. (2004) - Image processing with ImageJ. *Biophotonics Int.*, **11** (7): 36-42.
- BENINGER P.G., LUCAS A. (1984) - Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* (L.) (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **79** (1): 19-37.
- CHESSA L.A., PAESANTI F., PAIS A., SCARDI M., SERRA S., VITALE L. (2005) - Perspectives for the development of low impact aquaculture in a western Mediterranean lagoon: the case of the carpet clam *Tapes decussatus*. *Aquacult. Int.*, **13** (1-2): 147-155.
- DELGADO M., PÉREZ CAMACHO A. (2003) - A study of gonadal development in *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca, Bivalvia), using image analysis techniques: influence of food ration and energy balance. *J. Shellfish Res.*, **22** (2): 435-441.
- PAIS A., CHESSA L.A., SERRA S., RUIU A. (2006) - An alternative suspended culture method for the Mediterranean carpet clam, *Tapes decussatus* (L.), in the Calich lagoon (North western Sardinia). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 134-135.
- XIE Q., BURNELL G.M. (1994) - A comparative study of the gametogenic cycles of the clams *Tapes philippinarum* (A. Adams & Reeve, 1850) and *Tapes decussatus* (Linnaeus) on the south coast of Ireland. *J. Shellfish Res.*, **13** (2): 467-472.

S. CARONNI, S. MICHELET<sup>1</sup>, P. PANZALIS<sup>2</sup>, A. NAVONE<sup>2</sup>,  
A. OCCHIPINTI-AMBROGI, N. SECHI<sup>3</sup>, G. CECCHERELLI<sup>3</sup>

Dip. di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia,  
Via Sant'Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.  
sarah.caronni@unipv.it

<sup>1</sup>Dip. di Scienze ambientali, informatica e statistica, Venezia, Italia.

<sup>2</sup>Area Marina Protetta di Tavolara Punta Coda Cavallo, Olbia, Italia.

<sup>3</sup>Dip. di Scienze della Natura e del Territorio, Sassari, Italia.

## PRIMI RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE DI UN NUOVO STRUMENTO PER STIMARE LA DENSITÀ DELLA MICROALGA BENTONICA *CHRY SOPHAEUM TAYLORII* LEWIS & BRYAN

### *TESTING A NEW SAMPLING DEVICE TO ESTIMATE THE DENSITY OF THE BENTHIC MICROALGA CHRY SOPHAEUM TAYLORII LEWIS & BRYAN: FIRST RESULTS*

**Abstract** - In the summer months of 2009 the brush sampler, a new sampling device recently presented as a tool for epilithic community analyses in lakes and streams, was tested on marine hard substrata in Tavolara Punta Coda Cavallo Marine Protected Area. The aim was to verify if it could be useful also to estimate the cell density of the benthic marine microalga *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan (Pelagophyceae).

**Key-words:** samplers, biological data, density, phytobenthos, substrata.

**Introduzione** - *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan è una microalga recentemente ritrovata in Mediterraneo (Lugliè *et al.*, 2008). Nelle ricerche intraprese sulla specie nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo, la sua densità è stata stimata in campioni raccolti con il metodo della siringa (Caronni *et al.*, 2009; Michelet *et al.*, 2011), proposto da Abbate *et al.* (2007) per *Ostreopsis ovata* Fukuyo. Questa tecnica, preferita ad altre utilizzabili allo scopo (Totti *et al.*, 2003) perché troppo invasive per studi in aree protette, permette però di ottenere solo abbondanze relative. In questo lavoro sono presentati i primi risultati di un'indagine atta a testare l'efficacia di uno strumento di campionamento utilizzato in studi sul microfitobenthos d'acqua dolce (*brush sampler*) (Peters *et al.*, 2005) per stimare l'abbondanza di *C. taylorii*.

**Materiali e metodi** - La ricerca è stata condotta nell'agosto del 2010 nelle vicinanze di Porto San Paolo (45°52.983' N; 9°38.179' E). Su substrato duro, alla profondità di 1,50 m, sono stati raccolti in due tempi (T<sub>1</sub>-1 agosto; T<sub>2</sub>-19 agosto) campioni di acqua e materiale epilithico con due differenti strumenti (3 repliche per tecnica), la siringa (SR) ed il brush sampler (BS). Il brush sampler permette di raschiare il substrato con uno spazzolino e risucchiare l'acqua e il materiale presente, limitandone la dispersione. La densità di *C. taylorii* è stata stimata in due sub-campioni per ogni campione, secondo il metodo Utermöhl (Abbate *et al.*, 2007). L'analisi della varianza (2 fattori ortogonali) ha permesso di testare le differenze di densità registrate utilizzando le due tecniche (2 livelli, fisso) in relazione al tempo di prelievo (2 livelli, random).

**Risultati** - Densità medie di cellule vegetative di *C. taylorii* lievemente maggiori sono state registrate, in entrambi i tempi, nei campioni raccolti con il *brush sampler* (274 e 200 cellule ml<sup>-1</sup> per T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> rispettivamente) (Tab. 1). La densità media della microalga nei campioni ottenuti utilizzando il consueto metodo della siringa si è, invece, mantenuta più bassa (246 e 179 cellule ml<sup>-1</sup> rispettivamente per il primo ed il secondo campionamento) (Tab. 1). L'ANOVA ha comunque escluso l'esistenza

di differenze statisticamente significative di densità tra i campioni raccolti con la siringa ed il *brush sampler* ( $F_{1,1}=5,58$ ;  $P>0,05$ ). Dal punto di vista pratico, nonostante l'utilizzo di entrambi gli strumenti sia risultato abbastanza semplice ed immediato e abbia reso possibile il lavoro in apnea, le procedure di campionamento sono apparse nel complesso più veloci e meno laboriose utilizzando la siringa.

Tab. 1 - Densità delle cellule vegetative di *C. taylorii* nei due sub-campioni (SS) analizzati per ciascun campione raccolto con i due strumenti (siringa: SR; brush sampler: BS) nei due tempi di campionamento ( $T_1$ -1 agosto;  $T_2$ -19 agosto).

*C. taylorii* densities in the two analysed sub-samples (SS) of each sample collected with the two devices (syringe: SR; brush sampler: BS) during the two sampling times ( $T_1$ -1<sup>st</sup> August;  $T_2$ -19<sup>th</sup> August).

Densità di <i>C. taylorii</i> (cellule ml <sup>-1</sup> )				
	$T_1$		$T_2$	
	SS <sub>1</sub>	SS <sub>2</sub>	SS <sub>1</sub>	SS <sub>2</sub>
SR <sub>1</sub>	252	256	188	182
SR <sub>2</sub>	245	239	181	175
SR <sub>3</sub>	237	244	174	179
BS <sub>1</sub>	268	272	200	195
BS <sub>2</sub>	282	275	198	196
BS <sub>3</sub>	278	269	209	203

**Conclusioni** - Questi primi risultati suggeriscono che l'uso dell'uno o dell'altro strumento vada deciso di volta in volta, in base al tipo di ricerca che si intende intraprendere. Come già verificato per altre microalghie bentoniche (Abbate *et al.*, 2007), la siringa appare lo strumento più adatto per ottenere rapide stime della densità di *C. taylorii*, mantenendo un grado di precisione accettabile. Il *brush sampler*, invece, essendo più accurato, è ideale per studi sull'ecologia e la biologia della microalga per i quali è fondamentale conoscere con esattezza la densità delle cellule sul substrato. Inoltre, l'utilizzo di quest'ultimo strumento può aumentare la probabilità di rilevare la presenza della microalga nelle fasi iniziali delle sue fioriture, quando le poche cellule presenti sono difficilmente individuabili utilizzando la siringa.

## Bibliografia

- ABBATE M., BORDONE A., CERRATI G., LISCA A., PEIRANO A. (2007) - Variabilità della distribuzione e densità di *Ostreopsis ovata* nel Golfo della Spezia. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 286-287.
- CARONNI S., CASU D., CECCHERELLI G., LUGLIÈ A., NAVONE A., OCCHIPINTI-AMBROGI A., PANZALIS P., PINNA S., SATTA C., SECHI N. (2009) - Distribuzione e densità della microalga bentonica *Chrysophaeum taylori* Lewis & Bryan nell'Area Marina Protetta di Tavolara Punta Coda Cavallo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (1): 250-251.
- LUGLIÈ A., SATTA C., PADEDDE B., PULINA S., SECHI N. (2008) - What is *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan doing in Sardinia (Tyrrhenian Sea, Mediterranean)? *Harmful Algae News*, **36**: 4-6.
- MICHELET S., CARONNI S., CECCHERELLI G., SPANO G., SECHI N. (2011) - Variabilità spazio-temporale della microalga *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan lungo le coste nord-orientali della Sardegna. *Biol. Mar. Mediterr.*, **18** (1): 264-265.
- PETERS L., SCHEIFHACKEN N., KAHLERT M., ROTHHAUPT K.O. (2005) - An efficient in situ method for sampling periphyton in lakes and streams. *Arch. Hydrobiol.*, **163** (1): 133-141.
- TOTTI C., DE STEFANO M., FACCA C., GHIRARDELLI L.A. (2003) - Il microfitobenthos. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 263-284.



S. CARONNI, A. SATTA<sup>1</sup>, P. PANZALIS<sup>2</sup>, A. NAVONE<sup>2</sup>, A. COSSU<sup>1</sup>,  
A. OCCHIPINTI-AMBROGI, N. SECHI<sup>1</sup>, G. CECCHERELLI<sup>1</sup>

Dip. di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia,  
Via Sant'Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.  
sarah.caronni@unipv.it

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Sassari, Italia.

<sup>2</sup>Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo, Olbia, Italia.

## ERADICAZIONE DI *CAULERPA TAXIFOLIA* (VAHL) C. AGARDH NELL'AREA MARINA PROTETTA TAVOLARA PUNTA CODA CAVALLO: CARATTERIZZAZIONE DELLA COLONIA RESIDUA

### ERADICATION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* (VAHL) C. AGARDH IN TAVOLARA PUNTA CODA CAVALLO MARINE PROTECTED AREA: CHARACTERISTICS OF THE RESIDUAL COLONY

**Abstract** - In the summer months of the two-year period 2010-2011 the small settlement of the alien marine macroalga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh still present in the Marine Protected Area of Tavolara Punta Coda Cavallo after two manual eradications was characterised in order to detect any new expansion of the species in the area.

**Key-words:** algae, introduced species, temporal variations, marine parks.

**Introduzione** - La macroalga alloctona *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh è stata segnalata per la prima volta nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo nel 2002, quando, in prossimità dell'Isola di Tavolara, ne è stata individuata una colonia di ridotte dimensioni subito eradicata (Cossu *et al.*, 2004). La colonia residua (150 m<sup>2</sup>) è stata costantemente monitorata dal personale dell'AMP e controllata nel tempo attraverso una seconda eradicazione manuale (2007) che ne ha notevolmente ridotto l'estensione. In questo lavoro sono riportati i risultati di una breve indagine condotta in AMP allo scopo di caratterizzare la piccola colonia tuttora presente in AMP (superficie, densità e lunghezza delle fronde), individuando eventuali nuove espansioni della specie nell'area.

**Materiali e metodi** - Nell'agosto del 2010 (T<sub>1</sub>) e del 2011 (T<sub>2</sub>), quando la biomassa di *C. taxifolia* è massima (Thibaut *et al.*, 2004), la superficie totale occupata dalla colonia di Spalmatore (40.53.402 N; 09.40.590 E) è stata calcolata come suggerito da De Vaugelas *et al.* (1999). La densità di fronde è stata stimata mediante conteggio visivo in quadrati di 50×50 cm posizionati in modo random sul substrato (Duarte e Kirkman, 2001) e, in ciascun quadrato, è stata inoltre misurata la lunghezza della fronda più piccola e della più grande. Tre ANOVA ad un fattore (tempo, random, 2 livelli) hanno permesso di testare la significatività delle differenze tra il 2010 ed il 2011. Infine, per identificare le porzioni di substrato che potrebbero essere maggiormente soggette a future espansioni, intorno alla colonia è stata mappata un'area di circa 800 m<sup>2</sup>.

**Risultati** - La colonia è attualmente composta da una zona centrale in cui *C. taxifolia* è apparsa più densa, circondata da altri spot in cui la macroalga è decisamente meno abbondante. Tali zone sono separate da piccoli posidonieti, le cui caratteristiche non hanno subito sostanziali modifiche nel periodo di studio. Nell'area circostante, il substrato è occupato prevalentemente da matte morta di *Posidonia oceanica* (L.) Delile (~350 m<sup>2</sup>), posidonieti in buono stato di conservazione (~350 m<sup>2</sup>) e substrato sabbioso (~100 m<sup>2</sup>). Le principali caratteristiche dell'insediamento sono descritte in Tab. 1. La velocità di colonizzazione dall'ultima eradicazione al 2010 è stata pari a 6,2 m<sup>2</sup>

Tab. 1 - Principali caratteristiche dell'insediamento nei due anni di studio ( $T_1$ -2010;  $T_2$ -2011): superficie totale ( $S_{tot}$ ), densità media ( $Df_{media}$ ), lunghezza minima ( $Lf_{min}$ ) e massima ( $Lf_{max}$ ) delle fronde.

Main features of the settlement in the two-year study period ( $T_1$ -2010;  $T_2$ -2011): total area ( $S_{tot}$ ), mean density ( $Df_{media}$ ), minimum ( $Lf_{min}$ ) and maximum length ( $Lf_{max}$ ) of blades.

Caratteristiche dell'insediamento nel biennio di studio		
	$T_1$	$T_2$
$S_{tot}$	224 m <sup>2</sup>	212 m <sup>2</sup>
$Df_{media}$	117 fronde m <sup>-2</sup> (> nella zona centrale)	114 fronde m <sup>-2</sup> (> nella zona centrale)
$Lf_{max}$	145,00 mm	163,00 mm
$Lf_{min}$	8,00 mm	9,00 mm

al mese. Tra il primo ed il secondo anno di studio, invece, l'insediamento è regredito di circa 1 m<sup>2</sup> al mese. L'ANOVA ha confermato l'assenza di differenze significative tra i due anni sia per la densità ( $F_{1,28}=0,01$ ,  $P>0,05$ ), sia per la lunghezza minima ( $F_{1,28}=0,41$ ,  $P>0,05$ ) e massima ( $F_{1,28}=0,12$ ,  $P>0,05$ ) delle fronde.

**Conclusioni** - *C. taxifolia* è apparsa non uniformemente distribuita sul substrato, né particolarmente densa, rispetto a quanto osservato in altri studi (Meinesz *et al.*, 1994). Anche la lunghezza massima delle fronde e la velocità di espansione sono risultate inferiori a quelle normalmente registrate (Meinesz *et al.*, 1993; Williams e Grosholz, 2002). La colonia può essere collocata al 1° livello di colonizzazione tra quelli proposti da De Vaugelas *et al.* (1999). Nonostante questo livello sia tipico di colonie giovani, in rapida evoluzione verso i livelli successivi, nel periodo di studio non sono stati registrati significativi incrementi della superficie occupata dalla colonia che sembra, invece, lievemente regredita nel 2011, similmente a quanto avvenuto nelle fasi iniziali della regressione descritta da Ivěša *et al.* (2006) in Adriatico.

## Bibliografia

- COSSU A., PALA D., RAGAZZOLA F. (2004) - Sintesi delle conoscenze sulla distribuzione del genere *Caulerpa* in Sardegna. *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 419-422.
- DE VAUGELAS J., MEINESZ A., BALLESTEROS E., ANTOLIC B., BELSHER T., CASSAR N., CECCHERELLI G., CINELLI F., COTTAROLDA J.M., ORESTANO C., GRAU A.M., JAKLIN A., MORUCCI C., RELINI M., SANDULLI R., SPAN A., TRIPALDI G., ZULJEVIC A., ZAVODNIK N., VAN KLAVEREN P. (1999) - Standardization proposal for the mapping of *Caulerpa taxifolia* expansion in the Mediterranean Sea. *Ocean. Acta*, **22** (1): 85-94.
- DUARTE C.M., KIRKMAN H. (2001) - Methods for the measurement of seagrass abundance and depth distribution. In: Short F.T., Coles R.G. (eds), *Global seagrass research methods*. Elsevier Science, Amsterdam: 141-153.
- IVEŠA L., JAKLIN A., DEVESCOVI M. (2006) - Vegetation patterns and spontaneous regression of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Malinska (Northern Adriatic, Croatia). *Aquat. Bot.*, **8**: 324-330.
- MEINESZ A., BENICHO L., BLACHIER J., KOMATSU T., LEMÉE R., MARI X. (1994) - Note préliminaire sur les variations saisonnières de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. In: Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. (eds), *First International Workshop on Caulerpa taxifolia*. GIS Posidonie, Marseille: 285-290.
- MEINESZ A., DE VAUGELAS J., HESSE B., MAN X. (1993) - Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. App. Phycol.*, **5**: 141-147.
- THIBAUT T., MEINESZ A., COQUILLARD P. (2004) - Biomass seasonality of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea. *Aquat. Bot.*, **80**: 291-297.
- WILLIAMS S.L., GROSHOLZ E.D. (2002) - Preliminary reports from the *Caulerpa taxifolia* invasion in southern California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **233**: 307-310.

S. CHEMELLO, C. ZARZANA, M. GRAZIANO, R. CHEMELLO

Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università di Palermo,  
Via Archirafi, 28 - 90123 Palermo, Italia.  
renato.chemello@unipa.it

## METODOLOGIE DI ANALISI DEL PAESAGGIO NELLA VALUTAZIONE DELL'ETEROGENEITÀ STRUTTURALE NEI REEF A VERMETI

### *APPLICATION OF LANDSCAPE METHODS TO EVALUATE THE STRUCTURAL HETEROGENEITY ON VERMETID REEFS*

**Abstract** - *Landscape ecology is a discipline that uses many indices to describe environmental dynamics as a function of structural patch organization. Application of landscape ecology methods can be a way to evaluate heterogeneity and fragmentation of a habitat. Landscape indices were applied to evaluate if the algal heterogeneity of a vermetid reef can be related to the reef structure. Results show that heterogeneity is independent from reef width, but algal patches are wider and less abundant in a large cuvette and less wide but in higher number in small cuvette.*

**Key-words:** *patchiness, vermetid reefs, heterogeneity, Mediterranean Sea.*

**Introduzione** - Un reef a vermeti è una struttura di origine biogenica formata dall'azione congiunta del Mollusco Gasteropode *Dendropoma petraeum* (Monterosato, 1892) e dall'alga incrostante Rodoficea *Neogoniolithon brassica-florida* (Harvey) Setchell & Mason (1943). I reef a vermeti sono habitat che mantengono elevati livelli di biodiversità, grazie anche alla variabilità della componente algale (Chemello, 2009). All'interno del reef, i popolamenti animali e vegetali si organizzano tra loro in un complesso sistema a mosaico, con dinamiche proprie. Particolare interesse ecologico ha la zona centrale del reef (*cuvette*), compresa tra bordo interno ed esterno, nella quale si concentra la maggior quantità di biodiversità algale. È stata eseguita un'analisi descrittiva su come l'eterogeneità algale possa essere influenzata dalle variabili morfologiche del reef, per evidenziare la relazione tra l'organizzazione delle *patch* algali all'interno della *cuvette* ed estensione della *cuvette* stessa: una maggior ampiezza della *cuvette*, infatti, porterebbe ad un aumento della disponibilità di spazio che potrebbe rivelarsi un fattore rilevante per la disposizione dei popolamenti algali. Il grado di eterogeneità e frammentazione del mosaico ambientale di *cuvette* è stato determinato mediante l'applicazione di indici derivati dall'ecologia del paesaggio, già utilizzati per la descrizione strutturale di comunità bentoniche del Mediterraneo (Garrahou *et al.*, 1998).

**Materiali e metodi** - Lo studio è stato effettuato all'interno di due aree situate nella Sicilia nord-occidentale. Per il campionamento fotografico sono state scelte quattro località in modo che differissero per la tipologia di *cuvette* (due larghe e due strette). In ogni tipologia di *cuvette* sono stati estratti a sorte due siti ed in ogni sito sono state effettuate 5 fotografie di 50×50 cm. Le fotografie sono state trattate con il software ArcMap v.9.3 per evidenziare gli elementi strutturali (*patch*) del mosaico ambientale. Le *patch* sono poi state suddivise all'interno di classi algali generiche di ricoprimento (*Cystoseira* sp., *Padina pavonica*, Ulvales, complesso "*Laurencia*", *Dyctiotales*, *Jania rubens*, Corallinales, *Pterocladia* sp., insieme delle alghe rosse incrostanti - vermeto ed alghe a turf). Mediante il software PatchAnalyst sono stati ottenuti i valori degli indici di ecologia del paesaggio che meglio rappresentavano eterogeneità e grado di frammentazione del mosaico ambientale: numero di *patch* (NumP), dimensione media delle *patch* (MPS), indice di eterogeneità di Shannon

(SDI) e rapporto perimetro/area (MPAR). Calcolando medie e deviazioni standard delle classi di ricoprimento algali, sono state evidenziate le differenze di complessità ed eterogeneità tra le due tipologie di *cuvette*. Per l'analisi statistica si è seguito un approccio multivariato, utilizzando nMDS, SIMPER e PERMANOVA ed applicando le tre procedure sia alle classi di ricoprimento algali che agli indici di ecologia del paesaggio.

**Risultati** - La complessità strutturale è stata valutata confrontando la superficie totale media occupata da ogni classe algale in entrambe le tipologie di *cuvette*. La classe che dà il maggior contributo in termini quantitativi di copertura è composta dalle alghe a turf, sia in *cuvette* ampia che stretta. L'eterogeneità è stata stimata utilizzando il numero medio di *patch* formate da ogni classe algale, sia in *cuvette* stretta e larga. La classe algale con maggior numero di *patch* nelle piattaforme con *cuvette* stretta è *Jania rubens*, che tende a formare un elevato numero di chiazze di piccola dimensione. Nelle piattaforme con *cuvette* larga *Padina pavonica* è la classe di ricoprimento che dà il maggior contributo alla struttura del mosaico ambientale. Per gli indici di ecologia del paesaggio, la differenza maggiore è stata rilevata negli indici NumP e MPS, i quali mostravano andamento opposto a seconda della tipologia di *cuvette*: massimi valori per NumP e minimi per MPS in *cuvette* stretta, mentre la situazione opposta si verifica in *cuvette* larga. Gli indici SDI e MPAR, invece, si mantengono abbastanza omogenei sia per i siti in *cuvette* stretta che in *cuvette* larga.

**Conclusioni** - Le differenze tra le due tipologie di *cuvette* non si sono rivelate statisticamente significative per gli indici di ecologia del paesaggio, ma vi sono comunque alcune considerazioni da fare: l'eterogeneità del mosaico ambientale è pressoché omogenea nelle due tipologie di *cuvette*, ma questo risultato è comprensibile dal momento che era basso il numero di classi algali in entrambe le tipologie. Nei reef a *cuvette* larga era presente un minor numero di *patch* di maggiori dimensioni, mentre in *cuvette* stretta si ritrovano un elevato numero di *patch* di piccole dimensioni, ad indicare un maggior grado di frammentazione del mosaico ambientale. Come dimostrato anche da lavori precedenti (Pellino e Chemello, 2006), gli indici derivati dall'ecologia del paesaggio si dimostrano particolarmente sensibili nel rilevare il grado di frammentazione presente in ambiente di *cuvette*. La maggior differenza tra le due tipologie di *cuvette* è stata osservata nell'analisi delle classi di ricoprimento algale, dove è evidente la segregazione di alcune classi algali, che si ritrovavano preferenzialmente in una sola delle due tipologie di *cuvette*.

### Bibliografia

- CHEMELLO R. (2009) - Le biocostruzioni marine in Mediterraneo: stato delle conoscenze sui reef a vermeti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (1): 2-18.
- GARRABOU J., RIERA J., ZABALA M. (1998) - Landscape pattern indices applied to Mediterranean subtidal rocky benthic communities. *Landscape Ecol.*, **13**: 225-247.
- PELLINO D., CHEMELLO R. (2006) - Applicazione dei metodi di ecologia del paesaggio all'ambiente marino: l'analisi spaziale e temporale del mosaico ambientale sulle piattaforme a vermeti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 618-620.

L.A. CHESSA, M. SCARDI<sup>1</sup>, G. VALIANTE<sup>2</sup>, P. LANERA<sup>3</sup>, S. SERRA<sup>4</sup>

Dipartimento di Agraria - SESAF - Laboratorio di Idrobiologia ed Ecologia Marina,  
Università di Sassari,  
Via De Nicola, 9 - 07100 Sassari, Italia.  
chessa@uniss.it

<sup>1</sup>Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Italia.

<sup>2</sup>ECON srl - Napoli, Italia.

<sup>3</sup>ISPRA - Settore Analisi Costiera Roma, Italia.

<sup>4</sup>Agris Sardegna, Dipartimento di Produzioni Animali, Italia.

## MACROZOOBENTHOS DI FONDO MOBILE NEL GOLFO INTERNO DI OLBIA (SARDEGNA NORD ORIENTALE)

### *SOFT BOTTOM MACROZOOBENTHOS INSIDE THE GULF OF OLBIA (N.E. SARDINIA)*

**Abstract** - The distribution of soft bottom macrozoobenthos, as well as its composition, biomass, diversity and evenness were studied in 40 stations in the Gulf of Olbia (N.E. Sardinia). Polychaetes were the numerically dominant syntaxon (66.1%), followed by Molluscs (27.5%) and Amphipods (3.3%). The stations in the northern part of the Gulf showed the highest diversity and evenness values. As far as macrozoobenthos is concerned, the Gulf of Olbia cannot be considered as a disturbed site.

**Key-words:** Gulf of Olbia, soft bottom, macrozoobenthos, diversity.

**Introduzione** - Questo studio, rientra in un progetto di indagini ecologiche promosso dalla 4° Comunità Montana “Riviera di Gallura” col fine di valutare la possibilità di riallocazione delle aree in cui si svolgono le attività di molluschicoltura. Nelle indagini è stata data particolare enfasi al macrozoobenthos di fondo mobile considerato il suo ruolo negli ambienti di transizione (Munari e Mistri, 2007). Esso rappresenta inoltre la memoria biologica degli ecosistemi marini (Fresi e Gambi, 1982).

**Materiali e metodi** - Sono stati considerati 40 punti di prelievo tra -1 e -9 m (Fig. 1), con 2 al di fuori del golfo (controllo). I campioni sono stati raccolti mediante benna Van Veen con apertura di 0,045 m<sup>2</sup>. Il setacciamento è stato effettuato su maglia da 1 mm. Gli organismi sono stati fissati in formaldeide al 4% colorata con rosa Bengala.

Per l'analisi descrittiva delle comunità del macrozoobenthos sono stati considerati 6 parametri strutturali: abbondanza totale (A), ricchezza specifica (RS), diversità secondo Shannon (H'), equitabilità (J) e indice di dominanza di Simpson (D).

**Risultati** - Nelle 40 stazioni di campionamento (Fig. 1) sono stati raccolti 10.274 individui, ripartiti in 170 taxa. Il syntaxon di gran lunga più rappresentato è stato quello degli Anellidi (66,1% del totale), seguito dai Molluschi (27,5%) e dai Crostacei Anfipodi (3,3%). Il 54% degli individui con D>3 apparteneva a 7 specie: una di Molluschi con *Modiolus adriaticus* (19%) e sei di Policheti (*Hydroides elegans*; *Melinna palmata*; *Cirratulus filiformis*; *Monticellina dorsobranchialis*; *Polidora ligni* e *Myriochele oculata*. Il valore massimo di A è stato registrato nella stazione 11 con 2.435 individui per il 54% appartenenti alla specie *Hydroides elegans*. Le stazioni (31, 33, 36) con i valori di RS più alti erano ubicate nel settore orientale del Golfo. Gli indici H' (Fig. 1) e J sono risultati tanto più alti quanto meglio strutturata era la comunità. Ciò accadeva nelle stazioni del lato nord. Gli indici A, RS ed H' nelle stazioni ubicate alla foce del Rio Padrongiano sono risultati molto simili a quelli riportati da Munari e Mistri (2007).

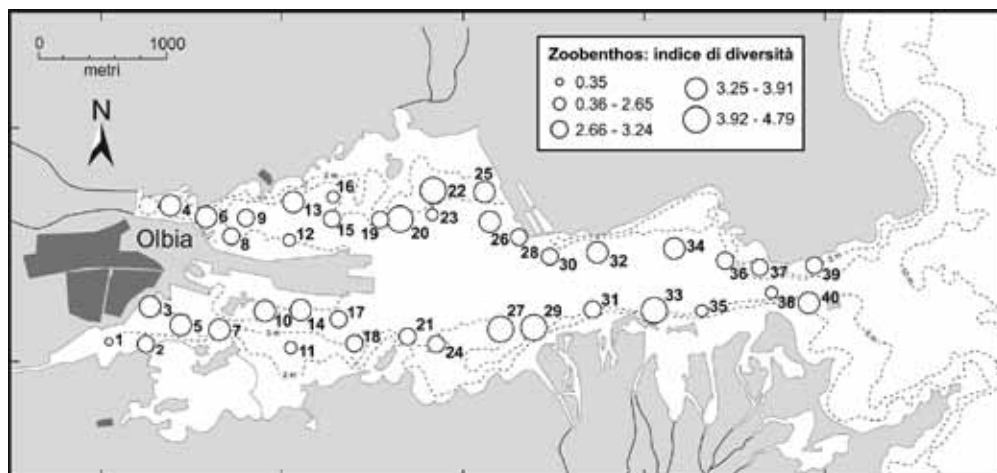


Fig. 1 - Le 40 stazioni di campionamento e l'indice di diversità ( $H'$ ).

*The 40 sampling stations and the diversity index ( $H'$ ).*

**Conclusioni** - In base allo stato del macrozoobenthos, le condizioni ecologiche del golfo di Olbia non sembrano indicare l'esistenza di fenomeni di degrado. Alle profonde trasformazioni che ha subito nel corso del secolo scorso, esso ha risposto determinando l'assetto attuale con popolamenti zoobentonici ben strutturati e ricchi, soprattutto se paragonati a quelli dell'infralitorale superiore di aree costiere limitrofe (stazioni esterne). Ciò indica chiaramente come gli eventi distrofici, che occasionalmente si manifestano, per quanto dannosi per la produzione ittica e spiacevoli per la fruizione dell'ambiente, non incidano in maniera significativa sull'assetto dell'ecosistema che appare fortemente resiliente.

#### Bibliografia

- FRESI E., GAMBI M.C. (1982) - Alcuni aspetti dell'analisi matematica degli ecosistemi marini. *Naturalista sicil.*, Ser. IV, **6** (Suppl.), Fasc. 3: 449-465.
- MUNARI C., MISTRI M. (2007) - Structure and secondary production of the macrobenthic community in an aquatic transition environment of the Gulf of Olbia, Mediterranean Sea. *Indian J. Mar. Sci.*, **36** (3): 216-226.

Progetto finanziato dal Patto Agricolo "Riviera Di Gallura" (Provincia di Olbia).



M. D'ALESSANDRO, V. ESPOSITO, M.C. MANGANO\*, S. GIACOBBE\*, T. ROMEO

ISPRA, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, STS Palermo,  
Laboratorio di Milazzo, Via dei Mille, 44 - 98057 Milazzo (ME), Italia.  
micheladalessandro@alice.it

\*Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,  
C.da Sperone - 98166 Messina, Italia.

## STUDIO PRELIMINARE DELLE COMUNITÀ MACROBENTONICHE DI FONDO MOBILE IN UN'AREA INDUSTRIALIZZATA (GOLFO DI MILAZZO)

### *PRELIMINARY STUDY OF MACROBENTHOS SOFT BOTTOM COMUNITIES IN AN INDUSTRIAL AREA (GULF OF MILAZZO)*

**Abstract** - The structure of the macrobenthic community living in an industrial area located in the southern Tyrrhenian Sea was studied, by means of mollusc, crustacean and echinoderm assemblage (polychaete data are in progress). Overall 136 taxa were identified and the bivalves *Timoclea ovata* and *Lucinella divaricata* were the dominant species. A moderate bottom stress due to river input was detected.

**Key-words:** macrobenthos, ecosystem disturbance, bottom stress.

**Introduzione** - Lo studio del macrobenthos di fondo molle rappresenta un importante strumento per il monitoraggio dell'ambiente marino; le comunità associate sono infatti largamente usate come "indicatori" in caso di cambiamenti di stato in relazione a perturbazioni di origine naturale e/o antropica (Borja *et al.*, 2000). Un caso di studio sugli effetti delle attività antropiche sull'ambiente marino costiero è sicuramente rappresentato dal Golfo di Milazzo (area SIN dal 2005), ove ricadono numerose attività sia economiche (turismo, pesca, ecc.) che industriali (raffineria, centrale termoelettrica, acciaieria, ecc.). Infine, nel Golfo si riversano corsi d'acqua a carattere torrentizio, i maggiori dei quali sono il Floripotema, in prossimità della raffineria, il Muto ed il Niceto, più ad ovest. Il presente lavoro si propone di fornire informazioni preliminari sulle comunità macrozoobentoniche del Golfo di Milazzo al fine di valutare possibili relazioni con le principali attività antropogeniche.

**Materiali e metodi** - Campionamenti su fondo mobile (sabbie siltose) sono stati effettuati mediante benna Van Veen da 18 dm<sup>3</sup> (tre repliche) nel mese di giugno 2010 in 16 stazioni, equamente distribuite fra le quote di 20 m e 50 m in quattro siti dell'area industrializzata del Golfo di Milazzo, e in un bianco individuato ad

ovest (Fig. 1). L'analisi faunistica è stata preliminarmente condotta su crostacei, molluschi ed echinodermi, ove possibile a livello di specie. I policheti sono attualmente oggetto d'indagine. I dati di abbondanza numerica (N) sono stati elaborati mediante tecniche di analisi univariata (Indici di Shannon e Pielou) e multivariata (cluster analysis, ANOSIM, SIMPER). Infine, la tecnica MDS-Scatter Bubble è stata applicata ai dati di abbondanza dei bivalvi *Timoclea ovata*, in

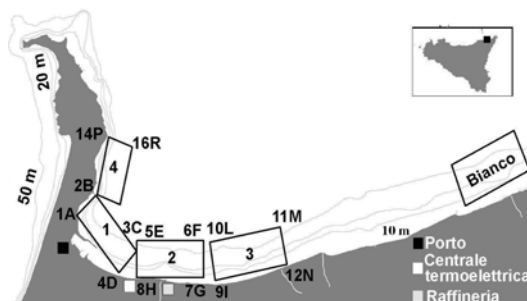


Fig. 1 - Disegno di campionamento.  
*Sample design.*

quanto specie più numerosa, e *Corbula gibba*, in quanto indicatore di torbidità e/o inquinamento.

**Risultati** - Sono stati identificati 136 *taxa* per un totale di 1603 individui, molti dei quali giovanili. I molluschi rappresentavano il 77% delle abbondanze, contro il 20% dei crostacei e il 3% degli echinodermi. Le specie *T. ovata* (N%=33) e *Lucinella divaricata* (N%=15) sono risultate dominanti. Le maggiori abbondanze sono state riscontrate nelle stazioni 12N e 4D (N=401 e 213 rispettivamente), mentre la stazione 8H era la più povera (N=7). I valori più alti degli indici di diversità di Shannon e di evenness di Pielou sono stati registrati rispettivamente nelle stazioni 10L e 8H; i più bassi in 2B e 12N. L'analisi delle similarità (ANOSIM), condotta considerando sia il fattore profondità (20 e 50 m) che il fattore esposizione (a est o ad ovest del porto di Milazzo), evidenzia come la profondità da sola non sia discriminante, mentre risulta influenzata dall'esposizione ( $R=0,416$ ;  $p<0,05$ ). L'analisi dei Cluster, oltre a discriminare le stazioni est ed ovest, evidenzia la netta separazione delle stazioni 2B e 8H. L'analisi SIMPER, effettuata considerando il fattore esposizione, evidenzia un grado di dissimilarità di 81.78%, determinato principalmente da *T. ovata* e *L. divaricata*, che mostrano abbondanze medie più elevate nelle stazioni poste ad est. La MDS-Scatter Bubble sulle abbondanze di *C. gibba*, ha evidenziato abbondanze crescenti da ovest verso est, con un massimo nella stazione 12N, salvo poi decrescere nelle stazioni di bianco. Per *T. ovata*, le maggiori abbondanze si registrano nelle stazioni 12N (198 esemplari), 4D (77 esemplari), 5E (53 esemplari) e nel bianco a 20 m (48 esemplari), con un trend crescente ovest-est.

**Conclusioni** - I popolamenti bentonici considerati hanno mostrato indizi di un moderato stress ambientale che tende ad attenuarsi in direzione est, ma ancora presente nella stazione di bianco. Cause naturali, come l'irregolare apporto continentale, concorrono a determinare l'osservato "disordine" strutturale dei popolamenti, evidenziato anche dalla marcata incidenza di giovanili (Warwick e Clarke, 1993). Emblematico è il dato relativo alla distribuzione spaziale di *T. ovata*, specie mixofila caratteristica dei sedimenti detritici del Piano Circalitorale, che nel Golfo di Milazzo risale fino ai 20 m di profondità, come componente di "popolamenti eterogenei" (*sensu* Picard, 1965). La distribuzione dell'indicatore di instabilità sedimentaria e/o inquinamento *C. gibba*, così come l'irregolare distribuzione dei valori di diversità ed equitabilità, sono in accordo con l'ubicazione dei principali corsi d'acqua, come il torrente Floripotema, che avendo perso la sua naturalità è diventato un semplice collettore di acque reflue. La corrispondente stazione 8H, con valori minimi di ricchezza specifica e bassa diversità si accoppia con la stazione 2B indicando un'area di più marcato stress ambientale avente come centro il porto di Milazzo. È interessante osservare a questo proposito come nell'area non sia emersa la presenza di specie alloctone, possibile indizio di sofferenza ambientale, nonostante l'intenso traffico navale, commerciale e petrolifero.

#### Bibliografia

- BORJA A., FRANCO J., PEREZ V. (2000) - A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Mar. Pollut. Bull.*, **40** (12): 1100-1114.
- PICARD J. (1965) - Recherches qualitatives sur le biocoenoses marines des substrats meubles dragables de la region marseillaise. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **36**: 1-160.
- WARWICK R.M., CLARKE K.R. (1993) - Increase variability as a symptom of stress in marine communities. *J. Exp. Biol. Ecol.*, **172**: 215-226.

M.C. GAMBI, F. BARBIERI\*

Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italy.  
gambimc@szn.it

\*Palinuro Sub D.C., Palinuro (SA), Italy.

## POPULATION STRUCTURE OF THE GORGONIAN *EUNICELLA CAVOLINII* IN THE “GROTTA AZZURRA” CAVE OFF PALINURO, AFTER THE MASS MORTALITY EVENT IN 2008

### *STRUTTURA DI POPOLAZIONE DEL GORGONACEO EUNICELLA CAVOLINII NELLA GROTTA AZZURRA DI PALINURO DOPO L'EVENTO DI MORTALITÀ DEL 2008*

**Abstract** - The population of the gorgonian *Eunicella cavolinii* inside the Grotta Azzurra cave off Palinuro (Salerno) underwent a strong mortality event in late summer 2008, with a mean of 77% of colonies dead. In a further survey, performed in June 2011, 3 years after the mortality event, we could observe a clear recovery of the species, due to strong recruitment by juveniles, especially in the deeper areas of the cave (20-25 m depth).

**Key-words:** *Gorgonacea*, population recovery, depth distribution, cave, Tyrrhenian Sea.

**Introduction** - Trans-phyletic mass mortality phenomena have been frequent in the Western Mediterranean in the last decade due to global climate change (Garrahou *et al.*, 2009). In the Gulf of Naples and along the Campania coast (Tyrrhenian Sea) such mortality events, due to summer heat-waves, have been documented since 2002 (Garrahou *et al.*, 2009; Gambi *et al.*, 2010) and involved mainly the Gorgonacea, *Paramuricea clavata*, *Eunicella singularis* and *Eunicella cavolinii*. In 2008, a mass mortality event, due to a thermal anomaly, was reported for the first time in the Grotta Azzurra” cave off Palinuro (Cilento coast, Salerno) and affected exclusively the local population of *Eunicella cavolinii*, which however represents one of the most abundant and conspicuous organisms inside the cave (Gambi *et al.*, 2010). In this paper we report the population structure and recovery of *E. cavolinii* within the Grotta Azzurra studied during a survey conducted in June 2011, 3 years after the mass mortality event.

**Materials and methods** - The mortality event of *Eunicella cavolinii* was visually observed within the Grotta Azzurra off Palinuro in mid October 2008 and quantitatively monitored in summer 2009 (Gambi *et al.*, 2010). The survey was repeated in June 2011, using the same visual census technique of the 2009 study, and considering the same depths. Three horizontal transects 20 m long were carried out at 15 m, 20 m and 25 m depth. In each transect six random 1 m<sup>2</sup> plots were surveyed to estimate colony density and extent (percentage) of colony tissue damage and necrosis as well as colony height.

**Results** - During the 2009 survey (2008 mortality) *E. cavolinii* within the cave was heavily affected by necrosis and total mortality especially in the upper 15-20 m depth, where alive colonies represented only 10.4 and 12.3 % of the whole colonies, while at 25 m they were 53% (Fig. 1, above); alive colonies were represented from 80% (15 m) to 97% (25 m) by juveniles (>15 cm height). During the survey in June 2011, almost 3 years after the mortality event, we observed a clear increase in the number of total alive colonies, which represented from 49% (15 m) to 73% (25 m) of the total individuals. This trend was due to a strong occurrence of juveniles, which represented from 81% (15 m) to 96% (25 m) of the alive individuals (Fig. 1, below). A general reduction of dead and differently damaged colonies was also evident at all

depths (Fig. 1, below). The results indicate a clear recolonization of the *E. cavolinii* population, which show evident signs of recovery, through recruitment especially in the deeper areas of the Grotta Azzurra cave (20-25 m), and with an optimistic tendency to reach previous adult density levels in a few years, if no further thermal anomalies will occur in the area. These data stress also the importance of regular local surveys to estimate recovery time of species affected by mortality events.

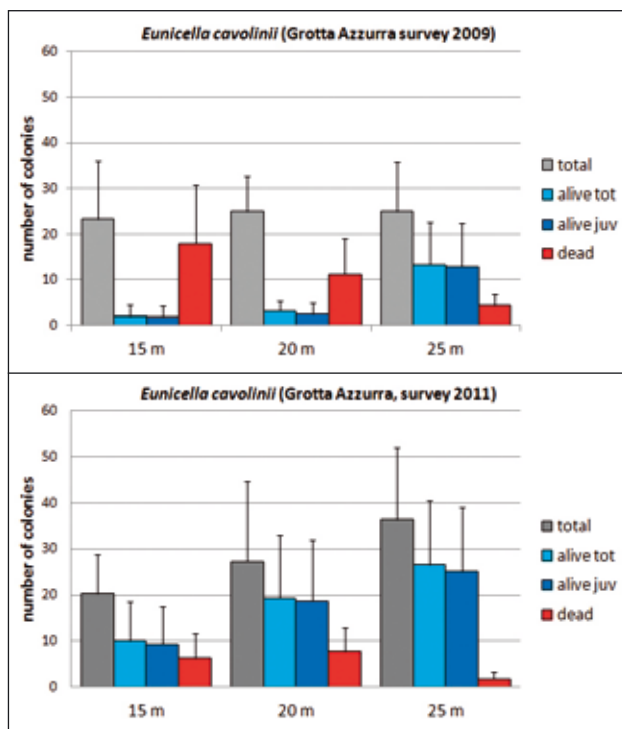


Fig. 1 - Mean density of *Eunicella cavolinii* colonies at three depths within the Grotta Azzurra off Palinuro in summer 2009 survey (mass mortality event in 2008) (above), and in June 2011 survey (below). Bars=s.d.

*Densità media delle colonie di Eunicella cavolinii rilevata a tre profondità nella Grotta Azzurra di Palinuro nell'estate 2009 (evento di mortalità del 2008) (sopra) e nel giugno 2011 (sotto). Barre=s.d.*

**Acknowledgements:** Thanks to the staff of Palinuro Sub D.C. for support during SCUBA diving surveys.

## References

- GAMBI M.C., BARBIERI F., SIGNORELLI S., SAGGIOMO V. (2010) - Mortality events along the Campania coast (Tyrrhenian Sea) in summers 2008 and 2009 and relation to thermal conditions. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 126-127.
- GARRABOU J., COMA R., BENSOUSSAN N., BALLY M., CHEVALDONNÉ P., CIGLIANO M., DIAZ D., HARMELIN J.G., GAMBI M.C., KERSTING D.K., LEDOUX J.B., LEJEUSNE C., LINARES C., MARSCHAL C., PÉREZ T., RIBES M., ROMANO J.C., SERRANO E., TEIXIDO N., TORRENTS O., ZABALA M., ZUBERER F., CERRANO C. (2009) - A new large scale mass mortality event in the NW Mediterranean rocky benthic communities: effects of the 2003 heat wave. *Glob. Change Biol.*, **15**: 1090-1103.

E.C. LA MARCA, R. CHEMELLO

Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università di Palermo,  
Via Archirafi, 28 - 90123 Palermo, Italia.  
lamarcaclaudi@gmail.com

## LA DIMENSIONE FRATTALE DEI REEF A VERMETI

### FRactal DIMENSION OF VERMETID REEFS

**Abstract** - *Fractal geometry can be an useful tool to describe the structural complexity of a vermetid reef. Using fractal analysis of small surfaces, the fractal dimension for the outer rim of some vermetid reefs can be established. A positive correlation between fractal values and the density of *Dendropoma petraeum* is evident.*

**Key-words:** *surface geometry, reef formation, density dependence, Mediterranean Sea.*

**Introduzione** - La frattalità è una caratteristica di molti oggetti naturali che descrive come la complessità di una struttura cresce all'aumentare del dettaglio della scala spaziale di indagine. Un oggetto frattale è distinto, infatti, da una forma molto frastagliata e apparentemente casuale e mostra, talvolta, autosimilarità (Hastings e Sugihara, 1993). Attribuire un valore di dimensione frattale ad una superficie naturale significa quantificare la complessità della sua morfologia e ciò può essere molto utile nello studio della struttura fisica dei substrati e delle relazioni tra il biota e lo spazio da questi percepito ed utilizzato. Frequentemente, infatti, la geometria frattale è stata impiegata per descrivere i modelli di distribuzione spaziale di organismi per lo più terrestri (Gunnarsson, 1992; Morse *et al.*, 1985). Per quanto concerne gli ecosistemi marini, invece, è uno strumento analitico ancora poco applicato (Snover e Committo, 1998). L'obiettivo del presente studio è definire un valore di dimensione frattale per i reef a vermeti, biocostruzioni costiere caratterizzate da una forte complessità topografica e da una ricca biodiversità associata. Un secondo fine è appurare se esiste una relazione tra la dimensione frattale della biocostruzione e la densità della principale specie biocostruttrice, il gasteropode *Dendropoma petraeum*. L'elevata densità di conchiglie del mollusco, infatti, esalta la rugosità del substrato, rendendo la superficie della biocostruzione più articolata e, per ipotesi, ciò si rifletterebbe anche, a scala più piccola, sulla dimensione frattale del reef.

**Materiali e metodi** - Lo studio è stato svolto nell'area marina protetta Capo Gallo-Isola delle Femmine (Sicilia nord-occidentale) nella stagione estiva 2011. La determinazione della dimensione frattale è stata calcolata sulla superficie del margine esterno di reef a vermeti in quattro differenti località, ognuna campionata in due siti. In ogni singolo sito venivano prese cinque impronte di plastilina di 100 cm<sup>2</sup>, in porzioni *random* del bordo esterno del reef; la forma di plastilina veniva di seguito utilizzata per ricavare un calco di gesso. I calchi sono stati fotografati in eguali condizioni di illuminazione ed in assenza di ombre. Le immagini sono state successivamente convertite in scala di grigio per accentuare le disomogeneità del substrato. Le superfici sono state analizzate con il *software* Fractal 3, che per ogni immagine restituiva un valore di dimensione frattale calcolato con il metodo del *box-counting* (Walsh e Watterson, 1993). Il valore medio di dimensione frattale stimato per i siti è stato standardizzato rispetto alla dimensione frattale di una superficie di gesso liscia e, successivamente, correlato alla densità media degli individui vivi di *Dendropoma petraeum*, ottenuta mediante censimento fotografico di immagini 100 cm<sup>2</sup>.

**Risultati** - Il valore di dimensione frattale per la superficie totalmente liscia è 2,02. I siti considerati, invece, hanno un valore medio di dimensione frattale compreso tra 2,26 e 2,44, con una differenza non significativa tra siti di una stessa località. La densità media di *D. petraeum* varia da 65 a 617 individui vivi per 100 cm<sup>2</sup>. Il rapporto tra la dimensione frattale dei siti con i rispettivi valori di densità mostra una forte correlazione positiva [ $R=0,73$  ( $p<0,01$ )].

**Conclusioni** - La valutazione della complessità strutturale del reef a vermeti è stata ottenuta utilizzando la geometria frattale, strumento analitico adatto alla caratterizzazione a piccola scala dell'architettura spaziale della biocostruzione. La dimensione frattale delle piattaforme risulta fortemente correlata alla distribuzione dei molluschi biocostruttori ed aumenta dove la loro densità è maggiore. L'alta densità di *Dendropoma petraeum* esalta la rugosità del substrato, incrementando i valori di dimensione frattale della superficie. I risultati ottenuti dal presente lavoro possono essere utilizzati per stimare quanto la geometria frattale del reef a vermeti influenzi lo spazio disponibile per organismi di differente taglia. Applicando una relazione scala dipendente (Kampichler e Hauser, 1993), infatti, la dimensione frattale diventa un fattore determinante per stabilire l'area percepita e utilizzata dal biota in relazione alla sua dimensione. Diventa interessante, quindi, conoscere la relazione abbondanza/classe di taglia per la biodiversità associata al reef e valutare possibili relazioni con la differente dimensione frattale dei reef nelle diverse località.

#### Bibliografia

- GUNNARSSON B. (1992) - Fractal dimension of plants and body size distribution in spiders. *Func. Ecol.*, **6**: 636-641.
- HASTINGS H.M., SUGIHARA G. (1993) - *Fractals: A User's guide for the Natural Sciences*. Oxford University Press, Oxford: 248 pp.
- KAMPICHLER C., HAUSER M. (1993) - Roughness of soil pore surface and its effect on available habitat space of microarthropods. *Geoderma*, **56**: 223-232.
- MORSE D.R., LAWTON J.H., DODSON M.M., WILLIAMSON M.H. (1985) - Fractal dimension of vegetation and the distribution of arthropod body lengths. *Nature*, **314**: 731-732.
- SNOVER M.L., COMMITTO J.A. (1998) - The fractal geometry of *Mytilus edulis* L. spatial distribution in a soft-bottom system. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **223**: 56-64.
- WALSH J.J., WATTERSON J. (1993) - Fractal analysis of fracture patterns using the standard box-counting technique: valid and invalid methodologies. *J. Struct. Geol.*, **15** (12): 1509-1512.



M. MERCURIO, F. CARDONE, C. LONGO, C. NONNIS MARZANO, G. CORRIERO

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro",  
Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.  
m.mercurio@biologia.uniba.it

## DATI PRELIMINARI SUL CORALLO ROSSO DELLE COSTE PUGLIESI

### *PRELIMINARY DATA ON THE RED CORAL FROM THE APULIAN COAST*

**Abstract** - Preliminary data about the presence and distribution of *Corallium rubrum* along the Ionian Apulian coast are here reported. The study has been carried out in the areas of Santa Caterina and Santa Maria di Leuca (LE) at about 60-80 m of depth, by SCUBA diving. At Santa Caterina the colonies of *Corallium rubrum* showed values of density and size comparable to those of the most preserved Mediterranean populations, whereas lower values were recorded at Santa Maria di Leuca, thus suggesting the hypothesis of a major impact due to fishing activity in this site.

**Key-words:** *Corallium rubrum*, population traits, Ionian Sea.

**Introduzione** - Il coralligeno delle coste pugliesi è forse tra i più importanti e meglio conosciuti su scala nazionale. Distribuito lungo un ampio tratto di costa regionale (gran parte del settore ionico e oltre metà della costa adriatica pugliese), è stato oggetto di numerosi studi di tipo faunistico già a partire dagli anni '60 (Sarà, 1966, 1999; Sarà e Melone, 1963; Parenzan, 1983; Corriero *et al.*, 2004). Tali studi tuttavia, sono stati indirizzati quasi esclusivamente all'analisi della componente più superficiale di questa biocenosi, compresa entro la batimetrica dei -30 m. In questa nota vengono illustrati i risultati preliminari di un'indagine svolta dal Dipartimento di Biologia dell'Università di Bari che documenta la presenza di una ricca fauna bentonica dallo straordinario valore paesaggistico e conservazionistico nella fascia batimetrica compresa tra -40 e -80 m circa in due siti della costa ionica pugliese. In particolare, sono presentati i risultati preliminari relativi a distribuzione, densità e suddivisione in classi di taglia del corallo rosso, con l'obiettivo di valutarne preliminarmente lo stato di conservazione.

**Materiali e metodi** - Indagini conoscitive preliminari presso operatori delle marine locali hanno portato all'individuazione di due aree di studio: la prima situata circa 7 miglia al largo di Santa Caterina (LE), ad una profondità di circa 60 m; la seconda ad una distanza di circa 3 miglia dalla costa di Santa Maria di Leuca (LE), a profondità comprese fra 65 e 70 m. Il campionamento è stato effettuato da operatori subacquei abilitati alle immersioni ad elevate profondità e dotati di autorizzazione al prelievo di corallo rosso. La raccolta è avvenuta utilizzando una griglia di campionamento individuata con criterio random, all'interno delle aree dove la specie era presente (n° di colonie complessivamente prelevate=116). In particolare, in ogni stazione sono state campionate tutte le colonie presenti all'interno di quadrati di 20 cm di lato (3 repliche per stazione). Inoltre, sono stati effettuati rilievi fotografici ortogonali (dodici rilievi di 400 cm<sup>2</sup> ciascuno per ogni stazione) allo scopo di implementare i dati ottenuti mediante il prelievo. In laboratorio ciascuna colonia campionata è stata sottoposta a misurazione del diametro basale e conteggio delle ramificazioni. Le immagini fotografiche sono state trattate ed elaborate mediante Autocad.

**Risultati** - *Santa Caterina*: il popolamento a corallo rosso si estende su un'area di poche decine di m<sup>2</sup> con una distribuzione a mosaico e densità comprese tra 40 e 530 colonie/m<sup>2</sup> (valore medio=320 colonie/m<sup>2</sup>). Dall'analisi integrata dei dati biometrici

relativi alle 45 colonie campionate e dei rilievi fotografici si evince che il diametro basale delle colonie varia tra 2 e 16 mm (diametro medio= $7,6\pm3,5$  mm), con un'ampia ripartizione tra le differenti classi di taglia, ma con una generale prevalenza delle taglie più piccole. Le colonie presentano un numero medio di rami pari a  $4\pm2,6$ .

*Santa Maria di Leuca*: il popolamento, che si estende su una superficie di alcune centinaia di m<sup>2</sup>, è distribuito in forma aggregata, con ampie aree di substrato prive di colonie. I valori di densità di *C. rubrum* in generale appaiono piuttosto modesti, compresi tra 22 e 78 colonie/m<sup>2</sup> (valore medio= $41,5$  colonie/m<sup>2</sup>). I valori di diametro basale delle 71 colonie campionate integrati con i dati ottenuti dai rilievi fotografici, variano tra 1 e 21 mm (media= $4,9\pm3,2$  mm), con la netta prevalenza di colonie di taglia modesta. Il numero medio di rami per colonia è pari a  $2,2\pm2,4$ .

**Conclusioni** - La presente ricerca fornisce i primi dati sulla presenza e distribuzione del corallo rosso in Puglia. La specie, diffusa lungo ampi tratti della costa ionica, a profondità mai inferiori a 50 metri (Corriero *et al.*, dati non pubblicati), è soggetta a sfruttamento commerciale. Secondo gli operatori locali del settore, il prelievo di corallo rosso lungo le coste pugliesi si protrae da oltre un decennio e ha portato alla scomparsa di gran parte delle colonie di taglia più grande. Il presente studio, sebbene di carattere preliminare, sembra confermare tale dato suggerendo tuttavia un diverso stato di conservazione della risorsa nelle due aree d'indagine. In particolare, a Santa Caterina i valori di densità e le dimensioni sono paragonabili a quelli di siti mediterranei dove il corallo rosso è ritenuto in buono stato di conservazione (Gallmetzer *et al.*, 2010). Viceversa a Santa Maria di Leuca, sebbene la specie sia distribuita su una superficie più estesa, i dati dimensionali e i valori di densità suggeriscono la presenza di condizioni di sfruttamento tutt'ora in atto.

### Bibliografia

- CORRIERO G., GHERARDI M., GIANGRANDE A., LONGO C., MERCURIO M., MUSCO L., NONNIS MARZANO C. (2004) - Inventory and distribution of hard bottom fauna from the marine protected area of Porto Cesareo (Ionian Sea): Porifera and Polychaeta. *Ital. J. Zool.*, **71**: 237-245.
- GALLMETZER I., HASELMAIR A., VELIMIROV B. (2010) - Slow growth and early sexual maturity: Bane and boon for the red coral *Corallium rubrum*. *Estuar. Coast. Shelf. S.*, **90**: 1-10.
- PARENZAN P. (1983) - *Puglia Marittima. Vol. 2*. Congedo (Ed), Galatina: 415-688.
- SARÀ M. (1966) - Un coralligeno di piattaforma (coralligène de plateau) lungo il litorale pugliese. *Archiv. Oceanogr. Limnol.*, **15** (Suppl.): 139-150.
- SARÀ M. (1999) - Il ruolo dei poriferi nella biodiversità, struttura e dinamica del coralligeno nel Mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **6**: 144-150.
- SARÀ M., MELONE N. (1963) - Poriferi di acque superficiali del litorale pugliese presso Bari. *Ann. Pontificio Ist. Sup. Sci. Lettere "S. Chiara"*, **25**: 57-70.

Ricerca finanziata dalla Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia.

F. NICORA, L. PALOMBO, S. SIMEONE, M. BAROLI, I. GUALA

Fondazione IMC, International Marine Centre Onlus - 09072 Torregrande (OR), Italy.  
nicora.fabiol@gmail.com

## MONITORING POPULATION OF THE SEA URCHIN *PARACENTROTUS LIVIDUS* AT THE ARCIPELAGO DI LA MADDALENA NATIONAL PARK

### MONITORAGGIO DELLA POPOLAZIONE DI RICCIO DI MARE *PARACENTROTUS LIVIDUS* NEL PARCO NAZIONALE DELL'ARCIPELAGO DI LA MADDALENA

**Abstract** - Density and population structure of *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinidae Echinodermata) were investigated on shallow rocky habitat at the National Park of Arcipelago di La Maddalena. Results point out the high abundance of harvestable sea urchins (commercial size, individuals >50 mm), suggesting a low pressure from fishery. This survey provides a first insight on the sea urchin population in this area and is critical for the sustainable management of the resource.

**Key-words:** fisheries resources, marine parks, seabed mapping, sublittoral zone, Mediterranean Sea.

**Introduction** - The edible sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) is a common resident in shallow infralittoral habitats of the Mediterranean Sea and it is intensely harvested for commercial and recreational purposes (Ceccherelli *et al.*, 2011). In Sardinia, the species is harvested seasonally for local consumption and trade. Recently, the increasing sea urchin demand has resulted in an intense fishing effort responsible for decline of natural populations in many areas (Baroli *et al.*, 2006). Herein, we carry out a quantitative assessment of density and structure of *Paracentrotus lividus* population in the National Park of Arcipelago di La Maddalena (PNALM) aiming to provide a first baseline for the sustainable management of this resource.

**Materials and methods** - The study was carried out at the PNALM (41°13' N, 9°25' E; NE Sardinia, Italy). Seabed maps have been processed in order to quantify rocky surfaces, at two depths (-2 and -5 m), where sea urchins are more abundant (Boudouresque and Verlaque, 2007). Sampling was performed at 30 stations around the two main islands, where pressure of artisanal local fishery is higher, namely the western and eastern sectors of La Maddalena and the eastern sector of Caprera. At each station, sea urchins were collected from the sampling units (5 m<sup>2</sup>, three replicate quadrats at each depths) according to Baroli *et al.* (2006); all individuals were counted and test diameters were measured by means of a vernier calliper. Data were processed to assess: total density (ind. m<sup>-2</sup> >10 mm), stock density (ind. m<sup>-2</sup> >50 mm) and population structure (frequency distribution of 2 mm size classes) at both depths.

**Results** - Both, total density and commercial size decrease with increasing depth. Total density was 3.2±0.3 (mean±standard error) ind. m<sup>-2</sup> at surface stations and 2.1±0.2 ind. m<sup>-2</sup> at 5 m depth. Stock density ranged from 1.8±0.2 ind. m<sup>-2</sup> at the surface to 1.0±0.2 ind. m<sup>-2</sup> in the deepest stations. Frequency distribution analysis of size classes indicated that approximately 60% of commercially useful sea urchins occupied shallow stands; the 50% were found at -5 m. The modal class was at 60 mm in diameter at both depths (Fig. 1).

**Conclusions** - The survey confirms that density decreases with increasing of depth, as described for other regional contexts (Baroli *et al.*, 2006; Guala *et al.*, 2009). The population is characterized by large individuals, with stock fraction over 50%

of total abundance, suggesting a low pressure of harvesting (Guidetti *et al.*, 2004) and a high pressure of predatory fishes on small sea urchins (Sala and Zabala, 1996; Guidetti *et al.*, 2004). This monitoring is the first ever conducted at PNALM and it will be critical to provide a first baseline to ensure that the resource is monitored and managed appropriately.

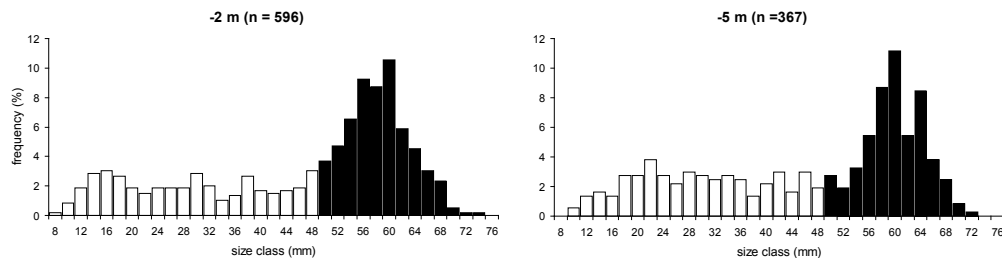


Fig. 1 - Population structures at -2 and -5 m (dark bars indicate the frequencies of the urchins of commercial size).

Struttura di popolazione a -2 e -5 m (le barre scure indicano le frequenze dei ricci di taglia commerciale).

**Acknowledgements:** the Authors thanks Dr. Nikos Andreakis for the revision of the English version.

## References

- BAROLI M., DE FALCO G., ANTONINI C., COPPA S., FACHERIS C. (2006) - Analisi della distribuzione e struttura della popolazione di *Paracentrotus lividus* finalizzata alla gestione della pesca del riccio di mare nell'area marina protetta Penisola del Sinis - Isola di Mal di Ventre (Sardegna Occidentale). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 326-333.
- BOUDOURESQUE C.F., VERLAQUE M. (2007) - Ecology of *Paracentrotus lividus*. In: Lawrence J.M. (ed), *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*. Elsevier publ., Amsterdam: 243-285.
- CECCHERELLI G., PAIS A., PINNA S., SECHI N., CHESSA L.A. (2011) - Human impact on *Paracentrotus lividus*: the result of harvest restrictions and accessibility of locations. *Mar. Biol.*, **158** (4): 845-852.
- GUALA I., SIMEONE S., BAROLI M. (2009) - *Abbondanza e struttura della popolazione di Paracentrotus lividus nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo*. Relazione Finale. Convenzione Fondazione IMC-AMP Tavolara 31.10.2008: 34 pp.
- GUIDETTI P. (2004) - Consumers of sea urchins, *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula*, in shallow Mediterranean rocky reefs. *Helgol. Mar. Res.*, **58**: 110-116.
- GUIDETTI P., TERLIZZI A., BOERO F. (2004) - Effects of the sea edible urchin, *Paracentrotus lividus*, fishery along the Apulian rocky coast (SE Italy, Mediterranean Sea). *Fish. Res.*, **66**: 287-297.
- SALA E., ZABALA M. (1996) - Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in the NW Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **140**: 71-81.

This research was funded by PNALM.

L. ORSI RELINI, F. GARIBALDI

Centro di Biologia Marina del Mar Ligure (DISTAV), Università di Genova,  
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.  
largepel@unige.it

**MUNIDA RUTLLANTI ZARIQUIEY ALVAREZ, 1952 (CRUSTACEA, DECAPODA) E SPECIE CONGENERI BATIALI IN MAR LIGURE**

**MUNIDA RUTLLANTI ZARIQUIEY ALVAREZ, 1952  
(CRUSTACEA, DECAPODA)  
AND CONGENERIC BATHYAL SPECIES IN THE LIGURIAN SEA**

**Abstract** - The presence of *Munida rutllanti* is recorded for the first time in the Ligurian Sea, on the basis of samples collected from the trawl fishery of Sanremo. A brief account about other congeneric species (*M. intermedia*, *M. tenuimana* and *M. rugosa*) recorded on the Ligurian Sea slope is given.

**Key-words:** *Munida rutllanti*, first record, Ligurian Sea, trawl fishery.

**Introduzione** - Nei mari italiani vivono cinque specie del genere *Munida* (Froggia, 2010); *M. curvimana* A. Milne Edwards & Bouvier, 1894, *M. intermedia* A. Milne Edwards & Bouvier, 1899, *M. rugosa* (Fabricius, 1775), *M. rutllanti* Zariquiey Alvarez, 1952 e *M. tenuimana* G.O. Sars 1872. Tre specie, *M. intermedia*, *M. rugosa* e *M. tenuimana* sono state trovate in acque profonde fin dal 1881, con la campagna oceanografica della nave Washington in Sardegna (Senna, 1903). La specie più profonda risultò *M. tenuimana*, ritrovata in due stazioni a 1125 m e 1600 m di profondità; *M. intermedia* fu rinvenuta a 305 m e *M. rugosa* a 508 m. Quasi un secolo più tardi, lo studio dei crostacei decapodi batiali del Mar Ligure fu condotto sulla base del trattato di Zariquiey Alvarez (1968): fu riscontrata la presenza di *M. intermedia* e *M. tenuimana* (Relini Orsi e Relini, 1972) e l'assenza di *M. rutllanti*, coerentemente con il fatto che Zariquiey Alvarez aveva descritto quest'ultima su materiale di Melilla, indicandone la presenza sulla sponda africana del Mediterraneo, in Algeria. Scopo di questa nota è segnalare la presenza di *M. rutllanti* in Mar Ligure e aggiornare il quadro complessivo delle specie congeneri distribuite nel piano batiale.

**Materiali e metodi** - Nell'ambito del progetto CAMPBIOL, campioni di crostacei decapodi non commerciali sono stati ottenuti a bordo di unità della pesca professionale di Sanremo: a) con una giornata di pesca a strascico per i gamberi rossi, a profondità di 500-600 m; b) con due giornate di pesca con reti da posta fissa per naselli e scampi, tra 250 e 400 m.

**Risultati** - Durante le giornate di pesca con reti da posta sono stati campionati complessivamente 24 individui di *M. rugosa* e con la giornata a strascico 24 esemplari di *M. rutllanti* e 2 di *M. intermedia* (Tab. 1).

Tab. 1 - Giornate di campionamento a bordo e numero degli individui di *Munida* raccolti. Tra parentesi l'intervallo di taglia (lunghezza del carapace in mm).

*Onboard sampling and number of Munida specimens collected. In parenthesis the size range (carapace length in mm).*

Data	Luogo	Attrezzo	Profondità	Specie	N° individui totali	N° Femmine	N° Maschi
07/05/2009	Sanremo	Strascico	500-600m	<i>M. rutllanti</i>	24 (8,2 - 17,7)	11(13,0 - 17,7)	13 (8,2 - 15,8)
				<i>M. intermedia</i>	2 (10,9 - 19,7)	1 (19,7)	1 (10,9)
02/06/2009	Sanremo	Rete da posta	250-400	<i>M. rugosa</i>	20 (23,7 - 31,3)	15 (23,7 - 31,3)	5 (23,8 - 27,9)
25/06/2009	Sanremo	Rete da posta	250-400	<i>M. rugosa</i>	4 (22,0 - 24,2)	4 (22,0 - 24,2)	-

**Conclusioni** - Oggi *M. rutllanti* può essere assegnata al pool di specie che hanno esteso il loro areale fino alle latitudini più settentrionali. Infatti nel Mediterraneo occidentale è risalita dal Mare di Alboran fino alla Catalogna, dove furono reperiti i primi individui negli anni '80 (Abelló *et al.*, 1988) ed in seguito fu descritta una popolazione mista a quella di *M. intermedia* (Huguet *et al.*, 2005). Similmente negli anni '70 la specie era stata segnalata nel Mar Egeo (Koukouras e Kattoulas, 1975; D'Udekem D'Acoz, 1999); una trentina di anni più tardi risultò presente nello Ionio greco (Politou *et al.*, 2003) e nell'Adriatico meridionale e centrale (Ungaro *et al.*, 2005; Froglià e Gramitto, 2005). Per la natura dei fondali dell'Adriatico settentrionale, è possibile che in questo mare si fermi alla fossa di Pomo, dove al presente sembra avere sostituito *M. intermedia* (Froglià *et al.*, 2010). Nelle acque occidentali della penisola italiana, essa risulta presente nel settore meridionale, ma assente nel Tirreno centrale e settentrionale (Froglià, 2010). I presenti reperti liguri indicano che la specie ha raggiunto le aree più settentrionali del Mediterraneo occidentale, dove ha colonizzato i fondi su cui in passato, campionando con lo strascico, risultavano presenti solamente *M. tenuimana* e *M. intermedia* (Relini Orsi e Relini, 1972); questa ultima, non menzionata per il Mar Ligure nella check-list dei decapodi, vi è documentata da molto tempo. È interessante l'abbondanza di *M. rugosa* sulla scarpata del Mar Ligure occidentale.

## Bibliografia

- ABELLÓ P., VALLADARES F.J., CASTELLON A. (1988) - Analysis of the structure of decapod crustacean assemblages off the Catalan coast (North-West Mediterranean). *Mar. Biol.*, **98**: 39-49.
- D'UDEKEM D'ACÓZ C. (1999) - Inventaire et distribution des Crustacés décapodes de l'Atlantique nord-oriental, de la Méditerranée et des eaux continentales adjacentes au nord de 25°N. *Museum National d'Histoire Naturelle Paris, Collection Patrimoines Naturels*, **40**: 1-383.
- FROGLIA C. (2010) - Crustacea, Malacostraca, Decapoda. In: Relini G. (ed), Check-list della fauna e della flora dei mari italiani (parte II). *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (Suppl. 1): 519-534.
- FROGLIA C., GRAMITTO M.E. (2005) - Will *Munida rutllanti* (Zariquiey, 1952) replace *Munida intermedia* (Milne-Edwards & Bouvier, 1899) (Decapoda: Galatheididae) in the Central Adriatic trawling grounds? *Proceedings and Abstracts of the Sixth International Crustacean Congress. Glasgow, 18-22 July 2005*: 88 pp.
- FROGLIA C., GRAMITTO M.E., MORELLO E.B. (2010) - In less than 10 years the squat lobster *Munida rutllanti* has replaced *M. intermedia* in the western Pomo Pit (Central Adriatic). *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **39**: 519.
- HUGUET C., MAYNOU F., ABELLÓ P. (2005) - Small-scale distribution characteristics of *Munida* spp. populations (Decapoda: Anomura) off the Catalan coasts (western Mediterranean). *J. Sea Res.*, **53**: 283-296.
- KOUKOURAS A., KATTOULAS M. (1975) - Benthic fauna of the Evvoia coast and Evvoia Gulf. V. Anomura (Crustacea: Decapoda). *Sci. Ann. Fac. Phys. Mathem. Univ. Thessaloniki*, **15**: 277-288.
- POLITOU C.-Y., KAVADAS S., MYTILINEOU C.H., TURSI A., CARLUCCI R., LEMBO G. (2003) - Fisheries resources in the deep waters of the eastern Mediterranean (Greek Ionian Sea). *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, **31**: 35-46.
- RELINI ORSI L., RELINI G. (1972) - Note sui Crostacei Decapodi batiali del Mar Ligure. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **40**: 47-73.
- SENNA A. (1903) - Le esplorazioni abissali nel Mediterraneo del R. Piroscalo "Washington" nel 1881. Nota sui Crostacei Decapodi. *Boll. Soc. Ent. Ital.*, **34** (4): 235-367 + pl. 4-18.
- UNGARO N., MARANO C.A., CERIOLA L., MARTINO M. (2005) - Distribution of demersal crustaceans in the southern Adriatic Sea. *Acta Adriat.*, **46**: 27-40.
- ZARIQUIEY ALVAREZ R. (1968) - Crustáceos Decápodos Ibéricos. *Inv. Pesq.*, **32**: 1-510.



F. OSELLADORE, C. ANTONINI, M. CORNELLO, R. BOSCOLO BRUSÀ

ISPRA – Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale,  
Loc. Brondolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.  
federica.oselladore@isprambiente.it

## SPERIMENTAZIONE PRELIMINARE DI FISSATIVI ALTERNATIVI ALLA FORMALINA PER LA CONSERVAZIONE DI CAMPIONI DI MACROZOOBENTHOS MARINO

### PRELIMINARY TESTING OF ALTERNATIVE FIXATIVES TO FORMALIN FOR PRESERVATION OF MARINE MACROZOOBENTHOS SAMPLES

**Abstract** - Three non-formalin-based fixatives (FineFIX, Glyoxal and Ethanol) to preserve marine macrozoobenthos samples were compared to find a suitable substitute to Formalin. Solutions were tested on Crustaceans and Polychaetes and evaluated according to specific time windows: 7, 15, 30, 60, 120 and 180 days. The considered variables included: color, wet weight, stiffness and resistance to shaking. Best results with Polychaetes were obtained using 40% FineFIX diluted in 60% Ethanol, while no significative differences were observed with Crustaceans using all the tested solutions.

**Key-words:** benthos, fixatives, FineFIX.

**Introduzione** - La Formalina è uno dei fissativi più comunemente usati nella conservazione dei campioni di macrozoobenthos, previa diluizione in acqua di mare (10%) e neutralizzazione con carbonato o borace (Castelli *et al.*, 2003). La nocività della sostanza per la salute umana è oramai assodata e l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (AIRC), a partire dal 2004, l'ha inserita nell'elenco delle sostanze considerate con certezza cancerogene per la specie umana. A tal riguardo nasce l'esigenza di non utilizzare più tale fissativo a scopo di conservazione dei campioni di macrozoobenthos marino. In questo lavoro sono state sperimentate tre soluzioni fissative alternative alla Formalina: il FineFIX (Milestone, Bergamo, Italia) diluito in Etanolo, il Gliossale (un dialdeide) e l'Etanolo al 90%. L'utilizzo del FineFIX e del Gliossale è già stato sperimentato principalmente in ambito istochimico (Stanta *et al.*, 2006; Iesurum *et al.*, 2006; Buesa, 2008) ma tali fissativi non risultano tuttora sperimentati per la fissazione e la conservazione specifica di campioni di benthos marino. Gli obiettivi di questa sperimentazione sono stati quelli di stabilire quale, tra FineFIX, Gliossale ed Etanolo, potesse risultare valido come fissativo per campioni di macrozoobenthos, di definire la miglior concentrazione percentuale tra FineFIX ed Etanolo e di valutare le capacità di conservazione per periodi di tempo medio-lunghi.

**Materiali e metodi** - Sono stati esaminati 540 individui appartenenti ai gruppi dei Crustacea e Polychaeta (324 e 216 rispettivamente) reperiti, i primi, mediante un retino su aree lagunari dove erano presenti abbondanti comunità algali, i secondi acquistati in negozi specializzati data la difficoltà di reperirne in gran numero, della stessa specie e di dimensioni simili. In particolare gli organismi impiegati durante la sperimentazione sono stati: *Marphisa sanguinea* (Polychaeta: Eunicidae), *Nereis caudata* (Polychaeta: Nereididae), *Palaemon elegans* (Crustacea: Palaemonidae), *Gammarus aequicauda* (Crustacea: Gammaridae) e *Lekanesphaera hookeri* (Crustacea: Sphaeromatidae). Tali organismi sono stati conservati in Etanolo al 90%, in una soluzione di alcol etilico e FineFIX al 30%, 40%, 50% e 70%, in Gliossale, e valutati secondo una scadenza temporale (7-15-30-60-120-180 giorni) che rispecchi le esigenze di conservazione dei campioni prima delle analisi e del riconoscimento in laboratorio. Le variabili considerate sono state: colore (su base colorimetrica e fotografica), peso

umido, rigidità degli organismi (secondo una scala a cinque livelli) e resistenza allo scuotimento (tramite l'utilizzo di un agitatore). Dopo aver valutato tali variabili si è proceduto al riconoscimento dell'individuo utilizzando le usuali chiavi dicotomiche.

**Risultati** - Dai primi risultati di questa sperimentazione, la variabile discriminante per la scelta della soluzione più adatta, sembra essere la rigidità degli organismi. Il peso umido e la resistenza allo scuotimento non hanno evidenziato particolari differenze tra le soluzioni. In merito alla colorazione sia i Policheti che i Crostacei hanno più o meno modificato il loro colore originario, passando da colorazioni marroni-rossastre a colori più chiari a seconda che fossero stati conservati in soluzioni con percentuale maggiore o minore di alcol. In linea generale i Crostacei hanno avuto una reazione piuttosto omogenea a tutte le concentrazioni e tipologie di sostanza utilizzata per tutti i periodi di tempo testati. I Policheti sono risultati di maggior interesse per quanto riguarda la discriminazione tra i fissativi; la soluzione più adatta alla loro conservazione è risultata FineFIX al 40% diluito in Etanolo. Inoltre, per periodi di conservazione prolungati, si sono dimostrate adatte anche le soluzioni con una maggiore percentuale di alcol (FineFix al 30% o Etanolo al 90%) sia per i Policheti che per i Crostacei. Risultati positivi per questo fissativo sono stati anche ottenuti nell'ambito di studi di patologia forense dove la fissazione di tessuti con il FineFIX risultava comparabile al materiale fissato in Formalina (Iesurum *et al.*, 2006). Il Gliossale, a differenza di quanto avviene in campo istochimico dove i sostituti non alcolici della Formalina a base di Gliossale vengono considerati come buone alternative alla Formalina (Buesa *et al.*, 2008), in questo studio non ha dimostrato buone capacità conservative rendendo gli organismi di consistenza gommosa e di difficile gestione per il riconoscimento. Inoltre durante la determinazione, il campione deve essere mantenuto sotto cappa aspirante dato il rischio di esposizione dell'operatore ai vapori del fissativo (cfr. scheda di sicurezza).

**Conclusioni** - Il confronto tra tre fissativi alternativi alla Formalina (FineFIX diluito in Etanolo, Gliossale ed Etanolo al 90%), testati su due specie di Policheti e tre di Crostacei, ha portato alla scelta del FineFIX come fissativo più adatto per la conservazione di campioni di macrozoobenthos marino. In particolare la soluzione contenente FineFIX al 40% ed Etanolo al 60% è risultata essere la migliore. Il proseguo di attività volte alla sperimentazione di fissativi alternativi all'utilizzo della Formalina nei laboratori, oltre a ridurre i costi di gestione e smaltimento dei campioni analizzati, potrà permettere di abbattere il rischio per gli operatori nelle varie fasi delle attività (dal trasporto dei campioni all'analisi in laboratorio).

### Bibliografia

- BUESA R.J. (2008) - Histology without formalin? *Annals of Diagnostic Pathology*, **12**: 387-396.
- CASTELLI A., LARDICCI C., TAGLIAPIETRA D. (2003) - Il macrobenthos di fondo molle. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 109-144.
- IESURUM A., BALBI T., VASAPOLLO D., CICOGNANI A., GHIMENTON C. (2006) - Microwave Processing and Ethanol-Based Fixation in Forensic Pathology. *Am. J. Foren. Med. Path.*, **27** (2): 178-182.
- STANTA G., POZZI MUCELLI S., PETRERA F., BONIN S., BUSSOLATI G. (2006) - A Novel Fixative Improves Opportunities of Nucleic Acids and Proteomic Analysis in Human Archive's Tissues. *Diagn. Mol. Pathol.*, **15** (2): 115-123.

P. PANETTA, F. MASTROTOTARO, G. D'ONGHIA

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.  
francesco.mastrototaro@uniba.it

## TANATOCENOSI A MOLLUSCHI DELLA PROVINCIA A CORALLI DI SANTA MARIA DI LEUCA (MAR IONIO)

### *MOLLUSC THANATOCOENOSES OF THE COLD-WATER CORAL PROVINCE OF THE SANTA MARIA DI LEUCA (IONIAN SEA)*

**Abstract** - The study of mollusc thanatocoenoses in the Santa Maria di Leuca coral province allowed to identify 44 species. The thanatocoenoses found on the coral mounds showed a higher biodiversity than those found in the area without corals.

**Key-words:** benthos, marine molluscs, cold-water corals, Mediterranean Sea.

**Introduzione** - Nell'ambito del progetto di ricerca CoralFISH, finanziato dal 7° PQ, è stato possibile effettuare una campagna di prospezione bentonica al largo di Santa Maria di Leuca (Mar Ionio) sui fondali caratterizzati dalla particolare biocenosi a coralli profondi (Tursi *et al.*, 2004). In particolare, sono stati effettuati campionamenti mirati a confrontare la componente faunistica presente sui "mounds" a coralli con quella presente in aree prive di tali biocostruzioni. In questa nota è stata analizzata unicamente la componente a molluschi

**Materiali e metodi** - La campagna di ricerca è stata realizzata ad aprile del 2010 a bordo della nave di ricerca UNIVERSITATIS. I campionamenti sono stati realizzati mediante Box corer in due aree della provincia a coralli di Santa Maria di Leuca. In totale sono state effettuate 6 stazioni: 3 in aree caratterizzate dalla presenza di "mounds" a coralli e 3 in aree prive di tali biocostruzioni in un range di profondità compreso tra i 645 e i 784 m.

**Risultati** - Malgrado il minimo sforzo di campionamento la componente a molluschi, almeno per quanto concerne la tanatocenosi, ha evidenziato una diversificata componente specifica caratterizzata dalla presenza di 44 specie (24 gasteropodi, 2 scafopodi e 18 bivalvi) (Tab. 1). Nelle aree caratterizzate dalla presenza di "mounds" a coralli sono state rinvenute specie tipiche di tali biocenosi come i gasteropodi *Asperiovula adriatica*, *Callostracon tyrrhenicum*, *Coralliophila* sp., *Japonacteon pusillus*, *Liocarenus globulinus*, *Mathilda letei*, *Solatisonax alleryi*, *S. bannocki*, *Spirolaxix clenchi*, nonché i bivalvi *Asperarca nodulosa*, *Batharca pectunculoides*, *B. philippiana*, *Delectopecten vitreus*, *Spondilus gussoni*, *Pododesmus aculeatus* (Melone e Taviani, 1984; Taviani *et al.*, 2009; Rosso *et al.*, 2010; Mastrototaro *et al.*, 2010). Al contrario il campionamento effettuato in aree limitrofe, prive delle biocostruzioni a coralli, ha evidenziato una tanatocenosi molto meno diversificata in cui sono state rinvenute soltanto il 30% delle specie rinvenute nelle aree a coralli. Si tratta per la maggior parte di specie vasicole come i gasteropodi *Bela serga*, *Fusinus sanctaeluciae*, *Nassarius lima*, lo scafopode *Antalis agilis* nonché di bivalvi *Abra longicallus*, *Cardiomya costellata*, *Kelliellia abyssicola* e *Limatula subauriculata* specie tipiche delle melme epibatiali (Panetta, 1975).

**Conclusioni** - Il campionamento mirato in aree caratterizzate e non dalla presenza di biocostruzioni a coralli ha evidenziato, anche per la tanatocenosi a molluschi, una maggiore e diversificata presenza specifica nelle aree a coralli rispetto a quella ritrovata nelle aree prive di tali biocostruzioni. Inoltre, il presente studio ha rilevato

la presenza di specie non ancora segnalate durante i precedenti studi (Rosso *et al.*, 2010; Mastrototaro *et al.*, 2010).

Tab. 1 - Elenco dei resti conchigliari raccolti nella provincia a coralli profondi di Santa Maria di Leuca (C: sedimento mounds a coralli; N: sedimento in prossimità dei mounds a Coralli).

*List of the shells collected in Santa Maria di Leuca coral province (C: coral mounds; N: no coral mounds).*

<b>Gastropoda</b>	C	N	<b>Scaphopoda</b>	C	N
<i>Aclis attenuans</i> Jeffreys, 1883	x		<i>Antalis agilis</i> (G.O. Sars, 1872)	x	x
<i>Alvania cimicoides</i> (Forbes, 1844)	x	x	<i>Episiphon filum</i> (G.B.Sowerby II, 1860)	x	
<i>Anatoma crispata</i> Fleming, 1828	x		<b>Bivalvia</b>		
<i>Asperiovula adriatica</i> (G. B. Sowerby I, 1828)	x		<i>Abra longicallus</i> (Scacchi, 1834)	x	x
<i>Bela serga</i> (Dall, 1881)		x	<i>Asperarca nodulosa</i> (O.F. Muller, 1776)	x	x
<i>Benthonella tenella</i> (Jeffreys, 1869)	x		<i>Batharca pectunculoides</i> (Scacchi, 1834)	x	
<i>Callostracon tyrrhenicum</i> Smriglio Mariottini, 1996	x		<i>Batharca philippiana</i> (Nyst, 1848)	x	x
<i>Certhiopsis barleei</i> Jeffreys, 1867	x		<i>Cardiomya costellata</i> (Deshayes, 1835)	x	x
<i>Coralliophila</i> sp.	x		<i>Delectopecten viterus</i> (Gmelin, 1791)	x	
<i>Emarginula adriatica</i> Costa O. G., 1829	x	x	<i>Ennucula aegensis</i> (Forbes, 1844)	x	
<i>Emarginula fissura</i> (Linnaeus, 1758)	x		<i>Kelliella abyssicola</i> (Forbes, 1844)	x	x
<i>Eulimella ventricosa</i> (Forbes, 1844)	x		<i>Limatula subauriculata</i> (Montagu, 1808)	x	x
<i>Fusinus sanctaeluciae</i> (Von Salis, 1793)	x	x	<i>Montacuta ferruginosa</i> (Montagu, 1808)	x	x
<i>Japonacteon pusillus</i> (McGillivray, 1843)	x		<i>Notolimea crassa</i> (Forbes, 1844)	x	
<i>Liocarenus globulinus</i> (Forbes, 1844)	x		<i>Nucula sulcata</i> Bronn, 1831	x	
<i>Mathilda letei</i> , Prkic e Smriglio 2007	x		<i>Pecten septemradiatus</i> Muller O.F., 1776	x	
<i>Microdrillia loprestiana</i> (Calacara, 1841)	x		<i>Pododesmus aculeatus</i> (O.F.Muller, 1776)	x	
<i>Nassarius lima</i> (Dilwin, 1817)	x	x	<i>Spondylus gussoni</i> O.G.Costa, 1829	x	
<i>Propilidium ancyloide</i> (Forbes, 1840)	x		<i>Thyasira granulosa</i> Monterosato, 1874	x	
<i>Putzeysia wiseri</i> (Calcara, 1842)	x		<i>Yoldiella lucida</i> (Loven, 1846)	x	
<i>Roxania monterosatoi</i> (Dautz e Fischer, 1896)	x		<i>Yoldiella philippiana</i> (Nyst, 1845)	x	
<i>Solatisonax alleryi</i> (G. Seguenza, 1876)	x				
<i>Solatisonax bannocki</i> (Melone e Taviani, 1980)	x				
<i>Spirolaxis clenchi</i> (Jaume e Borro, 1916)	x				

## Bibliografia

- MASTROTOTARO F., D'ONGHIA G., CORRIERO G., MATARRESE A., MAIORANO P., PANETTA P., GHERARDI M., LONGO C., ROSSO A., SCIUTO F., SANFILIPPO R., GRAVILI C., BOERO F., TAVIANI M., TURSI A. (2010) - Biodiversity of the white coral bank off Cape Santa Maria di Leuca (Mediterranean Sea): an update. *Deep. Sea Res. II*, **57**: 412-430.
- MELONE G., TAVIANI M. (1984) - Revisione delle Architectonicidae del Mediterraneo. *Lavori S.I.M.*, **21**: 149-192.
- PANETTA P. (1975) - *Abra longicallus* (Scacchi, 1836) specie caratteristiche delle melme epibatiali. *Oebalia*, **1** (1): 65-91.
- ROSSO A., VERTINO A., DI GERONIMO I., SANFILIPPO R., SCIUTO F., DI GERONIMO R., VIOLANTI D., CORSELLI C., TAVIANI M., MASTROTOTARO F., TURSI A. (2010) - Hard- and soft-bottom thanatofacies from the Santa Maria di Leuca deep-water coral province, Mediterranean. *Deep-Sea Research II*, **57** (5-6): 360-379.
- TAVIANI M., ANGELETTI L., DIMECH M., MIFSUD C., FREIWAIL A., HARASEWYCH M.G., OLIVERIO M. (2009) - Coralliophilinae (Gastropoda: Muricidae) associated with deep-water coral banks in the Mediterranean. *The Nautilus*, **123** (3): 106-112.
- TURSI A., MASTROTOTARO F., MATARRESE A., MAIORANO P., D'ONGHIA G. (2004) - Biodiversity of the white coral reefs in the Ionian Sea (central Mediterranean). *Chemistry & Ecology*, **20** (Suppl. 1): S107-S116.

V. PASQUALE, V. ROMANO, M. GUIDA\*, V. MASTASCUSA, M. GRECO, R. SANDULLI

Department of Environmental Sciences, "Parthenope" University, Naples, Italy.

roberto.sandulli@uniparthenope.it

\*Department of Biological Science, Section Physiology and Hygiene, "Federico II" University, Naples, Italy.

## HYDROLYTIC EXOENZYME SCREENING OF HETEROTROPHIC BACTERIA ASSOCIATED WITH *CORALLIUM RUBRUM*

### *SCREENING DI ESOENZIMI IDROLITICI IN BATTERI ETEROTROFI ASSOCIATI A CORALLIUM RUBRUM*

**Abstract** - Corals establish strict ecological associations with several prokaryotic and eukaryotic microorganisms. Heterotrophic bacterial strains belonging to the genera *Actinomyces*, *Bacillus*, *Kocuria*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* and *Vibrio*, isolated from the surfaces and the tissues of *Corallium rubrum*, have been characterized for the production of hydrolytic exoenzymes (protease, lipase, fosfolipase, DNase, mucinase, chitinase and amilase).

**Key-words:** *Corallium rubrum*, *Bacillus*, *Vibrio*, exoenzymes, extracellular hydrolytic enzyme.

**Introduction** - Recent studies on the ecological relationships between microorganisms (virus, bacteria and algae) and corals have led to the birth of *coral microbiology* (Rosenberg *et al.*, 2007). Several authors have described the interactions between microorganisms and esclerites, particularly after the spread of diseases causing the loss of about 30% of the coral population (Rosenberg *et al.*, 2007; Luna *et al.*, 2007). On the other hand, little is known about the microbiota associated to *Corallium rubrum*, a gorgonacea (Anthozoa, Octocorallia) belonging to the family of *Coralliidae*. During a survey carried out by Pasquale *et al.* (2011), *Actinomyces* sp., *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. pumilus*, *Bacillus* sp., *Kocuria palustris*, *Kocuria* sp., *Pseudoalteromonas* sp., *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus equorum*, *S. vitulinus*, *Vibrio harvey*, *V. hepatarius* and *V. shilonii* were reported as the most representative isolates of the culturable heterotrophic bacterial component associated to colonies of *C. rubrum* sampled from the sea beds surrounding the island of Procida (Southern Italy). The aim of this study was to investigate the production of hydrolytic exoenzymes in bacterial strains isolated from colonies of *C. rubrum*.

**Materials and methods** - Bacterial strains isolated from colonies of *C. rubrum* were cultured on R2A (Oxoid, UK) supplemented with 2% NaCl. Subcultures of the isolates were performed with the agar spot technique on a carbon void medium ( $K_2HPO_4$  0.14 g/l,  $KH_2PO_4$  0.06 g/l,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1 g/l,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.002 g/l,  $ZnSO_4$  0.0002 g/l,  $MgCl_2$  0.0002 g/l, NaCl 20 g/l, agar 1.5%, pH 7.2) and supplemented with substrates specific for the exoenzymes tested: 1.5% gelatin (gelatinases), 1% skim milk (proteases), 1.5% mucin type II (mucinases), 1% colloidal chitin (chitinases), 1.5% soluble starch (amilase), 1% tween 80 (lipase) and 2% egg yolk emulsion (fosfolipase). The production of DNase was tested using DNase Agar (Merck, Germany). The exoenzymes production was evaluated observing the presence of hydrolysis haloes around the bacterial colonies, after up to 7 days incubation at 20 °C.

**Results** - Gelatinases were the most common enzymes produced by the isolates: 47% of them hydrolyzed gelatin, followed by proteases, with 41% of the isolates able to hydrolyze skim milk (Tab. 1). The production of mucinase and chitinase was observed in 38% and 35% of the isolates respectively. Haloes of starch hydrolysis were observed in 29% of the strains, while only one strain of *B. licheniformis*, which was

the one showing the highest heterogeneity in exoenzymes synthesis, produced DNase. None of the tested isolates produced lipase or fosfolipase. *Bacillus*, *Pseudoalteromonas* and *Vibrio* resulted as the genera with the widest pattern of exoenzymes produced. Among the *Vibrionaceae*, considered as potential pathogens of corals, *V. harvey* has been the species with the broadest profile of exoenzymes produced, while *V. shilonii* hydrolyzed only chitin and starch. *Vibrio hepatarium*, for the first time isolated from colonies of corals, produced gelatinase, protease and chitinase.

Tab. 1 - Hydrolytic exoenzyme production in bacterial strains associated with *C. rubrum*.

*Produzione di esoenzimi idrolitici in ceppi batterici associati a C. rubrum.*

Species identified	Strains	Gel	SM	Muc	Chi	Sta	DNase
<i>B. licheniformis</i>	10	6	5	8	7	2	1
<i>B. megaterium</i>	3	2	2	-	-	3	-
<i>B. pumilus</i>	2	2	2	1	-	1	-
<i>B. mycoides</i>	1	1	1	-	-	1	-
<i>P. stutzeri</i>	1	-	-	1	-	1	-
<i>Bacillus</i> sp.	1	1	1	-	-	-	-
<i>K. palustris</i>	3	-	-	-	-	-	-
<i>Kocuria</i> sp.	4	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-
<i>Actinomyces</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-
<i>S. equorum</i>	1	-	-	-	1	-	-
<i>S. vitulinus</i>	1	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	2	2	1	2	2	-	-
<i>V. harveyi</i>	1	1	1	1	-	1	-
<i>V. hepatarium</i>	1	1	1	-	1	-	-
<i>V. shilonii</i>	1	-	-	-	1	1	-
% of strains		47	41	38	35	29	3

Gel: gelatinase; Pro: protease; Muc: mucinase; Amy: amylase; Chi: chitinase.

*Gel: gelatinasi; Pro: proteasi; Muc: mucinasi; Amy: amilasi; Chi: chitinasi.*

**Conclusions** - This study demonstrates that the surfaces (mucus and tissue) of *C. rubrum* can host a wide diversity of bacterial species able to produce exoenzymes involved in processes of mineralization of the organic matter in the marine environment. Further studies, however, are needed to elucidate upon the potential role of bacterial exoenzymes in coral diseases.

## References

- LUNA G.M., BIAVASCO F., DANOVARO R. (2007) - Bacteria associated with the rapid tissue necrosis of stony corals. *Environ. Microbiol.*, **9**: 1851-1857.
- PASQUALE V., GUIDA M., CENNAMO P., MASTASCUSA V., GRECO M., SANDULLI R. (2011) - Cultivable heterotrophic bacteria associated to *Corallium rubrum*. *Biol. Mar. Mediterr.*, **18** (1): 274-275.
- ROSENBERG E., KOREN O., RESHEF L., EFRONY R., ZILBER-ROSENBERG I. (2007) - The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**: 355-362.



E. PRATO, I. PARLAPIANO, F. BIANDOLINO

CNR-Institute for Coastal Marine Environment U.O.S. Taranto,  
Via Roma, 3 - 74100 Taranto, Italia.  
linda.prato@iamc.cnr.it

## POPULATION DYNAMICS OF THE AMPHIPOD *CAPRELLA SCAURA* IN THE MAR PICCOLO OF TARANTO

### *DINAMICA DI POPOLAZIONE DELL'AMFIPODE CAPRELLA SCAURA NEL MAR PICCOLO DI TARANTO*

**Abstract** - This paper examined the biological traits of *Caprella scaura* that can be an explanation for the potential invasive success of this Caprellidae in Mar Piccolo basin (Apulia region, Southern Italy, Ionian Sea). We studied the population dynamics of *Caprella scaura* over a 1-year period.

**Key-words:** Caprellidae, *Caprella scaura*, biological invasion, Mar Piccolo, Ionian Sea.

**Introduction** - Knowledge of the life history and population dynamics of a non-native species is essential to understand the invasive process and impacts on the invaded ecosystems (Krylov *et al.*, 1999). *Caprella scaura* is an amphipod distributed worldwide. It was originally described from Mauritius (Indian Ocean) by Templeton (1836) and successively has extended its geographic distribution. During the last decade, *C. scaura* spread out of the Adriatic Sea, in 2005, it was reported in Gerona (Spain) (Martínez and Adarraga, 2008), and in 2008 it was reported in Mar Piccolo of Taranto, Italy (Eleftheriou *et al.*, 2011) indicating that it is probably invading the whole Mediterranean. The goal of this work was to evaluate the population dynamic of this Caprellidae that may have contributed to its spread in an area of recent colonization.

**Materials and methods** - A single station was considered as representative of the infralittoral area (which extension was approximately 250 m<sup>2</sup>), where the caprellids were present. Sampling was performed every month during one year, from January 2009 to December 2009. Samples were taken randomly on seaweed beds and on algal cover of rocky substrates, at depths of 0.5 m, using a square metal box (50×50 cm). The density of individuals (N ind/m<sup>2</sup>) for each sample was computed. Each individual was measured from the anterior margin of the head to the posterior margin of the telson. The length-frequency distribution and number of cohorts were estimated.

**Results** - A total of 617 individuals of *C. scaura* were collected in the sampling area through the whole studied period. Population density of *C. scaura* at the Mar Piccolo basin varied significantly throughout the year (ANOVA;  $P < 0.001$ ) and showed a peak in March (428 ind/m<sup>2</sup>), a decline in summer months, and then increased again in October (408 ind/m<sup>2</sup>). The latter peak represent the start point of the overwintering generation, which grew during the colder months and reached larger sizes. The juveniles represented the 20% of total population with low values during summer and during the late-winter months (January and February) and increased in March/April and from September to November. The Bhattacharya method allowed us to distinguish 5 cohorts that appeared during 1 year. Considering the disappearance of cohorts, their life span was estimated to be 8-6 months. The longest life span was observed in cohorts born in March which have over-wintered and live for a longer time.

**Conclusions** - The population dynamics of this species were not dissimilar to other caprellids or marine epifaunal Crustacea. It has given rise to a stable population in the Mar Piccolo, since was present all year round in the studied area,

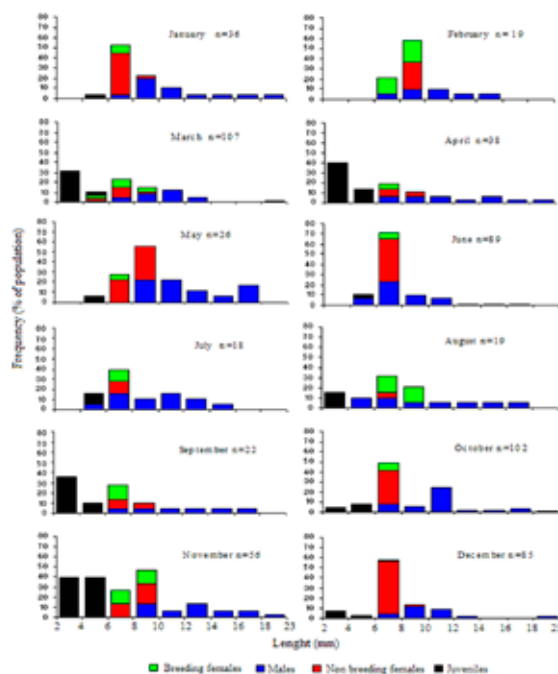


Fig. 1 - Population structure (monthly size-class distribution) of *C. scaura*.

*Struttura della popolazione (distribuzione mensile delle classi di taglia) di C. scaura.*

but its density suggests that does not appear to be a strong invader yet. Taking into account previous investigations, *C. scaura* can be considered as introduced recently, as it was not recorded in this area before, and was collected for the first time in the vicinity of potential introduction sources (e.g., mussel farms, naval harbours) (Prato and Biantolino, 2005). The results of this study provides a background information as to how *C. scaura* might function in a new habitat, could explain the potential invasive success of this Caprellidae in Mar Piccolo basin.

## References

- ELEFThERIOU A., ANAGNOSTOPOULOU-VISILIA E., ANASTASOPOULOU E., ATE S.A., BACHARI N. EL I., CAVAS L., CEVIK C., ULHA M., CEVIK F., DELOS A.L., DERICI O.B., ERGUDEN D., FRAGOPOULU N., GIANGRANDE A., GÖKSAN T., GRAVILI C., GURLEK M., HATTOUR A., KAPIRIS K., KOURAKLIS P., LAMOUTI S., PRATO E., PAPA L., PAPANTONIOU G., PARLAPIANO I., POURSANIDIS D., TURAN C., YAGLIOGLU D. (2011) - New Mediterranean Biodiversity Records (December 2011). *Mediterr. Mar. Sci.*, **12** (2): 491-508.
- KRYLOV P.I., BYCHENKOV D.E., PANOV V.E., RODIONOVA N.V., TELESH I.V. (1999) - Distribution and seasonal dynamics of the Ponto-Caspian invader *Cercopagis pengoi* (Crustacea, Cladocera) in the Neva Estuary (Gulf of Finland). *Hydrobiologia*, **393**: 227-232.
- MARTINEZ J., ADARRAGA I. (2008) - First record of invasive caprellid *Caprella scaura* Templeton, 1836 *sensu lato* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) from the Iberian Peninsula. *Aquatic Invasions*, **3** (2): 165-171.
- PRATO E., BIANOLINO F. (2005) - Amphipod biodiversity of shallow water in the Taranto seas (North-Western Ionian Sea). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **85**: 333-338.
- TEMPLETON R. (1836) - Descriptions of some undescribed exotic Crustacea. *Trans. Entom. Soc. London*, **1**: 185-198.

E. PUNZO, A. DE BIASI<sup>1</sup>, A. SANTELLI, A. SPAGNOLO, G. FABI

CNR – Istituto di Scienze Marine (ISMAR) Sede di Ancona,  
Largo Fiera della Pesca, 1 - 60125 Ancona, Italia.  
e.punzo@an.ismar.cnr.it

<sup>1</sup>Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata,  
Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.

## EFFETTI DELLO SVERSAMENTO DI SEDIMENTI PORTUALI SULLE COMUNITÀ MACROZOOBENTONICHE IN NORD ADRIATICO

### *EFFECTS OF HARBOUR SEDIMENT DUMPING ON THE MACROZOOBENTHIC COMMUNITIES IN NORTHERN ADRIATIC SEA*

**Abstract** - *The potential effects on macrozoobenthos of 19.500 m<sup>3</sup> harbour sediment was investigated during and after the dumping operations in an open-sea area off Senigallia (Northern Adriatic Sea). The macrozoobenthic assemblage did not appear particularly stressed by the sediment disposal, as confirmed by the similarity between dumping sites and control ones.*

**Key-words:** *harbour, sediment, dumping, macrozoobenthos, Northern Adriatic Sea.*

**Introduzione** - Lo sversamento di sedimenti provenienti dal dragaggio dei porti in siti di mare aperto è ampiamente diffuso in Nord America e in Europa (Simonini *et al.*, 2008) ed è ormai riconosciuta l'importanza di valutare le conseguenze di tale attività sugli ecosistemi bentonici. Il presente lavoro riporta gli effetti dello sversamento di sedimenti portuali sulle comunità bentoniche di un'area di scarico in Nord Adriatico.

**Materiali e metodi** - L'area, posta 9 km a NE di Senigallia (prof. 18 m), ha una superficie di ~5 km<sup>2</sup>. Considerando una copertura massima di 5 cm, compatibile con i processi di ricolonizzazione da parte del macrozoobenthos, potrebbe ricevere ~257.000 m<sup>3</sup> di materiale. È soggetta a una corrente diretta verso SE che può raggiungere e superare i 10 cm/s. A metà e fine giugno 2006 sono stati condotti due survey: uno dopo lo sversamento di ~9.000 m<sup>3</sup> di materiale e l'altro al termine dei lavori di scarico (19.500 m<sup>3</sup>). Sono stati campionati 4 siti interni all'area (1S-4S) e 4 controlli esterni (5S-8S) in cui sono stati effettuati un prelievo con box corer per le analisi fisiche e chimiche dei sedimenti e 4 prelievi con benna Van Veen (volume: 13 l; apertura: 0,105 m<sup>2</sup>) per lo studio della comunità bentonica. Questi ultimi campioni sono stati vagliati (maglia: 1 mm) e fissati in formaldeide diluita al 5%. Dopo l'identificazione sistematica sono state ricercate le affinità biocenotiche dei taxa rinvenuti e sono stati calcolati ricchezza specifica totale (S), densità media (n. ind. 0,105/m<sup>2</sup>; N) e diversità specifica media (H'). Lo stato ecologico dell'area è stato valutato tramite gli indici W (Warwick e Clarke, 1994) e AMBI (Borja *et al.*, 2000). Le differenze fra i siti sono state verificate applicando l'MDS (Multi-Dimensional Scaling) alle densità dei singoli taxa. Rilievi del fondale con Multibeam Echosounder (MBES) e Side Scan Sonar (SSS) hanno permesso di valutare il rispetto dei limiti dell'area di scarico e la dispersione dei sedimenti sul fondo.

**Risultati** - Complessivamente tutti i siti sono stati classificati come silt-argillosi. La sostanza organica nei sedimenti è oscillata tra 3,1% e 4,8% nel I survey e tra 3,0% e 5,0% nel II, senza variazioni tra interno ed esterno dell'area. IPA e PCB sono sempre risultati non rilevabili, mentre le concentrazioni dei metalli pesanti sono apparse in generale basse e omogenee tra area di scarico e controlli (Pupilli *et al.*, 2006). Nel I survey sono stati censiti 59 taxa all'interno e 65 all'esterno dell'area,

mentre nel II ne sono stati rinvenuti rispettivamente 58 e 53. Il bivalve *Corbula gibba* è risultato la prima o seconda specie più abbondante ovunque e in entrambi i periodi. Ben rappresentati sono stati anche il bivalve *Scapharca demiri*, i policheti *Sternaspis scutata* e *Lumbrineris gracilis* e l'anfipode *Ampelisca intermedia*. La maggior parte delle specie rinvenute appartiene alle Biocenosi dei Fanghi Terrigeni Costieri e delle Sabbie Fini Ben Calibrate in accordo con la tessitura del substrato. Nel I survey le densità dei controlli sono apparse inferiori rispetto ai siti interni, eccetto 5S in cui si è raggiunto il massimo ( $164,41 \pm 47,63$  ind.  $0,105 \text{ m}^{-2}$ ). A fine lavori si è assistito a una riduzione di N in 1S, 2S e 6S e a un forte incremento in 3S e 8S per l'aumento della densità di *C. gibba* (3S e 8S) e *S. scutata* (8S). Nei restanti siti, invece, i valori sono rimasti simili a quelli del primo survey. H' ha evidenziato la presenza di un popolamento poco diversificato, con valori simili tra l'interno e l'esterno dell'area di scarico e nei due monitoraggi. Nel complesso W ha indicato una leggera situazione di stress ( $-0,13 \leq W \leq -0,01$ ), confermata anche dall'AMBI (lieve disturbo ovunque;  $2,5 \leq \text{AMBI} \leq 3,2$ ), eccetto in 2S, 3S e 5S nel I survey ( $3,3 \leq \text{AMBI} \leq 3,6$ ) e, nel II, in 3S (4,0) e 4S (3,6) caratterizzati da un disturbo moderato. L'MDS ha riunito in un unico cluster tutti i siti monitorati nei due survey, eccetto 8S. Infine, i rilievi con MBES e SSS hanno evidenziato il rispetto dei limiti dell'area e una maggiore quantità di materiale nella parte SW, in corrispondenza di 3S.

**Conclusioni** - Analogamente ad altri studi (Bonvicini Pagliai *et al.*, 2000; Fabi *et al.*, 2008; Simonini *et al.*, 2008) l'omogeneità delle stazioni monitorate durante l'intera indagine indica che le operazioni di sversamento non hanno alterato in modo sostanziale le comunità zoobentoniche presenti nell'area interessata. *C. gibba*, resistente a stress ambientali e tollerante a condizioni di ipossia (Holmes e Miller, 2006), è apparsa la specie più abbondante quasi ovunque nei due survey con un aumento in 3S. Tale sito, infatti, è risultato maggiormente interessato dagli sversamenti indicando lo scarico preferenziale nella zona più vicina al porto di Senigallia, situazione già rilevata in altri casi (Bonvicini Pagliai *et al.*, 2000; Fabi *et al.*, 2008).

## Bibliografia

- BONVICINI PAGLIAI A.M., FRASCARI F., BERGAMINI M.C., CREMA R., MATTEUCCI G., VALENTINI A. (2000) - Effetti biotici ed abiotici dello scarico di materiali di dragaggio portuale sui fondali marini: un caso di studio in Adriatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **7** (1): 752-757.
- BORJA A., FRANCO J., PEREZ V. (2000) - A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar. Poll. Bull.*, **40**: 1100-1114.
- FABI G., MANOUKIAN S., PUNZO E., SPAGNOLO A. (2008) - Impatto dello scarico di fanghi portuali sulle comunità bentoniche di fondo mobile (Nord Adriatico). *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (1): 101-104.
- HOLMES S.P., MILLER N. (2006) - Aspects of the ecology and population genetics of the bivalve *Corbula gibba*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **315**: 129-140.
- PUPILLI A., DE RANIERI S., FABI G., MANOUKIAN S., SPAGNOLO A., TEDESCHI R. (2006) - Monitoraggio dell'area di scarico esterna dei fanghi provenienti dai lavori di escavo del Porto di Senigallia - Risultati dopo la fine delle operazioni di scarico del quantitativo del materiale previsto ( $\sim 19.000 \text{ m}^3$ ) (luglio 2006). Rapporto per il Comune di Senigallia: 64 pp.
- SIMONINI R., ANSALONI A., GRANDI V., MASSABA N'SIALA G., IOTTI M., MAURI M., MONTANARI G., PRETI M., DE NIGRIS N., PREVEDELLI D. (2008) - Effetti dell'estrazione di sabbie e dello sversamento di dragaggi portuali su macrozoobenthos di fondi molli: due casi di studio in Adriatico settentrionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (1): 134-137.
- WARWICK R.M., CLARKE K.R. (1994) - Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities. *Mar. Biol.*, **118**: 739-744.

N. UNGARO, A.M. PASTORELLI, T. DI FESTA

Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale (ARPA Puglia),  
Corso Trieste, 27 - 70126 Bari, Italia.  
n.ungaro@arpa.puglia.it

**DYSPANOPEUS SAYI (SMITH, 1869) - CRUSTACEA, PANOPEIDAE -  
UNA NUOVA PRESENZA NELLA LAGUNA COSTIERA  
DI VARANO (ADRIATICO CENTRO-MERIDIONALE)**

**DYSPANOPEUS SAYI (SMITH, 1869) - CRUSTACEA, PANOPEIDAE -  
A NEW PRESENCE IN THE VARANO COASTAL LAGOON  
(CENTRAL-SOUTHERN ADRIATIC)**

**Abstract** - First record of the alien species *Dyspanopeus sayi* (Smith, 1869), Crustacea, Panopeidae for the coastal lagoon of Varano, located in the central-southern Adriatic coast, is reported. Nine specimens were collected in the lagoon during autumn 2011, using an experimental beach-seine net for the monitoring of fish fauna. Six males and three females were sampled, the carapace width ranging between 17-25 mm and 15-23 mm respectively. The new finding was located 400 km southward with respect the last reported for the Adriatic Sea.

**Key-words:** *Dyspanopeus sayi*, alien species, new finding, central-southern Adriatic Sea.

**Introduzione** - Il crostaceo decapode *Dyspanopeus sayi* (Smith, 1869), specie considerata aliena per il Mediterraneo (Galil *et al.*, 2002), è stato segnalato per la prima volta da Froglija e Speranza (1993) nella laguna di Venezia; si ritiene che la sua introduzione sia stata dovuta ad un trasporto passivo attraverso le acque di zavorra o accidentalmente insieme al seme di molluschi bivalvi utilizzato per l'allevamento (Galil *et al.*, 2002). La specie, originaria della costa atlantica del nord America, è secondo la letteratura comune negli ambienti salmastrici dell'Adriatico settentrionale, e presente sino alle coste della Romagna (Fabbri e Landi, 1999; Galil *et al.*, 2002; Froglija, 2010). Nell'ultimo aggiornamento disponibile della "Checklist della Flora e della Fauna dei Mari Italiani" per la parte riguardante i crostacei decapodi (Froglija, 2010), *Dyspanopeus sayi* viene riportato solo per il settore biogeografico n. 9, corrispondente all'Alto Adriatico tra le coste del Conero fino all'Istria (Bianchi, 2004).

**Materiali e metodi** - Durante il mese di ottobre 2011, nella laguna costiera di Varano sono stati effettuati campionamenti in tre differenti siti (Fig. 1) al fine di indagare le comunità ittiche di questo ambiente di transizione pugliese. L'attrezzo di campionamento era rappresentato da una sciabica da spiaggia di circa 20 m di lunghezza totale, dotata di un sacco con maglia da 2 mm di lato. Ogni sito è stato campionato nella fascia dei primi 25 metri dalla costa, con profondità che non hanno mai superato il metro, utilizzando tre repliche. Tutti le specie raccolte in ogni replica sono state identificate, pesate e misurate. Inoltre, contestualmente alle pescate, sono stati rilevati alcuni parametri chimico-fisici (temperatura, salinità) mediante una sonda multiparametrica.

**Risultati** - Nel sito di campionamento codificato come VA01 (Fig. 1) sono stati raccolti, in due repliche sulle tre effettuate, un totale di nove esemplari del crostaceo decapode *Dyspanopeus sayi* (Smith, 1869) (Fig. 2), in particolare sei maschi e tre femmine. I maschi misuravano tra 17 e 25 mm di larghezza carapace, mentre le femmine tra 15 e 23 mm. Nessuna delle femmine campionate è risultata ovigera. La catture sono state effettuate su un fondale di natura essenzialmente sabbiosa (parzialmente colonizzato da fanerogame), in acque caratterizzate da salinità pari a 27.5 PSU e temperatura di 20.2 °C.





Fig. 1 - Siti di campionamento nella laguna di Varano.

*Sampling sites in the Varano lagoon.*



Fig. 2 - Visione dorsale e ventrale di esemplari di *Dyspanopeus sayi* raccolti nella laguna di Varano.

*Dorsal and ventral view of specimens of *Dyspanopeus sayi* collected in the Varano lagoon.*

**Conclusioni** - La nuova segnalazione del crostaceo decapode *Dyspanopeus sayi* nella laguna di Varano conferma la tendenza di questa specie aliena ad ampliare progressivamente il suo areale di distribuzione nell'Adriatico (Galil *et al.*, 2002), spostandosi verso sud e colonizzando anche il settore biogeografico del Medio Adriatico (settor n. 8). Inoltre, le dimensioni degli esemplari riscontrate, così come le caratteristiche ambientali del sito in cui sono stati raccolti, sono comparabili con quanto riportato in letteratura sull'argomento (Galil *et al.*, 2002).

#### Bibliografia

- BIANCHI C.N. (2004) - Proposta di suddivisione dei mari italiani in settori biogeografici. *Notiziario SIBM*, **46**: 57-59.
- FABBRI R., LANDI D. (1999) - Nuove segnalazioni di molluschi, crostacei e pesci esotici in Emilia-Romagna e prima segnalazione di *Corbicula fluminea* (O.F. Müller, 1774) in Italia (Mollusca Bivalvia, Crustacea Decapoda, Osteichthyes Cypriniformes). *Quad. Studi Nat. Romagna*, **12**: 9-20.
- FROGLIA C. (2010) - Crustacea, Malacostraca, Decapoda. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (Suppl. 1): 519-534.
- FROGLIA C., SPERANZA S. (1993) - First record of *Dyspanopeus sayi* (Smith, 1869) in the Mediterranean Sea (Crustacea: Decapoda: Xanthidae). *Quad. Lab. Tecnol. Pesca*, **5** (2): 163-166.
- GALIL B., FROGLIA C., NOËL P. (2002) - *Crustaceans: decapods and stomatopods*. In: Briand F. (ed), *CIESM Atlas of exotic species in the Mediterranean*. Vol. 2. CIESM Publishers, Monaco: 192 pp.



F. BLASI

L.go T. Solera, 10 - 00199 Roma, Italia.  
blasifilippo@gmail.com

## I BENI E SERVIZI ECOSISTEMICI DELLE AREE MARINE PROTETTE ITALIANE

### *THE ECOSYSTEM GOODS AND SERVICES OF THE ITALIAN MARINE PROTECTED AREAS*

**Abstract** - *The economic valuation of the ecosystem goods and services of Marine Protected Areas can offer a useful support for decisions concerning design and management of MPAs. The aim of this work is to present a general and preliminary classification of the ecosystem goods and services provided by marine biodiversity in the context of Italian MPAs.*

**Key-words:** *Marine Parks, marine ecology, economic analysis, Mediterranean Sea.*

**Introduzione** - I servizi ecosistemici sono definiti come i benefici che derivano direttamente o indirettamente dagli ecosistemi (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; TEEB, 2008). La necessità di mostrare i benefici per la società provenienti dalla conservazione degli ecosistemi tramite le Aree Marine Protette (AMP) e di determinare l'importanza di tale valore per le differenti categorie sociali interessate dalla istituzione delle AMP (al fine di prevenire e risolvere i conflitti), richiede di individuare i beni e i servizi ecosistemici forniti dalla biodiversità marina delle AMP e attribuire loro un valore monetario (Blasi, 2011; Blasi e Cavalletti, 2010). I beni e i servizi ecosistemici sono forniti in modo specifico dagli ecosistemi presenti in ciascuna AMP italiana. Il presente lavoro ha l'obiettivo di proporre una introduttiva classificazione e descrizione dei beni e servizi ecosistemici generalizzata all'insieme delle AMP italiane; esso rappresenta uno studio preliminare utile per le ricerche volte a integrare ecologia e economia per la progettazione e la gestione delle Aree Marine Protette del nostro Paese.

**Materiali e metodi** - Ho considerato differenti classificazioni dei servizi ecosistemici proposte in letteratura (De Groot *et al.*, 2002; Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Beaumont *et al.*, 2006; UNEP, 2006; Blasi, 2011). Analizzando tali studi ho stilato una lista di servizi ecosistemici, secondo le categorie proposte dal Millennium Ecosystem Assessment (2005), che ho selezionato e descritto sulla base della mia attività di ricerca sulle AMP italiane, e del confronto con la letteratura ecologica che riguarda le AMP del Mar Mediterraneo.

**Risultati** - I risultati del mio studio sono riportati nella Tab. 1, che mostra le categorie e le definizioni dei beni e servizi ecosistemici forniti dalla biodiversità marina presente nelle AMP italiane.

**Conclusioni** - L'individuazione e la classificazione proposta dei beni e servizi forniti dalla biodiversità delle AMP italiane può rappresentare una prima base di riferimento per gli studi volti alla quantificazione monetaria dei servizi ecosistemici. È importante compiere ricerche ulteriori dirette a individuare i servizi ecosistemici di ciascuna AMP italiana, e a identificare l'evidenza della fornitura dei servizi relativamente a ogni tipologia di habitat presente (Fletcher *et al.*, 2001).

Tab. 1 - Beni e servizi ecosistemici forniti dalla biodiversità marina presente nelle AMP italiane.  
*Ecosystem goods and services provided by Italian MPAs marine biodiversity.*

Categoria MEA	Bene/Servizio ecosistemico	Definizione
Supporto	Resilienza	La resilienza è importante in relazione alla capacità degli ecosistemi marini di mantenere costante nel tempo la fornitura degli altri servizi ecosistemici. Le AMP possono rappresentare uno strumento con cui applicare il principio di precauzione di fronte all'incertezza che riguarda le conseguenze della scomparsa delle specie sulla stabilità delle comunità marine
	Habitat fornito dagli organismi marini	Nelle AMP italiane devono essere oggetto di speciale protezione le praterie di <i>Posidonia oceanica</i> , le grandi alghe brune, le alghe corallinacee e molti invertebrati biocostruttori
	Ciclo dei nutrienti	Ruolo degli organismi marini nell'incorporare, riciclare e mantenere la disponibilità dei nutrienti (azoto, fosforo, etc.)
	Biodiversità genetica	Conservazione delle popolazioni e della loro biodiversità genetica tramite una AMP, e un sistema di AMP, a livello nazionale e di bacino del Mediterraneo
Approvvigionamento	Approvvigionamento di cibo	Effetto positivo delle AMP sulla fauna ittica di interesse commerciale, all'interno delle aree protette, e all'esterno (effetto <i>spillover</i> ; dispersione di uova e larve)
Regolazione	Regolazione dei gas e del clima	Benefici a scala locale, e benefici ad ampia scala spaziale e temporale, derivanti dall'equilibrio e il mantenimento, da parte della biodiversità marina protetta tramite le AMP, della qualità dell'acqua e dell'aria, e di un clima favorevole per le attività e per le specie utili all'uomo
	Prevenzione dai danni dell'erosione e protezione delle coste	AMP per conservare gli organismi che, a scala locale, stabilizzano i sedimenti (fanerogame e macroalghe) e dissipano l'energia delle onde e delle correnti litoranee (fanerogame, macroalghe, alghe corallinacee e biocostruttori)
	Trattamento dei rifiuti	Rimozione e demolizione fisica e chimica dei composti inquinanti da parte degli organismi marini
Culturali	Patrimonio culturale e d'identità	Valore culturale associato alle coste e alle isole italiane: recupero della pesca artigianale; tradizioni religiose e culturali; artigianato e arte; libri e documentari
	Valori cognitivi	(1) Valore degli ecosistemi marini protetti per la ricerca scientifica; le AMP italiane costituiscono luoghi privilegiati: (a) per la ricerca che conduce, ogni anno, a numerose pubblicazioni scientifiche; (b) per monitorare il cambiamento ambientale (studi dell'«effetto riserva»; del cambiamento climatico; della diffusione degli inquinanti; di controllo per acquisizione informazioni sulle risorse ittiche; etc.). (2) Valore delle AMP per l'educazione ambientale, che può consentire, nei visitatori e nelle popolazioni residenti, un incremento delle conoscenze e l'adozione di comportamenti nuovi nei confronti dell'ambiente
	Tempo libero e ricreazione	Benefici di un ambiente naturale integro, all'interno delle AMP, dove compiere l'attività subacquea e altre attività sportive e ricreative
	Valore intrinseco delle specie e degli ecosistemi marini	Le AMP rappresentano un luogo privilegiato per custodire il valore di esistenza delle specie animali <i>simpatiche</i> e della biodiversità minacciata di estinzione caratteristiche del Mar Mediterraneo

## Bibliografia

- BEAUMONT N.J., TOWNSEND M., MANGI S., AUSTEN M.C. (2006) - *Marine Biodiversity: an economic valuation*. Final Report to Defra.
- BLASI F. (2011) - Il valore economico della biodiversità nelle Aree Marine Protette. In: Marino D. (ed), *Le Aree Marine Protette italiane. Stato, politiche, governance*. Franco Angeli, Milano: 105-119.
- BLASI F., CAVALLETTI B. (2010) - Un tasso di sconto per le praterie di *Posidonia oceanica*. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 316-317.
- DE GROOT R.S., WILSON M.A., BOUMANS R.M.J. (2002) - A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecol. Econ.*, **41**: 393-408.
- FLETCHER S., SAUNDERS J., HERBERT, R.J.H. (2011) - A review of the ecosystem services provided by broad-scale marine habitats in England's MPA network. *J. Coastal Res.*, **SI**, **64**: 378-383.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT (2005) - *Ecosystems and Human Well-Being: Biodiversity synthesis*. World Resources Institute, Washington, DC: 86 pp.
- TEEB (2008) - *The Economics of Ecosystems and biodiversity. An interim report*. European Commission, Brussels: 64 pp.
- UNEP (2006) - *Marine and coastal ecosystems and human wellbeing: A synthesis report based on the findings of the Millennium Ecosystem Assessment*. UNEP: 76 pp.

E. CECCHI, M. RIA, L. PIAZZI\*, F. SERENA

ARPAT, Via Marradi, 114 - 57126 Livorno, Italia.

e.cecchi@arpat.toscana.it

\*CIBM, Livorno, Italia.

## CARTOGRAFIA DEI POPOLAMENTI INTERTIDALI DELLE COSTE ROCCIOSE TOSCANE E APPLICAZIONE DELL'INDICE CARLIT

### *CARTOGRAPHY OF INTERTIDAL ASSEMBLAGES OF TUSCANY ROCKY COAST AND APPLICATION OF CARLIT INDEX*

**Abstract** - The paper reports results of the application of CARLIT index to Tuscany coasts. Six sampling stations were considered and cartographic representation of EQR values was carried out. Three water bodies resulted in elevated status and three in good status.

**Key-words:** biological indicator, monitoring, environmental quality, Mediterranean Sea.

**Introduzione** - La valutazione della qualità ecologica delle acque marino-costiere, così come richiesto dalla Direttiva Europea 2000/60, comporta l'utilizzo di differenti indicatori biologici tra cui il CARLIT (*Cartography of Littoral and Upper - Sublittoral Rocky- Shore Communities*), un metodo cartografico che sfrutta lo sviluppo lineare dei popolamenti macroalgali della fascia intertidale su costa rocciosa. Il metodo CARLIT è stato testato lungo le coste catalane dal 1999 (Ballesteros *et al.*, 2007) ed in Liguria dal 2004 (Mangialajo *et al.*, 2007). Sulla base dei valori di questo rapporto sono definite 5 classi di stato ecologico: elevato, buono, moderato, povero e cattivo.

**Materiali e metodi** - I dati utilizzati per il calcolo dell'indice provengono dai campionamenti effettuati da ARPAT, nell'ambito delle attività previste per il D. Lgs. 152/06, nel periodo 2011/12 in 6 stazioni lungo la costa toscana relative ad un diverso corpo idrico: Romito (Livorno), Baratti (Piombino), Portoferraio (Isola d'Elba), Isola di Montecristo (Livorno), Promontorio dell'Argentario (Grosseto), Isola del Giglio (Grosseto). All'interno di ogni stazione sono stati identificati 3 siti, costituiti ognuno da un minimo di 20 settori. La metodica utilizzata è quella indicata da ISPRA (Gennaro e Rende, 2011). Durante il campionamento è stata identificata la comunità vegetazionale presente e ne è stata definita l'estensione mediante GPS. I valori di riferimento utilizzati per il calcolo dell'EQR sono quelli proposti da Ballesteros *et al.* (2007). I risultati così ottenuti sono stati rappresentati con Sistemi d'Informazione Geografica (GIS) e hanno permesso di valutare l'evoluzione spaziale dei valori di EQR. I dati ottenuti sono stati confrontati, laddove disponibili, con quelli ottenuti nel monitoraggio degli anni 2009 e 2010.

**Risultati** - I valori di EQR ottenuti sono stati rappresentati cartograficamente assegnando diverse colorazioni alle diverse classi di qualità ecologica individuate. I valori di EQR per ciascun corpo idrico sono stati calcolati come media di quelli ottenuti nei tre siti di campionamento. Lo stato ecologico è risultato elevato alle isole di Montecristo e Giglio, e al promontorio di Monte Argentario, mentre è risultato buono a Romito, Baratti e Portoferraio (Tab. 1). Il confronto dei valori ottenuti nel 2011 con quelli degli anni precedenti ha mostrato una variabilità piuttosto ridotta (<0.06) mantenendo i risultati sempre nello stesso stato ecologico.

**Conclusioni** - I risultati ottenuti hanno evidenziato una differenza tra i corpi idrici a nord e quelli a sud della Toscana, confermando i risultati ottenuti con altri indicatori biologici (Cecchi *et al.*, 2010; Mancusi *et al.*, 2010). In particolare,

la parte settentrionale ha evidenziato uno stato ecologico buono mentre quella meridionale elevato. Questo potrebbe essere legato alla maggior concentrazione di insediamenti industriali, portuali e urbani, presenti nella parte settentrionale della Toscana, mentre le isole di Montecristo, del Giglio e il promontorio dell'Argentario sono caratterizzate da una minore pressione antropica. Il calcolo della pressione antropica rappresenta un ulteriore passaggio importante per l'effettiva validazione dell'indice. I valori dell'indice superiori a 1 mettono in risalto la problematica della scelta dei valori di riferimento. L'utilizzo di riferimenti calcolati sulle coste catalane non sembra idoneo per la regione biogeografica comprendente le coste toscane. È quindi necessario che vengano definiti più riferimenti nell'area mediterranea legati alle peculiari caratteristiche di ciascuna regione biogeografica. La ridotta variabilità temporale riscontrata per i valori di EQR è un dato importante ai fini della validità dell'indice in quanto fa supporre che eventuali variazioni siano realmente legate a eventi ben definiti e non ad una intrinseca variabilità dell'indice stesso.

Tab. 1 - Valori di EQR delle acque marino-costiere della Toscana.

*EQR values for Tuscany marine coastal water.*

Stazione	EQR	Classe di Stato	Disturbo
Romito (Livorno)	0.73	Buono	Piccolo
Baratti (Piombino, LI)	0.64	Buono	Piccolo
Elba (Portoferraio, LI)	0.62	Buono	Piccolo
Montecristo (Livorno)	1.22	Elevato	Assente o Piccolo
Argentario (Grosseto)	1.03	Elevato	Assente o Piccolo
Giglio (Grosseto)	0.9	Elevato	Assente o Piccolo

## Bibliografia

- BALLESTEROS E., TORRAS X., PINEDO S., GARCIA M., MANGIALAJO L., DE TORRES M. (2007) - A new methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Framework Directive. *Mar. Pollut. Bull.*, **55**: 172-180.
- CECCHI E., PIAZZI L., SERENA F. (2010) - A new method for the assessment of the ecological status of coralligenous assemblages. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 162-163.
- GENNARO P., RENDE F. (2011) - *Elemento di Qualità Biologica Macroalghe. Integrazione al Quaderno metodologico ISPRA per il calcolo dello stato ecologico secondo la metodologia CARLIT. Procedure di campionamento per la raccolta dati*. ISPRA, MIMEO, Roma: 19 pp.
- MANCUSI C., CECCHI E., PIAZZI L., RIA M., SILVESTRI R., SERENA F. (2010) - The assessment of ecological quality coastal water through the concurrent use of different biological indicators. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 171-172.
- MANGIALAJO L., RUGGIERI N., ASNAGHI V., CHIANTORE M., POVERO P., CATTANEO-VIETTI R. (2007) - Ecological status in the Ligurian Sea: the effect of coastline urbanization and the importance of proper reference sites. *Mar. Pollut. Bull.*, **55**: 30-41.

M. DUBOIS, D. BELLAN-SANTINI, I. BENTAHAR, P. CHEVALDONNÉ,  
T. PEREZ, J. VACELET, G. BELLAN

Aix-Marseille Université IMBE, UMR CNRS 7263 Station Marine d'Endoume,  
Rue Batterie des Lions, F-13007 Marseille, France.

## ARTIFICIAL REEFS DEPLOYED IN THE BAY OF MARSEILLE (NORTH WESTERN MEDITERRANEAN SEA): ORIGINALITY AND FIRST BENTHIC FAUNAL STAGES

### *BARRIERE ARTIFICIALI NEL GOLFO DI MARSIGLIA: SPECIFICITÀ E PRIMI STADI DELLA FAUNA BENTONICA*

**Abstract** - One of the largest artificial reef complexes in Europe (ca. 27.000 m<sup>3</sup> of submerged structures) has recently been deployed in the Bay of Marseille during the so-called "PRADO REEFS" program. The on-going monitoring shows their efficiency to concentrate and generate potential food resources. Colonizers mainly come from both *Posidonia oceanica* meadows and coralligenous beds, which are in the close vicinity of the reef complex. At present, the artificial reef ecosystem is in a maturation phase.

**Key-words:** Artificial Reefs, benthic fauna, Marseille, Mediterranean Sea.

**Introduction** - The so-called "PRADO REEFS" involves local stakeholders of the Marseille Region (France), and professional fishermen. In 2007, ca. 27.000 m<sup>3</sup> of artificial reefs were deployed in the Bay of Marseille at 25-30 m depths close to *Posidonia oceanica* meadows, following up research initiated more than three decades ago in Marseille (Coustalin, 1972; Duval *et al.*, 1982; Duval, 1983), and in Italy (Bombace, 1995). It constitutes one of the largest artificial reef complexes in Europe. One innovative aspect of this reef complex is its organization in interconnected "villages" composed of reefs with six different designs (shape, size and materials) built under the supervision of marine biologists. To complexify reefs and favour their colonization by mobile invertebrates, oyster shells were placed in large-meshed bags ("oyster bags") and bags were attached to the different reef structures. Reefs form a complex ecosystem with interconnected biotic compartments designed to produce and export organic material and living resources to surrounding ecosystems. A multidisciplinary scientific program has been implemented in 2009 to understand this artificial ecosystem functioning through the study of various environmental factors and the colonization process (Dubois *et al.*, 2011a).

**Materials and methods** - To assess the colonization dynamics by benthic organisms, a monitoring plan was implemented through complementary approaches: (i) study of sessile fauna on internal face by a annual photographic survey; (ii) annual inventory of the mobile fauna associated to experimental crevicular habitat (oyster bags). To evaluate coverage and diversity on photographic quadrats we used the CPCe software. We assessed time effect and habitat features (among the different reef designs). Data were analyzed using the non-parametric-test of Kruskal-Wallis. For the study of small mobile fauna, we removed each year, two "oyster bags" from reefs located at 29 m of depth. The mobile organisms inhabiting the spaces between oyster shells within the bags were sorted, identified and counted. The ecological habit of species was checked in order to determine the putative colonizers' origin.

**Results** - After two years of colonization, flora and fauna have covered 100% of artificial substrates, both of internal or external face. We could identify a large number of encrusting and erect species. On internal face, among the sessile

fauna, Porifera, Bryozoans and Polychaeta were dominant. We found some significant change in coverage with time: we observed a significant increase of Hydrozoa ( $H_{KW}(1.56)=25.8753$   $p=0.0000$ ) and a significant decrease of Bryozoans ( $H_{KW}(1.56)=22.0165$   $p=0.0000$ ). We observed an increase of Porifera coverage and a decrease of Ascidiacea coverage but not significative. Up to date no significant design effects have been evidenced between structures coverage except for Porifera which seems prefer chicane reefs ( $H_{KW}(2.28)=17.5963$   $p=0.0002$ ). After these two years (2009), 117 taxa were found in the “oyster bags”, most of them identified at species level. One year later (2010), 199 different taxa were counted, 66% of them recorded for the first time. Crustacea, Mollusca, Annelida and Teleostei dominated. Considering abundances, 1371 individuals were found in the total fauna in 2009 and 2583 in 2010, respectively 964 and 2054 for the motile fauna. Decapod crustaceans (mostly Alpheidae and Hippolytidae) were dominant. The assemblage was dominated by eurybathic species (69% in 2009 and 59% in 2010), and by usual dwellers of hard substrate (76% in 2009, 59% in 2010). For these hard-substrate species, the number of circalittoral and eurybathic species tends to increase in 2010.

**Conclusions** - Our preliminary results show the striking efficiency of artificial reef structures to concentrate and generate potential food resources, with colonization by organisms usually found associated with *Posidonia oceanica* meadows and coralligenous beds. Currently, the reef ecosystem is in a maturation phase. The diversity and complexity of the reef designs played an important role in the diversification of sessile fauna. The “Oyster bags” experiment providing crevicular habitats for mobile fauna is very efficient at producing and concentrating potential food resources for higher trophic level species such as large predator fish (Dubois *et al.*, 2011b).

## References

- BOMBACE G. (1995) - Le barriere artificiali nella gestione della fascia costiera. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 1145-1172.
- COUSTALIN J.B. (1972) - Méthodologie expérimentale en vue de la création de récifs artificiels. *Téthys*, **3** (4): 827-840.
- DUBOIS M., ANTONIOLI A., ASTRUCH P., BELLAN G., BELLAN-SANTINI D., BENTAHAR I., BONHOMME P., BONHOMME D., CHEVALDONNÉ P., CRESSON P., HARMELIN J.-O., HARMELIN M., LE DIREACH L., MEDIONI E., RUITTON S., VACELET J., PEREZ T. (2011a) - Integrated coastal zone management in the French Mediterranean: A large-scale Artificial Reefs programme in the Bay of Marseille: 67. *Book abstracts of world conference on marine biodiversity*. 26-30 September, Aberdeen, Scotland: 80 pp.
- DUBOIS M., BENTAHAR I., CHEVALDONNÉ P., PEREZ T. (2011b) - First stages of benthic faunal colonization on artificial reefs in Marseille (North-Western Mediterranean Sea): 87. *Book abstracts of world conference on marine biodiversity*. 26-30 September, Aberdeen, Scotland: 155 pp.
- DUVAL C. (1983) - *Bilan de la faune de petits modules artificiels immergés dans la zone de Marseille: Journée d'études sur les aspects scientifiques concernant les récifs artificiels et la mariculture suspendue*, Cannes, 1982. CIESM: 128 pp.
- DUVAL C., BELLAN-SANTINI D., HARMELIN J.G. (1982) - Habitats artificiels benthiques immergés en Méditerranée Nord-Occidentale: mise au point d'un module expérimental. *Téthys*, **10** (3): 274-279.



M. BULLO, I. CELIĆ, L. SABATINI, A. SANTOJANNI\*, G. SCARCELLA\*, O. GIOVANARDI

Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), STS Chioggia,  
Loc Brondolo, c/o Mercato Orticolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.

marianna\_bullo@alice.it

\*CNR-ISMAR, Ancona, Italia.

## COMPARAZIONE DI DUE MORFOTIPI DI SOGLIOLA NEL NORD ADRIATICO

### COMPARISON OF TWO MORPHOTYPES OF SOLE IN THE NORTHERN ADRIATIC SEA

**Abstract** - The meristic and morphological features of two morphotypes of sole collected in the Gulf of Venice were compared. The observed parameters allowed to find significant differences between these morphotypes and to separate them clearly.

**Key-words:** vertebrae counts, fin ray counts, meristic counts, taxonomy, Adriatic Sea.

**Introduzione** - Vari autori in passato hanno descritto la presenza di due forme di *Solea vulgaris*, *typica* ed *aegyptiaca*, distinguendole, oltre che per la presenza/assenza della membrana congiungente la pinna dorsale ed anale con il peduncolo caudale, anche sulla base di caratteri meristici (Tortonese, 1965; Pagotto, 1971). Nonostante la forma *aegyptiaca* sia tipica del Mediterraneo orientale, gli autori non ne escludono la presenza in Adriatico. Pagotto (1971) ha infatti segnalato per la prima volta la presenza di tale forma nel Nord Adriatico (Chioggia). Attualmente le due forme sono riconosciute come specie differenti (rispettivamente *S. solea* e *S. aegyptiaca*), come confermano le analisi genetiche (Cariani *et al.*, 2011). Nel corso di indagini sullo sbarcato commerciale della marineria di Chioggia sono stati osservati due morfotipi di sogliola. La distinzione si è basata sulla presenza della membrana sopradescritta. Nel presente studio sono stati considerati i caratteri meristici e morfologici riportati in letteratura al fine di valutare se i morfotipi osservati siano assimilabili alle due specie.

**Materiali e metodi** - Sono stati analizzati 112 individui provenienti da imbarcazioni afferenti ai porti di Chioggia (Venezia) e Pila di Porto Tolle (Rovigo). Gli individui sono stati catturati nel golfo di Venezia (Alto Adriatico), nel periodo tra settembre 2011 e febbraio 2012, nel contesto del campionamento del progetto GAP2 (*Bridging the gap between science, stakeholders and policy makers*). Per ogni individuo sono stati rilevati la lunghezza totale (LT), il numero di raggi della pinna anale, dorsale e pettorale destra, il numero di vertebre e la presenza della già citata membrana. Nel conteggio delle vertebre non è stata presa in considerazione la vertebra rudimentale di Cunningham (Pagotto, 1977). È stato eseguito un ordinamento mediante *cluster analysis* con metodo di collegamento Ward *linkage* basato su matrice di distanza Euclidea originata da dati non trasformati. Successivamente sono stati confrontati i caratteri degli individui appartenenti ai gruppi identificati mediante statistica non parametrica (test di Mann-Whitney).

**Risultati** - L'analisi dei *cluster* ha permesso di distinguere nettamente due gruppi, il primo costituito da 45 individui (A) ed il secondo da 67 (B) (Fig. 1). Il morfotipo A (individui di lunghezza totale, LT, compresa tra 17,5 e 35,4 cm e peso tra 45 e 371 g) è caratterizzato da pinna pettorale che presenta 7-9 raggi, la dorsale 73-84 e l'anale 61-69. Il numero di vertebre è compreso tra 45 e 47. Tutti gli esemplari sono caratterizzati dalla presenza della membrana che congiunge l'ultimo raggio della

pinna anale e dorsale al peduncolo caudale. Inoltre si osserva che la lunghezza dei raggi della dorsale e anale decresce gradualmente avvicinandosi al peduncolo caudale. Gli individui appartenenti al morfotipo B presentano LT comprese tra 14,3 e 37,0 cm e peso tra 25 e 554 g. La pinna pettorale è costituita da un numero di raggi quasi sovrapponibile al morfotipo A (6-9). Valori tendenzialmente inferiori, invece, si osservano per la pinna dorsale (63-78) e l'anale (50-67). Solo gli ultimi due raggi

della dorsale e dell'anale decrescono rapidamente, dando alle pinne una forma appuntita nella parte terminale. In tutti gli individui del morfotipo B la membrana è estremamente ridotta o assente mentre il numero delle vertebre è compreso tra 39 e 42. Il confronto a coppie con il test di Mann-Whitney mostra differenze significative tra i due morfotipi per i raggi della pinna pettorale ( $p < 0,01$ ), i raggi della pinna dorsale, anale ed il numero di vertebre ( $p < 0,001$  in tutti i confronti). Inoltre il carattere presenza/assenza della membrana permette di assegnare gli individui ai due gruppi identificati dalla *cluster analysis*.

**Conclusioni** - Il confronto dei caratteri meristici osservati indica una netta differenziazione tra due gruppi di individui, distinguibili in modo certo mediante i caratteri di numero delle vertebre (dove non si osserva sovrapposizione tra i due gruppi). L'analisi dei dati di letteratura indica una corrispondenza tra il morfotipo A con la forma *typica* e il morfotipo B con la forma *aegyptiaca* descritte da Pagotto (1971), in particolare nel numero di vertebre e in quello dei raggi della pinna anale. Chabanaud (in Pagotto, 1971) riporta però *range* più ampi e valori più elevati per i caratteri in entrambe le forme. L'analisi dà sostegno alle osservazioni macroscopiche che hanno portato alla chiara distinzione dei due morfotipi. In particolare il carattere relativo alla presenza della membrana appare robusto per tale scopo. Per poter affermare con certezza che le due forme osservate appartengano alle specie *S. solea* e *S. aegyptiaca*, è opportuno integrare le analisi fin qui condotte con analisi genetiche.

#### Bibliografia

- CARIANI A., MONTANARI S., MICHELI S., MILANO I., PINTUS E., GUARNIERO I., KREY G., ZANE L., MAES G.E., TINTI F. (2011) - Genetic structure and reproductive isolation among two sympatric cryptic sole species, *Solea solea* and *Solea aegyptiaca*, in Mediterranean demes. *AdriaMed 2011. Report of the AdriaMed Working Group on Demersal Fishery Resources in the Adriatic Sea*. Durrës, Albania, 3-6 October 2011.
- PAGOTTO G. (1971) - Presenza di *Solea vulgaris* forma *aegyptiaca* (Chabanaud 1927) in Alto Adriatico. *Arch. Oceanogr. Limnol.*, **17**: 179-183.
- PAGOTTO G. (1977) - La prima vertebra nei Soleidi. *Atti. Mus. Civ. Stor. Nat. Trieste*, **30** (1): 17-26.
- TORTONESE E. (1965) - *Fauna d'Italia. Osteichthyes (Pesci ossei)*. Ed. Calderini, Bologna: 509-511.

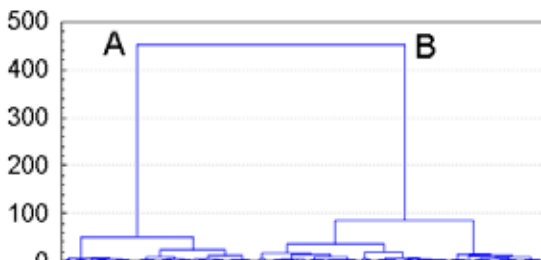


Fig. 1 - Dendrogramma (metodo di Ward): morfotipo A e B.

*Dendrogram (Ward method): morphotype A and B.*

P. CARBONARA, L. CASCIARO, I. BITETTO, M.T. SPEDICATO

COISPA Tecnologia & Ricerca, Stazione Sperimentale per lo Studio delle Risorse del Mare,  
Via dei Trulli, 18/20 - 70126 Bari, Italia.  
carbonara@coispa.it

## REPRODUCTIVE CYCLE AND LENGTH AT FIRST MATURITY OF *TRACHURUS TRACHURUS* IN THE CENTRAL-WESTERN MEDITERRANEAN SEAS

### *CICLO RIPRODUTTIVO E TAGLIA DI PRIMA MATURITÀ DI TRACHURUS TRACHURUS NEI MARI DEL MEDITERRANEO CENTRO-OCCIDENTALE*

**Abstract** - Data collected in the central-southern Tyrrhenian, South Adriatic and western Ionian seas allowed to estimate the size at first maturity (cm) for both sexes of *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) (GSA 10: female  $18.9 \pm 0.098$ , male  $17.8 \pm 0.078$ ; GSA 18: female  $20 \pm 0.14$ , male  $17.7 \pm 0.115$ , GSA 19: female  $20.6 \pm 0.18$ , male  $17.6 \pm 0.159$ ). The analysis of the maturity cycle in the GSA 18 indicated that the reproduction period is wide, with a peak in late winter-early spring.

**Key-words:** *Trachurus trachurus*, reproduction, central-southern Tyrrhenian Sea, South Adriatic Sea, western Ionian Sea.

**Introduction** - Atlantic horse mackerel is widely distributed in the Atlantic Ocean from the eastern Norway to South Africa; moreover it is present in all Mediterranean seas and in the Black Sea. The bathymetrical range is wide, between 10 to 500 m (Relini *et al.*, 1999). *T. trachurus* is a schooling species (Abaunza *et al.*, 2003) caught by many gears (purse seine, mid-water and bottom trawl, nets and long-lines) and it represents, quantitatively, one of the most important fishery species in Italian seas (IREPA, 2010). Despite the wide diffusion and its presence in the commercial landings, significant gaps still exist on knowledge on the reproduction, especially for the Mediterranean seas (Abaunza *et al.*, 2003). The aim of present study is to estimate the size at first maturity for the central-southern Tyrrhenian, South Adriatic, and western Ionian Seas, respectively classified as Geographical Sub-Area (GSA, *sensu* FAO-GFCM) 10, 18, and 19. In addition, insights to elucidate the maturity cycle of the Atlantic horse mackerel in the GSA 18 are also provided.

**Materials and methods** - Monthly samples (years: 2009-2010) of Atlantic horse mackerel were obtained from commercial landings (biological sampling from Data Collection Framework, EU Reg. 199/2008) for GSA 10, 18 and 19 and by trawl survey MEDITS in the GSA 10 and 18 (years 2009-2010). Total length to the nearest 0.5 cm was measured and sex and maturity stages were recorded according to the MEDITS protocol: specimens were considered adult when classified as: 2b (recovering), 2c (maturing), 3 (mature/spawner), 4a (spent) and 4b (resting), while immature/juvenile ones were classified as 1 (immature virgin) and 2a (virgin developing) (ICES, 2008). The length at first maturity ( $L_{m50\%}$ ) and the maturity range ( $MR = L_{m75\%} - L_{m25\%}$ ) were estimated for both sexes using the following ogive model:  $M(L) = \frac{e^{(a+bL)}}{1 + e^{(a+bL)}}$ ; where  $M(L)$  is the proportion of adult individuals and  $L$  the length class. Binomial generalized linear models (GLMs) with logistic link have been used to model the proportion of adult individuals on the length as independent variable (ICES, 2008).

**Results** - The monthly maturity stage composition of adult *T. trachurus* in GSA 18 is shown in Fig. 1. Despite the lack of samples in January and February, the presence of mature specimens before and after these two months suggests a reproductive period included from November to July with a peak in late winter-early spring for

both sexes. Post-spawning and recovering occur during late summer and autumn.  $L_{m50\%}$  and MR are reported in Tab. 1 for the three GSAs, indicating very similar values for each sex across the three areas.

**Conclusions** - The reproduction period with a peak in the early spring, as observed in the GSA 18, is comparable with the findings in Greek waters, north Adriatic and northern Tyrrhenian Sea (Nannini *et al.*, 1997; Abaunza *et al.*, 2003). The lengths at first maturity are comparable in the three GSAs, while the differences in the  $L_{m50\%}$  among the sexes may be due to slightly different growth patterns. The  $L_{m50\%}$  are comparable with data reported for the Greek waters (22 cm; Abaunza *et al.*, 2003) and Atlantic coasts, while are greater than the estimates reported for the Catalonia coasts (15.5 cm; Abaunza *et al.*, 2003). These differences might be ascribed to geographical differences, as well as to the different estimation methods applied.

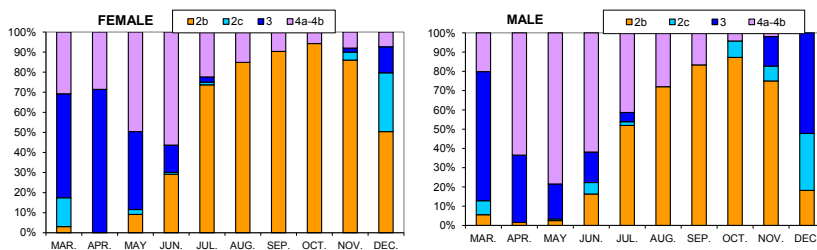


Fig. 1 - Monthly maturity stage composition (in percentage) in the GSA 18 for females (n=859) and male (n=1064) of adult specimens of *T. trachurus*.

Percentuali mensili degli stadi di maturità nella GSA 18 per individui adulti femmine (n=859) e maschi (n=1064) di *T. trachurus*.

Tab. 1 - Length at first maturity ( $L_{m50\%}$ ) and maturity range (MR) by sex and studied areas.

Taglia di prima maturità ( $L_{m50\%}$ ) e range di maturità (MR) per sesso e area.

	GSA 10		GSA 18		GSA 19	
	Female n=2374	Male n=2198	Female n=1291	Male n=1449	Female n=943	Male n=933
$L_{m50\%}$ (cm)	18.9 ± 0.098	17.8 ± 0.078	20 ± 0.14	17.7 ± 0.115	20.6 ± 0.18	17.6 ± 0.159
MR (cm)	2.37 ± 0.107	1.86 ± 0.114	2.51 ± 0.136	2.67 ± 0.133	3.34 ± 0.146	2.15 ± 0.171

## References

- ABAUNZA P., GORDO L., KARLOU-RIGA C., MURTA A., ELTINK A.T.G.W., GARCIA SANTAMARÍA M.T., HAMMER C., LUCIO P., IVERSEN S.A., MOLLOY J., GALLO E. (2003) - Growth and reproduction of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (Carangidae). *Rev. Fish Biol. Fish.*, **13**: 27-61.
- ICES (2008) - *Report of Workshop on Maturity Ogive Estimation for Stock Assessment (WKMOG)*. 3 June 2008, Lisbon, Portugal: 68 pp.
- IREPA (2010) - *Osservatorio economico sulle strutture produttive della pesca marittima in Italia 2010*. Edizioni Scientifiche Italiane, Napoli: 184 pp.
- NANNINI N., SBRANA M., DE RANIERI S. (1997) - Aspetti di biologia riproduttiva di *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) e *Trachurus mediterraneus* (Steindachner, 1868) nel Mar Tirreno settentrionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **4** (1): 561-563.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (eds) (1999) - Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.

Data used in this paper were collected in the DCF and supported by the Italian Ministry of Agriculture, Food and Forestry Policy (MiPAAF) and by the European Commission.

F. DE CARLO, M. VIRGILI, A. LUCCHETTI, C.M. FORTUNA\*, A. SALA

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Scienze Marine (ISMAR),  
Largo Fiera della Pesca, 1 - 60125 Ancona, Italia.  
francesco.decarlo@an.ismar.cnr.it

\*Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA),  
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

## INTERACTIONS BETWEEN BOTTLENOSE DOLPHIN AND MIDWATER PAIR TRAWLS: EFFECT OF PINGERS ON DOLPHIN BEHAVIOUR

### *INTERAZIONI TRA TURSIOP*

### *E RETI DA TRAINO SEMI-PELAGICHE "VOLANTI A COPPIA": EFFETTO DEI PINGERS SUL COMPORTAMENTO DEI DELFINI*

**Abstract** - EC Regulation 812/2004 imposes to EU Member States to monitor the commercial fishing vessels for the evaluation of by-catch of cetaceans and its mitigation. In order to reduce the interactions with fishing vessels and to minimise the risk of incidental catch of cetaceans, acoustic pingers were tested on commercial midwater pair-trawlers in Central Adriatic Sea. A reduced number of sightings in presence of pinger was registered, even if the effect of this device was not statistically significant.

**Key-words:** cetaceans, semi-pelagic trawl fishery, GIS mapping, pinger, dolphin-fishery interaction.

**Introduction** - By-catch during fishing operations represents one of the major threats to the survival and to the decline of endangered species (Fortuna *et al.*, 2010a). All cetaceans and most sea turtles are protected by European legislation (Fortuna *et al.*, 2010a). EC Regulation 812/2004 imposes that EU Member States establish a system to monitor accidental captures. Cetaceans interactions with trawling are complex and usually happen in areas of high prey density; within such areas, humans and dolphins compete for the same resource (Fertl and Leatherwood, 1997). Within the study BY-CATCH III (Fortuna *et al.*, 2010b), the feasibility of the use of dolphin acoustic deterrents on semi pelagic fishery was investigated in the central Adriatic Sea.

**Materials and methods** - The activity of 16 pelagic trawlers was monitored in the Central Adriatic Sea, from June 2009 to July 2010, for a total of 158 hauls. A particular pinger (Dolphin dissuasive Devices DDD 03H) was tested. This acoustic deterrent is characterized by a variable emission frequency (1-500 KHz), and a working depth between 10 and 200 m. It was mounted in 37 hauls directly by the observer on the headrope of one of the two net wings with the aid of snap-hooks, without any hindrance to usual fishing operations. Interaction events were defined when a sighting of at least one dolphin within 500 m of the net, was detected. Data collected on board have been subsequently mapped by GIS Arch View GIS 3.2a software.

**Results** - *Tursiops truncatus* was the only cetacean sighted, and no individuals were caught. The majority of interaction events was registered at the end of the hauling operation. Dolphins followed the cod end of the trawl within a distance of 100-200 m and sometimes much closer. A higher concentration of sighting (57%) was observed in the northern-western part of the surveyed area. Among the total of 29 sightings recorded, only one was during fish schools searching operation and therefore was not considered in the statistical analysis, and in the mapping. When the pinger was mounted on the net, only 4 sightings were recorded, corresponding

to 11% of the hauls monitored with pinger. For the remaining 121 hauls monitored without pinger, 24 sightings were registered (about 20% of the monitored hauls without pinger, Tab. 1).

Tab. 1 - Resuming of the total monitored hauls and related sightings.

*Sintesi delle cale monitorate e dei relative avvistamenti.*

PINGER		SIGHTINGS	
		No	Yes
No	121	97	24
Yes	37	33	4
Tot	158	130	28

Statistical analysis revealed that the influence of pinger on the interaction events is not significant. *Chi-square* test (1.582,  $p=0.208$ ) showed that the proportion of hauls without sightings and without pinger (0.802) was not statistically different from those without sightings with pinger (0.892). The odds that a haul without sightings is registered, is two times more likely in presence of pinger than without it. For each interaction events an average number of 3 individuals was detected and different types of behavior have been observed in relation to their reaction to the boat and the net.

**Conclusions** - Bottlenose dolphins remain the only regular cetaceans in the surveyed region (Northern Central Adriatic), according to Bearzi *et al.*, 2004, with a higher sighting concentration in the north-western area as revealed by the GIS mapping. A reduced number of sightings in presence of pinger was observed, encouraging several fishermen to the voluntary use of this device. However, different studies revealed that dolphin might become sensitized to pingers, phenomenon also known as “dinner bell” effect (Richardson *et al.*, 1995; Cox *et al.*, 2003), compromising pinger efficiency and driving to the opposite reaction.

## References

- BEARZI G., HOLCER D., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2004) - The role of historical dolphin takes and habitat degradation in shaping the present status of northern Adriatic cetaceans. *Aquat. Conserv.*, **14**: 363-379.
- COX T.M., READ A.J., SWANNER D., URIAN K., WAPLES D. (2003) - Behavioral responses of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, to gillnet acoustic alarms. *Biol. Conserv.*, **115**: 203-212.
- FERTL D., LEATHERWOOD S. (1997) - Cetacean interactions with trawls: a preliminary review. *Journal of Northwest Atlantic Fisheries Science*, **22**: 219-248.
- FORTUNA C.M., VALLINI C., DE CARLO F., FILIDEI JR. E., LUCCHETTI A., GASPARI S., FOSSI M.C., MALTESE S., MARSILI L., BOTTARO M., RUFFINO M., SCACCO U., GIOVANARDI O., MAZZOLA A., SALA A., TUNESI L. (2010b) - *Relazione finale del progetto “Valutazione delle catture accidentali di specie protette nel traino pelagico (BYCATCH III)”*, codice progetto: 7A02: 84 pp + Allegati.
- FORTUNA C.M., VALLINI C., FILIDEI JR. E., RUFFINO M., CONSALVO I., DI MUCCIO S., GION C., SCACCO U., TARULLI E., GIOVANARDI O., MAZZOLA A. (2010a) - By-catch of cetaceans and other species of conservation concern during pair trawl fishing operations in the Adriatic Sea (Italy). *Chemistry and Ecology*, **26**: 65-76.
- REGULATION (EC) 812/2004 - Corrigendum to Council Regulation (EC) No 812/2004 of 26 April 2004 laying down measures concerning incidental catches of cetaceans in fisheries and amending Regulation (EC) No 88/98. *Official Journal of the European Union*, **150**.
- RICHARDSON W.J., GREENE JR. C.R., MALME C.I., THOMSON D.H. (1995) - *Marine Mammals and Noise*. Academic Press, San Diego: 576 pp.



V. GANCITANO, C. BADALUCCO, S. CUSUMANO, S. GANCITANO,  
G.B. GIUSTO, G. INGRANDE, L. KNITTWEIS\*, G. SINACORI, P. RIZZO

National Research Council (CNR) - Institute for Coastal Marine Environment (IAMC),  
Via Luigi Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo (TP), Italia.  
vita.gancitano@iamc.cnr.it

\*Ministry for Resources and Rural Affairs. Fort San Lucjan, Marsaxlokk - BBG 1283, Malta.

AGE COHORT ANALYSIS OF RED MULLET,  
*MULLUS BARBATUS* (L., 1758) (PISCES: MULLIDAE),  
IN THE STRAIT OF SICILY (GSA 15 & 16)

ANALISI DI COORTE PER ETÀ DELLA TRIGLIA DI FANGO,  
*MULLUS BARBATUS* (L., 1758) (PISCES: MULLIDAE),  
NELLO STRETTO DI SICILIA (GSA 15 & 16)

**Abstract** - The exploitation status of red mullet, *Mullus barbatus* (L., 1758) in the Northern sector of the Strait of Sicily (GSA 15 & 16) was assessed through an age cohort analysis. Data from commercial trawling fisheries were used. The results showed that the resource is in a state of "overfishing". A reduction of about 40% of the current fishing mortality is suggested to reach the target reference point  $F_{0.1}$ .

**Key-words:** red mullet, current exploitation, landings, growth overfishing, Strait of Sicily.

**Introduction** - Red mullet (*M. barbatus*) is one of the main coastal demersal resources of commercial interest in the Mediterranean. In the Northern sector of the Strait of Sicily (GSA 15 and 16) the species is caught almost exclusively by trawlers operating on the shelf of GSA 16 and 15, i.e. the Malta and Adventure Banks. The Italian trawlers produce more than 95% of the total yield (GSA 15 and 16 together), which decreased from 1409 t in 2005 to 760 t in 2010. In the same period, the landings of the artisanal fisheries were 1-2% and 3% for Italy and Malta respectively. Analysis of data on commercial landings from GSA 15 & 16 performed under the STECF umbrella allowed an assessment of the current exploitation status of red mullet.

**Materials and methods** - Biological data proceed from monthly sampling of landings from 2006 to 2010 in GSAs 15 & 16 (Data Collection Framework). The length composition of landings was prepared keeping sexes separated. Because of their low amount, discards were not included in the analyses. Due to the catch composition by fleets, two main fishing segments were considered: the coastal trawlers (LOA 12\_24 m) and off shore trawlers (LOA 24\_40 m) fleets. The length frequency distributions by sex (LFDs) were converted into numbers by age group using the "slicing" routine of the LFDA package (Kirkwood *et al.*, 2001) and successively gathered. The current exploitation state was assessed by age cohort analysis (CA) as implemented in VIT (Leonart and Salat, 1992), assuming a steady state (pseudocohort) status. The used biological parameters are reported in Tab. 1. A yield per recruit analysis was performed for deriving reference Points. The natural mortality vector by age was calculated using the Prodbiom approach version 2009 (Abella *et al.*, 1998).

**Results and conclusions** - Fishing mortality rates (F) for combined sexes by age class and year are shown in Fig. 1. The main "BRP" estimated by year, including the current mortality rates, are listed in Tab. 1. The current value of fishing mortality ( $F_{curr}$ ) was estimated as a median calculated taking into account ages 1-4 of the 2006-2010 results. A value of 0.81 was obtained. Since  $F_{curr}$  is higher than  $F_{0.1}$  (0.45) (Tab. 1), the stock of red mullet in the Strait of Sicily is considered in an overfishing status. A reduction of about 40% of the current fishing mortality should drive to a more

sustainable exploitation status of this stock ( $F_{0.1}$  used as target reference point). Due to the very scanty contribution of Maltese boats to the catch, this reduction should be applied only to the Sicilian trawlers, mainly the coastal ones, which exerted most of fishing mortality since 2009. The increasing trend in SSB and recruitment indices from trawl surveys (Gancitano *et al.*, 2011) suggests an improving status of the stock. This could be related with the observed reduction of illegal trawling in the coastal areas within the 50 m depth where recruitment occur in late summer-early autumn, the reduction of fishing effort in the last ten years and the already described positive effect of warming of the surface seawater on the recruitment success (Levi *et al.*, 2003).

Tab. 1 - Biological parameters used, main BRP and current  $F$  ( $F_c$ ) obtained by CA analysis of red mullet (*M. barbatus*).

*Parametri biologici utilizzati, principali BRP e mortalità da pesca corrente ottenuti dall'analisi di coorte in età di triglia di fango (M. barbatus).*

Parameters	Main BRP and current $F$					
	Female	Male	Years	$F_{0.1}$	$F_{max}$	$F_{c(1-4)}$
$L_{\infty}$	23.61	20.16	2006	0.28	0.55	0.54
$k$	0.45	0.57	2007	0.44	0.86	0.81
$t_0$	-0.8	-0.8	2008	0.45	0.88	0.79
$a$	0.0134	0.0176	2009	0.59	1.16	0.89
$b$	2.9419	2.8226	2010	0.51	1.17	0.87
Median 2006-2010				0.45	0.88	0.81

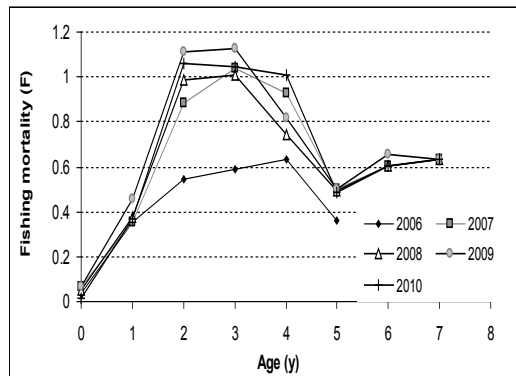


Fig. 1 - Fishing mortality by age class and years of red mullet (*M. barbatus*).

*Mortalità da pesca per classe di età e nei diversi anni di triglia di fango (M. barbatus).*

**Acknowledgements:** The authors would like to thank Alvaro Abella for the suggestions.

## References

- ABELLA A., CADDY J.F., SERENA F. (1998) - Estimation of the parameters of the Caddy reciprocal M-at-age model for the construction of natural mortality vectors. *Marine populations dynamics. Cahiers Options Medit.*, **35**: 191-200.
- GANCITANO V., BASILONE G., BONANNO A., CUTTITTA A., GAROFALO G., GIUSTO G.B., GRISTINA M., MAZZOLA S., PATTI B., SINACORI G., FIORENTINO F. (2011) - Rapporto annuale sullo stato delle risorse della GSA16 - Stretto di Sicilia. In: *Rapporto annuale sullo stato delle risorse biologiche dei mari circostanti l'Italia*: 90-116.
- KIRKWOOD G.P., AUKLAND R., ZARA S.J. (2001) - Length Frequency Distribution Analysis (LFDA), version 5.0. MRAG Ltd, London, U.K.
- LEVI D., ANDREOLI M.G., BONANNO A., FIORENTINO F., GAROFALO G., MAZZOLA S., NORRITO G., PATTI B., PERNICE G., RAGONESE S., GIUSTO G.B., RIZZO P. (2003) - Embedding sea surface temperature anomalies into the stock recruitment relationship of red mullet (*Mullus barbatus* L. 1758) in the Strait of Sicily. *Sci. Mar.*, **67** (Suppl. 1): 259-268.
- LLEONART J., SALAT J. (1992) - VIT. Programa de análisis de pesquerías. *Inf. Téc. Sci. Mar.*, **168-169**: 116 p. Version 1.3 <http://www.mefisto.info>.

Data was derived from indirect (fisheries monitoring) sources from EU Data Collection Framework, financed from MiPAAF and EC.

F. GARIBALDI, L. MEROTTO, L. LANTERI, L. ORSI RELINI

Centro di Biologia Marina del Mar Ligure (DISTAV), Università di Genova,  
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.  
largepel@unige.it

## OSSERVAZIONI SU *SUDIS HYALINA* (RAFINESQUE, 1810) (*OSTEICHTHYES*, *PARALEPIDIDAE*) IN MAR LIGURE

### *NOTES ABOUT SUDIS HYALINA (RAFINESQUE, 1810)* *(OSTEICHTHYES, PARALEPIDIDAE) IN THE LIGURIAN SEA*

**Abstract** - Twenty one specimens of *Sudis hyalina* (Rafinesque, 1810), (*Osteichthyes*, *Paralepididae*) were collected in the westernmost part of the Ligurian Sea as no commercial by-catch of swordfish mesopelagic longline, during June and September 2010 and August 2011. Meristic data and a brief account of reproductive features of the species are provided.

**Key-words:** *Sudis hyalina*, mesopelagic fish, Ligurian Sea.

**Introduzione** - La famiglia *Paralepididae* è rappresentata nei mari italiani da almeno cinque specie riconosciute: *Paralepis coregonoides* (Risso, 1826), *Arctozenus risso* (Bonaparte, 1840), *Lestidiops sphyraenoides* (Risso, 1826), *L. jayakari pseudosphyraenoides* (Ege, 1918) e *Sudis hyalina* (Rafinesque, 1810). Controversa è l'esistenza di una ulteriore specie, *P. speciosa*, che è stata posta in sinonimia con *P. coregonoides*, di cui costituirebbe la forma giovanile da Post (1987). Malgrado *S. hyalina* sia una specie ad ampia diffusione, le conoscenze riguardanti la sua biologia ed ecologia sono tuttora scarse. Infatti, i pochi lavori presenti in letteratura sono riferiti alla distribuzione geografica, descrizione delle forme larvali o giovanili e morfologia degli adulti (Sanzo, 1917; Rofen, 1966; Shores, 1969; Tortonesi 1970; Smith e Heemstra, 1986; Post, 1986) oppure ad aspetti particolari del comportamento (Haedrich, 1965; Turner e Prindle, 1965). Questa breve nota è rivolta all'approfondimento di alcuni aspetti della biologia di *S. hyalina*.

**Materiali e metodi** - Tutti gli individui sono stati catturati come by-catch non commerciale del palangaro mesopelagico per la pesca del pesce spada, in Mar Ligure occidentale. Dei 21 esemplari esaminati, 16 sono stati campionati nei mesi estivi del 2010 e 5 nell'agosto del 2011. Ogni individuo è stato fotografato, misurato, pesato e sono stati effettuati i conteggi meristici. Le gonadi sono state pesate per il calcolo dell'indice gonado-somatico (IGS); è stato poi prelevato un subcampione per la misura dei diametri ed il conteggio degli oociti.

**Risultati** - Gli individui esaminati sono risultati compresi tra 36,0 e 40,7 cm di Lunghezza Standard (LS), con un peso variabile tra 157,5 e 262,4 g. I dati biometrici e meristici sono riportati in Tab. 1. Gli esemplari erano adulti ermafroditi, con la contemporanea presenza dei tessuti gonadici maschile e femminile e di entrambi i gameti (spermatozoi ed oociti) in un avanzato stadio di sviluppo. Un aumento dell'IGS è stato osservato nel periodo tra luglio e ottobre (valore medio 1,20 a luglio ed agosto, 1,70 a settembre), confermato da un pari incremento del diametro medio degli oociti, che in settembre si presentano trasparenti, con piccole gocce oleose ed un diametro massimo di 0,56 mm.

**Conclusioni** - Il presente studio ha confermato alcuni aspetti della morfologia di *S. hyalina*, oltre che la sua distribuzione verticale. Infatti, le catture ottenute tramite palangaro, calato tra 200 e 600 m di profondità, confermano quanto già osservato

Tab. 1 - Aspetti biometrici e meristici dei 21 individui di *S. hyalina* esaminati.*Biometric and meristic data of 21 individuals of S. hyalina caught in the Ligurian Sea.*

INDIVIDUO	Data	Lunghezza		Peso			Numero Raggi Pinna				Scaglie	Numero
		Totale	Standard	Totale (g)	Gonade (g)	IGS	Anale	Dorsale	Pettorale	Caudale	Linea Laterale	
SUHYA 1	20/07/2010	39,5	36	194,9	1,79	0,9	20	12	14	29	68	58
SUHYA 2	16/07/2010	40,8	37,5	217,8	2,7	1,2	21	13	15	30	74	59
SUHYA 3	22/09/2010	41,2	38	248	3,2	1,3	22	14	15	31	74	59
SUHYA 4	22/09/2010	42,4	38,8	216,8	5	2,3	23	13	15	30	75	59
SUHYA 5	15/07/2010	38,9	36,1	157,5	2,3	1,5	23	12	15	36	74	59
SUHYA 6	15/09/2010	42,3	38,7	247,1	3,5	1,4	21	13	15	35	77	59
SUHYA 7	13/09/2010	41	37,8	237,3	5,1	2,1	21	13	17	36	73	59
SUHYA 8	06/09/2010	42,1	39,1	231,9	3,1	1,3	20	13	14	30	73	59
SUHYA 9	25/08/2010	42,1	38,7	211,8	2,7	1,3	22	13	14	35	65	59
SUHYA 10	25/08/2010	41,7	38,7	180,3	2	1,1	21	13	14	35	-	59
SUHYA 11	23/08/2010	40,9	38,2	218,1	2,1	1	24	13	15	34	75	58
SUHYA 12	23/08/2010	41,3	38,4	239,5	3,1	1,3	22	13	16	33	75	58
SUHYA 13	23/08/2010	41,5	38,2	221,5	2,2	1	22	13	15	33	77	59
SUHYA 14	23/08/2010	42,5	39	228,7	3,5	1,5	22	13	15	34	72	58
SUHYA 15	12/10/2010	41,8	38,5	211,4	2,9	1,4	22	13	15	35	75	58
SUHYA 16	10/08/2010	39,2	36	168,4	0,8	0,5	21	13	15	36	-	59
SUHYA 17	25/08/2011	42,2	39,1	207,9	3,1	1,5	22	13	15	35	75	59
SUHYA 18	25/08/2011	41,3	38,6	196,9	1,6	0,8	22	13	15	35	76	59
SUHYA 19	03/08/2011	42	39	198,8	0,6	-	21	13	13	36	71	59
SUHYA 20	14/08/2011	39	36,1	191,5	1,5	0,8	22	13	14	36	70	58
SUHYA 21	30/08/2011	43,7	40,7	262,4	3,7	1,4	22	13	15	35	75	58

in letteratura (Tortonese, 1970) sull'habitat mesopelagico preferenziale della specie, che probabilmente però è in grado di raggiungere maggiori profondità (Haedrich, 1965; Turner e Prindle, 1965). Tutti i pesci campionati sono risultati di grandi dimensioni, ai limiti massimi delle taglie osservate per la specie in Mediterraneo, come conseguenza della selettività dell'attrezzo utilizzato.

Molti pesci mesopelagici, anche appartenenti alla famiglia Paralepididae, sono ermafroditi (Rofen, 1966; Smith e Heemstra, 1986); tuttavia non esistono dettagli sull'ermafroditismo del genere *Sudis*. In particolare per *S. hyalina*, viene qui descritto per la prima volta un ermafroditismo di tipo sincrono. Per quanto riguarda il periodo riproduttivo, le presenti osservazioni depongono per una riproduzione tardo-estiva/autunnale, a conferma di quanto osservato da Shores (1969).

### Bibliografia

- HAEDRICH R.L. (1965) - Identification of a deep-sea mooring-cable biter. *Deep-Sea Res.*, **12**: 773-776.
- POST A. (1986) - Paralepididae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.-L., Hureau J.-C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol. 1*. UNESCO, Paris: 498-508.
- POST A. (1987) - Results of the research cruises of FRV "Walther Herwig" to South America. LXVII. Revision of the Subfam. Paralepidinae (Pisces, Aulopiformes, Alepisauridae, Paralepididae). I. Taxonomy, morphology and geographical distribution. *Arch. FischWiss.*, **38** (1/2): 75-131.
- ROFEN R.R. (1966) - Family Paralepididae. In: *Fishes of the Western North Atlantic. Mem. Sears Found. Mar. Res.*, **1** (5): 448-459.
- SANZO L. (1917) - Sviluppo larvale di *Paralepis hyalinus*. *C.V.R. Comit. Talassogr. Ital.*, **59**: 3-7.
- SHORES D.L. (1969) - Postlarval *Sudis* (Pisces; Paralepididae) in the Atlantic Ocean. *Breviora, Museum of Comparative Zoology*, **334**: 1-14.
- SMITH M.M., HEEMSTRA P.C. (1986) - *Smiths' Sea Fishes*. Macmillan South Africa, Johannesburg: 1047 pp.
- TORTONESE E. (1970) - *Fauna d'Italia. Vol. X. Osteichthyes. Parte I*. Calderini, Bologna: 544 pp.
- TURNER H.J. JR., PRINDLE B. (1965) - Some characteristics of "fishbite" damage on deep-sea mooring lines. *Limnol. Oceanogr.*, **10** (Suppl.): 259-264.

A. LIGAS, A. MANNINI<sup>1</sup>, P. CARPENTIERI<sup>2</sup>, C. MANCUSI<sup>3</sup>, P. SARTOR, S. DE RANIERI

Consorzio per il Centro Interuniversitario di Biologia Mariana ed Ecologia Applicata "G. Bacci",  
V.le N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italy.  
ligas@cibm.it

<sup>1</sup>DISTAV, Università di Genova, Italy.

<sup>2</sup>Dip. Biologia Ambientale, Università di Roma "La Sapienza", Italy.

<sup>3</sup>ARPAT-RIBM, Livorno, Italy.

## LENGTH-WEIGHT RELATIONSHIP IN DEMERSAL SPECIES FROM LIGURIAN AND NORTHERN-CENTRAL TYRRHENIAN SEA

### *RELAZIONE TAGLIA-PESO IN SPECIE DEMERSALI DEL MAR LIGURE E TIRRENO CENTRO-SETTENTRIONALE*

**Abstract** - The length-weight relationship in 13 demersal species from the Ligurian and northern-central Tyrrhenian Sea was computed and analysed from the data collected in the framework of DCF in 2009 and 2010 by means of linear regression analysis. The isometry of the relationships was tested through the Student's *t* test.

**Key-words:** biometrics, length-weight relationships, Ligurian Sea, Tyrrhenian Sea, demersal species.

**Introduction** - The analysis of the length-weight relationship (LWR) represents an important issue in the population dynamics also providing useful information for the stock assessment of the fishing exploited species (Lloret *et al.*, 2002). Thus, the length-weight relationship for 13 demersal species sampled in the Ligurian and northern-central Tyrrhenian Sea (FAO-GFCM Geographic Sub-Area 9, GSA9) was computed by means of linear regression analysis.

**Materials and methods** - Specimens were collected in the framework of the Data Collection (DCF, EC Regulation 199/2008) during trawl surveys and samplings of commercial landing carried out in 2009 and 2010 in the FAO Geographical subarea 9 (GSA9). Individual size was measured as total length for fishes (TL, 0.5 cm), dorsal mantle length for cephalopods (DML, 0.5 cm) and carapace length (CL, 1 mm) for crustacean decapods; individual total weight was taken to the 0.1 g. Sex was determined macroscopically observing gonads. Analyses were carried out on both fresh and defrosted specimens, depending on the working requirements. Data were log-transformed in order to compute the length-weight relationship, according to Ricker (1973) as  $\ln W = \ln a + b \ln L$ , where  $\ln W$  and  $\ln L$  are the natural logarithms of weight and length, respectively. For each species and sex, deviation from isometry was assessed comparing the *b* value obtained from the linear regression with 3. Differences were analysed by means of the Student's *t*-test.

**Results and conclusions** - Parameters of the length-weight relationship by species were reported for sex combined, females, and males in Tab. 1. A significant deviation from isometry was detected in all the species. In particular, the *b* values were significantly associated to a positive allometry in all the fish (except in *M. barbatus*) and in *N. norvegicus*. A negative allometry was observed in cephalopods, shrimps and in *M. barbatus*. The estimated parameters were consistent with those reported for the same species in adjacent areas (Relini *et al.*, 1999). Despite the need of improving accuracy and standardization, the results of this kind of analysis provide useful information for stock assessment and management purposes.

Tab. 1 - Analysis of length-weight relationship; F: females; M: males; C: sex combined; N: number of specimens; R<sup>2</sup>: determination coefficient; a: intercept; b: slope; S.E.: standard error; \*: p<0.05; \*\*: p<0.01; ns: not significant.

*Analisi della relazione taglia-peso; F: femmine; M: maschi; C: sessi combinati; N: numero di esemplari; R<sup>2</sup>: coefficiente di determinazione; a: intercetta; b: pendenza; S.E.: errore standard; \*: p<0.05; \*\*: p<0.01; ns: non significativo.*

SPECIES	SEX	N	Length range	Weight range	a	b	SE b	R <sup>2</sup>	H <sub>0</sub> : β = 3
<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	C	227	23-53 mm CL	5.6-53.2 g	0.0018	2.58	0.40	0.98	**
	F	120	23-53 mm CL	5.6-53.2 g	0.0013	2.67	0.31	0.99	**
	M	107	27-41 mm CL	9.6-28.2 g	0.0042	2.35	1.31	0.76	**
<i>Aristeus antennatus</i>	C	5164	12-60 mm CL	2.0-66.2 g	0.0030	2.44	0.38	0.98	**
	F	4239	12-60 mm CL	2.0-66.2 g	0.0031	2.43	0.39	0.97	**
	M	925	12-36 mm CL	2.9-17.8 g	0.0048	2.29	0.88	0.87	**
<i>Nephrops norvegicus</i>	C	1347	19-66 mm CL	4.4-299.0 g	0.0003	3.23	0.75	0.95	**
	F	716	19-66 mm CL	4.4-299.0 g	0.0003	3.26	0.74	0.95	**
	M	589	21-66 mm CL	4.7-287.0 g	0.0003	3.26	0.78	0.95	**
<i>Parapenaeus longirostris</i>	C	4235	11-46 mm CL	1.3-45.0 g	0.0041	2.40	0.60	0.94	**
	F	2624	11-45 mm CL	1.3-45.0 g	0.0047	2.36	0.59	0.94	**
	M	1610	14-46 mm CL	1.5-45.0 g	0.0044	2.37	0.70	0.92	**
<i>Penaeus kerathurus</i>	C	463	25-58 mm CL	7.5-84.2 g	0.0025	2.57	0.65	0.94	**
	F	271	26-58 mm CL	9.9-84.2 g	0.0036	2.48	0.70	0.93	**
	M	192	25-41 mm CL	7.5-34.3 g	0.0015	2.71	1.00	0.88	**
<i>Eledone cirrhosa</i>	C	1119	2.5-12.5 cm ML	5.8-437.4 g	0.4591	2.71	0.76	0.93	**
	F	705	3.0-12.5 cm ML	8.0-437.4 g	0.4612	2.72	0.79	0.92	**
	M	374	3.0-11.0 cm ML	8.6-299.1 g	0.4803	2.68	0.95	0.89	**
<i>Illex coindetii</i>	C	575	4.0-22.0 cm ML	3.5-375.0 g	0.0600	2.81	0.81	0.92	**
	F	217	6.0-22.0 cm ML	10.4-375.0 g	0.1133	2.55	0.82	0.91	**
	M	246	6.5-20.5 cm ML	9.8-300.0 g	0.0609	2.85	0.98	0.90	*
<i>Loligo vulgaris</i>	C	715	3.0-29.5 cm ML	2.5-750.0 g	0.1330	2.47	0.40	0.98	**
	F	261	6.0-29.5 cm ML	11.3-750.0 g	0.1327	2.51	0.40	0.98	**
	M	230	5.5-28.0 cm ML	9.4-650.0 g	0.1253	2.51	0.50	0.96	**
<i>Sepia officinalis</i>	C	581	4.5-18.5 cm ML	16.8-770.0 g	0.2887	2.69	0.53	0.96	**
	F	312	5.5-18.5 cm ML	26.5-770.0 g	0.2962	2.69	0.53	0.96	**
	M	268	4.5-18.5 cm ML	18.2-662.6 g	0.3246	2.62	0.53	0.96	**
<i>Merluccius merluccius</i>	C	4856	10.5-74.0 cm TL	15.2-3543.0 g	0.0045	3.15	0.51	0.97	**
	F	2026	13.5-71.0 cm TL	18.8-2700.0 g	0.0053	3.10	0.49	0.98	**
	M	2021	10.5-59.0 cm TL	15.2-1750.0 g	0.0062	3.05	0.61	0.96	**
<i>Mullus barbatus</i>	C	5670	8.0-27.5 cm TL	7.5-220.0 g	0.0119	2.99	0.55	0.97	ns
	F	2819	8.0-27.5 cm TL	8.0-218.4 g	0.0150	2.91	0.54	0.97	**
	M	2028	8.0-20.0 cm TL	9.0-99.0 g	0.0152	2.89	0.76	0.94	**
<i>Mullus surmuletus</i>	C	1747	9.5-36.5 cm TL	9.8-644.0 g	0.0099	3.10	0.51	0.97	**
	F	629	11.0-29.5 cm TL	15.0-372.0 g	0.0077	3.19	0.46	0.98	**
	M	535	9.5-25.5 cm TL	9.8-222.9 g	0.0082	3.16	0.66	0.96	**
<i>Pagellus erythrinus</i>	C	1164	10.0-34.5 cm TL	13.6-490.0 g	0.0174	2.90	0.50	0.97	**
	F	750	12.0-34.5 cm TL	22.5-490.0 g	0.0164	2.92	0.54	0.97	**
	M	390	12.5-32.5 cm TL	26.6-463.0 g	0.0179	2.89	0.52	0.97	**

## References

- LLORET J., GIL DE SOLA L., SOUPLET A., GALZIN R. (2002) - Effects of large-scale habitat variability on condition of demersal exploited fish in the north-western Mediterranean. *ICES J. Mar. Sci.*, **59**: 1215-1227.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) - Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.
- RICKER W.E. (1973) - Linear regression in fishery research. *J. Fish. Res. Board. Can.*, **30**: 409-434.



M. MEREU, B. AGUS, AL. CAU, D. CUCCU

Department of Life Science and Environment, University of Cagliari,  
Via T. Fiorelli, 1 - 09126 Cagliari, Italy.  
cuccu@unica.it

ON A FEMALE OF *TREMOCTOPUS* SP. (OCTOPODA:  
TREMOCTOPODIDAE) CAUGHT IN THE SARDINIAN SEA

*SU UNA FEMMINA DI TREMOCTOPUS SP. (OCTOPODA:  
TREMOCTOPODIDAE) CATTURATA NEL MARE DI SARDEGNA*

**Abstract** - Morphometric and biologic data on a maturing female of *Tremoctopus* sp. (Octopoda: Tremoctopodidae) from the Sardinian Sea are provided. Potential fecundity and oocytes size values, reported for the first time in the western Mediterranean Sea, have suggested a possible different reproductive investment between the two basins of the Mediterranean.

**Key-words:** *Tremoctopus* sp., potential fecundity, Sardinian Sea, Mediterranean Sea.

**Introduction** - The genus *Tremoctopus* Delle Chiaje, 1830 is composed of four epipelagic species, *T. violaceus* Delle Chiaje, 1830, *T. gracilis* (Eydoux and Souleyet, 1852), *T. gelatus* Thomas, 1977 and *T. robsoni* Kink, 1884 (Mangold *et al.*, 1996). Up to present most of the reported specimens in the Mediterranean belong to *T. violaceus* (Biagi, 1984; Biagi and Bertozzi, 1992; Laptikhovsky and Salman, 2003). One large egg-carrying female was observed and photographed in the coastal waters around Ponza island, Tyrrhenian Sea (Belluscio *et al.*, 2004), and assigned to the species *T. gracilis* (Orsi Relini *et al.*, 2004). Within Sardinian waters, only one specimen of *T. violaceus* was caught, in September 1978 near Olbia, in the Tyrrhenian Sea (Biagi, 1984). Due to the limited number of specimens analyzed, the knowledge on the biology of this genus is scarce and mainly restricted to the Aegean Sea area (Laptikhovsky and Salman, 2003). This paper aims to increase the information on the presence and reproductive biology of this genus in the western Mediterranean.

**Materials and methods** - An alive *Tremoctopus* sp. was caught at 6 m depth by an octopus-trap, on 15 September 2011, in the Sardinian Sea (off the Portoscuso harbor, 39° 11.8' N/008° 22.4' E). The specimen was measured fresh (ML, VML, MW, HL to the nearest 0.1 mm) and weighted (TW, to the nearest 0.01 g) according to Roper and Voss (1983). Sex was determined and maturity stage was established using the cephalopods Medits scale (Relini *et al.*, 2008). The ovary was fixed in 4% formalin. The potential fecundity (PF) was gravimetrically estimated, basing on 4 sub-samples (of 0.10 g each) taken throughout the entire ovary volume. In each sub-sample all oocytes were counted and measured along the major axis (nearest 0.01 mm), under 40× magnification. The mandibles were removed and, according to Clarke (1986), the following measurements were taken: upper crest (UCL), upper hood (UHL), lower crest (LCL) and lower hood (LHL).

**Results** - The specimen (ML: 165.0 mm; TW: 874.80 g) was a female with four dorsal arms and web broken. Its diagnosis was made on the base of morphological characteristics of the body (e.g. water pores) and of the beak. However, the lack of the analysis on the chromatic pattern of the web surrounding the dorsal arms, has prevented the species identification. The reproductive apparatus was characterized by a whitish ovary and oviductal glands; the absence of oocytes inside the oviducts has indicated a maturing sexual stage. Potential fecundity was estimated in 105758 oocytes; the oocytes were reticulated and measured from 0.06 to 0.70 mm (median:

0.35 mm) (Tab. 1). The mandibles were characterized by the absence of rostrum, by indistinct jaw angles and large hood. The crest in the lower beak, and the anterior part of the crest in the upper beak were pigmented as well as the anterior part of the hoods. The stomach was empty.

Tab. 1 - Morphometric and reproductive features of the *Tremoctopus* sp. caught in the Sardinian Sea.

*Dati morfometrici e riproduttivi di un esemplare di Tremoctopus sp. catturato nel Mare di Sardegna.*

ML= 165.0 mm	Ovary weight= 1.88 g	Oocytes length= 0.06-0.70 mm
VML= 100.0 mm	Oviductal complex weight= 0.25 g	UCL= 16.90 mm
MW= 130.0 mm	Oviductal gland diameter= 4.9 mm	UHL= 12.00 mm
HL= 61.0 mm	Proximal oviduct length= 21.8 mm	LCL= 11.03 mm
HW= 105.0 mm	Distal oviduct length= 38.9 mm	LHL= 8.27 mm
TW= 874.80 g	Potential Fecundity= 105758 oocytes	

**Conclusions** - The record of the rare blanket octopus, *Tremoctopus* sp. from the Sardinian Sea, confirms the presence of this genus in the Italian waters. This female, similar in weight to that previously reported within Sardinian waters (Biagi, 1984) was heavier and larger in size than the others available in literature (e.g. Laptikhovsky and Salman, 2003). Furthermore, differently from the smaller females (76 mm ML, 184 g; 103 mm ML, 341 g) from the Aegean Sea this specimen was sexually immature. The PF value (105758) was close to the lower limit of the referential range for the eastern Mediterranean Sea (100000-300000) and, despite the greater size of our specimen, the oocytes were smaller than oocytes measured by Laptikhovsky and Salman (2003). These observations on *Tremoctopus* sp., could suggest a different reproductive investment between the specimens from the western and eastern Mediterranean Sea.

## References

- BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D., CONTICELLI M., PELLICCIARI C. (2004) - Prima documentazione fotografica di una femmina ovigera di *Tremoctopus* sp. (Octopoda, Tremoctopodidae) nel Mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 556-559.
- BIAGI V. (1984) - Spiaggiamenti di Cefalopodi sulla costa livornese. *Quad. Mus. Stor. Nat. Livorno*, **5**: 99-115.
- BIAGI V., BERTOZZI A. (1992) - Presenza stagionale di *Tremoctopus violaceus* Delle Chiaje, 1830 (Cephalopoda: Octopoda) nel mare di Piombino. *Boll. Malacol.*, **28** (1-4): 47-54.
- CLARKE M.R. (1986) - *A handbook for the identification of cephalopod beaks*. Clarendon Press, Oxford, UK: 275 pp.
- LAPTIKHOVSKY V., SALMAN A. (2003) - On reproductive strategies of the epipelagic octopods of the superfamily Argonautoidae (Cephalopoda: Octopoda). *Mar. Biol.*, **142**: 321-326.
- MANGOLD K.M., VECCHIONE M., YOUNG R.E. (1996) - Tremoctopodidae. *Tree of life Web Project*: <http://tolweb.org/Tremoctopodidae/20202>.
- ORSI RELINI L., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. (2004) - Tracking the Indopacific pelagic octopus *Tremoctopus gracilis* in the Mediterranean. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, **37**: 415.
- RELINI G., CARPENTIERI P., MURENU M. (2008) - Manuale di Istruzioni Medits (Medits Instruction Manual). *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (2): 1-78.
- ROPER C.F.E., VOSS G.L. (1983) - Guidelines for taxonomic descriptions of cephalopod species. *Mem. Nat. Mus. Vict.*, **44**: 49-63.

S. MUSOLINO, P. BATTAGLIA, G. AMMENDOLIA<sup>1</sup>, V. ESPOSITO, P. CONSOLI,  
T. ROMEO, F. ANDALORO<sup>2</sup>

ISPRA, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Laboratorio di Milazzo,  
Via dei Mille, 44 - Milazzo (ME), Italia.

simo\_mus@hotmail.it

<sup>1</sup>Coop. Sicilianella, Via Consolare Pompea, 3 - 98168 Messina (ME), Italia.

<sup>2</sup>ISPRA, STS di Palermo, c/o Residence Marbella, Via Salvatore Puglisi, 9 - 90143 Palermo, Italia.

## PRESENZA E DIETA DI GIOVANILI DI PESCI MEDUSIVORI (CENTROLOPHIDAE E NOMEIDAE) NELLO STRETTO DI MESSINA (MEDITERRANEO CENTRALE)

### *OCCURRENCE AND DIET OF JUVENILE MEDUSIVOROUS FISHES (CENTROLOPHIDAE AND NOMEIDAE) IN THE STRAIT OF MESSINA (CENTRAL MEDITERRANEAN SEA)*

**Abstract** - The occurrence of juvenile medusivorous fishes belonging to Centrolophidae and Nomeidae in the Strait of Messina (central Mediterranean), during 2009 and 2010 is reported. Individuals were collected stranded along the shore and their feeding habits were investigated by stomach content analysis. *Schedophilus medusophagus* shows a specialist predation on Scyphozoa, while *Centrolophus niger* and *Cubiceps gracilis* rely mainly on Chaetognata and Crustacea.

**Key-words:** medusivorous fishes, Centrolophidae, Nomeidae, feeding habits, Strait of Messina.

**Introduzione** - Negli ultimi anni vi è stato un incremento di alcune specie di meduse (es: *Pelagia noctiluca*), da ricondursi in parte al riscaldamento globale (Goy *et al.*, 1989). Le invasioni di meduse nel Mediterraneo ed in altre aree sono un fenomeno complesso ed articolato con risvolti di natura ambientale ed implicazioni su pesca, turismo e salute. A tal proposito riveste particolare interesse lo studio delle relazioni trofiche tra questi organismi e altre specie (Purcell e Arai, 2001), soprattutto quelle che rivestono il ruolo di predatori e/o competitori (Orsi Relini *et al.*, 2010). Molti teleostei instaurano rapporti trofici e di associazione con gli scifozoi, in particolare durante gli stadi giovanili. In questo studio vengono fornite informazioni sulla presenza di esemplari giovanili di quattro specie ittiche medusivore (Famiglie: Centrolophidae e Nomeidae) nello Stretto di Messina, dove il forte idrodinamismo e le particolari condizioni meteorologiche sono le principali cause del fenomeno di spiaggiamento di fauna mesopelagica. Viene inoltre effettuata per la prima volta un'analisi della dieta di queste specie nei primi stadi di vita.

**Materiali e metodi** - I campioni sono stati raccolti lungo le coste dello Stretto di Messina (Mediterraneo centrale) negli anni 2009 e 2010 secondo un campionamento giornaliero di monitoraggio del fenomeno dello spiaggiamento. Su ciascun esemplare campionato sono state rilevate le informazioni relative a data di cattura, lunghezza totale (LT in mm) e peso totale (PT in g). L'identificazione delle prede rinvenuti negli stomaci è stata effettuata seguendo le chiavi di identificazione riportate da Riedl (1991). L'importanza delle differenti prede nella dieta delle specie analizzate è stata stimata attraverso il calcolo della biomassa percentuale (Hyslop, 1980):  $P\% = (p_i/p_t) \cdot 100$ , dove  $p_i$  è il peso degli individui della preda  $i$  e  $p_t$  è il peso totale di tutte le prede.

**Risultati** - Sono stati raccolti in totale 82 esemplari appartenenti alle specie *Centrolophus niger* (Gmelin, 1788), *Schedophilus medusophagus* (Cocco, 1839), *Schedophilus ovalis* Cocco, 1839 della famiglia Centrolophidae e *Cubiceps gracilis*

(Lowe, 1843) della famiglia Nomeidae. In Tab. 1 si riporta il numero di esemplari per specie ed i periodi di ritrovamento, con le rispettive lunghezze medie ed i range di taglia osservati.

Tab. 1 - Numero di esemplari e periodi di ritrovamento per specie e rispettive lunghezze medie e range di taglia osservati.

*Number of individuals and stranding period for each species, together with mean length and TL range in mm.*

Specie	N. ind.	LT range (mm)	LT media (mm)	Periodo	N. stomaci vuoti
<i>Centrolophus niger</i>	19	40-140,4	67,4±29,7	gen-mar	4
<i>Schedophilus medusophagus</i>	38	41,7-244	73,9±42,4	mar-apr	7
<i>Schedophilus ovalis</i>	2	37-52	44,5±10,6	nov	2
<i>Cubiceps gracilis</i>	23	14,6-70,4	40±14,1	mar-apr	0

Su 82 stomaci analizzati, 13 sono risultati vuoti (15,8%). Entrambi gli stomaci di *S. ovalis* non contenevano prede, per cui non è stato possibile procedere all'analisi della dieta di questa specie. I Chetognati rappresentano il phylum più predato da *C. gracilis* e *C. niger* (rispettivamente P%=59,7 e 71,0), seguito dai crostacei. Tale frazione è dominata in *C. gracilis* dai copepodi (P%=39,2), mentre anfipodi (P%=8,3) e copepodi (P%=7,5) hanno simile importanza nella dieta di *C. niger*. Un'aliquota non trascurabile delle prede di *C. gracilis* è rappresentata inoltre da tunicati (Doliolida, P%=8,6). L'alimentazione di *S. medusophagus* è invece costituita principalmente da scifozoi (P%=99,5).

**Conclusioni** - L'analisi della presenza di individui giovanili di specie medusivore sembra indicare un'alternanza stagionale del reclutamento nei mesi compresi da novembre ad aprile. Sebbene vi sia una sovrapposizione temporale dei giovanili di *S. medusophagus* e *C. gracilis*, essi non sembrano competere per le risorse alimentari. Infatti, per quanto riguarda questi primi stadi di vita, emerge una relazione trofica con le meduse solo per la specie *S. medusophagus*, predatore altamente specializzato che si nutre quasi esclusivamente di questi organismi, come riportato anche in altre aree (Garibaldi e Orsi Relini, 2010). La dieta delle reclute di *C. gracilis* presenta invece delle analogie con quella di *C. niger*, ma come evidenziato dai mesi di ritrovamento dei giovanili, le due specie probabilmente insistono sulle risorse in tempi differenti.

#### Bibliografia

- GARIBALDI F., ORSI RELINI L. (2010) - Medusivorous fishes of the Ligurian Sea 2. The specialist, *Schedophilus medusophagus*, Cocco 1839. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **39**: 525.
- GOY J., MORAND P., ETIENNE M. (1989) - Long-term fluctuations of *Pelagia noctiluca* (Cnidaria, Scyphomedusa) in the western Mediterranean Sea. Prediction by climatic variables. *Deep-Sea Res.*, **36** (2): 269-279.
- HYSLOP E.J. (1980) - Stomach content analysis: A review of methods and their application. *J. Fish. Biol.*, **17**: 411-422.
- ORSI RELINI L., LANTERI L., GARIBALDI F. (2010) - Medusivorous fishes of the Mediterranean. A coastal safety system against jellyfish blooms. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 348-349.
- PURCELL J.E., ARAI M.N. (2001) - Interactions of pelagic cnidarians and ctenophores with fish: A review. *Hydrobiologia*, **451**: 27-44.
- RIEDL R. (1991) - *Flora e fauna del Mediterraneo*. Franco Muzzio Ed.: 777 pp.

M. ROMANELLI, O. GIOVANARDI\*

ISPRA – Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale,  
Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.  
michele.romanelli@isprambiente.it

\*ISPRA, Località Brondolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.

## RECENT PATTERNS OF THE ADRIATIC HYDRAULIC DREDGE FISHERY TARGETING STRIPED VENUS *CHAMELEA GALLINA* (L.) AND INFLUENCE OF SMALLER RIVERS

### *DATI RECENTI SULL'ATTIVITÀ DELLE DRAGHE DEDITE ALLA PESCA DI CHAMELEA GALLINA (L.) LUNGO LE COSTE ADRIATICHE ED INFLUENZA DEI FIUMI MINORI*

**Abstract** - Data on striped venus clam landings in 1992-1993 and 1997-2009 as well as the fishing activity of dredgers were analysed investigating the influence of freshwater discharge from several rivers. These data show that fleets of the administrative Regions Veneto and Marche performed differently, presumably because the abundance of clam beds was partly influenced by nutrients borne by local rivers.

**Key-words:** fisheries, bivalves, nutrients, Mediterranean, clam.

**Introduction** - It is accepted that the negative trend of the Adriatic *Chamelea gallina* landings since mid-1980s is indirectly tied (mainly through the phytoplankton clams feed on) to the decrease of loads of land-borne nutrients through the rivers flowing to that sea (Romanelli *et al.*, 2009). Beside Po river (on average 60% of the flood water supply to the entire Adriatic) smaller rivers may be relevant (Cozzi and Giani, 2011). Therefore data on commercial landings in distinct geographic areas and annual mean water discharge of some local rivers were compared to assess whether those parameters unanimously varied in time.

**Materials and methods** - Data on fleets, venus clam annual landings, days at sea (DAS) in distinct areas during 1992-1993 and 1997-2009 were retrieved from IREPA reports (mainly IREPA 2010). Further data were obtained on dredgers that had fished in Veneto during 2010 (Osservatorio Veneto Pesca, 2012). Data on annual river mean flows estimated at the stations closest to the mouths were obtained from “Hydrological Annals” available for some areas and years on the Web site of APAT (URL: <http://193.206.192.243/annali/>).

**Results** - In 1993-1998 the number of Adriatic dredgers decreased from 778 to 665 to remain stable. In the maritime districts of Chioggia and Venice (Veneto region) and Monfalcone (Friuli-Venezia Giulia) 65 to 105 vessels have been progressively authorized since 2002 to target only *Callista chione* (L.) (Romanelli *et al.*, 2009). In recent years vessels catching venus clams dropped to 175 in the two regions and to 560 in the Adriatic Sea. In 1992-1993 mean annual landings were close to 55 t/boat for the dredgers of all maritime districts between those of Monfalcone and Termoli (always nearly 90% of the entire Adriatic fleet). In 2009 an exceptional low level of 15 t/boat was recorded for the pooled fleets of Veneto and Friuli-Venezia Giulia, and the same was true for the former area also in 2010. In 1997-2009 “comparatively high” Adriatic clam landings (i.e. higher than in adjacent years, at least 10% above the level of the larger one of the pair) were recorded in 1999, 2003 and 2007 whereas “lows” fell in 2002 and 2005. Higher landings observed in 1999, 2003 and 2007 were tied to positive outputs from sub-areas that had experienced little fishing in the previous year (e.g. in 1998 dredgers from Veneto and Friuli-Venezia Giulia on average halved

DAS but activity returned normal in 1999 and landings raised from 4,500 to 9,000 tons). In the pooled maritime districts of Chioggia, Venice and Monfalcone landings stood high at 7,100 tons in 2007 to slightly decrease the 2008 and abruptly fall in 2009-2010. In 2008-2009 the dredgers of the Venetian district on average experienced low DAS values (50-55 vs. 116-134 in 2005-2006 as the 2007 datum is somewhat blurred). In the district of Chioggia DAS (all dredgers pooled) was 131 in 2008 and 82 in 2009. If we consider the two administrative regions hosting the largest fleets (Veneto and Marche, each always with 25%-30% of the Adriatic dredgers targeting clams) and couples of consecutive years with “normal” activity levels it is seen that in the former area annual landings peaked to 50 t/boat in 2004 whereas in Marche this happened in 1999-2001 and 2007-2008 with nearly 55 tons/boat/year. Detailed data on DAS since 2005 hint that the fleets from the districts of Pesaro and Ancona (northern and central Marche) performed better as minimum values were 62 and 67 vs. 51 and 32 for the regional sub-areas of Civitanova and S. Benedetto Tronto. Data since 2005 on the water loads of rivers flowing to the sea at the Marche coast point out that Metauro always pours more water than Potenza and Tronto, and all these rivers brought more water in 2005 (monthly means of measurements taken each day were 5.5-41.0 and 3.6-55.0 m<sup>3</sup>/s in Winter - early Spring and Autumn). The driest year presumably was 2007 although a few data missing for Metauro hinder comparisons (analogous monthly means were 0.8-3.3 and 2.3-9.0 m<sup>3</sup>/s for Potenza and Tronto).

**Conclusions** - Data on the Adriatic clam fishery show that inter-annual oscillations of landings during 1997-2009 largely depended on the activity levels of local fleets. Nevertheless, minimal landings of 2009-2010 in Veneto seem to be related to the very low water flows of Po and other rivers flowing to the North Adriatic in 2005-2007 (Cozzi and Giani, 2011), possibly implying local clams slowly grew (approx. 3 years?) to reach the commercial size. Data on mean water discharges of the Marche rivers show they ranged differently from those reaching the northern sub-basin and this partially explains the fishery’ space pattern.

## References

- COZZI S., GIANI M. (2011) - River water and nutrient discharges in the Northern Adriatic Sea: current importance and long term changes. *Cont. Shelf Res.*, **31**: 1881-1893.
- IREPA (2010) - *Osservatorio economico sulle strutture produttive della pesca marittima 2009*. IREPA Onlus: 1-180.
- OSSERVATORIO VENETO PESCA (2012) - *La pesca in Veneto: aggiornamento al 2012*. Veneto Agricoltura: 1-11.
- ROMANELLI M., CORDISCO C.A., GIOVANARDI O. (2009) - The long-term decline of the *Chamelea gallina* (L.) (Bivalvia: Veneridae) clam fishery in the Adriatic Sea: is a synthesis possible? *Acta Adriat.*, **50**: 171-205.



I. ROSSETTI, B. FRANCESCONI, M. SBRANA<sup>1</sup>, L. PIAZZI<sup>2</sup>, A. VOLIANI<sup>2</sup>, P. SARTOR<sup>1</sup>

Aplysia soc. coop. r.l., Via Menichetti, 35 - 57121 Livorno, Italy.

info@aplysia.it

<sup>1</sup>C.I.B.M., Livorno, Italy.

<sup>2</sup>ARPAT - R.I.B.M., Livorno, Italy.

## CHARACTERIZATION OF POTENTIAL “MÉTIER” FOR THE SMALL SCALE FISHERY ALONG THE COASTS OF TUSCANY

### *CARATTERIZZAZIONE DEI MÉTIER POTENZIALI DELLA PESCA ARTIGIANALE LUNGO LE COSTE DELLA TOSCANA*

**Abstract** - Interviews in 22 landing places in Tuscany have been carried out in 2011 in order to characterize the small scale fishery. Analysis of the collected data set allowed to single out 22 different fishing practices (e.g. potential “métiers”), each one with its own characteristics in terms of typology of gear, fishing grounds, fishing practices, as well as target species and by-catch.

**Key-words:** artisanal fishing, fishery management, Tuscany, Mediterranean Sea.

**Introduction** - According to recent data (IREPA, 2011), the small scale fishery in Tuscany account for 456 vessels, representing about 75% of the fleet registered in the Region and engages 60% of the personnel devoted to fishing activity. In spite of this, the knowledge on this fleet segment is still scattered. The aim of the present study is to investigate the characteristics of the gears utilized, fishing patterns, fishing effort and general composition of the catches of the small scale fishery present in Tuscany, in order to provide useful information for management purposes.

**Materials and methods** - From July to September 2011 a wide monitoring program was carried out in 22 harbors and mooring sites, covering all the Tuscany coastline. According to a standardized protocol, interviews were realized with fishermen belonging to the small scale fishery in order to collect information on their fishing activity carried out during the past 12 months. Data on typology of gears utilized (e.g. technical characteristics) fishing pattern, fishing effort and catch composition were gathered and analyzed in order to identify peculiar fishing typologies (e.g. potential “métiers”, according to the indications provided by the EU Reg. 199/2008).

**Results and conclusions** - In the investigated period a total of 176 interviews were carried out, 158 of them provided reliable and useful data for the following analyses. A wide diversification was detected in the typologies of gears used, as well as in the fishing practices and in the target species: the analyses of the whole data set allowed to single out 22 different fishing practices (e.g. potential “métiers”), each one with its own characteristics (Tab. 1). Discarding was reported for almost all the fishing practices, even though differences were noticed in the species composition and in the quantities. Only 16% of the interviewed declared to utilize the same gear all year round, while 32% and 34% used to alternate in the same year 2 or 3 different gears, respectively; 12% reported to use 4 gears and the remaining 6% noticed for 5 or more. Among the fishermen using more gears, trammel net (with the reported variants) was the prevalent gear in 61% of cases, followed (21%) by different types of gillnets. As concerns the secondary gear, trammel nets were reported in 43% of the interviews, gillnet in 34%.

Tab. 1 - Characteristics of the 22 potential “métiers” identified.

*Caratteristiche dei 22 “métiers” potenziali identificati.*

Gear/métier	Mesh opening (mm)	Fishing period	Depth range (m)	Hauling time (h)	Main target species
<b>TRAMMEL NET</b>					
FOR LOBSTERS	90-120	April - September	30-80	24-72	<i>Palinurus elephas</i>
FOR CARAMOTE PRAWNS	44-50	April - August	5-15	6-10	<i>Penaeus kerathurus</i>
FOR SPARIDS	80-100	All year, principally Autumn - Winter	5-50	8-12	<i>Sparus aurata</i>
FOR CUTTLEFISH	70-80	October - June	5-20	10-12	<i>Sepia officinalis</i>
FOR COMMON SOLE	76-90	November - March	4-20	8-12	<i>Solea solea</i>
FOR RED MULLET	44-52	May - September	5-30	3-6	<i>Mullus barbatus</i>
<b>TRAPS</b>					
FOR CHANGEABLE NASS		October - March	7-14	48	<i>Nassarius mutabilis</i>
FOR CEPHALOPODS		January - June	3-40	36-72	<i>Octopus vulgaris</i>
FOR BLACK SEABREAM		March - June	30-70	12	<i>Spondylosoma cantharus</i>
<b>SMALL SIZED DRIFNET</b>	90-100	Autumn and Spring	20-30	4-5	<i>Sarda sarda</i>
<b>GILLNET</b>					
FOR CARAMOTE PRAWNS	44-50	April - July	5-20	6-10	<i>P. kerathurus</i>
FOR HAKES	80-120	October - May	100-300	4-10	<i>Merluccius merluccius</i>
FOR SPARIDS	70-120	All year, principally spring	5-90	8-12	<i>S. aurata</i>
FOR COMMON SOLE	70-90	September - April	5-80	10-12	<i>S. solea</i>
FOR FRY FISHES	mesh blind	All year	0-5		<i>S. aurata (juv.)</i>
<b>COMBINED NET</b>	70-100	October - March	4-20	12	<i>Sparids</i>
<b>LINES FOR SQUID</b>		December - March			<i>Loligo vulgaris</i>
<b>LONGLINE</b>					
FOR HAKES	hooks n. 7-9	January - June	50-120	4-8	<i>M. merluccius</i>
FOR SWORDFISH	hooks n. 1-3	June - September	50-100	8-12	<i>Xiphias gladius</i>
<b>MANUAL RAKE</b>		All year	1-3	3	<i>Donax trunculus</i>
<b>BEACH SEINE FOR TRANSPARENT GOBY</b>	9	November - March	5-20	0,3	<i>Aphia minuta</i>
<b>SCUBA FISHING</b>		January - March		2	<i>Sea urchins</i>

Gear/métier	Commercial by catch (main species)	Discard (main species)
<b>TRAMMEL NET</b>		
FOR LOBSTERS	<i>Scorpaena scrofa</i> , <i>Zeus faber</i> , <i>Pagellus spp.</i>	<i>Conger conger</i> , <i>Murena helena</i> , damaged specimens
FOR CARAMOTE PRAWNS	<i>Mullus barbatus</i> , <i>Squilla mantis</i> , <i>Chelidonichthys lucernus</i>	Crabs, <i>Diplodus annularis</i> , <i>Encraulis encrasicolus</i>
FOR SPARIDS	<i>Diplodus spp.</i> , <i>Lithognathus mormyrus</i> , <i>Sepia officinalis</i>	Damaged or undersized specimens, <i>D. annularis</i> , <i>Trachurus spp.</i>
FOR CUTTLEFISH	<i>Octopus vulgaris</i> , <i>L. mormyrus</i> , <i>Scorpaena spp.</i>	Damaged pecimes, <i>D. annularis</i> , <i>Trachurus spp.</i> , <i>Labridae</i>
FOR COMMON SOLE	<i>Scophthalmus rhombus</i> , <i>Psetta maxima</i> , <i>Platyichthys flesus</i>	<i>D. annularis</i> , <i>Torpedo spp.</i>
FOR RED MULLET	<i>Mullus surmuletus</i> , <i>Scorpaena spp.</i>	<i>D. annularis</i> , <i>Trachurus spp.</i> , <i>Labridae</i>
<b>TRAPS</b>		
FOR CHANGEABLE NASS		Crabs, Starfish
FOR CEPHALOPODS	<i>S. officinalis</i>	<i>D. annularis</i> , Crabs, <i>Labridae</i>
FOR BLACK SEABREAM	<i>Dentex dentex</i>	<i>Trachurus spp.</i> , <i>Spicara spp.</i>
<b>SMALL SIZED DRIFNET</b>	<i>Seriola dumerili</i>	<i>Trachurus spp.</i>
<b>GILLNET</b>		
FOR CARAMOTE PRAWNS	<i>M. barbatus</i> , <i>S. mantis</i>	Crabs, <i>D. annularis</i> , Heremits crabs
FOR HAKES	<i>C. lucernus</i> , <i>Trachurus trachurus</i>	<i>T. trachurus</i>
FOR SPARIDS	<i>Diplodus spp.</i> , <i>L. mormyrus</i> , <i>Pagellus erythrinus</i>	<i>Trachurus spp.</i> , damaged specimens
FOR COMMON SOLE	<i>Rajidae</i> , <i>C. lucernus</i> , <i>M. merluccius</i>	Crabs, damaged or undersized specimens
FOR FRY FISHES	<i>Dicentrarchus labrax (juv.)</i> , <i>Mugil cephalus (juv.)</i>	
<b>COMBINED NET</b>	<i>S. sarda</i>	<i>D. annularis</i> , damaged or undersized specimens
<b>LINES FOR SQUID</b>		
<b>LONGLINE</b>		
FOR HAKES	<i>C. lucernus</i> , <i>D. dentex</i> , <i>Raiidae</i>	<i>C. conger</i> , <i>Lepidopus caudatus</i>
FOR SWORDFISH	<i>Thunnidae</i>	Undersized specimens, <i>Dasyatidae</i>
<b>MANUAL RAKE</b>		Crabs
<b>BEACH SEINE FOR TRANSPARENT GOBY</b>		<i>Labridae</i> , <i>D. annularis</i>

## References

IREPA Onlus (2011) - *Osservatorio economico sulle strutture produttive della pesca marittima in Italia 2010*. Edizioni Scientifiche Italiane, Napoli: 184 pp.

This work was performed in the framework of the Marte+ EU Cross-border Project “Mare, Ruralità e Terra: potenziare l’unitarietà strategica”.

M. SBRANA, A. VOLIANI\*, B. REALE, M. RIA\*, S. DE RANIERI

Consorzio per il Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata "G. Bacci",  
Viale Nazario Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.  
msbrana@cibm.it

\*ARPAT - RIBM Settore Mare, Livorno, Italia.

**PATTERN DI SFRUTTAMENTO DELLA PANNOCCHIA,  
*SQUILLA MANTIS* (L., 1758), NEL MAR LIGURE  
E NEL TIRRENO CENTRO-SETTENTRIONALE (FAO GSA 9)**

***EXPLOITATION PATTERN OF MANTIS SHRIMP,  
SQUILLA MANTIS (L., 1758), IN THE LIGURIAN  
AND NORTHERN-CENTRAL TYRRHENIAN SEA***

**Abstract** - *Squilla mantis* is an important by-catch species in the GSA 9 bottom trawl fishery. Landing statistics for the period 2004-2010 show a decreasing trend while landings per unit of effort are quite stable. About 30% of the specimens caught are discarded. The size frequency distribution of the catch shows an uni-modal shape, with the smallest individuals discarded and the larger ones commercialised.

**Key-words:** fishery data, by catch, Ligurian Sea, Tyrrhenian Sea.

**Introduzione** - Nel mar Ligure e nel mar Tirreno centro-settentrionale *Squilla mantis*, rappresenta un importante *by catch* commerciale per le marinerie toscane operanti con reti a strascico di fondo (Baino *et al.*, 1988; Rossetti *et al.*, 2005). Obiettivo di questo lavoro è fornire informazioni sugli sbarcati e sulla struttura demografica delle catture, per comprendere le modalità di sfruttamento della specie nella GSA9.

**Materiali e metodi** - Nel corso di visite periodiche alle principali marinerie a strascico della Toscana sono stati raccolti dati sui quantitativi sbarcati e sono stati stimati, con frequenza mensile, indici di cattura per unità di sforzo. Nell'ambito del Data Collection Framework (EC Reg. 199/2008), oltre alle statistiche ufficiali sugli sbarcati, nel biennio 2009-10 sono stati raccolti dati sulla struttura demografica della cattura commerciale in vari porti della GSA 9, tramite campionamenti ai punti di sbarco e imbarchi di ricercatori a bordo di imbarcazioni professionali durante le battute di pesca.

**Risultati e conclusioni** - Le statistiche ufficiali IREPA relative alla GSA9 per il periodo 2004-2010 indicano che lo strascico contribuisce all'84% dello sbarcato totale di *S. mantis*, con una riduzione per quest'attrezzo da 590 tonnellate nel 2005 a 386 nel 2010. Le catture per unità di sforzo non mostrano invece particolari variazioni. I quantitativi sbarcati per unità di sforzo in tre porti campione (medie mensili del periodo 1990-2011) mostrano una spiccata stagionalità, con indici più bassi a fine primavera-inizio estate. I rendimenti più elevati si osservano in genere a partire dalla tarda estate e nei mesi autunnali ed invernali, quando gli esemplari soggiornando maggiormente al di fuori dalle loro tane diventano più vulnerabili (Fig. 1). La struttura demografica della cattura totale dello strascico mostra una componente di esemplari più piccoli scartati per il loro scarso valore economico (moda a 16-18 mm di lunghezza del carapace, LC) ed una componente commercializzata (moda a 25 mm LC) (Fig. 2). La taglia di prima commercializzazione ( $L_{50\%}$ ), stimata utilizzando una curva logistica, è 20,5 mm LC. Lo scarto, quindi, è una frazione non trascurabile della cattura totale di *S. mantis* da parte dello strascico, rappresentando rispettivamente il 33% nel 2009 ed il 28% nel 2010 del totale del numero degli esemplari catturati.

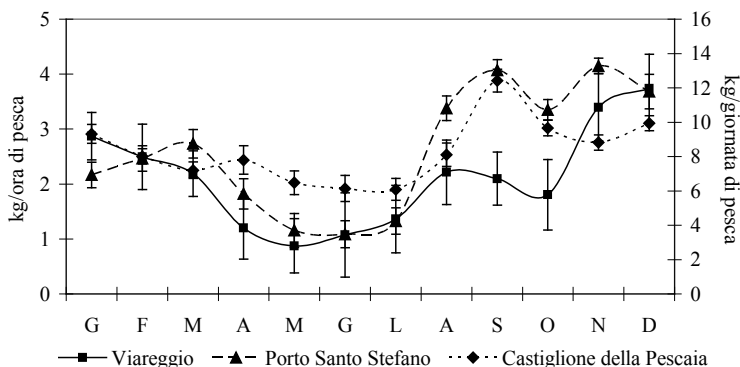


Fig. 1 - Medie degli sbarcati per unità di sforzo mensili (Viareggio, kg/h) e relativi coefficienti di variazione.

Monthly means of the landings per unit of effort (Viareggio, kg/h) and CV correlated.

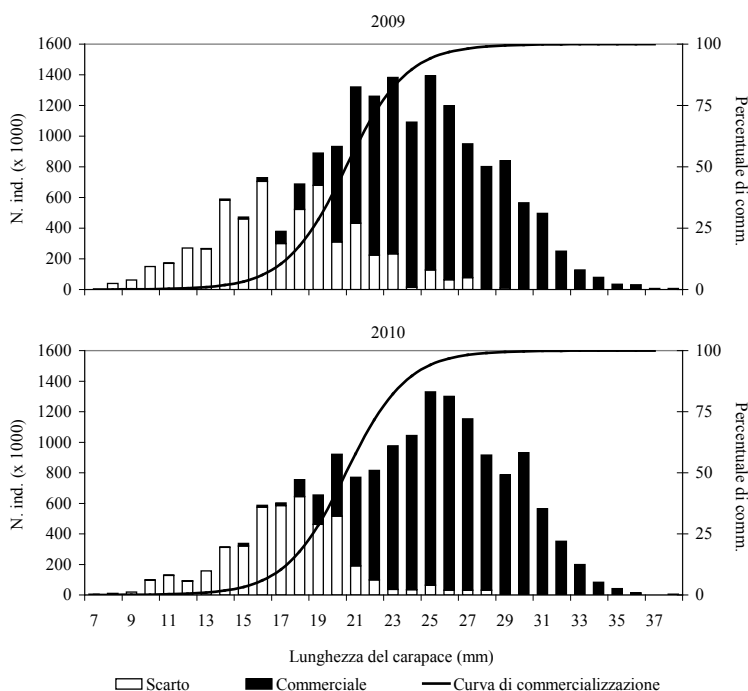


Fig. 2 - Distribuzione di taglia della cattura e curva di selezione di *S. mantis* nella pesca a strascico di fondo nella GSA9.

Length frequency distribution and selection curve for the *S. mantis* bottom trawl catches in the GSA9.

## Bibliografia

- BAINO R., RIGHINI P., AUTERI R. (1988) - Commercial catches and stock assessment of *Squilla mantis*. *Rapp. Comm. Int. Mer Medit.*, **31** (2): 22.
- ROSSETTI I., SARTOR P., FRANCESCONI B., BELCARI P. (2005) - Fishery and biology of Mantis shrimp, *Squilla mantis* (L., 1758), exploited with rapido trawl in the eastern Ligurian Sea. *Biol. Mar. Mediterr.*, **12** (1): 585-588.

L. SION, P. MAIORANO, R. CARLUCCI, F. CAPEZZUTO,  
A. INDENNIDATE, A. CARLUCCIO, G. D'ONGHIA

Department of Biology, University of Bari Aldo Moro, Via E. Orabona, 4 - 70125 Bari, Italy.  
Consorzio Nazionale Interuniversitario per le Scienze del Mare, ULR di Bari, Italy.  
l.sion@biologia.uniba.it

COMPARING DISTRIBUTION OF *HELICOLENUS*  
*DACTYLOPTERUS* (DELAROCHE, 1809) BETWEEN  
CORAL AND NON CORAL HABITATS  
IN THE SANTA MARIA DI LEUCA CORAL PROVINCE

CONFRONTO DELLA DISTRIBUZIONE DI *HELICOLENUS*  
*DACTYLOPTERUS* (DELAROCHE, 1809) TRA HABITAT  
A CORALLI E HABITAT SENZA CORALLI NELLA PROVINCIA  
A CORALLI DI SANTA MARIA DI LEUCA

**Abstract** - Using longline a comparison of *H. dactylopterus* abundance and length distribution between coral and non coral habitats inside the Santa Maria di Leuca coral province is provided.

**Key-words:** *H. dactylopterus*, distribution, cold-water corals, Ionian Sea, Mediterranean Sea.

**Introduction** - The Santa Maria di Leuca (SML) cold-water coral province seems to play an important role as nursery and spawning area for the bluemouth rockfish *Helicolenus dactylopterus* (D'Onghia *et al.*, 2010). A comparison of *H. dactylopterus* abundance and length distribution between coral and non coral habitats inside the SML coral province is provided in this note. Both habitat typologies are characterized by a complex topography; coral habitats include carbonate mounds and corals; non coral habitats lack carbonate mounds and corals. Both typologies are characterized by the same negligible commercial longlining pressure due their complex topography not suitable for trawling.

**Materials and methods** - Data were collected during two longline surveys carried out in May-June and September-October 2010 as part of the CoralFISH project (EU-FP7). A total of 18 long-line deployments were undertaken, equally distributed between coral (C) and non coral (NC) habitats inside the SML coral province. The type of hooks employed were J-hook 7 and J-hook 9. The depth interval explored was 400-800m. Catch per Unit Effort (CPUE) in number (N) and in weight (Kg) were standardized to 1000 hooks. Total length (TL, mm) was recorded for each specimen. The differences in CPUE (N and Kg) and in the length-frequency distributions between C and NC habitats were evaluated by means of the Mann Whitney U-test and Kolmogoroff-Smirnov test respectively (Conover, 1980).

**Results** - *H. dactylopterus* was caught with greater average CPUE in number and weight in the coral habitats in both surveys (Fig. 1), but only the difference in number was significant. This fish exhibited a wider length-frequency distribution in the coral habitats than in non coral ones in both seasons (Fig. 2), although significant differences were only found during spring. A greater percentage of medium-small individuals was collected during both surveys in the coral habitats.

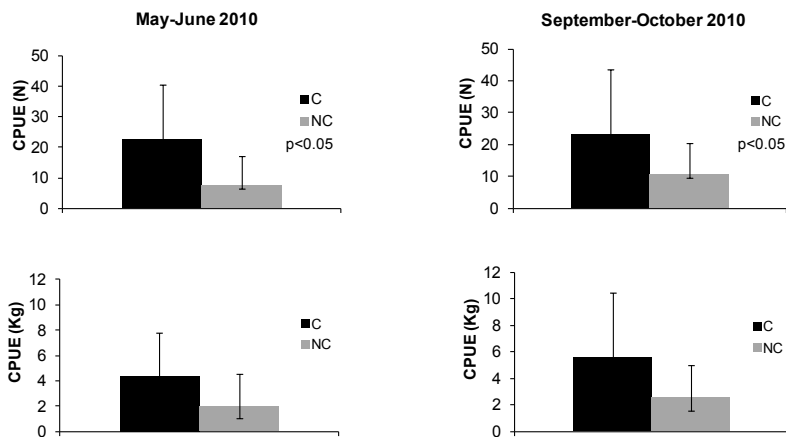


Fig. 1 - Average CPUE (N and Kg), with relative standard deviation, of *H. dactylopterus* caught in coral (C) and non coral (NC) habitats.

CPUE media in numero (N) e in peso (Kg), con relativa deviazione standard, di *H. dactylopterus* catturato in habitat a coralli (C) e in habitat senza coralli (NC).

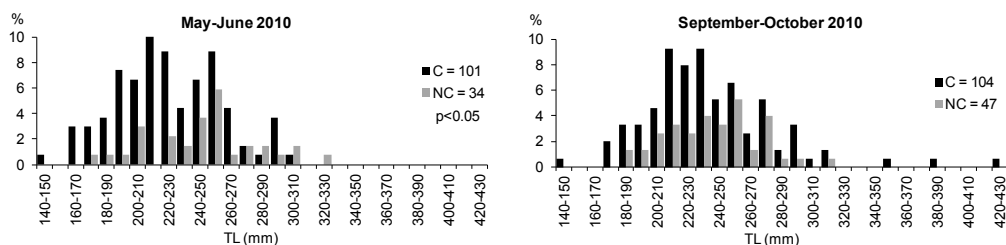


Fig. 2 - Length frequency distribution of *H. dactylopterus* caught in coral (C) and non coral (NC) habitats.

Distribuzione lunghezza frequenza di *H. dactylopterus* catturato in habitat a coralli (C) e in habitat senza coralli (NC).

**Conclusions** - Although habitat use is difficult to demonstrate, the greater abundance in number of the rockfish recorded in the coral habitats seems to indicate an association of this fish, mostly of medium-small individuals, with the presence of corals. This could be probably linked to the structural and trophic conditions of the coral habitats (D'Onghia *et al.*, 2010; Ross and Quattrini, 2007).

## References

- CONOVER W.J. (1980) - *Practical Nonparametric Statistics, Second Edition*. John Wiley & Sons, Inc., New York: 493 pp.
- D'ONGHIA G., MAIORANO P., SION L., GIOVE A., CAPEZZUTO F., CARLUCCI R., TURSI A. (2010) - Effects of deep-water coral banks on the abundance and size structure of the megafauna in the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res. Pt. II*, **57**: 397-411.
- ROSS S.W., QUATTRINI A.M. (2007) - The fish fauna associated with deep coral banks off the southeastern United States. *Deep-Sea Res. Pt. I*, **54**: 975-1007.



M. VALLISNERI<sup>1</sup>, S. MONTANINI<sup>1,2</sup>, M. STAGIONI<sup>1,2</sup>, S. TOMMASINI<sup>1</sup>, G. VALDRÉ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna,  
Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.  
maria.vallisneri@unibo.it

<sup>2</sup>Lab. Biologia Marina e Pesca Fano (PU), Università di Bologna, Italia.

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze della Terra e Geologico-Ambientali, Università di Bologna,  
Piazza di Porta S. Donato, 1 - 40126 Bologna, Italia.

## ANALISI MORFOMETRICA ED ULTRASTRUTTURALE DEL SOLCO ACUSTICO DEGLI OTOLITI IN SPECIE DELLA FAMIGLIA TRIGLIDAE

### MORPHOMETRIC AND ULTRASTRUCTURE ANALYSIS OF THE OTOLITH SULCUS ACUSTICUS IN TRIGLID SPECIES

**Abstract** - The variability of sulcus acusticus of sagittal otolith in target species (trawl survey) of triglids (red gurnard *Aspitrigla cuculus*, tub gurnard *Chelidonichthys lucerna* and grey gurnard *Eutrigla gurnardus*) from the Adriatic Sea was analysed for intra- and inter-specific discrimination purposes. Significant differences in sulcus morphometry and microstructure among species and between juveniles and adults were found, that could be related to eco-morphological adaptations of the auditory system.

**Key-words:** otoliths, sulcus acusticus, morphometry, electron microscopy.

**Introduzione** - Gli otoliti rappresentano dei marcatori in quanto registrano alcune fasi del ciclo biologico e variazioni dell'habitat (Volpedo e Fuchs, 2010). Fra gli otoliti, la sagitta gioca un ruolo importante nell'udito dei pesci, costituendo il principale recettore di senso per la percezione dei suoni: essa è rivestita dall'epitelio sensoriale contenente le cellule di senso dell'udito, provviste di una corona di ciglia che trasmettono le vibrazioni sonore ai cristalli del solco acustico della sagitta. Un movimento dell'acqua provoca un cambiamento della disposizione delle ciglia, che è comunicato al sistema nervoso centrale. Perciò il solco acustico si relaziona alle capacità uditive dei pesci ed è coinvolto nella percezione e nella localizzazione della sorgente sonora. Scopo del lavoro consiste nell'analisi delle variazioni intra ed inter-specifiche del solco acustico delle sagitte mediante analisi della forma e della microstruttura di tre specie target della famiglia Triglidae (*Aspitrigla cuculus*, *Chelidonichthys lucerna* ed *Eutrigla gurnardus*).

**Materiali e metodi** - Un totale di 355 esemplari sono stati raccolti durante le campagne di pesca a strascico MEDITS e GRUND nel nord-centro Adriatico tra il 2007 e il 2010. Per ogni esemplare, sono stati registrati: lunghezza totale (LT, mm), peso (g), sesso e maturità sessuale. In base alla valutazione macroscopica dello stadio maturativo delle gonadi (codici per la maturità sessuale MEDITS), è stata definita, per ciascuna specie, una taglia critica, che discrimina i giovanili dagli adulti (Tab. 1). Sono state estratte le sagitte di giovanili e adulti (rispettivamente 29 e 86 per *A. cuculus*; 83 e 17 per *C. lucerna*; 29 e 111 per *E. gurnardus*) trattate con perossido di idrogeno al 3% per 15 minuti e lavate due volte in acqua distillata per 5 minuti in ultrasuoni. Le immagini digitali, ottenute da fotocamera NIKON P5100 collegata a uno stereo-microscopio Leica MZ6, sono state elaborate con il software ImageJ 1.46h al fine di calcolare: a) il valore medio del rapporto AS(area solco)/AO(area otolite)%; b) il valore medio del rapporto hS(altezza massima solco)/LS(lunghezza massima solco)%. Tutti i dati mostrano distribuzione normale ed omogeneità della varianza (Shapiro-Wilk test e Bartlett test  $p > 0.05$ ). T-test, ANOVA e *post hoc* Tukey test sono stati utilizzati per testare significatività intra- ed inter-specifiche. L'elaborazione statistica è stata svolta mediante il software R 2.14.1. Per l'analisi ultrastrutturale del solco

acustico al microscopio elettronico a scansione (Hitachi S-2400), 55 sub-campioni rappresentativi per ogni specie sono stati montati su stubs, metallizzati e fotografati.

Tab. 1 - Parametri biometrici.

*Biometric parameters.*

Specie	n° dati	range LT (mm)	Taglia critica (mm)
<i>A. cuculus</i>	115	65-207	110
<i>C. lucerna</i>	100	87-272	180
<i>E. gurnardus</i>	140	56-195	104

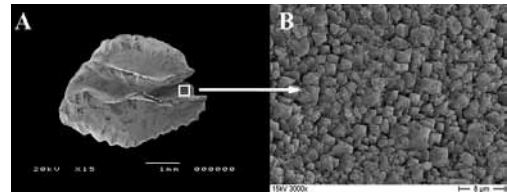


Fig. 1 - Otolite di *A. cuculus* (A) e dettaglio dei cristalli del solco acustico (B).

*Otolith of A. cuculus (A) and details of the crystal of sulcus acusticus (B).*

**Risultati e conclusioni** - I valori medi del rapporto AS/AO risultano sempre significativamente differenti sia nel confronto intra- che inter-specifico (Tab. 2). Il rapporto hS/LS discrimina solo nel confronto tra giovani ed adulti in *Aspitrigla cuculus* e nel confronto tra *Chelidonichthys lucerna* ed *Eutrigla gurnardus*. L'analisi ultrastrutturale del solco evidenzia trattarsi di un complesso policristallino, costituito da cristalli di carbonato di calcio fase aragonite. Nei giovanili i cristalli presentano un abito tendenzialmente poco sviluppato, spessore inferiore al  $\mu\text{m}$  e sono fortemente permeati dalla matrice organica. Negli adulti i cristalli presentano facce ben formate con spigoli visibili e dimensioni superiori al  $\mu\text{m}$ . Le differenze riscontrate a livello del solco acustico appaiono in correlazione sia alle modificazioni fisiologiche (concernenti la maturità sessuale e l'accresciuto fabbisogno energetico evidenziato dalla dieta), che ai cambiamenti ambientali (con la ricerca di nuovi habitat più adatti alle attività degli adulti). In conclusione, a ridosso della taglia critica che discrimina i giovanili dagli adulti, le modificazioni a carico del solco e della conseguente capacità uditiva, appaiono correlabili ai cambiamenti ecomorfologici (Vallisneri *et al.*, 2012).

Tab. 2 - Solco acustico. AS: area solco; AO: area otolite; hS: altezza solco; LS: lunghezza solco.

*Sulcus acusticus. AS: sulcus area; AO: otolith area; hS: sulcus width; LS: sulcus length.*

	AS/AO%± DS	AS/AO%± DS	p.value	hS/LS% ± DS	hS/LS%± DS	p.value
<b>CONFRONTI INTRA-SPECIFICI</b>						
<i>A. cuculus</i> giovanili-adulti	17.2 ± 2.3	20.1 ± 2.3	p<0.001	26.4 ± 1.7	28.9 ± 2.6	p<0.001
<i>C. lucerna</i> giovanili-adulti	14.8 ± 1.2	16.4 ± 2.4	p<0.05	24.2 ± 2.5	24.2 ± 2.1	n.s
<i>E. gurnardus</i> giovanili-adulti	16.5 ± 1.8	17.7 ± 2.4	p<0.05	28.6 ± 3.4	28.7 ± 2.7	n.s
<b>CONFRONTI INTER-SPECIFICI</b>						
<i>A. cuculus</i> - <i>C. lucerna</i> (campioni totali)	19.4 ± 2.6	15.1 ± 2.1	p<0.001	28.3 ± 2.6	24.2 ± 2.4	p<0.001
<i>A. cuculus</i> - <i>E. gurnardus</i> (campioni totali)	19.4 ± 2.6	17.4 ± 2.3	p<0.001	28.3 ± 2.6	28.6 ± 2.9	n.s
<i>C. lucerna</i> - <i>E. gurnardus</i> (campioni totali)	15.1 ± 2.1	17.4 ± 2.3	p<0.001	24.2 ± 2.4	28.6 ± 2.9	p<0.001

## Bibliografia

- VALLISNERI M., MONTANINI S., STAGIONI M. (2012) - Size at maturity of triglid fishes in the Adriatic Sea, North-eastern Mediterranean. *J. Appl. Ichthyol.*, **28**: 123-125.
- VOLPEDO A.V., FUCHS D.V. (2010) - Ecomorphological patterns of the lapilli of Paranoplatense Siluriforms (South America). *Fish. Res.*, **102**: 160-165.

M. CABRINI, A. DE OLAZABAL, D. FORNASARO, M. LIPIZER,  
M. MINOCCI, M. MONTI, V. TIRELLI

Department of Biological Oceanography, OGS (Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale),  
Via A. Piccard, 54 - 34151 Trieste, Italy.  
mcabrini@inogs.it

## CALCIFYING PLANKTONIC ORGANISMS IN THE LTER - GULF OF TRIESTE SITE (NORTH ADRIATIC)

### *PLANCTON CALCAREO NEL SITO LTER - GOLFO DI TRIESTE (NORD ADRIATICO)*

**Abstract** - The present work focuses on data related to calcifying planktonic organism abundances which were extracted from the time series of the whole phyto- microzoo- and mesozooplankton community. The considered data set was available for the C1-LTER site in the Gulf of Trieste from 1986 to 2011. The preliminary representations are aimed to evidence the interannual variabilities and the seasonality of calcifying organisms which can be considered sensitive to the acidification processes.

**Key-words:** calcifying plankton, coccolithophores, *Bivalvia* larvae, *Gastropoda* larvae, Gulf of Trieste.

**Introduction** - Seasonal and interannual variability of the calcifying planktonic organism abundance was studied at the coastal Long Term Ecological Research (LTER) site in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea), in the framework of the MedSeA project (EU FP7- Mediterranean Sea Acidification in a Changing Climate). Data related to organisms potentially sensitive to acidification processes have been extracted from the long time-series data (1986-2011) of the planktonic community. The possible decrease of calcification in response to ocean acidification could have an important impact on coastal biodiversity and ecosystem functioning, and be responsible for significant economic loss (Riebesell and Tortell, 2011).

**Materials and methods** - Sampling was performed on a monthly basis at the station C1, located at 45° 42' 03" N, 13° 42' 36" E, 200 m offshore (bottom depth 17 m). Phyto- and microzoo-plankton were sampled at four discrete depths (surface 5 m, 10 m and 15 m) using Niskin bottles while mesozooplankton was collected by vertical hauls from bottom to surface by using a WP2 net (200 µm mesh size). The samples were fixed with buffered formaldehyde (4% final concentration). Abundances were expressed as cells or ind. m<sup>-3</sup> and for this purpose phyto- and microzooplankton abundances were calculated as vertical integrals over a water column of 15 m. Phytoplankton, microzooplankton and mesozooplankton were studied over times series of different duration, being March 1986 - December 2011, July 1998 - December 2010, January 2006 - December 2011, respectively.

**Results** - The identified calcifying organisms taxa belonged to different functional groups (i.e. autotrophs and heterotrophs) and different size classes (nano-, micro- and mesoplankton), and they were coccolithophores, Foraminifera, *Bivalvia* larvae, *Gastropoda* larvae, the pteropod *Creseis acicula*, Ostracoda and Echinodermata larvae. The group of Echinodermata larvae was formed by the Echinoidea plutei, the Ophiuroidea plutei and the older larvae of Asteroidea and Ophiuroidea. We excluded the auricularia and bipinnaria larvae because we did not find evidence that they have carbonate structures.

**Phytoplankton** cell abundance and specific composition were estimated on 1368 samples. The seasonal cycle and interannual variability of coccolithophores were calculated on the basis of monthly and annual median values, respectively.

Coccolithophores showed a pronounced seasonal pattern and were typically present in autumn and winter. *Emiliania huxleyi* was the most frequent species. Coccolithophores abundance showed relevant interannual fluctuations and the highest abundances were found in 2010 and 2011 when median values exceeded  $30.0 \times 10^6$  cells  $m^{-3}$ .

Calcifying **microzooplankton** was constituted mostly by Bivalvia larvae (92%). Foraminifera and Gastropoda larvae showed values always below 8 and 25 ind.  $L^{-1}$ , respectively. Bivalve larvae remained almost constant over time with values ranging from 0 to 72 ind.  $L^{-1}$ . Total calcifying microzooplankton abundance showed relevant interannual fluctuations during the period 1998-2010, with minimum in the last two years (2009-2010). The monthly mean frequency in the considered period showed low seasonal variations. In particular, Bivalvia larvae were present during all months with a weak decrease in the spring-early summer period.

In the study period, calcifying organisms represented up to 52.75% of the total abundance of **mesozooplankton**, being more important from May to July. The Gastropoda larvae abundance ranged from 0 to 6144 ind.  $m^{-3}$ , the last being observed in June 2010. Despite the interannual variability, this group was generally more abundant during the late spring-summer period. The Bivalvia larve had a less pronounced seasonality than Gastropoda larvae, but were also more abundant during summer, except in 2008, when the highest abundance was observed in November. The abundance of Bivalvia larvae varied from 0 to 2688 ind.  $m^{-3}$  detected in June 2011. The Echinodermata larvae, as the other taxa studied, were quite absent during the coldest months while their abundance increased during summer. The abundance of the Echinodermata larvae reached the maximum value of 4952 ind.  $m^{-3}$ , observed in July 2010. Ostracoda were often less abundant (0-47 ind.  $m^{-3}$ ) than the other groups of calcifying organisms, but they showed the same seasonality with maximum during the late spring- summer months. The pteropod *Creseis acicula* was observed only a few times in autumn (October and December 2009; October and November 2010 and November 2011) and with very low average abundance ( $11.8 \pm 5.3$  ind.  $m^{-3}$ ).

**Conclusions** - The abundance of calcifying planktonic organisms in the Gulf of Trieste is characterized by pronounced seasonal variability. Coccolithophores and mesozooplankton show a typical seasonal pattern, while microzooplankton is less variable. Coccolithophores are typical of late autumn and winter, while calcifying mesozooplankton shows a pronounced increase in June and generally higher abundances in summer. Preliminary results on time series of calcifying organisms show very large interannual variability, with important differences among the considered functional groups. Future investigations will be aimed at interpreting interannual dynamics of calcifying planktonic organisms in relation to physical forcing factors.

## References

- RIEBESELL U., TORTELL P.D. (2011) - Effect of ocean acidification on pelagic organisms and ecosystems. In: Gattuso J.P., Hansson L. (eds), *Ocean acidification*. Oxford University Press, Oxford, UK: 99-121.

S. CAPELLACCI, C. BATTOCCHI, S. CASABIANCA, M. GIOVINE\*,  
G. BAVESTRELLO\*, A. PENNA

Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università di Urbino, Viale Trieste, 296 - 61121 Pesaro, Italia.  
antonella.penna@uniurb.it

\*DISTAV, Università di Genova, Italia.

## INFLUENZA DI DIFFERENTI FORME CHIMICHE DI SILICE DISCIOLTA SULLA CRESCITA DI DIATOMEE MARINE

### *BIOAVAILABILITY OF DIFFERENT CHEMICAL FORMS OF DISSOLVED SILICA CAN AFFECT MARINE DIATOM GROWTH*

**Abstract** - In this study, we demonstrate that dissolved silica obtained from mineral (crystalline quartz), biogenic amorphous (diatomaceous earth) and artificial amorphous sources (Aerosil) influence the growth rate of two marine diatom species. Maximum cell densities and growth rates of both species in the presence of dissolved silica derived from crystalline quartz and metasilicate were higher than those obtained with the other silica sources. The results demonstrate that the soluble silicon compounds generated in seawater by crystalline sources are highly bioavailable compared to those generated by amorphous materials. These findings are potentially of considerable ecological importance and may contribute to clarifying anomalous spatial and temporal distributions of siliceous organisms with respect to the presence of lithogenic or biogenic silica sources in marine environments.

**Key-words:** biogenic silica, crystalline silica, diatoms, growth, silica dissolution.

**Introduzione** - Le diatomee sono il gruppo più importante di organismi che influiscono sul bilancio del silicio nell'ecosistema marino per la necessità di formare il frustolo. Numerosi studi si sono concentrati sulla morfogenesi e la formazione del frustolo durante la divisione cellulare (Tesson e Hildebrand, 2010). Tuttavia gli studi sui processi di biomineralizzazione (Finkel e Kotrc, 2010) e sulla regolamentazione delle vie biochimiche coinvolte nella silicificazione sono ancora in fase di studio (Ramanathan *et al.*, 2011). Pochi dati sono disponibili anche per quanto riguarda la possibile influenza di diverse fonti di silice sui tassi di crescita delle diatomee marine. Lo scopo di questo studio è stato quello di determinare la capacità di due diatomee, *Chaetoceros* sp. e *Skeletonema marinoi*, di assimilare silice disciolta derivante da fonti litogeniche-cristalline, quarzo cristallino e metasilicato, e da fonti biogeniche/sintetiche amorse, terra di diatomee e Aerosil, determinando il tasso di crescita, la biomassa cellulare, il biovolume e l'assimilazione del silicio nei diverse terreni di coltura. Nuove conoscenze sul metabolismo del silicio nelle diatomee potrebbero portare nuove informazioni sul ciclo biogeochimico del silicio nei sistemi marini costieri.

**Materiali e metodi** - Ceppi di *Chaetoceros* sp. e *Skeletonema marinoi* sono stati isolati dal Mar Adriatico e mantenuti in coltura con terreno F/2, a  $20 \pm 1$  °C con un ciclo luce:buio 12 h e un'intensità di luce  $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sono stati utilizzati vari substrati di silice disciolta derivante da substrati silicei per preparare i terreni ASPM a concentrazioni  $>107 \mu\text{M}$  di silicio: (i) substrato minerale cristallino (Min-U-Sil 5), (ii) silice amorfa biogenica o terra di diatomee, (iii) silice amorfa sintetica (Aerosil OX50) e (iv) metasilicato di sodio utilizzato come terreno di controllo. I tassi di crescita e il biovolume sono stati determinati su campioni fissati in formalina al 2% a intervalli di 3-4 giorni per tutta la fase esponenziale di crescita. La densità cellulare è stata determinata con il metodo di Utermhöl; il tasso di crescita  $\mu$  è stato calcolato sulla base del periodo più lungo possibile di crescita esponenziale usando l'equazione:  $\mu = \ln(N_t/N_0)/\Delta t$  (Wood *et al.*, 2005). Il dosaggio del silicio disciolto

nei terreni è stato determinato secondo il metodo spettrofotometrico di Strickland e Parsons (1972). Il tasso di assimilazione di silicio è stato calcolato sulla base dell'intervallo di assimilazione massima dSi nella cultura utilizzando l'equazione:

$$\text{tasso di assimilazione} = \ln (\text{dSi}_t / \text{dSi}_0) / \Delta t.$$

**Risultati** - *S. marinoi* e *Chaetoceros* sp. presentavano differenti tassi di crescita in relazione ai vari terreni di coltura in cui sono stati incubati mostrando un tasso di crescita maggiore in presenza di quarzo cristallino con valori rispettivamente di 0.30 e 0.24 d<sup>-1</sup> (p<0.05, HSD). Le densità cellulari di *S. marinoi* variavano da 1.2×10<sup>6</sup> cells·ml<sup>-1</sup> (quarzo cristallino) a 3.1×10<sup>5</sup> cells·ml<sup>-1</sup> (Aerosil), e da 5.1×10<sup>5</sup> cells·ml<sup>-1</sup> (quarzo cristallino) a 7.9×10<sup>4</sup> cells·ml<sup>-1</sup> (Aerosil) per *Chaetoceros* sp. Nella fase esponenziale di crescita i valori del biovolume di *S. marinoi* erano più grandi in tutti i terreni di coltura con diverse fonti di silice disciolta; inoltre, i biovolumi con i substrati cristallini del quarzo e metasilicato differivano rispetto ai substrati di silice amorfa (p<0.001). Invece, in *Chaetoceros* sp. non ci sono state differenze significative nei biovolumi durante il periodo di crescita con tutti i substrati silicei utilizzati. Il tasso di assimilazione del silicio in *S. marinoi* e *Chaetoceros* sp. era più elevato nel terreno in presenza di quarzo cristallino rispetto agli altri substrati, con valori rispettivamente di 0.72 e 0.51 d<sup>-1</sup>.

**Conclusioni** - I risultati confermano che la forma biodisponibile di silice solubile è prevalente nel prodotto della dissoluzione di quarzo. Si può ipotizzare che le differenze di biomassa e tassi di crescita delle due diatomee in queste condizioni di coltura sono legate alla biodisponibilità di forme chimicamente disciolte di silice derivate dai diversi substrati minerali. Pur non dimostrando le forme chimiche di silice che derivano dai vari substrati silicei, si evidenzia una maggiore crescita in presenza di silice cristallina disciolta rispetto al substrato amorfo. Questi risultati, tuttavia, non sono conclusivi, ma sollevano questioni nuove e importanti per quanto riguarda il ruolo della silice nei sistemi marini, dove le diatomee svolgono un ruolo importante nel ciclo del silicio.

### Bibliografia

- FINKEL Z.V., KOTRC B. (2010) - Silica use through time: Macroevolutionary change in the morphology of the diatom fustule. *Geomicrobiol. J.*, **27**: 596-608.
- RAMANATHAN R., CAMPBELL J.L., SONI S.K., BHARGAVA S.K., BANSAL V. (2011) - Cationic amino acids specific biomimetic silicification in ionic liquid: A quest to understand the formation of 3-D structures in diatoms. *PLoS ONE*, **6**: 3.
- STRICKLAND J.D., PARSONS T.R. (1972) - A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Board Canada*, **167**: 310 pp.
- TESSON B., HILDEBRAND M. (2010) - Dynamics of silica cell wall morphogenesis in the diatom *Cyclotella cryptica*: Substructure formation and the role of microfilaments. *J. Struct. Biol.*, **169**: 62-74.
- WOOD A.M., EVERROAD R.C., WINGARD L.M. (2005) - Measuring growth rates in microalgal cultures. In: Anderson R.A. (ed), *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press: 269-286.



C. CAROPPO<sup>1</sup>, M. LICCIANO<sup>2</sup>, A. GIANGRANDE<sup>2</sup>, L. STABILI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC), Consiglio Nazionale delle Ricerche,  
Via Roma, 3 - 74100 Taranto, Italia.  
carmela.caroppo@iamc.cnr.it

<sup>2</sup>DISTEBA, Università di Lecce, Via Prov.le Lecce-Monteroni - 73100 Lecce, Italia.

**FILTRAZIONE DELLA MICROALGA  
*AMPHIDINIUM CARTERAE* (HULBURT, 1957) DA PARTE DEL  
SABELLIDE POLICHETE *SABELLA SPALLANZANII* (GMELIN, 1791)**

***FILTRATION OF THE MICROALGA  
AMPHIDINIUM CARTERAE (HULBURT, 1957) BY THE  
POLYCHAETE SABELLA SPALLANZANII (GMELIN, 1791)***

**Abstract** - The filtration activity of the dinoflagellate *Amphidinium carterae* (Hulburt, 1957) by the polychaete *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791) has been evaluated. Our results evidenced the capacity of the polychaete to remove the microalga from the surrounding environment confirming the potential role of the polychaete as "bioremediator" already precedently assessed for bacteria.

**Key-words:** *Amphidinium carterae*, filtration, harmful microalgae, Ionian Sea, *Sabella spallanzanii*.

**Introduzione** - In molte aree costiere le fioriture algali dannose (*HABs*) sono divenute più frequenti rispetto al passato. Nell'ambito delle specie responsabili di tali fioriture ce ne sono alcune produttrici di biotossine che contaminando i prodotti ittici, provocano danni sia agli organismi marini sia alla salute umana. In particolare, la dinoficea *Amphidinium carterae* provoca elevata mortalità di pesci allevati a causa della presenza di emolisine (Tindall e Morton, 1998). Questa specie, insieme ad altre dinoflagellate con cui vive in associazione, determina inoltre un'intossicazione tipica delle regioni costiere tropicali e subtropicali, detta Ciguatera (Ciguatera Fish Poisoning, CFP), (Hallegraeff, 2003). Questo lavoro ha avuto lo scopo di valutare la capacità del polichete filtratore *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791) di rimuovere questa specie di microalga potenzialmente tossica dall'ambiente acquatico circostante.

**Materiali e metodi** - Gli esemplari di *Sabella spallanzanii* sono stati prelevati nel Mar Grande di Taranto (Mar Ionio) in località S. Eligio, mediante immersione subacquea. Per lo studio del processo di filtrazione è stato allestito un sistema sperimentale che ha previsto l'impiego di 6 microcosmi controllo contenenti solo acqua di mare e 6 microcosmi trattamento dove oltre all'acqua di mare era presente anche un esemplare di *S. spallanzanii* precedentemente stabulato. A tutti i microcosmi è stata aggiunta mediamente la concentrazione di  $5895 \pm 178$  cellule  $\text{ml}^{-1}$  di *Amphidinium carterae*. La densità della specie microalgale è stata determinata nei microcosmi trattamento e nei microcosmi controllo nell'arco di 5 ore ed è stata così valutata la ritenzione della microalga da parte di *S. spallanzanii*.

**Risultati** - In tutti i microcosmi trattamento le concentrazioni microalgali decrescevano marcatamente col tempo e, considerando i valori medi, la concentrazione algale iniziava a decrescere già dopo 15 minuti dall'inizio dell'esperimento e si riduceva ulteriormente e significativamente dopo 45 minuti abbassandosi drasticamente dopo 210 minuti senza però mai azzerarsi (Fig. 1). Nei microcosmi controllo, invece, la concentrazione algale si è mantenuta pressoché costante per l'intera durata della sperimentazione.

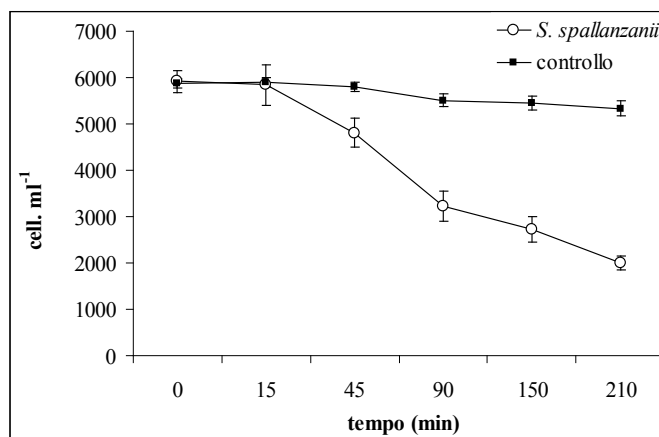


Fig. 1 - Concentrazioni medie di *A. carterae* nei microcosmi con *S. spallanzanii* e nei microcosmi di controllo.

*A. carterae* averaged concentrations in treated with *S. spallanzanii* and control microcosms.

**Conclusioni** - Questo studio preliminare ha consentito di valutare la capacità del polichete filtratore *Sabella spallanzanii* di rimuovere, in rapporto al processo di filtrazione, la dinoflora potenzialmente tossica *Amphidinium carterae* che può rappresentare un pericolo per la salute umana quando raggiunge elevate concentrazioni nell'acqua di mare. La proliferazione delle microalghe potenzialmente tossiche costituisce sicuramente un problema in quanto, in misura diversa, può condizionare le attività umane, la salute dell'uomo e dell'ecosistema marino nonché l'economia. Questi disagi hanno determinato l'esigenza di trovare una soluzione per contrastare queste fioriture algali nocive. L'utilizzo dei policheti filtratori per la depurazione della colonna d'acqua da queste microalghe tossiche rappresenta una novità. Alcuni studi precedenti (Licciano *et al.*, 2005; Stabili *et al.*, 2006) hanno consentito di valutare l'effetto dell'attività di filtrazione di *S. spallanzanii* sulla densità del batterioplankton. I risultati preliminari ottenuti in questo lavoro incoraggiano l'impiego di questo polichete come potenziale biorimediante in grado di filtrare non solo i batteri ma anche le microalghe in presenza di una eventuale fioritura. Ulteriori studi saranno condotti per comprendere se le microalghe accumulate vengono digerite all'interno del polichete considerato o se questi fungono da semplice "serbatoio" delle stesse.

## Bibliografia

- HALLEGRAEFF G.M. (2003) - Harmful Algal Blooms: a global overview. In: Hallegraeff G.M., Anderson D.M., Cembella A.S. (eds), *Manual on Harmful Marine Microalgae*. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization: 25-49.
- LICCIANO M., STABILI L., GIANGRANDE A. (2005) - Clearance rates of *Sabella spallanzanii* and *Branchiommma luctuosum* (Annelida: Polychaeta) on a pure culture of *Vibrio alginolyticus*. *Wat. Res.*, **39**: 4375-4384.
- STABILI L., LICCIANO M., GIANGRANDE A., FANELLI G., CAVALLO R.A. (2006) - *Sabella spallanzanii* filter-feeding on bacterial community: Ecological implications and applications. *Mar. Environ. Res.*, **61**: 74-92.
- TINDALL D.R., MORTON S.L. (1998) - Community dynamics and physiology of epiphytic/benthic dinoflagellates associated with Ciguatera. In: Anderson D.M., Cembella A.S., Hallegraeff G.M. (eds), *Physiological ecology of harmful algal blooms*. Springer-Verlag, Berlin: 293-313.

F. CERINO, D. FORNASARO, M. LIPIZER, M. CABRINI

OGS (Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale)  
Via Piccard, 54 - 34151 Trieste, Italy.  
mcabrini@inogs.it

## SPATIAL DISTRIBUTION OF THE SUMMER PHYTOPLANKTON IN THE NORWEGIAN - GREENLAND SEAS

### *DISTRIBUZIONE SPAZIALE DEL FITOPLANCTON ESTIVO NEI MARI DI NORVEGIA E GROENLANDIA*

**Abstract** - The diversity and spatial distribution of phytoplankton were investigated in the Norwegian and Greenland Seas during the summer 2008. All stations were dominated by phytoflagellates; coccolithophores were more abundant at the southernmost stations, while dinoflagellates at the colder and northernmost stations.

**Key-words:** Arctic Ocean, phytoplankton composition, spatial distribution.

**Introduction** - Polar areas may represent potential sites of CO<sub>2</sub> sequestration and, although an increasing attention has been dedicated to the primary production of the Arctic Ocean (e.g. Pabi *et al.*, 2008), phytoplankton studies in polar areas are still scant. The research area is interested by the inflow of the relative warm and salty Atlantic Water, by the West Spitsbergen Current and by colder and fresher Polar Waters. Most phytoplankton studies in this area are generally focused on coastal areas of both Norwegian and Svalbard fjords (Eilertsen *et al.*, 1989; Ratkova *et al.*, 1998; Wiktor, 1999; Okolodkov *et al.*, 2000; Wiktor & Wojciechowska, 2005), while little information is available for the open waters. The aim of this study was to describe the specific diversity and spatial distribution of phytoplankton along a south-to-north transect from the central Norwegian Sea to the inlet of the Isfjord (Svalbard).

**Materials and methods** - An oceanographic cruise was carried out in the Norwegian and Greenland Seas onboard the R/V OGS-Explora in July 2008 (OGS-IPY-EGLaCOM Project). Seventeen stations were sampled along a south-to-north transect from 65° to 78° N (Fig. 1). Surface hydrographic data were acquired by a SBE-21 thermosalinograph; for phytoplankton analysis, surface samples were collected and fixed with 0.8% formaldehyde. Cell counts were performed at the inverted microscope. Cluster analysis was performed by Primer 5.

**Results** - Temperature showed a south to north decreasing gradient with values ranging from 13 °C (st. 1) to 7 °C (st. 16). Salinity presented values ranging from 34.29 to 35.01, with the exception of st. 16 with 33.28. Phytoplankton generally occurred with abundance lower than 1000 cells ml<sup>-1</sup>. Cell abundances ranged from 38 (st.14) to 994 (st.7) cells ml<sup>-1</sup> with a mean value of 450±283 cells ml<sup>-1</sup>. The highest values were recorded at stations 7 (934 cells ml<sup>-1</sup>), 11 (863 cells ml<sup>-1</sup>), and 15 (884 cells

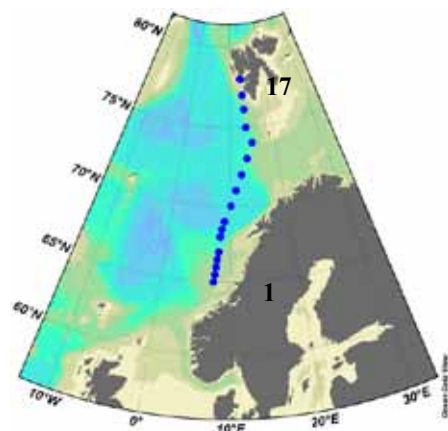


Fig. 1 - Sampling stations.

*Stazioni di campionamento.*

ml<sup>-1</sup>). The phytoplankton community was dominated by phytoflagellates along all the transect. They accounted on average for 83±10% of the total phytoplankton abundances. Diatoms, dinoflagellates and coccolithophores were scarcely represented, accounting for 2±2, 7±5, and 8±8%, respectively. However, in the stations 6-11 coccolithophores were much more abundant, representing the 17±9% of the total abundances. They showed abundance values ranging from 24 to 304 cells ml<sup>-1</sup>. A total of 49 taxa corresponding to 10 diatoms, 27 dinoflagellates, 3 coccolithophores, 6 phytoflagellates and 3 heterotrophic flagellates were identified. On average, the unidentified pennate forms were the most abundant diatoms (maximum value 36 cells ml<sup>-1</sup> at station 11). Dinoflagellates were the most diverse group in term of species number. Small (<20 µm) unidentified naked forms (on average for 62±27% of the total dinoflagellate abundances), thecate forms (14±10%) and *Prorocentrum minimum* (14±19) were the most abundant taxa. Among coccolithophores *Emiliania huxleyi* (26±30% of the total coccolithophore abundances) was the most abundant species. Finally, phytoflagellates were mainly represented by small (<10 µm) forms of uncertain taxonomic identification (78±12% of the total phytoplankton), chrysophytes, cryptomonads and prasinophytes.

**Conclusions** - During the OGS-IPY-EGLACOM cruise in the Norwegian and Greenland Seas we observed the typical summer phytoplankton community for this area, with a dominance of phytoflagellates. They represent the baseline community along the whole transect, while the other groups showed a moderate spatial heterogeneity. Coccolithophores were present at the southernmost stations: the presence of *Emiliania huxleyi* was a clear sign of the presence of Atlantic water along the Norwegian coast. Dinoflagellates were more abundant at the colder and northernmost stations and showed the highest diversity as previously observed for this area (Okolodkov *et al.*, 1997).

**Acknowledgments:** The authors wish to thank D. Deponte for providing temperature and salinity data, C. De Vittor for field activities and all the OGS staff present onboard.

## References

- EILERTSEN H.C., TAASEN J.P., WESLAWSKI J.M. (1989) - Phytoplankton studies in the fjords of West Spitzbergen: physical environment and production in spring and summer. *J. Plankton Res.*, **11**: 1245-1260.
- OKOLODKOV Y.B. (1997) - Biodiversity of planktonic and sea-ice algae. In: Falk-Petersen S., Hop H., Pedersen G. (eds), *Ecological and physical processes in the marginal ice-zone during the summer melt period. The ICE-BAR 1996 cruise in the northern Barents Sea*. Norwegian Polar Institute, Tromsø: 17-20.
- OKOLODKOV Y.B., HAPTER R., SEMOVSKI S.V. (2000) - Phytoplankton in Kongsfjorden, Spitsbergen, July 1996. *Sarsia*, **85**: 345-352.
- PABI S., VAN DIJKEN G.L., ARRIGO K.R. (2008) - Primary production in the Arctic Ocean, 1998-2006. *J. Geophys. Res.*, **113**: C08005.
- RATKOVA T.N., WASSMANN P., VERITY P.G., ANDREASSEN I.J. (1998) - Abundance and biomass of pico-, nano-, and microplankton on a transect across Nordvestbanken, north Norwegian shelf, in 1994. *Sarsia*, **84**: 213-225.
- WIKTOR J. (1999) - Early spring microplankton development under fast ice covered fjord of Svalbard, Arctic. *Oceanologia*, **41**: 51-72.
- WIKTOR J., WOJCIECHOWSKA K. (2005) - Differences in taxonomic composition of summer phytoplankton in two fjords of the West Spitsbergen, Svalbard. *Polish Polar Res.*, **26**: 259-268.

D. GIORDANO, F. PERDICHIZZI, B. BUSALACCHI, L. PIRRERA, S. GRECO\*, A. PROFETA

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC-CNR), Spianata S. Raineri, 86 - 98122 Messina, Italia.  
daniela.giordano@iamc.cnr.it

\*ISPRA, Via Curtatone, 3 - 00185 Roma, Italia.

## DISTRIBUZIONE SPAZIALE DI LARVE DI PESCI NEL MAR TIRRENO MERIDIONALE

### *SPATIAL DISTRIBUTION OF FISH LARVAE IN THE SOUTHERN TYRRHENIAN SEA*

**Abstract** - This work investigate the spatial distribution and species composition of fish larvae in a wide coastal area of Sicily. Samples from a total of 39 stations were collected, using a 60 cm bongo net, during an ichthyoplanktonic survey carried out in June 2006. Sixty-two taxa representing thirty-two families were identified. The results showed that the most abundant value (14830,63 fish larvae per 10 m<sup>2</sup> sea surface) was observed in the western part of the study area. Cluster analysis revealed well-defined assemblages of larvae. The surface density patterns of fish larvae appear to be related to the hydrographic characteristics.

**Key-words:** cartography, geographical distribution, ichthyoplankton.

**Introduzione** - Negli ultimi decenni lo studio delle larve di pesci, così come quello di altri gruppi zooplanctonici, si è concentrato sulla struttura e dinamica della comunità in relazione all'idrodinamica dell'ambiente in cui vive. Inoltre, nelle regioni costiere, la presenza della piattaforma continentale gioca un ruolo importante nel determinare la distribuzione spaziale delle larve di pesci (Leis e Miller, 1976; Young *et al.*, 1986). Lo studio dei modelli di distribuzione ha evidenziato che associazioni larvali costiere hanno una composizione diversa da quelle in mare aperto (Sabatés, 1990; Gray, 1993). Lo scopo del presente lavoro è di aumentare le conoscenze sulla composizione e distribuzione di larve di pesci nel mar Tirreno Meridionale, area in cui masse d'acqua diverse ne possono influenzare la distribuzione (Olivar *et al.*, 1998; Hare *et al.*, 2001).

**Materiali e metodi** - I dati provengono da una campagna oceanografica condotta nel Giugno 2006 lungo un tratto di costa siciliana che va da Cefalù a Capo Rasocolmo. È stata costruita una griglia di campionamento per un totale di 39 stazioni, distanti 3 NM in direzione perpendicolare e 6 NM in direzione parallela alla costa, localizzate in 13 transetti. I campionamenti sono stati effettuati mediante Bongo 60 munito di flussometri e una maglia di rete di 500 µm. Sono state compiute pesche oblique a una velocità di 2 nodi entro un range batimetrico di 150 m. I campioni sono stati conservati in formaldeide tamponata al 4%. In laboratorio, nei successivi 12 mesi, è stato eseguito il sorting e l'identificazione delle specie. Il numero di larve raccolte in ogni stazione è stato standardizzato ai 10 m<sup>2</sup> di superficie (Smith e Richardson, 1977). È stata effettuata un'analisi spaziale dell'indice di densità delle larve utilizzando il metodo di interpolazione "Spline" per rappresentare la loro distribuzione (ArcGIS Desktop 9.3, della ESRI). Per esaminare l'associazione delle forme larvali è stata utilizzata l'analisi multivariata (MDS, l'ANOSIM e SIMPER) (Clarke, 1993).

**Risultati** - Sono state identificate 2113 larve di pesci appartenenti a 32 famiglie. La specie più abbondante (1257 Ind/m<sup>2</sup>; F%=59,5) è stata *Cyclothone braueri* (Jespersen e Tåning, 1926) (Gonostomatidae). La famiglia numericamente più abbondante è stata quella dei Mictofidi, con 14 specie identificate. Tra di esse le più abbondanti sono state: *Lampanyctus crocodilus* (Risso, 1810) (90 Ind/m<sup>2</sup>; F%=4,3),

*Lampanyctus pusillus* (Johnson, 1890) (86 Ind/m<sup>2</sup>; F%=4,1) e *Myctophum punctatum* (Rafinesque, 1810) (61 Ind/m<sup>2</sup>; F%=2,9). Fra le specie pelagiche la più rappresentata è stata *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) (195 Ind/m<sup>2</sup>; F%=9,2). Le mappe di distribuzione spaziale delle quattro specie più abbondanti hanno evidenziato una separazione geografica con un'alta concentrazione di larve di *Engraulis encrasicolus* nel Golfo di Patti. *Lampanyctus crocodilus* e *Lampanyctus pusillus* hanno mostrato una distribuzione simile, con maggiore indice di densità tra Cefalù e Capo d'Orlando. *Cyclothone braueri* ha evidenziato picchi di densità maggiore nel Golfo di Milazzo, in acque più costiere, e nel bacino di Cefalù, per quanto riguarda le stazioni oltre la scarpata continentale. Le abbondanze totali delle larve hanno mostrato i valori più elevati nella zona compresa tra Cefalù e S. Agata di Militello (14830,63 Ind/m<sup>2</sup>). La Cluster Analysis ha evidenziato associazioni ben definite e l'MDS ha mostrato due gruppi che si separano tra le acque costiere e del largo. L'ANOSIM ha rivelato differenze significative (global R=0.904, p<0.001). L'analisi SIMPER ha mostrato che le specie che hanno contribuito maggiormente alla similarità all'interno del gruppo costiero sono state *Engraulis encrasicolus*, *Arnoglossus thori* e *Serranus cabrilla*, mentre quelle che hanno contribuito maggiormente alla similarità all'interno del gruppo del largo sono state *Cyclothone braueri*, *Myctophum punctatum* e *Lampanyctus crocodilus*.

**Conclusioni** - Le maggiori concentrazioni di larve di pesci all'interno dei golfi della costa siciliana potrebbero essere correlate al flusso da ovest verso est, lungo la piattaforma continentale, dell'Acqua Atlantica Modificata (Della Croce, 2000). Questo flusso costante potrebbe permettere la formazione di vortici all'interno dei golfi favorendo un buon apporto di nutrienti e quindi una maggiore abbondanza di larve.

#### Bibliografia

- CLARKE K.R. (1993) - Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.*, **18**: 117-143.
- DELLA CROCE N. (2000) - Il Mar Tirreno. *Ass. Ital. Ocean. Limnol.*, **13**: 363-378.
- GRAY C.A. (1993) - Horizontal and vertical trends in the distributions of larval fishes in coastal waters off Central New South Wales, Australia. *Mar. Biol.*, **116**: 649-666.
- HARE J.A., FAHAY M.P., COWEN R.K. (2001) - Springtime ichthyoplankton of the slope region off the northeastern United States of America: larval assemblage, relation to hydrography and implications for larval transport. *Fish. Oceanogr.*, **10**: 164-192.
- LEIS J.M., MILLER J.M. (1976) - Offshore distributional patterns of Hawaiian fish larvae. *Mar. Biol.*, **36**: 359-367.
- OLIVAR M.P., SABATÉS A., ABELLO P., GARCIA M. (1998) - Transitory hydrographic structures and distribution of fish larvae and neustonic crustaceans in the north-western Mediterranean. *Oceanol. Acta*, **21**: 95-104.
- SABATÉS A. (1990) - Distribution pattern of larval fish populations in the north-western Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **59**: 75-82.
- SMITH P.E., RICHARDSON S. (1977) - Standard techniques for pelagic fish egg and larval surveys. *FAO Fish. Tech. Pap.*, **175**: 100 pp.
- YOUNG P.C., LEIS J.M., HAUSFELD H.F. (1986) - Seasonal and spatial distribution of fish larvae in waters over the North West Continental Shelf of Western Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **31**: 209-222.



M. PAPALE, M. BORGHINI<sup>1</sup>, A. RIBOTTI<sup>2</sup>, A. LO GIUDICE, L. MICHAUD,  
R. SORGENTE<sup>2</sup>, M. DE DOMENICO, E. DE DOMENICO

Dip. Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina, Salita Sperone, 31 - Messina, Italia.  
edd@unime.it

<sup>1</sup>Istituto di Scienze Marine (ISMAR-CNR) - Pozzuolo di Lerici (SP), Italia.

<sup>2</sup>Istituto per l'Ambiente Marino-Costiero (IAMC-CNR), Loc. Sa Mardini - Torregrande (OR), Italia.

## LUMINESCENT BACTERIA AND WATER MASSES RELATIONSHIPS ALONG A SECTION BALEARIC ISLANDS - SARDINIA

### *RELAZIONI TRA BATTERI LUMINOSI E MASSE D'ACQUA LUNGO UN TRANSETTO ISOLE BALEARI - SARDEGNA*

**Abstract** - In order to evaluate quantitative and qualitative luminescent bacteria distribution, 101 seawater samples from 5 stations along a section Balearic Islands - Sardinia (Western Mediterranean Sea) were analysed during January 2012 and compared with data from May 2010. Luminescent bacteria plate counts showed a patchiness distribution that increases in the intermediate layer and at its interface with Deep Waters. An ARDRA analysis on isolated strains was carried out to evaluate the microbial diversity of the luminous communities and one selected representative for each ARDRA group was identified via the 16S rDNA sequencing.

**Key-words:** bacteria, luminous organisms, distribution, water masses.

**Introduction** - A wide literature on the systematic, metabolic features, biochemical pathways and ecology of luminous bacteria (LB) is available, but their distribution and role in marine environment are not completely known (Gentile *et al.*, 2009; Ruggeri *et al.*, 2010). De Luca *et al.* (2009) found higher values in surface waters (0-200 m) of the western Mediterranean Sea than at 800-1200 m depth in the other Mediterranean surveyed areas. In May 2010 quantitative and qualitative LB distribution was evaluated along a section Balearic Islands - Sardinia (Michaud *et al.*, 2011), then repeated in January 2012. The circulation in the area, characterized by the typical 3-layers system with a geostrophical path for intermediate waters, is often influenced by mesoscale eddies coming from the Algerian basin and interacting with surface and intermediate waters (Puillat *et al.*, 2002), transporting intermediate and modified Atlantic waters through the Algerian area.

**Materials and methods** - From 11 to 27 January 2012 the multidisciplinary cruise ICHNUSSA2012 was carried out on board the R/V Urania (CNR) between Menorca (Balearic Islands) and Sardinia. A total of 101 seawater samples from 5 stations were collected, from surface to 10 m above the bottom, by a Rosette sampler equipped with 12L Niskin bottles. A CTD probe 911plus SeaBird was employed for conductivity, temperature, pressure, dissolved oxygen and fluorescence measurements. LB were counted on Millipore filters (0.45 µm) placed on Sea Water Complete (SWC) agar plates. Counts from various filtered volumes and duplicate plates were normalized to 100 mL. LB were then isolated from the same plates and clustered by the Amplified rDNA Restriction Analysis (ARDRA). Representative isolates were identified by the 16S rRNA gene sequencing. The bacterial community structure was determined by Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (ARISA) (Danovaro *et al.*, 2006).

**Results** - Along the section, LB were detected in about 30% of samples with abundance values that ranged from 0 to 15 CFU 100mL<sup>-1</sup>. LB plate counts showed a patchiness distribution increasing in the intermediate layer (LIW) and at its interface with Deep Waters. Highest counts (15 CFU 100 mL<sup>-1</sup>) were found at 1250

and 1000 m depths (Stations S04 and S08, respectively) along the Balearic side of the section. With respect to the hydrodynamics, the eastern side was characterized by the presence of the LIW moving northward along the Sardinian slope with its core at about 500 m depth (salinity of about 38.65 psu and temperature of 13.75 °C). It was visible until about 100 km from the coast. On the western Balearic side LIW was not visible, probably due to the distance of the first station of the transect (S02) from the Balearic slope. Below new deep waters (Schroeder *et al.*, 2009), originated in the Gulf of Lion, occupied the area from about 2000 m depth to the bottom and were characterized by dissolved oxygen of about 4.5 mL L<sup>-1</sup>.

**Conclusions** - Bacterial genotypes detected by ARISA formed five clusters that mainly grouped per water mass (E: Epipelagic; M: Mesopelagic; B: Bathypelagic layers) rather than per station. A total of 43 luminescent strains were isolated. Such strains were clustered into 4 OTUs and one isolate per OTU was identified at molecular level. OTUs 1 and 2 (46.5 and 23.3% of total isolates, respectively) resulted closely related to two Gram-negative bioluminescent bacteria: *Photobacterium phosphoreum* (99% homology) and *P. halotolerans* (97% homology). OTU 3 (11.6%) was related to the Gram-negative, bioluminescent, rod-shaped, motile, facultatively anaerobic and halophilic *Vibrio harveyi* (98% homology). Finally, the OTU 4 (18.6%) was related to *Vibrio (Aliivibrio) fischeri* (98% homology). Such bacteria are normally found in all marine environments and they are key research organisms for the bioluminescence and symbiosis studies.

**Acknowledgements:** A special thank to Capt. Emanuele Gentile (R/V Urania), its crew and technicians onboard.

## References

- DANOVARO R., LUNA G.M., DELL'ANNO A., PIETRANGELI B. (2006) - Comparison of two fingerprinting techniques, terminal restriction fragment length polymorphism and automated ribosomal intergenic spacer analysis, for determination of bacterial diversity in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**: 5982-5989.
- DE LUCA M., CALDARONE B., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. (2009) - Studio della comunità microbica luminosa nel Mar Mediterraneo Centro-Occidentale. 19° Congr. Ass. Ital. Oceanol. Limnol. (AIOL), Venezia, 22-25 Settembre 2009. *Abstract Book*: 23.
- GENTILE G., DE LUCA M., DENARO R., LA CONO V., SMEDILE F., SCARFÌ S., DE DOMENICO E., DE DOMENICO M., YAKIMOV M.M. (2009) - PCR-based detection of bioluminescent microbial populations in Tyrrhenian Sea. *Deep Sea Res. II*, **56**: 763-767.
- MICHAUD L., RAFFA C., FICARRA C., LO GIUDICE A., RUGGERI G., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. (2011) - Struttura della comunità batterioplanctonica in tre stazioni lungo un transetto Sardegna - Isole Baleari (Campagna oceanografica BIOFUN10). 20° Congr. Ass. Ital. Oceanol. Limnol. (AIOL), Lecce, 4-8 luglio 2011. *Abstract Book*: 97.
- PUILLAT I., TAUPIER-LETAGE I., MILLOT C. (2002) - Algerian Eddies lifetime can near 3 years. *J. Mar. Syst.*, **31**: 245-259.
- RUGGERI G., BORGHINI M., RIBOTTI A., MILICI M., PAPALE M., SORGENTE R., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. (2010) - Luminous marine bacteria and water masses distribution in the central Mediterranean Sea (Cruise Sicily09). *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 370-371.
- SCHROEDER K., GASPARINI G.P., BORGHINI M., RIBOTTI A. (2009) - Experimental evidences of the recent abrupt changes in the deep Western Mediterranean Sea. In: Briand F. (ed), Dynamics of Mediterranean deep waters. *CIESM Workshop Monographs*, **38**: 51-56.

L. SABIA<sup>1,2</sup>, M. UTTIERI<sup>2</sup>, M. PANSERA<sup>1</sup>, S. SOUSSI<sup>3</sup>, F.G. SCHMITT<sup>3</sup>,  
G. ZAGAMI<sup>1</sup>, E. ZAMBIANCHI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,  
Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze per l'Ambiente, Università degli Studi di Napoli "Parthenope",  
Centro Direzionale di Napoli, Isola C4 - 80143 Napoli, Italia.  
lsabia@unime.it

<sup>3</sup>Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, Université Lille 1, Station Marine,  
UMR 8187 LOG-28 - Avenue Foch 62930, Wimereux, France.

## FIRST OBSERVATIONS ON THE SWIMMING BEHAVIOUR OF *PSEUDODIAPTOMUS MARINUS* FROM LAKE FARO

### OSSERVAZIONI PRELIMINARI SUL COMPORTAMENTO NATATORIO DI *PSEUDODIAPTOMUS MARINUS* DAL LAGO DI FARO

**Abstract** - The calanoid copepod *Pseudodiaptomus marinus* is an invasive copepod, first recorded in Lake Faro (Messina, Italy) in October 2008 and now representing the third species in terms of abundance. In this study, the swimming behaviour of the adult reproductive stages (males, females and ovigerous females) has been investigated, revealing specific adaptations to the life in a pelagic system.

**Key-words:** *Pseudodiaptomus marinus*, swimming behaviour, invasive species.

**Introduction** - The calanoid copepod *Pseudodiaptomus marinus* (Sato, 1913) is a typical estuarine-coastal copepod being found only in shallow inshore waters where the food supply is in general abundant. It is native of the Indo-Pacific region, but in the last 50 years it has successfully colonized new areas. *P. marinus* was first recorded in Lake Faro (a small coastal brackish lake situated at the North-Eastern limit of Sicily) in October 2008, and since its first introduction the copepod has become a stable component of the total zooplankton assemblage gradually becoming the third species in terms of abundance. Owing to the presence of an anoxic layer in the deepest part of the lake, the copepod, which is usually epibenthic during the morning and pelagic at night (Uye and Kasahara, 1983), has become truly planktonic, a behavioral adaptation to survive in such hostile environment. By means of video recordings, for the first time the swimming behaviour of the adult stages of *P. marinus* (females, males and ovigerous females) have been investigated in this study. The reproductive stages were filmed in presence and in absence of food to evaluate if and how the presence of prey might affect the behaviour of *P. marinus*. The motion was quantitatively analyzed evaluating the speed and the complexity of digitalized tracks, and it was further analyzed using symbolic analysis.

**Materials and methods** - A gentle sampling with a WP2 net was made in Lake Faro in January 2011. An amount of 70 copepodides were sorted and used to start up a laboratory culture. In May 2011, around 50 individuals (adults and copepodides) were transferred to Wimereux to initiate other cultures for the rearing of specimens for video recordings. Animals were put in a plexiglass aquarium (10×10×10 cm, 1 l volume) lit from the bottom using an infrared (IR) LED array (880 nm) in a dark room at a constant temperature of 19 °C. Videorecordings were performed with a SONY digital IR sensitive video camera recorder (DCR-HC96E) operating at a frequency of 25 frames/s, equipped with a Karl Zeiss lens. Two set of experiments were performed: copepods swimming in an aquarium filled with filtered water; and copepods swimming in an aquarium with food in excess, the red alga *Porphyridium cruentum*. Selected tracks were digitized with LabTrack version 2.1 (BioRAS

ApS, Copenhagen, Denmark). For each trajectory, the total swimming speed and its morphological complexity (estimated through the net-to-gross displacement ratio NGDR, see Buskey, 1984) were calculated. In addition, a symbolic analysis was performed on the instantaneous speed of each track to reveal changes in the locomotion (Schmitt *et al.*, 2006).

**Results** - In presence of food, all reproductive stages swam with speeds and NGDR similar to the case with filtered water. Females were breaking for 66% of the time in filtered water (50% in presence of food), while when *P. cruentum* was added more time was spent cruising (36% rather than 22%). Males behaved similarly to females in presence of food, while in filtered water the time breaking and cruising were respectively 54% and 38%. Ovigerous females were breaking for 62% of time and cruising for 30% in filtered water, whereas when food was added these values turned to 56% and 31%, respectively.

**Conclusions** - The analysis of the swimming behaviour showed that the benthic vocation of *P. marinus* was much more evident for females than for males, the latter having a much higher explorative behaviour likely to encounter the mates. Ovigerous females explored the surrounding environment more intensively than non ovigerous females, probably for the higher food requirements. In general, it has been observed that feeding strategy is not much different between males and females, as already observed by Uye and Kasahara (1983), but swimming motion shows marked sex-dependent features. From the video observations it is evident the typical behaviour displayed by the representatives of the genus *Pseudodiaptomus* of attaching to the substrate (Fancett and Kimmerer, 1985) for most of the time. This behaviour is used by females more than males, the latter displaying several explorative searches to explore the water volume in which are immersed likely in search of the female.

## References

- BUSKEY E.J. (1984) - Swimming pattern as an indicator of the roles of copepod sensory systems in the recognition of food. *Mar. Biol.*, **79**: 165-175.
- FANCETT M.S., KIMMERER W.J. (1985) - Vertical migration of the demersal copepod *Pseudodiaptomus* as a means of predator avoidance. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **88** (1): 31-43.
- SATO T. (1913) - Pelagic copepods (no. 1). *Scientific Reports of the Hokkaido Fisheries Experimental Station*, **1**: 1-79.
- SCHMITT F.G., SEURONT L., HWANG J.S., SOUISSI S., TSENG L.C. (2006) - Scaling of swimming sequences in copepod behavior: data analysis and simulation. *Physica A*, **364**: 287-296.
- UYE S., KASAHARA S. (1983) - Grazing of various developmental stages of *Pseudodiaptomus marinus* (Copepoda: Calanoida) on natural occurring Particles. *Bull. Plank. Soc. Japan*, **30** (2): 147-158.

The work of L. Sabia was partly funded by a mobility bursary "Ouverture Internationale des Etudes et de la Formation Doctorale en Région Nord – Pas-de-Calais" of the University of Lille, Nord de France. The research of M. Uttieri was supported by the MOKA project (Modelling and Observation of zooplanktonic organisms; ID: RBFR10VF6M) financed by the Italian Ministry of Education, University and Research.

N. UNGARO, A.M. PASTORELLI, T. DI FESTA, R. PETRUZZELLI, M. FLORIO,  
M.R. ALIQUÒ, M. VADRUCCI

Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale (ARPA Puglia),  
Corso Trieste, 27 - 70126 Bari, Italia.  
n.ungaro@arpa.puglia.it

## NUOVE INFORMAZIONI SULLA PRESENZA QUALI-QUANTITATIVA DI SPECIE FITOPLANCTONICHE NOCIVE NELLE ACQUE MARINO COSTIERE DELL'ADRIATICO SUD-OCCIDENTALE

### *NEW INFORMATION ON THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE PRESENCE OF HARMFUL PHYTOPLANKTON SPECIES IN THE SOUTH-WESTERN ADRIATIC COASTAL WATERS*

**Abstract** - New information on the presence of harmful phytoplankton species in the south-western Adriatic are reported. Phytoplankton samples have been collected in the period September 2010-2011 in the coastal area for water monitoring purposes. Thirty marine-coastal water bodies (WB) were investigated from the north to the south of the Puglia region. The presence of forty-eight phytoplanktonic harmful taxa was recorded (n. 21 Diatoms, n. 22 Dinoflagellates, n. 5 others). Among the diatoms, the most frequent species were *Cerataulina pelagica* (n. 30 WB) and *Asterionellopsis glacialis* (n. 29 WB), while the most abundant was *Skeletonema marinoi*. Among the dinoflagellates, the most frequent species were *Prorocentrum micans* (n. 27 WB) and *Scrippsiella trochoidea* (n. 26 WB), while the most abundant was *Heterocapsa minima*.

**Key-words:** harmful species, phytoplankton, southern Adriatic Sea.

**Introduzione** - Nella definizione della terminologia inglese “*Harmful Algal Blooms*” (HABs) sono compresi quei fenomeni, attribuibili a microalghe sia planctoniche che bentoniche, che possono avere impatti negativi diretti ed indiretti sulla salute e sulle attività umane (Zingone e Wyatt, 2005). Tra queste specie, alcune sono potenzialmente tossiche per l'uomo, altre sono nocive per i pesci, altre ancora possono dare luogo a fioriture massive (Vila e Masò 2005). In questo lavoro sono riportate nuove informazioni sulla presenza quali-quantitativa delle microalghe nocive nelle acque costiere dell'Adriatico pugliese, focalizzando l'attenzione sulle specie fitoplanctoniche e non considerando quelle ticoplanctoniche ed epibentoniche, trattate in altri lavori.

**Materiali e metodi** - Durante il periodo Settembre 2010-Settembre 2011 sono stati monitorati da ARPA Puglia 30 corpi idrici marino-costieri dislocati lungo il litorale Adriatico pugliese, ai sensi del D.M. 260/2010. Il monitoraggio, effettuato bimestralmente, prevedeva tra l'altro il prelievo di campioni per la determinazione della componente fitoplanctonica, in stazioni allocate tra i 100 ed i 500 m dalla costa. I campioni sono stati in seguito analizzati in laboratorio per la determinazione tassonomica (Uthermol, 1958). Di tutte le specie fitoplanctoniche identificate è stato estratto un sottoinsieme relativo a quelle nocive in senso lato (Avancini *et al.*, 2006), di cui di seguito si riportano le informazioni più significative.

**Risultati** - Nei campioni di fitoplancton raccolti sono stati identificati 48 taxa potenzialmente nocivi, di cui 21 taxa di diatomee, 22 taxa di dinoflagellate e n. 5 taxa di altre specie (Tab. 1).

Tab. 1 - Taxa fitoplanctonici potenzialmente nocivi\* riscontrati nell'Adriatico sud-occidentale.  
*Phytoplanktonic harmful taxa\* found in the south-western Adriatic Sea.*

SPECIE			Potenziale nocività
ID Specie	Diatomee		
1	<i>Asterionellopsis glacialis</i>		blooms algali
2	<i>Cerataulina pelagica</i>		blooms algali
3	<i>Chaetoceros socialis</i>		blooms algali
4	<i>Chaetoceros</i> sp.		blooms algali
5	<i>Chaetoceros</i> spp.		blooms algali
6	<i>Coscinodiscus</i> sp.		blooms algali
7	<i>Coscinodiscus</i> spp.		blooms algali
8	<i>Cylindrotheca closterium</i>		blooms algali
9	<i>Leptocylindrus danicus</i>		blooms algali
10	<i>Leptocylindrus minimus</i>		blooms algali
11	<i>Nitzschia longissima</i>		blooms algali
12	<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>		blooms algali
13	<i>Pseudo-nitzschia galaxiae</i>		blooms algali
14	<i>Pseudo-nitzschia multistriata</i>	ASP (acido domoico DA)	
15	<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i>	ASP (acido domoico DA)	
16	<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	ASP (acido domoico DA)	
17	<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.		blooms algali
18	<i>Skeletonema marinoi</i>		blooms algali
19	<i>Thalassionema nitzschoides</i>		blooms algali
20	<i>Thalassiosira</i> sp.		blooms algali
21	<i>Thalassiosira</i> spp.		blooms algali

SPECIE			Potenziale nocività
ID Specie	Dinoflagellate		
22	<i>Akashiwo sanguinea</i>		ittiotossicità
23	<i>Alexandrium minutum</i>		PSP (gonyautossina GTX)
24	<i>Alexandrium tamarense</i>		PSP (gonyautossina GTX)
25	<i>Ceratium fusus</i>		ittiotossicità
26	<i>Dinophysis acuminata</i>		DSP (acido okadaico OA)
27	<i>Dinophysis caudata</i>		DSP (acido okadaico OA)
28	<i>Dinophysis rotundata</i>		DSP (acido okadaico OA)
29	<i>Dinophysis sacculus</i>		DSP (acido okadaico OA)
30	<i>Dinophysis tripos</i>		DSP (acido okadaico OA)
31	<i>Gonyaulax polygramma</i>		Moria di molluschi, crostacei, pesci
32	<i>Gonyaulax spinifera</i>		Yessotossine
33	<i>Gymnodinium impudicum</i>		blooms algali
34	<i>Heterocapsa minima</i>		blooms algali
35	<i>Heterocapsa niel</i>		blooms algali
36	<i>Heterocapsa</i> sp.		blooms algali
37	<i>Heterocapsa</i> spp.		blooms algali
38	<i>Noctiluca scintillans</i>		blooms algali
39	<i>Prorocentrum micans</i>		blooms algali
40	<i>Prorocentrum minimum</i>		Moria di molluschi
41	<i>Prorocentrum triestinum</i>		blooms algali
42	<i>Scrippsiella</i> spp.		blooms algali
43	<i>Scrippsiella trochoidea</i>		blooms algali
Altro Fitoplancton			
44	<i>Dictyocha fibula</i>		blooms algali
45	<i>Dictyocha</i> sp.		blooms algali
46	<i>Dictyocha speculum</i>		blooms algali
47	<i>Eutreptiella</i> spp.		blooms algali
48	<i>Phaeocystis poucheti</i>		blooms algali

\* IOC- UNESCO Taxonomic List of Harmful Algae.

La numerosità delle specie potenzialmente nocive, così come la loro abbondanza massima (cellule/L), è risultata differente nelle stazioni di campionamento (Tab. 2). Il numero più elevato di specie, insieme ad una abbondanza tendenzialmente più alta, è stato riscontrato nei corpi idrici allocati nella parte centrale del litorale adriatico pugliese indagato. Tuttavia le concentrazioni massime stimate non hanno mai superato il milione di cellule/L, con la sola eccezione di *Skeletonema marinoi*. Tra le diatomee, le specie più frequenti sono risultate *Cerataulina pelagica* (in 30 corpi idrici) e *Asterionellopsis glacialis* (in 29 corpi idrici). Tra le dinoflagellate le specie frequenti sono risultate *Prorocentrum micans* (in 27 corpi idrici) e *Scrippsiella trochoidea* (in 26 corpi idrici), la più abbondante era *Heterocapsa minima*.

**Conclusioni** - Le informazioni riportate in questo lavoro si aggiungono a quelle già disponibili sul fitoplancton dell'Adriatico pugliese, aggiornando la situazione sulle microalghe potenzialmente nocive. I dati raccolti permettono di identificare, seppure in maniera preliminare, le zone in cui si è verificata la presenza di tali specie; questa informazione, insieme a tutte le altre necessarie, può contribuire ad implementare l'analisi di rischio, propedeutica alla gestione integrata della fascia costiera.

## Bibliografia

- AVANCINI M., CICERO A.M., DI GIROLAMO I., INNAMORATI M., MAGALETTI T., SERTORIO ZUNINI T. (eds) (2006) - *Guida al riconoscimento del plancton nei mari italiani. Vol. I - Fitoplancton*. MATTM-ICRAM: 503 pp.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.*, **9**: 1-38.
- VILA M., MASÓ M. (2005) - Phytoplankton functional groups and harmful algal species in anthropogenically impacted waters of the NW Mediterranean Sea. *Sci. Mar.*, **69** (1): 31-45.
- ZINGONE A., WYATT T. (2005) - Harmful Algal Blooms: keys to the understanding of the Phytoplankton ecology. In: Robinson A.R., Brink K.H. (eds), *The Sea*. Harvard University Press: 867-926.



Tab. 2 - Corpi idrici, stazioni di campionamento e taxa fitoplanctonici potenzialmente nocivi nell'Adriatico sud-occidentale.

*Water bodies, sampling stations and phytoplanktonic harmful taxa in the south-western Adriatic Sea.*

Corpo Idrico Marino Costiero Regione Puglia	Stazione Campionamento	Specie presenti (n. ID Specie, in grassetto) e abbondanza massima (cell./L, in corsivo)	N° Totale Specie Nocive
Isole Tremiti	Tremiti_100	1, 96; 2, 288; 4, 256; 5, 188; 8, 512; 9, 64; 17, 568; 19, 68; 25, 32; 27, 64; 34, 32; 35, 32; 39, 32	13
Chieuti-Foce Fortore	F_Fortore_500	1, 1824; 2, 1184; 4, 1728; 8, 32; 9, 3872; 10, 256; 17, 672; 19, 48; 23, 64; 34, 64; 35, 384; 40, 256; 43, 224; 44, 544; 46, 512	15
Foce Fortore-Foce Schiapparo	F_Schiapparo_500	1, 752; 2, 352; 4, 28; 5, 38144; 8, 16; 9, 128; 10, 136; 11, 32; 17, 376; 19, 896; 22, 288; 24, 32; 25, 32; 28, 64; 30, 32; 34, 256; 35, 64; 39, 32; 43, 128; 44, 448; 45, 32; 46, 64	22
Foce Schiapparo-Foce Capotaormina	F_Capotaormina_500	1, 1632; 2, 224; 4, 24448; 5, 384; 6, 32; 8, 128; 9, 156; 10, 16; 17, 2208; 18, 3744; 19, 148; 20, 16; 22, 64; 34, 352; 35, 64; 39, 128; 40, 448; 43, 32; 44, 416; 46, 48	20
Foce Capotaormina-Foce Varano	F_Varano_500	1, 672; 2, 128; 4, 1344; 5, 1584; 6, 576; 8, 96; 9, 6784; 10, 2944; 17, 1376; 19, 74; 20, 48; 22, 96; 23, 32; 34, 448; 35, 384; 39, 256; 40, 64; 42, 64; 43, 32; 44, 48; 46, 768	21
Foce Varano-Peschici	Peschici_200	1, 352; 2, 352; 4, 1376; 5, 296; 6, 64; 9, 672; 10, 864; 16, 128; 17, 320; 19, 64; 20, 32; 25, 32; 29, 32; 35, 384; 39, 96; 43, 984; 44, 384; 46, 32	18
Peschici-Vieste	Vieste_500	1, 56; 2, 96; 4, 416; 5, 2848; 8, 544; 9, 512; 19, 128; 34, 96; 35, 384; 43, 128; 46, 8	11
Vieste-Mattinata	Mattinata_200	2, 512; 4, 1472; 5, 1248; 6, 32; 8, 128; 9, 16; 10, 96; 17, 16; 19, 832; 25, 32; 34, 16; 35, 256; 36, 128; 39, 32; 40, 864; 41, 32; 43, 352; 44, 32	18
Mattinata-Manfredonia	Mattinata_200	1, 1856; 2, 648; 4, 2144; 5, 314; 8, 48; 9, 1248; 10, 2176; 17, 7936; 19, 736; 25, 64; 35, 32; 39, 32; 40, 2176; 41, 64; 43, 448; 44, 32	16
	Manfredonia_SIN_500	1, 64; 2, 188; 4, 96; 5, 7488; 6, 32; 8, 8; 9, 32; 10, 68; 17, 8256; 19, 448; 20, 64; 23, 96; 25, 32; 26, 32; 29, 32; 34, 64; 35, 74; 36, 288; 37, 156; 39, 32; 40, 736; 42, 416; 43, 96	23
Manfredonia-Torrente Cervaro	F_Candelaro_500	1, 216; 2, 128; 4, 4; 5, 24; 6, 16; 8, 36; 9, 36; 17, 1760; 19, 144; 20, 256; 23, 288; 34, 224; 35, 256; 37, 416; 39, 16; 40, 32; 41, 64; 43, 416; 44, 32; 46, 8; 47, 8	21
Torrente Cervaro-Foce Carapelle	F_Carapelle_500	1, 264; 2, 672; 4, 32; 5, 3712; 6, 96; 8, 2624; 9, 232; 10, 64; 17, 1344; 19, 4; 23, 64; 29, 32; 35, 512; 39, 544; 40, 128; 41, 576; 43, 128; 44, 32; 46, 8	19
Foce Carapelle-Foce Aloisa	F_Aloisa_500	1, 14274; 2, 191169; 3, 256; 4, 3476; 5, 17379; 6, 2; 8, 32; 9, 32; 10, 9124; 11, 1152; 15, 8888; 16, 17379; 17, 24768; 18, 651713; 19, 28; 20, 1738; 22, 32; 25, 8; 27, 2; 34, 2855; 35, 6952; 39, 1427; 43, 11296; 44, 6; 46, 4345	25
Foce Aloisa-Margherita di Savoia	F_Carmosina_500	1, 2669; 2, 99929; 3, 55816; 4, 14824; 5, 32; 6, 8; 8, 16; 9, 352; 10, 12165; 11, 2144; 15, 3176; 16, 172; 17, 155111; 18, 1477; 19, 29544; 20, 869; 21, 16; 22, 96; 25, 12; 29, 4; 34, 7241; 35, 416; 39, 24; 43, 267; 44, 869; 46, 8	26
Margherita di Savoia-Barletta	F_Ofanto_500	1, 47792; 2, 53875; 3, 2855; 4, 3413; 5, 2669; 6, 4; 8, 188; 10, 86895; 11, 1696; 15, 394; 16, 55; 17, 19920; 18, 6213; 19, 1393; 20, 16; 22, 869; 25, 64; 27, 4; 34, 1427; 35, 192; 43, 4345; 44, 42; 46, 4355	23
Barletta-Bisceglie	Bisceglie_500	1, 992; 2, 48; 3, 8690; 4, 6124; 5, 24765; 6, 2; 8, 48; 9, 336; 10, 47792; 11, 16; 15, 4624; 16, 17379; 17, 8220; 18, 751643; 19, 64; 20, 144; 22, 32; 25, 1225; 34, 1225; 35, 8; 39, 3672; 43, 1225; 44, 7; 46, 2172	24
Bisceglie-Molfetta	Molfetta_500	1, 6827; 2, 125998; 3, 5793; 4, 4345; 5, 2786; 10, 168; 11, 32; 15, 2776; 16, 42; 17, 19976; 18, 695161; 19, 168; 20, 1334; 22, 6; 25, 579; 27, 4; 34, 3476; 35, 128; 39, 64; 43, 869; 44, 3	21
Molfetta-Bari	Bari_Ballice_500	1, 56; 2, 512; 3, 7712; 4, 33455; 5, 7456; 8, 8; 9, 188; 10, 2855; 11, 8; 12, 288; 15, 8312; 16, 4; 17, 18464; 18, 964536; 19, 64; 20, 1427; 22, 64; 25, 24; 34, 32; 35, 869; 39, 192; 43, 869; 44, 88; 46, 48	24
Bari-S. Vito (Polignano)	Bari_Trullo_500	1, 72992; 2, 48; 3, 3661; 4, 35972; 5, 1632; 6, 2; 8, 434; 9, 683; 10, 86895; 11, 576; 12, 72; 15, 5784; 16, 1427; 17, 5817; 18, 1272144; 19, 176; 20, 2172; 25, 4; 26, 4; 32, 32; 34, 19117; 35, 288; 38, 4; 39, 64; 41, 15641; 43, 96; 44, 32; 46, 1738	28
	Mola_500	1, 544; 2, 656; 3, 1862; 4, 2920; 5, 1344; 8, 32; 10, 332; 11, 133; 15, 6872; 16, 6952; 17, 12506; 18, 672568; 19, 32; 20, 3476; 25, 434; 27, 8; 28, 2; 34, 4345; 35, 133; 39, 133; 43, 869; 44, 8; 46, 12	23
S. Vito (Polignano)-Monopoli	Monopoli_100	1, 37655; 2, 24; 3, 4224; 4, 18248; 5, 336; 6, 32; 8, 8; 9, 1738; 10, 1427; 11, 683; 15, 4736; 16, 2897; 17, 18433; 18, 1167; 19, 48; 20, 579; 22, 64; 25, 8; 28, 4; 29, 2; 34, 13614; 35, 56; 39, 391; 43, 96; 44, 1159; 46, 579	26
Monopoli-Torre Canne	Forcatelle_500	1, 96; 2, 192; 7, 48; 8, 96; 9, 128; 10, 16; 11, 64; 14, 84; 15, 1248; 16, 112; 18, 128; 19, 16; 36, 384; 37, 168; 39, 112; 41, 32; 42, 112	17
Torre Canne-Limite nord AMP Torre Guaceto	Villanova_500	1, 768; 2, 64; 4, 128; 6, 64; 7, 16; 8, 16; 9, 32; 10, 384; 11, 96; 15, 32; 17, 64; 18, 768; 21, 64; 25, 64; 35, 192; 36, 256; 39, 8; 42, 256	18
Area Marina Protetta Torre Guaceto	T_Guaceto_500	1, 384; 2, 384; 7, 168; 8, 128; 9, 128; 10, 32; 11, 74; 15, 896; 16, 192; 17, 640; 18, 64; 21, 112; 25, 96; 35, 128; 36, 224; 37, 32; 39, 56; 42, 24; 43, 256	19
Limite sud AMP Torre Guaceto-Brindisi	P_Penne_100	1, 32; 2, 128; 5, 64; 6, 32; 8, 192; 9, 32; 10, 384; 11, 24; 15, 48; 16, 64; 17, 48; 18, 128; 25, 64; 35, 64; 36, 192; 37, 252; 39, 64; 41, 84; 42, 168	19
Brindisi-Cerano	BR_CapoBianco_500	1, 64; 2, 224; 7, 128; 8, 96; 9, 4; 10, 28; 11, 448; 15, 224; 16, 32; 18, 576; 20, 16; 25, 32; 29, 64; 31, 64; 36, 128; 37, 128; 39, 16; 42, 384; 43, 256; 45, 64	20
Cerano-Le Cesine	Campo di Mare_500	1, 8; 2, 32; 7, 128; 8, 128; 9, 192; 10, 576; 11, 148; 13, 528; 15, 16; 16, 256; 19, 24; 20, 384; 22, 32; 23, 224; 25, 64; 36, 224; 37, 48; 39, 192; 42, 224; 43, 32	20
	LE_S.Cataldo_500	1, 1696; 2, 673; 4, 11391; 8, 1899; 9, 152; 10, 5584; 12, 8; 16, 128; 17, 266963; 18, 1168; 19, 928; 20, 1122; 29, 5; 36, 2324; 39, 38; 40, 48; 41, 16; 43, 1213; 44, 32; 46, 64; 48, 32	21
Le Cesine-Alimini	Cesine_200	1, 68; 2, 386; 4, 1136; 5, 16; 8, 2283; 9, 2272; 10, 3168; 12, 288; 16, 96; 17, 147370; 19, 768; 33, 6; 36, 1159; 39, 32; 43, 32; 44, 224; 48, 64	17
Alimini-Otranto	F_Alimini_200	1, 5689; 2, 468; 3, 7244; 4, 21321; 6, 2; 8, 1819; 9, 4544; 10, 48; 12, 14487; 16, 74; 17, 92274; 19, 124; 25, 8; 27, 2; 28, 64; 31, 2; 32, 4; 35, 16; 36, 3785; 38, 2; 39, 16; 40, 3622; 43, 64; 44, 32	24

M. BAINI, M. GIANNETTI, S. MALTESE, I. CALIANI, L. CARLETTI, T. CAMPANI,  
D. COPPOLA, M.C. FOSSI, T. RENIERI<sup>1,2</sup>, L. MARSILI

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Siena, Via Mattioli, 4 - 53100 Siena, Italia.  
bainimatt@gmail.com

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Biologia Applicata, Università di Siena,  
Policlinico Santa Maria alle Scotte, Viale Bracci - 53100 Siena, Italia.

<sup>2</sup>Centro Interdipartimentale per la ricerca e la terapia dell'infertilità maschile, Università di Siena,  
Policlinico Santa Maria alle Scotte, Viale Bracci - 53100 Siena, Italia.

## NANOTOSSICOLOGIA: EFFETTI DI NANOPARTICELLE DI ORO (AuNP) SU FIBROBLASTI DI CETACEI

### *NANOTOXICOLOGY: EFFECTS OF GOLD NANOPARTICLES (AuNPS) IN CETACEAN FIBROBLASTS*

**Abstract** - Nanoparticles (NPs) are produced intentionally with the aim of developing new materials that exhibit certain specific properties. Their use has been proposed in many fields of science and industry. Although the various toxicological aspects and the diversity of the NPs assessed are just beginning, many deleterious effects have been documented, particularly in animals. No data are available for marine top predators of conservational interest, such as toothed whales (Odontoceti). Gold (Au) NPs are the most stable metal nanoparticles and they present fascinating aspects such as their assembly of multiple types. The aim of this study was to evaluate the toxicological effects of the ingenierized AuNPs in fibroblast cell cultures of two free-ranging specimens of toothed cetaceans: striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*), sampled in Mediterranean Sea by non destructive method represented by subcutaneous biopsy. Immunofluorescence technique was used for qualitative and quantitative evaluation of CYP450 1A1, CYP450 2B and MICA expression. Genotoxicity of AuNPs in cetacean fibroblasts was detected by the alkaline Comet assay. This experiment confirms the AuNPs capacity to pass through the cellular barrier and to accumulate in cetacean fibroblasts. Moreover, their toxicity seems to be related especially to the genotoxic effects, while no induction of metabolic (CYP1A1 and CYP2B) and immune system related proteins (MICA) has been detected.

**Key-words:** cetology, nondestructive testing, cell culture, pollution, biological stress.

**Introduzione** - Con il termine nanoparticelle (NP) si identificano normalmente delle particelle formate da aggregati atomici o molecolari con un diametro inferiore a 100 nanometri (nm). Le nanoparticelle possono essere costruite con materiali molto diversi, ma particolarmente importanti per le applicazioni biologiche risultano essere quelle composte da metalli inerti come il platino e l'oro. Le nanoparticelle sono di grande interesse sia per il mondo industriale che per quello scientifico; i campi di applicazione, in particolare delle nanoparticelle di oro (AuNP), chiamate anche oro colloidale, sono sempre più numerosi: elettronica, nanotecnologia e sintesi di nuovi materiali con proprietà uniche. Alcune tecniche di *imaging* usano le AuNP come marcatori, grazie alla loro particolare interazione con la luce a diverse lunghezze d'onda. Recentemente la proprietà di conversione fototermica delle AuNP ha destato l'interesse dell'intero mondo scientifico; infatti, se vengono irradiate da un raggio laser, possono convertire efficientemente l'energia luminosa in energia termica, e ciò può portare alla distruzione delle cellule tumorali e dei batteri (West e Halas, 2003; Zharov *et al.*, 2006). Spesso sono utilizzate anche come mezzo di contrasto per la visualizzazione di tessuti o organi in vivo, ma la loro applicazione più interessante è legata al trasporto mirato di molecole all'interno delle cellule, ad esempio di farmaci antitumorali. Tutto ciò ci presenta le AuNP e le nanoparticelle in generale come sistemi dalle potenzialità infinite. In realtà le loro interazioni con i sistemi biologici sono alquanto sconosciute e già sono stati documentati degli effetti negativi negli animali (Nowack e Bucheli, 2007). Tuttavia non vi sono dati riguardanti i *top*

*predators* marini di interesse conservazionistico, come i cetacei odontoceti. Una delle principali caratteristiche delle nanoparticelle è la loro capacità di passare attraverso le varie barriere protettive degli organismi viventi, compresa la barriera dell'epidermide (Oberdörster *et al.*, 2005). Nei cetacei, la pelle è un importante tessuto non soltanto come barriera fisica di protezione, ma anche come sede di componenti del sistema immunitario che provvedono ad una difesa iniziale contro agenti patogeni, stimoli nocivi e cellule neoplastiche residenti. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare i potenziali effetti tossicologici delle nanoparticelle di oro ingegnerizzate in colture cellulari di fibroblasti di due specie di cetacei odontoceti, la stenella striata (*Stenella coeruleoalba*) ed il tursiopo (*Tursiops truncatus*), campionati nel Mar Mediterraneo tramite il metodo non distruttivo della biopsia cutanea (Fossi e Marsili, 2011).

**Materiali e metodi** - Per il campionamento non invasivo degli esemplari *free-ranging* di cetacei è stata utilizzata la tecnica della biopsia cutanea, effettuata dalla prua dell'imbarcazione quando gli esemplari facevano *bow-riding*, utilizzando un palo lungo 2,5 m con punta modificata in modo da fungere da raccoglitore di tessuto. Gli operatori erano autorizzati al campionamento con permesso CITES Cod. Ident. Nazionale IT 025IS ed Internazionale IT 007. La metodica utilizzata per ottenere le colture cellulari di fibroblasti è quella descritta da Marsili e collaboratori (Marsili *et al.*, 2000). I fibroblasti, raggiunta la confluenza in una fiasca T182 Celestar, sono stati trattati con 2 ml di Tripsina EDTA 1X (Gibco) e sono stati fatti crescere per 24 ore su vetrini coprioggetto inseriti in piastre a pozzetti (PBI). Le cellule sono state in seguito incubate a 37 °C per 4 e 24 ore con una concentrazione di AuNP pari a 250 µM. Le AuNP sono state prodotte, caratterizzate e fornite dalle Industrie Colorobbia, Sovigliana (Vinci, Firenze, Italia). La tecnica dell'immunofluorescenza indiretta è stata usata per un'analisi qualitativa e quantitativa del CYP450 1A1 e del CYP450 2B e dell'espressione del MICA. Le prime due proteine sono da sempre utilizzate come biomarker di esposizione rispettivamente a composti planari (es. idrocarburi policiclici aromatici, diossine, PCB e PBDE non-orto e i mono-orto sostituiti) e globulari (es. DDT, PCB e PBDE orto-sostituiti), mentre il MICA è utilizzato come biomarker di stress tossicologico del sistema immunitario. È stata inoltre verificata la genotossicità delle AuNP nei fibroblasti di cetacei mediante la tecnica del comet assay (Speit e Hartmann, 2006; Burlinson *et al.*, 2007).

**Risultati** - I principali risultati ottenuti da questo studio preliminare sono: tutte le proteine prese in esame: CYP450 1A1, CYP450 2B e MICA, rilevate con la tecnica dell'immunofluorescenza indiretta nei fibroblasti dei cetacei indagati, non hanno mostrato un'induzione in seguito al trattamento con le AuNP. Questo indicherebbe un'inerzia tossicologica di tali nanoparticelle nei confronti di questi biomarker nei fibroblasti di cetaceo (Fig. 1); invece il test di mutagenesi della cometa, ha mostrato che le AuNP causano un incremento delle percentuali di code di DNA rispetto al controllo ed in funzione del tempo di esposizione (4 e 24 ore), mettendo in allarme sulle potenzialità genotossiche di questi composti (Fig. 2).

**Conclusioni** - Le conclusioni tratte da questo studio sui fibroblasti di cetacei odontoceti sono le seguenti:

- abbiamo validato l'utilizzo di metodologie di campionamento non-distruttive sia su esemplari di *Stenella coeruleoalba* che di *Tursiops truncatus*;
- le colture cellulari si confermano un materiale importantissimo in quanto rappresentano quello che può essere chiamato il "cetaceo in provetta", cioè un sistema "*in vitro*" che può essere utilizzato per moltissime indagini ecotossicologiche;
- le AuNP mostrano effetti genotossici non trascurabili sui fibroblasti di cetaceo e ciò deve far riflettere sul loro vasto utilizzo sull'uomo, in particolare nel campo medico.

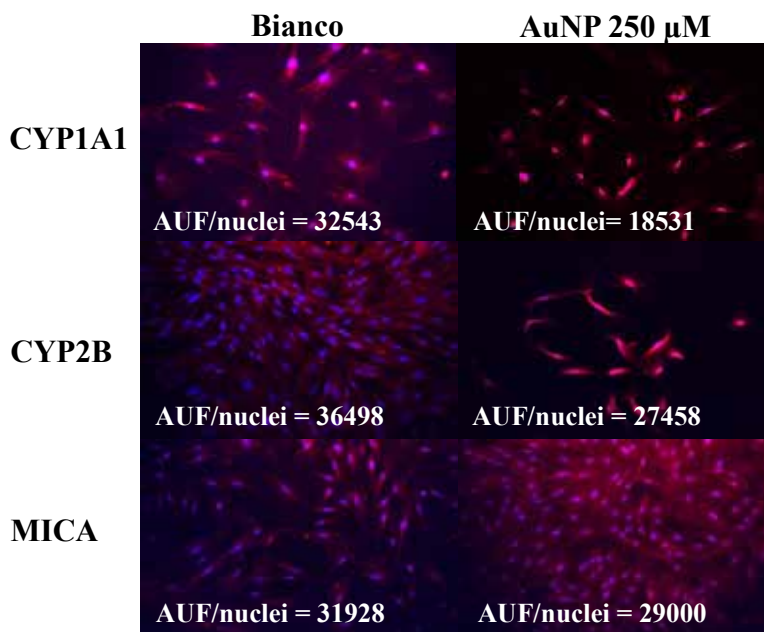


Fig. 1 - Immunofluorescenza (AUF/nuclei) del CYP1A1, CYP2B e MICA nei fibroblasti di stenella trattati con AuNP.

*Immunofluorescence (AUF/nucleus) of CYP1A1, CYP2B and MICA in cultured fibroblasts of striped dolphin treated with AuNPs.*

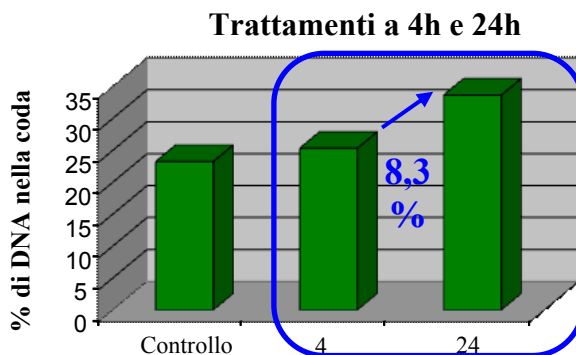


Fig. 2 - Percentuale (%) di DNA nella coda in fibroblasti di tursiopo trattati con AuNP.

*DNA tail percentage (%) in bottlenose dolphin fibroblasts treated with AuNPs.*

## Bibliografia

BURLINSON B., TICE R.R., SPEIT G., AGURELL E., BRENDLER-SCHWAAB S.Y., COLLINS A.R., ESCOBAR P., HONMA M., KUMARAVEL T.S., NAKAJIMA M., SASAKI Y.F., THYBAUD V., UNO Y., VASQUEZ M., HARTMANN A. (2007) - Fourth international workgroup on genotoxicity testing: results of the in vivo comet assay workgroup. *Mut. Res.*, **627**: 31-35.

- FOSSI M.C., MARSILI L. (2011) - Multi-trial ecotoxicological diagnostic tool in Cetaceans skin biopsies. In: Khopkar U. (ed), *Skin Biopsy - Perspectives*. InTech: 317-336.
- MARSILI L., FOSSI M.C., NERI G., CASINI S., GARDI C., PALMERI S., TARQUINI E., PANIGADA S. (2000) - Skin biopsies for cell cultures from Mediterranean free-ranging cetaceans. *Mar. Environ. Res.*, **50** (1-5): 649-652.
- NOWACK B., BUCHELI T.D. (2007) - Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ. Poll.*, **150**: 5-22.
- OBERDÖRSTER G., OBERDÖRSTER E., OBERDÖRSTER J. (2005) - Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environ. Health Persp.*, **113** (7): 823-839.
- SPEIT G., HARTMANN A. (2006) - The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. In: Henderson D.S. (ed), *Methods In Molecular Biology. Vol. 113. DNA Repair Protocols: Eucaryotic Systems, 2<sup>nd</sup> Ed.* Humana Press Inc., Totowa, NJ: 275-286.
- WEST J.L., HALAS N.J. (2003) - Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging, and therapeutics. *Ann. Rev. Biomed. Eng.*, **5**: 285-292.
- ZHAROV V.P., MERCER K.E., GALITOVSKAYA E.N., SMELTZER M.S. (2006) - Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophys. J.*, **90** (2): 619-627.

C. GAMBARDELLA, S. FERRANDO, L. GALLUS, F. BERTOLINO<sup>1</sup>,  
E. LECCA<sup>2</sup>, E. CASOLA<sup>1</sup>

Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova,  
Viale Benedetto XV, 5 - 16132 Genova, Italia.  
chiara.gambardella@unige.it

<sup>1</sup>Istituto Cooperativo di Ricerca (I.C.R.), Via Cinthia Parco San Paolo, 25 - 80126 Napoli, Italia.

<sup>2</sup>Acquacoltura e Ricerca Soc. Coop., Via Brigata Sassari, 31 - 09045 Quartu Sant'Elena (CA), Italia.

## LEPTIN DISTRIBUTION IN BLUEFIN TUNA *THUNNUS THYNNUS* MUSCLE

### DISTRIBUZIONE DELLA LEPTINA NEL MUSCOLO DEL TONNO ROSSO *THUNNUS THYNNUS*

**Abstract** - The aim of this study was to investigate the presence of leptin, a molecule involved in lipid storage and metabolism, in the muscle of the bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Linnaeus), a migratory species characterized by a rapid lipid mobilization. Samples of red muscle were collected from fishes during migration, and leptin-like immunoreactivity was observed in fibroblasts-like cells among the muscle fibers. We suggested that this molecule could play an important role in bluefin tuna lipid metabolism and consequently we hypothesized its possible involvement in the energy regulation of migratory tuna.

**Key-words:** Atlantic bluefin tuna, migratory species, muscles, fish, histochemistry.

**Introduction** - Bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Linnaeus) is a pelagic species, widely distributed in the Mediterranean Sea. As fast swimmer, it is characterized by rapid lipid mobilization and storage, used as metabolic energy during migration (Dickson, 1995). Tuna store large amount of lipid in muscle tissue, as most of pelagic fish do (Oehlenschläger and Rehbein, 2009). To date many studies have focused on lipid composition of bluefin tuna muscle (Topic Popovic *et al.*, 2011), while little is known on molecules involved in lipid metabolism. Among them, the obese gene, leptin, stimulates lipid mobilization in fishes, regulating energy expenditure and intake (reviewed in Copeland *et al.*, 2011). The aim of this study was to investigate leptin presence and distribution in bluefin tuna muscle in order to verify if this molecule could be involved in the energy regulation of migratory bluefin tuna.

**Materials and methods** - Ten adult specimens of *T. thynnus* were collected with tuna trap (tonnara) in Carloforte (Sardinia, Italy), killed, weighted and then dissected to collect the muscle. Samples of red muscle were fixed, rinsed, dehydrated, embedded in paraplast and sectioned. Immunohistochemical labeling was performed using rabbit polyclonal antiserum against leptin (1:200 in PBS, Santa Cruz Biotechnology Inc.). Reactions were revealed by peroxidase conjugated anti-rabbit (1:200 in PBS, Sigma). Negative controls were performed by omitting primary antiserum and neutralizing leptin primary antiserum with its antigen (1:200 in PBS, Santa Cruz Biotechnology Inc.).

**Results** - Leptin-like immunoreactivity was found in the muscle of *T. thynnus*. In particular, several fibroblasts-like cells located in the red muscle, among the muscle fibers, showed leptin-immunostaining. The specificity controls gave negative results.

**Conclusions** - This study is the first report on leptin evidence in bluefin tuna. We observed leptin-like immunoreactivity in muscle bluefin tuna. Our results are in agreement with those previously observed in other teleost species with a high commercial value, like sea bass and salmon (Gambardella *et al.*, 2010; Trombley *et*



*al.*, 2012). Tuna muscle is constituted by white and red fibers, that contribute to powering burst swimming (Guppy *et al.*, 1979). White muscle energy metabolism is mainly provided by anaerobic breakdown of intramuscular glycogen (Kiessling *et al.*, 2007), whereas red muscle energy is almost entirely aerobic with lipids as the main fuel (Sänger and Stoiber, 2001). Leptin signaling is important for deposition and mobilization of lipid in fish muscle as for sustaining swimming movement (Gambardella *et al.*, 2010). Hence, leptin detection in bluefin tuna red muscle may us to hypothesize a role of this molecule in the energy regulation and utilization of this species, besides lipid storage. Moreover, we investigated leptin expression in migratory tuna. Further investigations based on leptin in farmed (fattening farms) bluefin tuna are necessary to verify if migratory and farmed specimens, characterized by a different lipid storage, differ in leptin expression and distribution.

## References

- COPELAND D., DUFF R.J., LIU Q., PROKOP J., LONDRVILLE R.L. (2011) - Leptin in teleost fish: an argument for comparative study. *Front. Physiol.*, **2**: 1-11.
- DICKSON K.A. (1995) - Unique adaptations of the metabolic biochemistry of tunas and billfishes for life in the pelagic environment. *Environ. Biol. Fish.*, **42**: 65-97.
- KIESSLING A., RUOHONEN K., BJØRNEVIK M. (2007) - Muscle fibre growth and quality in fish. *Arch. Tierz. Dummerstorf*, **46**: 137-146.
- GAMBARDELLA C., FERRANDO S., GALLUS L., RAVERA S., BIANCHINI P., RAMOINO P., FASULO S., TAGLIAFIERRO G. (2010) - Leptin-like immunoreactivity in the muscle of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Micr. Tech. Res.*, **73**: 797-802.
- GUPPY M., HULBERT W.C., HOCHACHKA P.W. (1979) - Metabolic sources of heat and power in tuna muscles. II Enzyme and metabolite profiles. *J. Exp. Biol.*, **8**: 303-320.
- OEHLenschläGER J., REHBEIN H. (2009) - Basic facts and figures. In: Rehbein H., Oehlenschläger J. (eds), *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Blackwell Scientific Publication, United Kingdom: 1-18.
- SÄNGER A.M., STOIBER W. (2001) - Muscle fiber diversity and plasticity. In: Johnston I.A. (ed), *Muscle development and growth*. *Fish Physiol.*, **18**: 187-250.
- TOPIC POPOVIC N., KOZACINSKI L., STRUNJAK-PEROVIC I., COZ-RAKOVAC R., JADAN M., CVRTILA-FLECK Z., BARISIC J. (2011) - Fatty acid and proximate composition of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) muscle with regard to plasma lipids. *Aquac. Res.*: 1-8.
- TROMBLEY S., MAUGARS G., KLING P., BJORNSSON B.T., SCHMITZ A. (2012) - Effects of long-term restricted feeding on plasma leptin, hepatic leptin expression and leptin receptor expression in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **175**: 92-99.

M. GIANNETTI, M.C. FOSSI, M. BAINI, D. COPPOLA, S. MALTESE, C. PANTI, T. CAMPANI, I. CALIANI, L. CARLETTI, L. PIREDDU<sup>1</sup>, G. FARA<sup>1</sup>, S. CASINI, L. MARSILI, D. DENURRA<sup>1</sup>

Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università di Siena, Via Mattioli, 4 - 53100 Siena, Italia.  
giannetti12@unisi.it

<sup>1</sup>CRAMA, Centro Recupero Animali Marini Asinara, Isola dell'Asinara, Sardegna, Italia.

EFFETTI TOSSICOLOGICI IN ESEMPLARI  
DI *CARETTA CARETTA* (LINNEO, 1758)  
CAMPIONATI NEL CENTRO RECUPERO ANIMALI MARINI  
DEL PARCO NAZIONALE DELL'ASINARA (SARDEGNA)

*TOXICOLOGICAL EFFECTS  
IN CARETTA CARETTA (LINNEO, 1758)  
FROM CRAMA RESCUE CENTRE  
OF ASINARA NATIONAL PARK (SARDINIA, ITALY)*

**Abstract** - Three species of sea turtle are found in the Mediterranean basin, *Chelonia mydas*, *Dermochelys coriacea* and the most common *Caretta caretta*. The loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) are currently classified as "endangered" species worldwide by IUCN (International Union for Conservation of Nature). In addition to the accumulation of pollutants from food the threats for the Mediterranean population of these species are fishing, degradation of nesting beaches and solid wastes. Therefore, there is a need to develop tools to investigate the health status of the Mediterranean population of turtles. The main aims of this study were: a) to develop a non-destructive sampling method (blood, skin biopsies, excreta and carapace), b) to develop and apply a set of ecotoxicological biomarkers in order to explore different levels of interaction between contaminants and the organism, c) to investigate levels of contaminants most commonly present in the Mediterranean and d) to evaluate the responses of a set of biomarkers in the loggerhead specimens after an oil-spill. There is a lack of information concerning in particular the toxicological effects of pollutants on this endangered species, hence the need to develop sensitive non-invasive tools to evaluate the exposure to and effects of contaminants. The main results of this work are a non-lethal sampling methodology, and the assessment of biomarker responses to different levels of contaminants. This work is a contribution for the development of a complete protocol of analysis for the monitoring and protection of endangered species of turtles, highly stressed in the Mediterranean Sea.

**Key-words:** non-destructive testing, sea turtle, biological stress, marine parks.

**Introduzione** - Nel Mar Mediterraneo è possibile ritrovare tre specie di tartarughe marine, la tartaruga verde (*Chelonia mydas* - Famiglia Cheloniidae), la tartaruga liuto (*Dermochelys coriacea* - Famiglia Dermochelyidae) e la tartaruga comune (*Caretta caretta* - Famiglia Cheloniidae). *Caretta caretta*, attualmente classificata a livello mondiale dalla IUCN come specie EN "endangered", nonostante sia la più diffusa nel bacino Mediterraneo, ha una popolazione nidificante considerata scarsa o molto scarsa già da due decenni (Goombridge, 1990). Come riportato nell'Action Plan per la Conservazione delle tartarughe marine nel Mar Mediterraneo (UNEP MAC RAC/SPA, 2007), c'è una chiara evidenza dell'impatto negativo delle attività umane su queste specie. Fra queste le principali sono: 1) il deterioramento degli habitat di nidificazione, 2) l'impatto diretto dell'uomo (catture accidentali nella pesca, uccisioni volontarie e collisioni con le imbarcazioni), 3) l'ingestione di materiali plastici presenti in mare, e 4) l'inquinamento antropico, con influenza sia sulla popolazione che sugli habitat. Il lungo periodo di vita di questi Rettili (*long-living species*) e la loro posizione nella catena trofica marina con un'alimentazione basata principalmente su crostacei, molluschi e pesci, rende le tartarughe marine particolarmente soggette agli effetti dei tossici presenti. Diversi studi hanno dimostrato che i livelli di organoclorurati (OCs) e metalli pesanti rilevati nel materiale biologico di esemplari di *C. caretta*

del Mar Mediterraneo sono spesso significativamente più elevati rispetto a quelli riscontrati in esemplari della stessa specie campionati in altre aree marine (Aguilar *et al.*, 2002). Una mancanza quasi assoluta di informazioni riguarda invece gli effetti tossicologici che questi contaminanti possono avere su questa e sulle altre specie di tartarughe marine del Mediterraneo. Da ciò la necessità di sviluppare strumenti diagnostici non distruttivi e minimamente invasivi per valutarne l'esposizione e gli effetti. Lo scopo di questo studio è stato quello di sviluppare ed applicare un protocollo non-invasivo, basato sull'integrazione delle risposte di biomarkers e dei livelli di alcuni contaminanti (organoclorurati (OC), idrocarburi policiclici aromatici (IPA), ritardanti di fiamma (PBDE) ed elementi in tracce), al fine di indagare le minacce legate alla contaminazione della *Caretta caretta* nel Mar Mediterraneo. Gli obiettivi specifici erano:

- a) sviluppare una metodologia di campionamento non-distruttiva di vari materiali biologici,
- b) valutare i livelli di contaminanti presenti nei diversi materiali biologici in esemplari *free-ranging* e spiaggiati (sangue, fegato, adipe, carapace),
- c) sviluppare ed applicare un set di biomarkers ecotossicologici per evidenziare i diversi livelli di interazione tra i vari contaminanti e gli organismi (biomarkers di esposizione, estrogenici, di stress ossidativo, di neurotossicità, di genotossicità e di danno epatico),
- d) l'elaborazione statistica dei risultati ottenuti.

**Materiali e metodi** - Il numero di esemplari presi in considerazione in questo studio sono 9 (8 *Caretta caretta* ed 1 *Chelonia mydas*), campionati tutti presso il centro di recupero del CRAMA (Centro Recupero Animali Marini Asinara) presente in Sardegna nel Parco Nazionale dell'Asinara nell'anno 2011. Su questi esemplari, classificati in tre classi d'età a seconda della lunghezza del carapace (CCL) usando il modello di von Bertalanffy: classe I (da 0 a 9 anni), classe II (da 10 a 14 anni) e classe III (oltre 15 anni), i veterinari del CRAMA hanno provveduto al campionamento di: sangue intero (un'aliquota è stata centrifugata per ottenere il plasma), carapace, biopsia cutanea (tramite punch da biopsia da 0.4 o 0.6 mm) ed excreta (dai campioni in cui è stato possibile). Tutti i campioni sono stati conservati immediatamente in azoto liquido e trasportati presso il "Laboratorio Biomarkers ed Analisi dei Residui" dell'Università di Siena per le successive indagini. Su questi campioni sono stati valutati i livelli di idrocarburi policiclici aromatici e le risposte di alcuni biomarkers legati alla presenza di questo tipo di contaminanti (citocromo 1A (CYP1A), Comet assay, ENA assay e stress ossidativo). La valutazione dei livelli di IPA è stata effettuata su sangue intero secondo la metodica di Marsili *et al.* (1997) e la lettura è avvenuta tramite HPLC con detector a fluorescenza. L'induzione del citocromo P450, valutata sulla biopsia cutanea, è stata analizzata tramite metodica immunoenzimatica semiquantitativa del Western Blot (Fossi *et al.*, 2008) che consente, attraverso l'utilizzo di anticorpi specifici, la valutazione dell'espressione proteica di specifiche isoforme del citocromo P450 (CYP1A). Attraverso i test del Comet assay (Frenzilli *et al.*, 1999) e dell'ENA assay (Pacheco e Santos, 1997) applicati sul sangue intero è stato possibile valutare il danno al DNA presente in questi esemplari, da ricondurre principalmente all'esposizione a contaminanti genotossici, quali i composti aromatici come gli IPA, ma anche i composti azotati, gli inorganici radioattivi, i metalli pesanti e le diossine. Tutti questi composti hanno la capacità di interagire con il DNA delle cellule viventi causandone la perdita dell'integrità strutturale e funzionale. Lo stress ossidativo è stato valutato nel plasma tramite la metodica della perossidazione lipidica (LPO) (Bird e Draper, 1984). Questo tipo di danno può essere causato da numerosi processi fisiologici (catena respiratoria mitocondriale) e

patologici, e dall'esposizione a sostanze di sintesi e naturali (IPA, metalli, diossine e radiazioni), che possono aumentare la produzione di sostanze ossidanti, dette specie reattive dell'ossigeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*).

**Risultati** - Il primo risultato di questo studio è stato quello di aver confermato la validità della metodologia non distruttiva per il campionamento di materiale biologico da tartarughe marine a rischio di estinzione. Uno dei principali risultati ottenuti dalle analisi riguarda i livelli di IPA rilevati in tutti gli esemplari campionati nel centro CRAMA. Il test statistico non parametrico di Kolmogorov-Smirnov ha infatti evidenziato che i livelli di IPA rilevati in queste tartarughe erano significativamente più elevati ( $p < 0,05$ ) di quelli ritrovati negli esemplari di *C. caretta* analizzati precedentemente dal nostro laboratorio, alcuni dei quali addirittura giunti al centro CRTM di Brancalione ancora ricoperti di petrolio (Casini, comunicazione personale). Per questo motivo, in accordo con i veterinari del centro CRAMA, è stato deciso di effettuare prelievi di sangue negli esemplari ospedalizzati a più riprese: a distanza di circa 2 mesi dal recupero la prima volta e, successivamente, ogni settimana. I risultati preliminari, riguardanti solamente 2 degli 8 esemplari di *C. caretta* indagati (Françoise e Nicolà), hanno evidenziato una diminuzione media del livello di IPA del 77%, il cui trend potrà anche essere confermato dalle analisi effettuate sui successivi prelievi (Fig. 1). I livelli di IPA, fino a circa 3 ppm, ritrovati negli esemplari campionati presso il centro CRAMA sono stati ricondotti principalmente ad uno sversamento di idrocarburi da un impianto industriale nel Golfo di Porto Torres a Gennaio 2011.

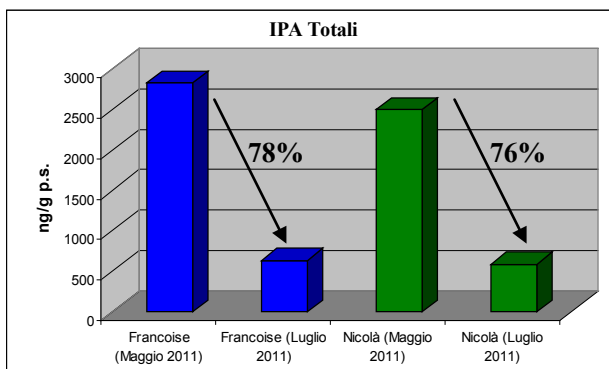


Fig. 1 - Livelli di IPA nei due esemplari campionati a distanza di due mesi.

*Levels of PAHs in two specimens sampled after two months.*

Per quel che riguarda le indagini dei biomarkers, alti livelli di stress ossidativo sono stati evidenziati nell'unico esemplare di *C. mydas* (Green). Una possibile spiegazione a tale risultato può essere data dalla lettura della "storia di vita" di questo esemplare: negli ultimi due anni è stato ospedalizzato, liberato e nuovamente ricoverato al centro CRAMA dopo che, grazie ad un tag satellitare collocato sulla tartaruga al momento della liberazione, se ne era rilevato un successivo spiaggiamento. Tutti i valori di stress ossidativo degli esemplari di *C. caretta* (animali campionati in altre zone ed in tempi diversi) sono invece risultati nella media. I test di genotossicità hanno mostrato valori superiori alla media per quanto riguarda il test dell'ENA assay ed in linea con la media di tutti gli altri esemplari da noi campionati e valutati per quanto riguarda

il Comet assay, non essendo inoltre presenti dati in letteratura su quali effettuare confronti. L'espressione del CYP1A, valutata tramite la metodica del Western Blot, è risultata differente tra i diversi esemplari; in particolare hanno mostrato un'alta attività proteica di questo citocromo la tartaruga verde e tre esemplari di *C. caretta* denominati Stefania, Nicolà e Corse. In assoluto i valori di espressione proteica sono più alti di quelli riscontrati in altri esemplari analizzati precedentemente nel nostro Laboratorio, considerando inoltre la non presenza di dati in letteratura. Dato che l'isoforma 1A del citocromo P450 fornisce informazioni sulla contaminazione dovuta a molecole planari tra cui gli IPA, è probabile che gli elevati livelli di questi contaminanti presenti nel sangue delle tartarughe siano i responsabili dell'elevata espressione del CYP1A.

**Conclusioni** - Le principali conclusioni che si possono trarre da questo studio sono le seguenti: a) la validazione di metodologie di campionamento non-distruttive sia su esemplari di *C. caretta* che per la prima volta su un solo esemplare di *C. mydas*; b) l'applicazione e la valutazione di un set di biomarkers sulla *C. caretta* con risultati molto interessanti; c) la stima dell'impatto che può avere uno oil-spill su questi Rettili marini; d) la valutazione della diminuzione a livello ematico degli IPA durante i due mesi di ospedalizzazione mostrato da 2 esemplari di *C. caretta*. Infine riteniamo che i risultati di questo studio potranno contribuire in modo significativo allo sviluppo di protocolli non invasivi per studiare le problematiche delle tartarughe marine, legate soprattutto ad una contaminazione di origine antropica. Inoltre permetteranno di arricchire le conoscenze sullo stato tossicologico di queste specie nel bacino del Mediterraneo, considerando che non esistono, per quanto riguarda almeno le nostre conoscenze, dati in letteratura con cui poter effettuare confronti dei dati ottenuti.

#### Bibliografia

- AGUILAR A., BORREL A., REIJNDERS P.J.H. (2002) - Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *Mar. Environ. Res.*, **53**: 424-452.
- BIRD R.P., DRAPER H.H. (1984) - Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Method. Enzymol.*, **105**: 299-305.
- FOSSI M.C., CASINI S., BUCALOSSI D., MARSILI L. (2008) - First detection of CYP1A1 and CYP2B2 induction in Mediterranean cetaceans skin biopsies and cultured fibroblasts by western blot analysis. *Mar. Environ. Res.*, **66**: 3-6.
- FRENZILLI G., SCANCELLI V., TADDEI F., NIGRO M. (1999) - Adaptation of SCGE for monitoring marine ecosystem. *Neoplasma*, **46**: 6-7.
- GROOMBRIDGE B. (1990) - Marine turtles in the Mediterranean: distribution, population status, conservation. *Nature and Environment Series*, **48**: 98 pp.
- MARSILI L., FOSSI M.C., CASINI S., SAVELLI C., JIMENEZ B., JUNIN M., CASTELLO H. (1997) - Fingerprint of polycyclic aromatic hydrocarbons in two populations of southern sea lions (*Otaria flavescens*). *Chemosphere*, **34** (4): 759-770.
- PACHECO M., SANTOS M.A. (1997) - Induction of EROD activity and genotoxic effects by polycyclic aromatic hydrocarbons and resin acid on the juvenile eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotox. Env. Safe.*, **38** (3): 252-259.
- UNEP MAC RAC/SPA (2007) - *Action Plan for the conservation of Mediterranean Marine Turtles*.

G. GUERRIERO<sup>1</sup>, S. TROCCHIA<sup>1,2</sup>, M.A. ALWANY<sup>2</sup>, G. CIARCIA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ECLab (certif. UNI EN ISO 9001: 2008), Department of Biological Sciences,  
University of Naples Federico II, Via Mezzocannone, 8 - 80134 Naples, Italy.  
giulia.guerriero@unina.it

<sup>2</sup>Dept. of Marine Science, Suez Canal University, Ismailia, Egypt.

## PCR-RFLP MITOCHONDRIAL ANALYSIS: RAPID DISCRIMINATION OF *ACIPENSER BAERII* AND *TRISOPTERUS MINUTUS MINUTUS* EGGS

### ANALISI MITOCONDRIALE TRAMITE PCR-RFLP: DISCRIMINAZIONE RAPIDA DI UOVA DI *ACIPENSER BAERII* E *TRISOPTERUS MINUTUS MINUTUS*

**Abstract** - Species identification is a key problem throughout the life cycle of fishes: from eggs and larvae to adults in ecosystem and fisheries research and control, as well as processed fish products labelling in consumer. Amplification of a region of the mitochondrial genome, the cytochrome b, using the polymerase chain reaction (PCR) permits species discrimination. The obtained long PCR-products cut with different restriction endonucleases resulting in species-specific restriction fragment length polymorphisms (RFLP) allow to discriminate between different types of eggs species. The following analysis of mitochondrial DNA is suitable with only one enzymes, *HpaII*, to differentiate and control the labeling of the caviar, *Acipenser baerii* and the caviar substitution specie, *Trisopterus minutus minutus*.

**Key-words:** caviar, mitochondrial DNA, PCR, RFLP.

**Introduction** - Caviar, as known, is the most commercially valuable species, among species distributed worldwide and they are among the most endangered freshwater fishes. In order to fulfil the obligation to control international caviar trade, a more effective and accurate species identification system is essential. Historically, sturgeon identification in the trade was based on a comparison of the size and color of eggs (Chen *et al.*, 1996). Normally, sturgeons spawn several times during their life, and the size of eggs depends on the species and the age of females. Species identification methods based on the analyses of specific proteins is not always applicable. Alternatively, nucleotide sequencing and restriction fragment length polymorphism (RFLP) procedures are useful (Guerriero *et al.*, 2010). The objectives of the present study were to confirm the egg fish species by PCR sequencing and to detect the restriction enzymes to use with PCR-RFLP method for the sturgeons *Trisopterus minutus minutus* and the caviar, *Acipenser baerii*.

**Materials and methods** - Samples, listed as *Trisopterus minutus minutus* and *Acipenser baerii* were bought in different market sites (Italy and Egypt). The genomic DNA was extracted from 100 mg of eggs. PCR amplification of the 389 bp cytochrome b rRNA gene fragment was performed as previously reported (Guerriero *et al.*, 2010), in ten aliquots of each samples. Amplified DNA was desalted with Microcon 100 spin columns and sequenced. The obtained sequence were compared for control with Fasta sequences data for cytb tRNA belonging to those species examined. Virtual restriction maps of cytb rRNA gene sequences were obtained using NEB cutter. PCR products derived from amplification of cytb rRNA gene were subjected to restriction digestion without previous purification using *Hpa II* restriction enzyme (M-Medical srl, Milan) and reaction mixtures specified by the manufacturer.

**Results** - In all samples listed as *Trisopterus minutus minutus* and *Acipenser baerii* we obtained a fragment of ~389 bp length from the cytb mt-rRNA gene (data not



shown). The sequences of the amplicons obtained and analysed by comparing them with those reported in the database by a FASTA analysis confirm the attribution of species reported in the label. Furthermore, the cleaved fragments obtained from PCR amplicons of the ~389bp cytb mt-rRNA fragment with Hpa II endonuclease resulted in agreement with those expected by theoretical analysis of our obtained sequences (Tab. 1). The fragments were visualized by electrophoresis in 2% agarose gel and provide evidence of two different restriction patterns for the species examined (Fig. 1).

Tab. 1 - Theoretical restriction fragment length polymorphism of the ~389bp cytb mt-rRNA fragment in *Trisopterus minutus minutus* and *Acipenser baerii*.

*Pattern di restrizione teorico ottenuto per il frammento mitocondriale cytb mt-rRNA di ~389bp in Trisopterus minutus minutus e Acipenser baerii.*

Species	<i>HpaII</i>	
		Position/Fragments length (bp)
<i>Trisopterus minutus minutus</i>	1	13/13; 377
<i>Acipenser baerii</i>	1	211/190; 211

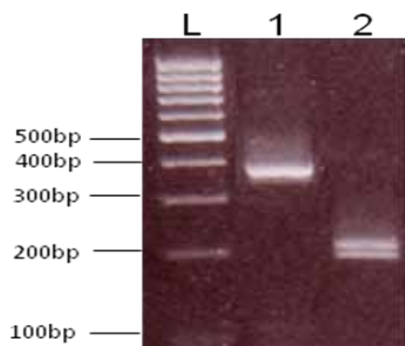


Fig. 1 - PCR-RFLP analysis of the cytb rRNA gene fragment amplified from eggs sample (1-2) digested with the restriction enzyme HpaII; lane L: 100bp DNA ladder (Fermentas). Numbers at top indicate fish species identified by PCR sequencing as follows: 1 - *T. minutus minutus*; 2 - *A. baerii*.

*Analisi PCR-RFLP del frammento del gene cytb rRNA dei campioni di uova (1-2) digeriti con l'enzima di restrizione Hpa II; lane L: DNA ladder 100bp (Fermentas). I numeri in alto indicano le specie di pesci identificate tramite PCR sequenza come segue: 1 - *T. minutus minutus*; 2 - *A. baerii*.*

**Conclusions** - The increasing sequence information, acquired in DNA databases such as NCBI, EMBL and DDBJ culminated in an advance to include molecular species identification into the existing CITES regulations. Actually, our study show the RFLP analysis obtained by only one restriction enzyme, HpaII that allows an unequivocal discrimination between the sturgeon specie, *Acipenser baerii* and the substitution caviar *Trisopterus minutus minutus*. Taking into consideration the great commercial value of these species, this method showed a rapid way for exposing commercial frauds, like mislabelling of caviar lots, to avoid commercial frauds on the fish market and to identify juvenile use in restocking programs.

## References

- CHEN I.C., CHAPMAN F.A., WEI C.I., O'KEEFE S.F. (1996) - Preliminary studies on SDS-PAGE and isoelectric focusing identification of sturgeon sources of caviar. *J. Food Sci.*, **61**: 533-359.
- GUERRIERO G., DI FINIZIO A., CIARCIA G. (2010) - Biological pollution: molecular identification of non-native species in the Central Tyrrhenian Sea. *Catrina*, **5**: 41-47.

A. LODOLA<sup>1,2</sup>, D. SAVINI<sup>1,2</sup>, A. OCCHIPINTI-AMBROGI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia,  
Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.

<sup>2</sup>Associazione FOR-MARE, Italia.  
alice.lodola@unipv.it

## ALIEN SPECIES IN THE CENTRAL MEDITERRANEAN SEA: THE CASE STUDY OF LINOSA ISLAND (PELAGIAN ISLANDS, ITALY)

### *SPECIE ALIENE NEL MAR MEDITERRANEO CENTRALE: IL CASO STUDIO DELL'ISOLA DI LINOSA (ISOLE PELAGIE, ITALIA)*

**Abstract** - Linosa is a small volcanic island of the Pelagian Archipelago, a Marine Protected Area located in the Central Mediterranean Sea (Sicilian Channel - Italy). It is subjected to the arrival of both alien species from the Indo-Pacific region through the Suez Canal and species of tropical Atlantic origin through the Strait of Gibraltar. The ongoing acclimatization of non-native thermophilic species, mainly macroalgae, invertebrates and fishes on the island is presented.

**Key-words:** Linosa Island, Sicilian Channel, alien species.

**Introduction** - Linosa is a small volcanic island of the Pelagian Archipelago, a Marine Protected Area (MPA) located in the Central Mediterranean Sea (Sicilian Channel - Italy). Despite the very low anthropogenic impact (i.e. no industries, nor agriculture, low tourism) and the reduced importance of ship traffic and aquaculture, Linosa is recognized as one of the main hotspots of introduction of alien species in Italy (Occhipinti-Ambrogi *et al.*, 2011). The origin of these species is mainly the Indo-Pacific region as they have been previously reported in the eastern Mediterranean upon their entrance through the Suez Canal, whereas a few fish species of tropical Atlantic origin seem to have entered through the Strait of Gibraltar. Due to its location at the biogeographical boundary between the western and eastern Mediterranean, Linosa island may act as stepping stone for secondary dispersal of non-native species from west to east or vice versa. Moreover, it represents a meeting point of Atlantic species with those from the Red Sea and Indo-Pacific, providing an interesting opportunity for studying the interactions of alien thermophilic species of different biogeographic origin.

**Materials and methods** - In two consecutive summers (2010-2011) the infralittoral fringe was surveyed by underwater visual census, by both scuba diving and snorkeling, in a depth range of 0-20 m with the aim of collecting updated data on alien species distribution and abundance along transects of different size, depending on the species considered. Survey sites were chosen according to their location inside and outside the boundaries of the MPA, equally spaced and evenly covering the whole perimeter of the island.

**Results** - Results showed the acclimatization of six alien species along the superior infralittoral fringe of the island: the algae *Caulerpa racemosa* and *Asparagopsis taxiformis*, the crab *Percnon gibbesi*, the opisthobranch *Aplysia dactylomela*, the fish *Siganus luridus*, and the bivalve *Pinctada imbricata radiata*. *Caulerpa racemosa* was widespread in the summer of 2010 and has slightly increased its abundance in almost all the survey sites in the summer of 2011. *Asparagopsis taxiformis*, which in 2010 was confined to the northeastern coast, has increased its distribution having been found also in sites along the southwestern coast. *Percnon gibbesi* showed higher densities (mean:  $25 \pm 34$  individuals per 10 m<sup>2</sup> of seabottom) in sites characterized by the

optimal habitat of the species, constituted by large boulders encrusted with coralline algae (i.e. *Mesophyllum* sp. and *Amphiroa* sp.). *Aplysia dactylomela* was recorded in both years only on the eastern coast. The fish *S. luridus* was detected only along the northeastern coast in summer 2010 and also found along the western coast in the summer of 2011 with relatively high densities (southern coast:  $6 \pm 5$  individuals per 500 m<sup>2</sup>; northern and eastern coast:  $1 \pm 1$  individuals per 500 m<sup>2</sup>). The bivalve *P. imbricata radiata*, absent in 2010, was detected along the northern and eastern coast in 2011.

**Conclusions** - This study provides evidence of the ongoing acclimatization of alien thermophilic species, mainly macroalgae, invertebrates and fishes. The abundance and distribution of these species along the island coasts are increasing. Both *C. racemosa* and *A. taxiformis* are successfully established and colonize rocky bottoms starting from the surface to -20 m depth. Furthermore, *A. taxiformis* dominates areas with strong hydrodynamism. *Percnon gibbesi* is an example of a very rapid and successful colonization. The crab was found in Linosa in 1999 for the first time in the Mediterranean (Relini *et al.*, 2000) and it is now widespread along the superior infralittoral fringe as reported by recent studies (Raineri & Savini, 2010; Raineri *et al.*, 2011). *Aplysia dactylomela* was recorded for the first time in Linosa in the summer of 2009 (Di Silvestro *et al.*, 2010) and the subsequent records in 2010 and 2011 in the same locality on the eastern coast of the island, suggest that this species is probably at an initial phase of colonization. The fish *S. luridus* was first reported in Linosa in 2003 (Azzurro & Andaloro, 2004). It is now established, having been found everywhere except along the southern coast. The finding of *P. imbricata radiata* is the first report of the species in the island. These data highlight the key role of Linosa for understanding the expansion of alien thermophilic species in the Mediterranean Sea.

**Acknowledgements:** Authors thank the MPA of The Pelagian Islands that authorized this research.

## References

- AZZURRO E., ANDALORO F. (2004) - A new settled population of the lessepsian migrant *Siganus luridus* (Pisces: Siganidae) in Linosa Island, Sicily Strait. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **84**: 819-821.
- DI SILVESTRO D., GARZOLI L., LODOLA A. (2010) - Colonization status of the Mediterranean Sea by the tropical sea hare *Aplysia dactylomela* (Opisthobranchia, Anaspidea). *5<sup>th</sup> International Student Conference "Biodiversity and functioning of aquatic ecosystems in the Baltic Sea region". 6-8 October 2010, Palanga (Lithuania)*.
- OCCHIPINTI-AMBROGI A., MARCHINI A., CANTONE G., CASTELLI A., CHIMENZ C., CORMACI M., FROGLIA C., FURNARI G., GAMBI M.C., GIACCONE G., GIANGRANDE A., GRAVILI C., MASTROTOTARO F., MAZZIOTTI C., ORSI-RELINI L., PIRAINO S. (2011) - Alien species along the Italian coasts: an overview. *Biol. Invasions*, **13** (1): 215-237.
- RAINERI P., ADRIANI A., PIRONI L., SAVINI D., OCCHIPINTI-AMBROGI A., BIANCHI C.N. (2011) - The invasive alien crab *Percnon gibbesi* (H. Milne-Edwards, 1853) in the Marine Protected Area of Linosa island (Central Mediterranean Sea). *World Conference on Marine Biodiversity. 26-30 September 2011, Aberdeen, Scotland (UK)*.
- RAINERI P., SAVINI D. (2010) - *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) in Linosa Island ten years after its first record. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **39**: 643.
- RELINI M., ORSI L., PUCCIO V., AZZURRO E. (2000) - The exotic crab *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853) (Decapoda, Grapsidae) in the central Mediterranean. *Sci. Mar.*, **64**: 337-340.

A. MENGONI, E. PAGOTO, A. UGOLINI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze,  
Via Romana, 17 - 50125 Firenze, Italia.  
alberto.ugolini@unifi.it

## CARATTERIZZAZIONE DELLE COMUNITÀ MICROBICHE DI SPIAGGE SABBIOSE DELL'ISOLA DI FAVIGNANA (EGADI, TP)

### *CHARACTERIZATION OF BACTERIAL COMMUNITIES IN SANDY BEACHES FROM FAVIGNANA ISLAND (EGADI, ITALY)*

**Abstract** - Marine coasts represent highly dynamics ecosystems, with sandy beaches being one of the most heterogeneous and subjected to seasonal fluctuations and anthropic pressure due to recreational activities. Here we investigate the composition and dynamics of bacterial communities in three sandy beaches, at Favignana Islands, aiming to evaluate the effect of the transect sea-land on the bacterial community. Results obtained using metagenetic approaches (T-RFLP and sequencing of 16S rRNA gene) showed the presence of a different bacterial communities both in the transect and in the different beaches and an abundance of members of Alphaproteobacteria and Firmicutes classes.

**Key-words:** bacterial communities, sandy beaches, anthropic pressure, Egadi Islands.

**Introduzione** - Le coste sabbiose agiscono come filtri biocatalitici per vari tipi di materiali trasportati dalle correnti e dal vento, tra cui materiale organico particolato e disciolto derivante da biomasse vive e morte di origine terrestre e marina. I sedimenti sabbiosi sono costantemente soggetti a fenomeni di disturbo contaminazione di tipo biotico e abiotico (es. uso turistico delle spiagge, vicinanza di zone antropizzate, ecc.). Negli ultimi anni le problematiche microbiologiche dei sedimenti sabbiosi sono state oggetto di attenzione, sia per quanto riguarda i microrganismi coltivabili, sia per la frazione microbica totale (Gobet *et al.*, 2012). Questi studi hanno mostrato come l'habitat sabbioso, con l'elevata diversità di microniche ecologiche presenti, supporti una ricca comunità batterica costituita essenzialmente da specie "residenti" ben adattate all'adesione sui granelli di sabbia, e da specie più "occasionali", legate alle fluttuazioni stagionali o all'impatto antropico. A fronte tuttavia di un numero consistente di lavori sui sedimenti sabbiosi sommersi, ancora sono scarsi gli studi sulla fascia sopralitorale delle coste sabbiose. Nella strutturazione della comunità batterica della spiaggia giocano potenzialmente infatti anche altri fattori ambientali, oltre a quelli sopramenzionati per i sedimenti sommersi. Uno dei più rilevanti è la distanza dalla linea di battigia, che determina un gradiente nel contenuto di acqua e salinità, soprattutto nella stagione estiva. Per cominciare a indagare la composizione delle comunità batteriche delle spiagge e la loro relazione con la pressione antropica e con il gradiente rispetto alla linea di battigia, sono stati effettuati dei campionamenti su tre spiagge dell'isola di Favignana, nell'Area Marina Protetta delle Isole Egadi (TP), caratterizzate da situazioni diverse di pressione antropica e fattori abiotici.

**Materiali e metodi** - Campioni di sabbia (0-10 cm di profondità) sono stati prelevati in settembre e dicembre 2011, nelle spiagge di Favignana Paese (porto turistico), Lido Burrone (uso turistico) e Faraglioni (scarsamente frequentata dal turismo). Per ogni spiaggia sono stati campionati tre punti lungo un transetto mare-terra (linea di battigia, metà spiaggia, fine spiaggia) e per ogni punto sono stati prelevati 3 campioni. I campioni sono stati mantenuti a temperatura ambiente per tre giorni e poi congelati a -80 °C prima dell'estrazione del DNA. Sui campioni è stata determinata l'umidità, la granulometria, il contenuto di carbonio organico e la presenza di metalli pesanti. Il DNA totale è stato estratto con il FastDNA Kit for

Soil (QBiogene) per un totale di 27 campioni. Da ciascun campione di DNA è stato amplificato il gene codificante il 16S rRNA ed analizzato mediante la tecnica del Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) usando gli enzimi di restrizione *AluI* e *TaqI* (Mengoni *et al.*, 2007). I frammenti ottenuti (TRFs) sono stati analizzati mediante elettroforesi capillare su sequenziatore automatico ABI310. Su tre pool di campioni rappresentativi del transetto mare-terra è stata infine effettuata un'analisi metagenetica sulla regione variabile V3 del gene 16S rRNA mediante sequenziamento massivo con tecnica Illumina.

**Risultati** - La diversità tassonomica della comunità batterica (misurata come richness mediante il numero di TRFs) risulta essere influenzata sia dalla distanza dalla linea di battigia, sia, in misura minore, dalla pressione antropica. In particolare le maggiori differenze si sono osservate lungo il transetto mare-terra, tra i campioni della linea di battigia (diversità maggiore, richness=20±4 TRFs) e quelli del fine spiaggia (diversità minore, richness=13±2 TRFs). Riguardo alle differenze nella struttura della comunità batterica, la spiaggia meno impattata dal turismo (Faraglioni) risulta essere quella con le maggiori eterogeneità lungo il transetto. Riguardo all'analisi metagenetica, le classi batteriche più rappresentate in termini di diversità tassonomica sono risultate essere quelle degli Alphaproteobacteria e dei Firmicutes, suggerendo, soprattutto per la prima classe, una stretta relazione con i batteri pelagici.

**Conclusioni** - I risultati fin qui ottenuti indicano che il sistema spiaggia costituisce un serbatoio di biodiversità batterica, anche in presenza di scarsità di nutrienti e acqua e alta salinità, come nei campioni di fine spiaggia. Restano da chiarire gli aspetti funzionali delle comunità batteriche identificate nei riguardi dei cicli dei nutrienti. Questi risultati possono avere implicazioni per chiarire gli aspetti di transizione tra spiaggia e suolo (es. colonizzazione vegetale della duna) e per modellizzare la desertificazione e salinizzazione dei suoli.

**Ringraziamenti:** Si ringrazia la direzione dell'Area Marina Protetta delle Isole Egadi (TP) per l'autorizzazione ai campionamenti ed il supporto logistico in loco.

#### Bibliografia

- GOBET A., BOER S.I., HUSE S.M., VAN BEUSEKOM J.E.E., QUINCE C., SOGIN M.L., BOETIUS A., RAMETTE A. (2012) - Diversity and dynamics of rare and of resident bacterial populations in coastal sands. *ISME J.*, **6**: 542-553.
- MENGONI A., GIUNTINI E., BAZZICALUPO M. (2007) - Application of Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) for Molecular Analysis of Soil Bacterial Communities. In: Varma A. (ed), *Advanced Techniques in Soil Microbiology*. Springer, New-York: 295-305.

P. MICARELLI, L. DE LUCIA

Centro Studi Squali – Aquarium Mondo Marino, Loc. Valpiana, 58024 - Massa Marittima (GR), Italia.  
primo.micarelli@gmail.com

**ANALISI PRELIMINARI DELLA RISPOSTA ALLO STRESS,  
INDOTTO DA VARIAZIONI DI SALINITÀ,  
VERIFICATO TRAMITE IL CONSUMO DI OSSIGENO  
DA PARTE DI *SCYLIORHINUS CANICULA***

***PRELIMINARY ANALYSIS OF STRESS RESPONSE,  
INDUCED BY SALINITY CHANGES, MEASURED  
BY THE OXYGEN CONSUMPTION IN THE SMALL  
SPOTTED SHARKS (*SCYLIORHINUS CANICULA*)***

**Abstract** - Small spotted sharks *Scyliorhinus canicula* is frequently hosted in public aquaria and their husbandry is improving, however little is known about their biology. The reproduction of this species in captive conditions is not difficult and juveniles are easily maintained in laboratory or in thematic tanks showed to the public. Observations on juveniles can be easily developed in order to understand different aspects of their natural life and physiology. During autumn 2010, 4 juveniles were tested at different salinity levels under controlled conditions in order to check their response in terms of respiration rate to this kind of stress. In fact this is a benthonic species living at constant water quality parameters at about 70-100 meters deep.

**Key-words:** physiology, elasmobranch, benthonic *Scyliorhinus canicula*, Ligurian Sea.

**Introduzione** - Scopo del presente lavoro è stato quello di misurare la variazione nel consumo in ossigeno di quattro esemplari di gattucci *Scyliorhinus canicula* (Linneo, 1758) stabulati in presenza di diversi valori di salinità, in modo da ottenere preliminari informazioni sull'eventuale stress osmotico e se questo potesse influenzare i processi respiratori. Precedenti studi effettuati in cattività indicano che in condizioni sperimentali lo *Scyliorhinus canicula* consuma 20-25 c.c./kg/hr di ossigeno ad una temperatura di 12 °C. Tali misurazioni sono state realizzate dopo avere stabulato gli esemplari in cilindri, dove veniva regolato il flusso d'acqua diretto alle branchie. Il consumo di ossigeno veniva calcolato nelle diverse condizioni di gradienti di pressione idrostatica ( $\Delta p$ ) e di pressione ( $PO_2$ ), attraverso le branchie.

**Materiali e metodi** - Durante le nove settimane di sperimentazione, sono stati utilizzati quattro esemplari (3♂, 1♀) di dimensioni variabili tra i 38 ed i 48 cm di lunghezza totale, ovvero animali ancora giovani in fase di maturazione sessuale, stabulati presso l'Aquarium Mondo Marino di Massa Marittima (GR), ospitati in quattro diverse vasche. Tali vasche di un volume totale di 82 litri, non presentavano filtro o schiumatoio. Le vasche venivano riempite con acqua fatta decantare in due grossi cilindri in vetroresina atossica, presenti nel laboratorio, di circa 2000 l ciascuno. L'acqua veniva prelevata, periodicamente, direttamente a mare nel comune di Follonica, in località Pratoranieri. La preparazione consisteva nel riempire le 3 vasche la sera precedente l'esperienza con acqua direttamente prelevata in mare nella località sopra indicata e nel portare la salinità, con l'aggiunta d'acqua d'osmosi, ai valori in precedenza stabiliti. Le vasche venivano collegate a un ossigenatore, con pietra porosa, per una notte intera portando a saturazione la concentrazione in ossigeno. Il mattino seguente gli ossigenatori venivano staccati e si eseguiva la misurazione dell'ossigeno disciolto, della temperatura e del pH (tempo zero,  $t_0$ ). In seguito venivano prelevati gli squalotti e posti ognuno in una vasca con salinità



diversa. Tali valori erano: vasca n°1=38‰, vasca n°2=30‰, vasca n°3=35‰, la vasca n°4 conteneva la stessa acqua di mare sopra indicata che fungeva da bianco. Ogni squalletto restava nella stessa vasca per cinque ore, per essere poi trasferito nella vasca di origine. Tale protocollo veniva ripetuto per quattro giorni alla settimana (dal martedì al venerdì). Ogni esemplare veniva testato per tutte le diverse salinità. Dal tempo zero ( $t_0$ ) venivano eseguite, ogni ora e per cinque volte, le misurazioni di ossigeno disciolto e di temperatura sia nelle vasche che ospitavano gli animali sia in quella di controllo; per ogni esperienza giornaliera venivano effettuate 6 misure con ossimetro per ciascuna vasca ( $t_0$ -  $t_1$ -  $t_2$ -  $t_3$ -  $t_4$ -  $t_5$ ). Il pH veniva misurato solo al  $t_0$  e al  $t_5$ . Le osservazioni sono state effettuate durante nove settimane.

**Risultati** - I dati raccolti in questa prima serie di osservazioni indicano un incremento del consumo di ossigeno nelle prime due ore di sperimentazione per tutti gli esemplari in tutte le condizioni di salinità ed una stabilizzazione del consumo nelle ultime tre ore di sperimentazione. Il consumo medio nelle prime due ore era pari a circa 1 mg/l/h, per poi stabilizzarsi intorno a 0,4 mg/l/h, nelle rimanenti ore. La significatività delle differenze è stata calcolata con il t-test di Student. Vengono considerate significative le differenze con un  $p < 0,05$ . La temperatura non variava in modo significativo durante le 5 ore di sperimentazione mentre si notava una leggera diminuzione del pH indipendentemente dalla salinità e dall'animale presente nella vasca. Ciò è dovuto alla produzione di  $\text{CO}_2$  da parte degli squaletti; tale diminuzione non veniva osservata nella vasca di controllo (n° 4).

**Conclusioni** - Le osservazioni, strettamente preliminari, verranno ulteriormente approfondite, tuttavia complessivamente suggeriscono che gli animali sembrano possedere buone capacità di acclimatazione alle diverse concentrazioni saline testate (30-35-38‰) senza presentare evidenti sintomi di stress nelle condizioni sperimentali e temporali descritte. Le osservazioni effettuate proseguiranno incrementando il numero di esemplari osservati ed allargandole ad animali più giovani ed adulti completandole con la raccolta di campioni di sangue per esaminare le variazioni dei valori di ACTH e di corticosteroidi, che comportano conseguentemente maggiori concentrazioni ematiche di glucosio e della pressione sanguigna, aumenti tipici della Sindrome Generale di Adattamento che si attiva in situazioni di stress.

### Bibliografia

- HANS S. (1956) - *The Stress of life*. McGraw-Hill, New York.
- HUGHES G.M. (1960) - The mechanism of gill ventilation in the dogfish and skate. *J. Exp. Biol.*, **37**: 11-27.
- HUGHES G.M., BALLINTIJN C.M. (1965) - The muscular basis of the respiratory pumps in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*). *J. Exp. Biol.*, **43**: 363-383.
- HUGHES G.M., UMEZAWA S. (1968) - Oxygen consumption and gill water flow in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*). *J. Exp. Biol.*, **49**: 557-564.
- ROBERTS R.J. (1990) - *Fish pathology*. Baillière Tindal Book. Cassell Ltd. Edition: 289 pp.
- SKOMAL G., BERNAL D. (2010) - Physiological responses to stress in sharks. In: Carrier J.C., Musick J.A., Heithaus M.R. (eds), *Sharks and their relatives II*. CRC Press: 457-488.

G. RELINI, A. FRANCO

Centro di Biologia Marina del Mar Ligure (BIOLMAR),  
Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova,  
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.  
biolmar@unige.it

## LA RICCHEZZA IN SPECIE DEI MARI ITALIANI

### *THE SPECIES RICHNESS IN THE ITALIAN SEAS*

**Abstract** - *The distribution of marine species (number) of vertebrates, invertebrates and macrophyta in nine biogeographical zones is described on the basis of data of the checklist of flora and fauna in Italian seas, in which 1116 protozoans, 9655 animals, 949 macrophyta, 1781 microphyta and 42 fungi are listed. Some taxa present in Italy are compared with Mediterranean ones in term of number of species and endemism.*

**Key-words:** *biodiversity, animal species, macrophyta, Mediterranean Sea.*

**Introduzione** - La checklist della flora e della fauna dei mari italiani è stata pubblicata in due volumi (Relini, 2008, 2010) nei quali sono elencate 13.543 specie di cui 1116 protozoi, 9655 animali, 949 macrofite, 1781 microfite e 42 funghi. Scopo della presente nota è di presentare alcune considerazioni sulla ricchezza specifica e l'endemismo nei mari italiani e di richiamare l'attenzione dei biologi marini sulla necessità di un costante aggiornamento della checklist, indispensabile strumento di riferimento per qualsiasi studio sulla biodiversità marina.

**Materiali e metodi** - Le informazioni di base derivano dai due volumi sopra ricordati (Relini, 2008, 2010) nei quali è spiegata anche la suddivisione dei mari italiani in nove zone biogeografiche e dal lavoro di Coll *et al.* (2010) per i dati riguardanti il Mediterraneo.

**Risultati** - Il numero totale di specie di macrofite, vertebrati ed invertebrati in ogni zona biogeografica è riportato nella Fig. 1. Il più alto numero per tutte e tre le categorie è nella zona 3, pari al 86% delle specie di vertebrati, 66,5% degli invertebrati e l'86,7% delle macrofite. Il più basso valore per i vertebrati è risultato nella zona 9 (54,5%), per gli invertebrati e le macrofite nella zona 4 (rispettivamente 20%, 47,3%). Ovviamente questi dati sono del tutto indicativi perché le zone non sono omogenee per superficie marina, linea di costa, batimetria, stato delle conoscenze etc. Per quanto riguarda gli Osteitti (vedi anche Relini *et al.*, 2011), le specie presenti nelle acque italiane (441, specie aliene escluse) sono il 76,6 % di quelle mediterranee (575, secondo Quignard e Tomasini, 2000). Più difficile risulta il confronto con i dati di Coll *et al.*, (2010). In tabella 4 di quest'ultimo lavoro i pesci sono 650, ma non sono solo pesci ossei e soprattutto non sono separate le numerose specie aliene. Delle 53 specie (tolti i sinonimi) di Osteitti considerate strettamente endemiche del Mediterraneo (Quignard e Tomasini, 2000), 46 cioè l'87% sono presenti nelle acque italiane. Delle 11 specie endemiche del Mediterraneo e Mar Nero, 10 sono presenti nelle nostre acque. Con i dati riportati in Tab. 1 è possibile un confronto per alcuni taxa di metazoi tra il numero di specie presenti in Mediterraneo e nei nostri mari. Nella Tab. 2 il confronto viene fatto per le Macrophyta.

**Conclusioni** - In base alle informazioni fornite, pur limitate per motivi di spazio, si evidenzia la grande ricchezza in specie dei mari italiani in ambito Mediterraneo (80%) ed emerge la necessità di un continuo aggiornamento della checklist a causa dei cambiamenti tassonomici e/o per l'arrivo di nuove specie.

Tab. 1 - Numero di specie in Mediterraneo e nei mari italiani.

Number of species in the Mediterranean and in the Italian seas.

Taxa	Mediterraneo	Mari italiani
Porifera	681	509
Cnidaria	757	491
Platyhelminthes	1000	333
Mollusca	2113	1619
Annelida	1172	920
Crustacea	2239	2432
Bryozoa	388	341
Echinodermata	154	120
Asciadiacea	229	130
Altri invertebrati	2168	1791
Vertebrata (Pesci)	650	514
Altri Vertebrata	43	22*
Totale	11594	9222

\* = uccelli esclusi (birds excluded)

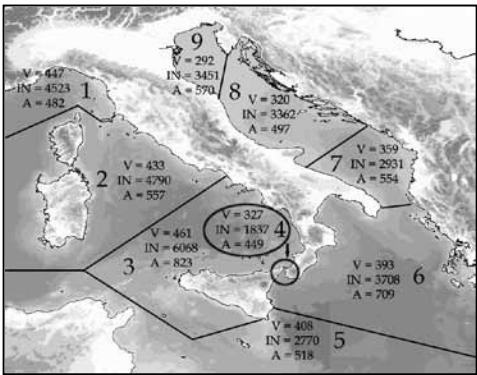


Fig. 1 - Numero di specie di vertebrati (V), invertebrati (IN) e macrofita (A) nei mari italiani.

Species number of vertebrates (V), invertebrates (IN) and macrophyta (A) in the Italian seas.

Tab. 2 - Numero di specie di macrofita in Mediterraneo e in Italia e presenza di endemismi in Italia.

Number of species of macrophyta in the Mediterranean and Italian Seas and occurrence of endemisms in Italy.

Taxa	Italia			Mediterraneo
	Specie	Endemismo italiano	Endemismo mediterraneo	Specie
Cyanophyta	46	1	1	-
Rhodophyta	534	13	139	657
Ochrophyta	214	6	75	277
Chlorophyta	150	3	24	190
Spermatophyta	5	1	1	7
Totale	949	24	240	1131

Bibliografia

COLL M., PIRODDI C., STEENBEEK J., KASCHNER K., BEN RAIS LASRAM F., AGUZZI J., BALLESTEROS E., BIANCHI C.N., CORBERA J., DAILIANIS T., DANOVARO R., ESTRADA M., FROGLIA C., GALIL B.S., GASOL J.M., GERTWAGEN R., GIL J., GUILHAUMON F., KESNER-REYES K., KITSOS M.-S., KOUKOURAS A., LAMPADARIOU N., LAXAMANA E., LÓPEZ-FÉ DE LA CUADRA C.M., LOTZE H.K., MARTIN D., MOUILLOT D., ORO D., RAICEVICH S., RIUS-BARILE J., SAIZ-SALINAS J.I., SAN VICENTE C., SOMOT S., TEMPLADO J., TURON X., VAFIDIS D., VILLANUEVA R., VOULTSIADOU E. (2010) - The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns and Threats. *PLoS ONE*, **5** (8): e1184.

FURNARI G., GIACCONE G., CORMACI M., ALONGI G., CATRA M., NISI A., SERIO D. (2010) - Macrophytobenthos. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (Suppl. 1): 801-828.

QUIGNARD J.P., TOMASINI J.A. (2000) - Mediterranean fish biodiversity. *Biol. Mar. Mediterr.*, **7** (3): 1-66.

RELINI G. (ed) (2008) - Checklist della Flora e della Fauna dei Mari Italiani. Prima Parte. *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (Suppl. 1): 1-385 + 49.

RELINI G. (ed) (2010) - Checklist della Flora e della Fauna dei Mari Italiani. Seconda Parte. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (Suppl. 1): 387-828 + 68.

RELINI G., LANTERI L., FRANCO A. (2011) - Gli Osteitti dei Mari Italiani: biodiversità, protezione e sfruttamento. *Biol. Mar. Mediterr.*, **18** (1): 44-47.

F. RINNA<sup>1</sup>, R. SESSA<sup>2</sup>, G. VILLANI<sup>2</sup>, F. DEL PRETE<sup>1,2</sup>,  
A.L. LANGELOTTI<sup>1</sup>, V. VITIELLO<sup>2</sup>, G. SANSONE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CRIAcq (Centro interdip. di ricerche per la gestione delle risorse idrobiologiche e per l'acquacoltura),  
Via Università, 100 - 80055 Portici (NA), Italia.

<sup>2</sup>Dip. delle Scienze Biologiche, Sez. di Fisiologia ed Igiene,  
Università degli Studi di Napoli "Federico II", Italia.  
giovanni.sansone@unina.it

## EFFETTI DEL FREDDO SULLA SENSIBILITÀ AL CADMIO DI NAUPLII DI *AMPHIBALANUS AMPHITRITE* (CRUSTACEA, CIRRIPIEDIA)

### *EFFECTS OF COLD ON SENSITIVITY TO CADMIUM OF AMPHIBALANUS AMPHITRITE (CRUSTACEA, CIRRIPIEDIA) NAUPLII*

**Abstract** - The aim of this work was the evaluation of short-term cold storage ( $6\pm 1$  °C) effects on sensibility of *Amphibalanus amphitrite* nauplii exposed to different cadmium concentrations. The effect was evaluated by the comparison of EC50 values after exposure to the toxic for 24 and 48 h. The results show no significant difference on the physiological sensitivity to the toxic substance of nauplii exposed to the cold storage until 96 h.

**Key-words:** *Amphibalanus amphitrite*, Cadmium, cold storage, ecotoxicology.

**Introduzione** - I nauplii di *Amphibalanus amphitrite* rappresentano uno dei sistemi biologici più utilizzati quale modello per la ricerca (Faimali *et al.*, 2006) e come organismi test in saggi ecotossicologici per valutazioni di qualità dell'ambiente marino (Lam *et al.*, 2000; Magillo *et al.*, 2003; Qui *et al.*, 2005). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare gli effetti derivanti dall'esposizione a differenti concentrazioni di cadmio su nauplii di *A. amphitrite* sottoposti a condizioni di conservazione refrigerata a breve termine.

**Materiali e metodi** - Gli organismi adulti provenienti dall'area portuale di Genova, sono stati stabulati in laboratorio secondo le condizioni riportate in Faimali *et al.*, 2007 ed ogni 15 giorni è stata stimolata l'emissione naupliare attraverso shock termico. I nauplii raccolti sono stati portati alla densità di 10 nauplii/ml e divisi in differenti gruppi sperimentali e tenuti alla temperatura di  $6\pm 1$  °C per 24 (TF<sub>24</sub>), 48 (TF<sub>48</sub>), 72 (TF<sub>72</sub>), 96 (TF<sub>96</sub>) e 120 (TF<sub>120</sub>) ore. I nauplii appena emessi sono stati sottoposti al test ecotossicologico utilizzando come sostanza di riferimento il cadmio nella forma Cd(HNO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> alle seguenti concentrazioni: 0,2-0,4-0,8-1,6-3,2 ppm. Dopo 24 e 48 ore di esposizione al tossico alla temperatura di 20 °C è stata effettuata la valutazione dell'immobilità calcolando l'EC50 (TC<sub>0</sub>). Sui gruppi di nauplii conservati a freddo il test di tossicità è stato eseguito nelle stesse condizioni del gruppo TC<sub>0</sub>. Tutte le prove sperimentali sono state effettuate in triplicato e ripetute per tre volte (n=9). I valori di EC50 e i relativi intervalli di confidenza al 95% sono stati calcolati utilizzando Probit (Finney, 1971).

**Risultati** - La Tab. 1 mostra i valori di EC50 dell'end point immobilità e i relativi intervalli di confidenza dopo 24 e 48 ore di esposizione al cadmio dei differenti gruppi sperimentali. Si osserva che fino a 96h non vi è nessuna differenza significativa rispetto al test effettuato sui nauplii appena emessi (TC<sub>0</sub>). La conservazione dei nauplii a freddo per 120h ha causato un aumento di sensibilità dei nauplii al tossico oltre che una prima differenza significativa sulla sopravvivenza dei controlli dopo 24 e 48 ore (dati non riportati).

Tab. 1 -  $EC_{50}$  e intervalli di confidenza al 95% a 24 e 48 ore per l'end point immobilità di nauplii di *A. amphitrite* esposti al cadmio.

*EC<sub>50</sub> values and 95% confidence limits at 24 and 48h for the end point immobility of A. amphitrite nauplii exposed to Cadmium.*

GRUPPI	Valori $EC_{50}$ (intervalli di confidenza al 95%)	
	24h	48h
$TC_0$	0,79 ppm (0,45 – 1,13)	0,26 ppm (0,16 - 0,36)
$TF_{24}$	0,71 ppm (0,62 - 0,81)	0,23 ppm (0,16 - 0,31)
$TF_{48}$	0,63 ppm (0,44 - 0,82)	0,16 ppm (0,08 - 0,24)
$TF_{72}$	0,53 ppm (0,41 - 0,65)	0,13 ppm (0,09 - 0,18)
$TF_{96}$	0,60 ppm (0,45 - 0,75)	0,15 ppm (0,10 - 0,21)
$TF_{120}$	0,30 ppm (0,22 - 0,39)	0,05 ppm (0,02 – 0,09)

**Conclusioni** - La possibilità di effettuare una conservazione a breve termine a  $6 \pm 1$  °C fino a 96 h dei nauplii di balano rappresenta una strategia di esecuzione del test ecotossicologico che semplifica da un lato le procedure di gestione degli stock di riproduttori e dall'altro la possibilità di effettuare ring test tra diversi laboratori utilizzando lo stesso stock di nauplii.

#### Bibliografia

- FAIMALI M., GARAVENTA F., PIAZZA V., GRECO G., CORRÁ C., D'AMICO G. (2007) - Mortality, metamorphosis inhibition and swimming speed alteration of larvae of *Balanus amphitrite* as acute, chronic and behavioural end-points for laboratory toxicological bioassays. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (1): 114-116.
- FAIMALI M., GARAVENTA F., PIAZZA V., GRECO G., CORRÁ C., MAGILLO F., PITTORE M., GIACCO E., GALLUS L., FALUGI C., TAGLIAFIERRO G. (2006) - Swimming speed alteration of larvae of *Balanus amphitrite* as a behavioural end-point for laboratory toxicological bioassays. *Mar. Biol.*, **149**: 87-96.
- FINNEY D.J. (1971) - *Probit analysis*. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press, Cambridge: 333 pp.
- LAM P.K.S., WO K.T., WU R.S.S. (2000) - Effects of cadmium on the development and swimming behavior of barnacle larvae *Balanus amphitrite*, Darwin. *Environ. Toxicol.*, **15**: 8-13.
- MAGILLO F., FAIMALI M., GERACI S. (2003) - Effect of cadmium chloride on the swimming behaviour of *Balanus amphitrite* (Crustacea: Cirripedia) larvae. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (2): 1014-1017.
- QIU J.-W., VENGATESEN T., SAM C., QIAN P.-Y. (2005) - Toxic effects of copper on larval development of the barnacle *Balanus amphitrite*. *Mar. Pollut. Bull.*, **51**: 688-693.

B. RUMI<sup>1</sup>, S. CARONNI, P. PANZALIS<sup>2</sup>, A. NAVONE<sup>2</sup>, A. GHIANI, S. CITTERIO

Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Pavia, Italia.  
sarah.caronni@unipv.it

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università di Milano-Bicocca,  
P.zza della Scienza, 1 - 20126 Milano, Italia.

<sup>2</sup>Area Marina Protetta di Tavolara Punta Coda Cavallo, Olbia, Italia.

## SAGGI FINALIZZATI ALLA COLTIVAZIONE IN LABORATORIO DELLA MICROALGA BENTONICA *CHRYSOPHAEUM TAYLORII* LEWIS & BRYAN

### *CULTIVATION ASSAYS OF THE BENTHIC MICROALGA CHRYSOPHAEUM TAYLORII LEWIS & BRYAN IN LABORATORY*

**Abstract** - Since September 2011 some cultivation assays of the benthic marine microalga *Chrysothrix taylorii* Lewis & Bryan (*Pelagophyceae*) have been conducted in vitro in order to detect the best medium for successful cultivation and culture maintenance. To the purpose, both solid and liquid media were obtained using different recipes and tested under laboratory conditions.

**Key-words:** laboratory culture, algae, culture media, nutrients, substrata.

**Introduzione** - Le conoscenze su molti aspetti dell'ecologia e della biologia della microalga bentonica alloctona *Chrysothrix taylorii* Lewis & Bryan, recentemente insediata in diverse zone del Mediterraneo (Aktan e Topaloğlu, 2011), sono assai carenti e frammentarie (Caronni *et al.*, 2009) e non sono disponibili in letteratura informazioni sul suo ciclo vitale. L'allevamento in laboratorio di culture pure della microalga consentirebbe di approfondire tali conoscenze e comprendere i meccanismi alla base delle sue fioriture e della produzione della mucillagine secreta dalle sue cellule. Al fine di individuare il mezzo di coltura più idoneo alla crescita di *C. taylorii* in vitro e al mantenimento della coltura, sono stati condotti in laboratorio alcuni saggi utilizzando differenti terreni solidi e liquidi.

**Materiali e metodi** - Le cellule di *C. taylorii* utilizzate per l'allevamento delle colture sono state isolate da campioni raccolti nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo nel settembre del 2011. I terreni di coltura testati sono stati: acqua di mare naturale filtrata, Gamborg B5 (Gamborg *et al.*, 1968), f/2 (Guillard, 1975) (in tre varianti arricchite con fosforo, potassio e vitamine rispettivamente) e MNK (Noël *et al.*, 2004). Sono stati preparati terreni solidi con l'agente gelificante AGAR e terreni liquidi con o senza aggiunta di ciottoli. Dopo l'inoculo delle cellule in condizioni di sterilità, i terreni sono stati trasferiti in una camera di crescita con illuminazione continua e temperatura controllata (22 °C), come suggerito per specie planctoniche da Pistocchi *et al.* (2010). Lo sviluppo di *C. taylorii* è stato monitorato settimanalmente.

**Risultati** - I primi risultati sono stati ottenuti dopo circa un mese dall'inoculo, quando nelle colture allestite con acqua di mare filtrata e con i terreni f/2 (indipendentemente dai composti aggiunti) e MNK sono state individuate le prime cellule di *C. taylorii*. In f/2 la coltura è risultata contaminata da *Bacillariophyceae*, chiaramente distinguibili già a due settimane dall'inoculo e abbondanti soprattutto nei mezzi liquidi. Negli altri due terreni la coltura è risultata composta per lo più da *C. taylorii*. Non sono state, invece, individuate cellule della microalga in Gamborg B5, nel quale si sono sviluppate solo *Bacillariophyceae*. Relativamente ai terreni preparati con acqua di mare, *C. taylorii* è apparsa più abbondante



nei terreni liquidi, indipendentemente dalla presenza di ciottoli, sia ad un mese dall'inoculo sia durante le successive osservazioni. In MNK, invece, la densità di *C. taylorii* è risultata molto simile su tutte e tre le tipologie di terreno considerate. La dimensione media delle singole cellule è apparsa omogenea in tutte le colture (~17 µm di lunghezza e 9 µm di larghezza) e, nonostante sia andata lievemente aumentando nel periodo di monitoraggio, si è mantenuta decisamente inferiore rispetto a quella osservata in ambiente naturale nella zona di prelievo (25-30 µm di lunghezza e 14-17 µm). Sia in acqua di mare naturale filtrata sia in MNK sono state riconosciute cellule di *C. taylorii* morfologicamente differenziate; oltre a cellule con la caratteristica forma ovale leggermente allungata – che ricorda quella del frutto del fico – sono state osservate anche cellule di forma tondeggiante, comunque attribuibili alla specie. Le colture in acqua di mare naturale filtrata e MNK si sono mantenute fino a due mesi dopo l'inoculo, quando il numero di cellule ha iniziato a ridursi notevolmente; quelle in f/2, invece, sono apparse dominate da Bacillariophyceae già a un mese e mezzo circa dall'inoculo.

**Conclusioni** - I risultati ottenuti suggeriscono che per l'allestimento di colture in vitro di *C. taylorii* siano adatti sia il terreno MNK, specifico per il fitoplancton oceanico (Harrison e Berges, 2005) sia l'acqua di mare naturale filtrata, fino ad ora raramente utilizzata per colture simili (Harrison e Berges, 2005). Particolarmente interessanti appaiono le differenti caratteristiche morfologiche osservate tra cellule in coltura (piccole e di forma varia) e in ambiente naturale (più grandi ed esclusivamente a forma a fico). Sono tuttavia necessarie indagini più approfondite per appurare se tali differenze siano il risultato dei cambiamenti che spesso interessano le cellule in coltura (Pistocchi *et al.*, 2010) o se invece rappresentino fasi diverse del ciclo vitale, come osservato per altre microalghe (Hillebrand *et al.*, 1999).

### Bibliografia

- AKTAN Y., TOPALOĞLU B. (2011) - First record of *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan and their benthic mucilaginous aggregates in the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *J. Black Sea/Medit. Environ.*, **17** (2): 159-170.
- CARONNI S., CASU D., CECCHERELLI G., LUGLIÈ A., NAVONE A., OCCHIPINTI AMBROGI A., PANZALIS P., PINNA S., SATTA C., SECHI N. (2009) - Distribuzione e densità della microalga bentonica *Chrysophaeum taylorii* Lewis & Bryan nell'Area Marina Protetta di Tavolara Punta Coda Cavallo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **16** (1): 250-251.
- GAMBORG O., MILLER R., OJIMA K. (1968) - Nutrient requirement suspensions cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.*, **50** (1): 151-158.
- GUILLARD R.R.L. (1975) - Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L., Chanley M.H. (eds), *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York: 26-60.
- HARRISON P.J., BERGES J.A. (2005) - Marine culture media. In: Andersen R.A. (ed), *Algal Culturing Techniques*. Elsevier: 21-33.
- HILLEBRAND H., DÜRSELEN C.D., KIRSCHTEL D., POLLINGHER U., ZOHARY T. (1999) - Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.*, **35**: 403-424.
- NOËL M.H., KAWACHI M., INOUE I. (2004) - Induced dimorphic life cycle of a coccolithophorid, *Calyptrosphaera sphaeroidea* (Prymnesiophyceae, Haptophyta). *J. Phycol.*, **40**: 112-129.
- PISTOCCHI R., GUERRINI F., BERAN A., CAROPPO C., PENNA A., SAINO R. (2010) - Isolamento e metodi di coltura di microalghe e cianobatteri. In: Socal G., Buttino I., Cabrini M., Mangoni O., Penna A., Totti C. (eds), *Metodologie di studio del plancton marino*. ISPRA, Roma: 253-265.

D. SARTORI, I. BUTTINO<sup>1,2</sup>, J.-S. HWANG<sup>3</sup>, A. GAION<sup>1</sup>, A. SCUDERI<sup>1</sup>,  
L. MORRONI<sup>1</sup>, D. PELLEGRINI<sup>1</sup>, G. SANSONE

Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via Università, 100 - 80055 Portici (NA), Italia.  
s.davide78@alice.it

<sup>1</sup>ISPRA Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale,  
Viale Nazario Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.

<sup>2</sup>Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale - 80121 Napoli, Italia.

<sup>3</sup>Institute of Marine Biology, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan.

## VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DEL CLORURO DI MERCURIO SULLO SVILUPPO DI *PARACENTROTUS LIVIDUS* ED *ECHINOMETRA MATHAEI* MEDIANTE LA MICROSCOPIA NON LINEARE

### *THE EFFECT OF MERCURIC CHLORIDE ON THE DEVELOPMENT OF PARACENTROTUS LIVIDUS AND ECHINOMETRA MATHAEI: APPLICATION OF HARMONIC GENERATION MICROSCOPY TECHNIQUE TO OBSERVATION OF SEA URCHIN EMBRYO*

**Abstract** - The effect of Mercuric Chloride ( $HgCl_2$ ) dissolved in sea water was assessed on two sea urchin larvae species: the regular echinoid *Paracentrotus lividus* and the subtropical sea urchin *Echinometra mathaei*. Sea urchin larvae were exposed for 48 h to different concentration of  $HgCl_2$  and larvae abnormalities and their frequencies were evaluated in both species in order to calculate the EC50 and compare their sensitivity towards chemicals. Moreover, Harmonic Generation Microscopy was employed to assess f signals possibly related to apoptotic tissue.

**Key-words:** mercuric chloride, *Paracentrotus lividus*, *Echinometra mathaei*, Harmonic Generation Microscopy.

**Introduzione** - Il Mercurio (Hg) è uno dei metalli più tossici presenti in natura e può essere rilasciato nell'ambiente sia attraverso processi naturali (disgregazione minerale) sia attività antropiche (McCartor e Becker, 2010). Gli effetti tossici del mercurio in forma di composti inorganici su vertebrati e invertebrati acquatici sono ben documentati e consistono in aberrazioni in larve di pesci (Weis e Khan, 1990) e in plutei di riccio di mare (Fernandez e Beiras, 2001). In questo studio gli effetti dell'esposizione a basse concentrazioni di  $HgCl_2$  sono stati analizzati su due specie di riccio di mare; *Echinometra mathaei* e *Paracentrotus lividus* mediante l'utilizzo delle tradizionali tecniche dell'ecotossicologia e quelle della microscopia ottica non lineare (Harmonic Generation Microscopy, HGM).

**Materiali e metodi** - Individui adulti di *Paracentrotus lividus* ed *Echinometra mathaei* sono stati raccolti lungo la costa di Livorno (Italia) e Keelung (Taiwan) e immediatamente stimolati al rilascio di gameti mediante la somministrazione di 1 ml di soluzione 0,5 M KCl nella cavità celomatica. Dopo la fecondazione, gli zigoti sono stati incubati con differenti concentrazioni di cloruro di mercurio ( $HgCl_2$ ) in acqua di mare. Le concentrazioni di  $HgCl_2$  valutate sono state rispettivamente: 5, 10, 15, 20,  $\mu g\ l^{-1}$  per *P. lividus* e 1, 2, 3, 4,  $\mu g\ l^{-1}$  per *E. mathaei*. Il test è stato bloccato mediante l'aggiunta di 1 ml di formaldeide al 40% (Carlo Erba Reagents, Milano); i campioni fissati sono stati lavati con tampone PBS; successivamente sono state determinate le curve dose risposta mediante la procedura best-fit (Scholze *et al.*, 2001), è stata stimata la percentuale di plutei normali e determinati i valori di EC50. I campioni inoltre, sono stati osservati mediante un'analisi di microscopia di seconda (SHG) e terza (THG) generazione d'armonica presso il Molecular Imaging Center della National Taiwan University di Taiwan. Il sistema SHG è in grado di rivelare la

distribuzione e l'orientamento di proteine strutturate come collagene o microtubuli, mentre il sistema THG è stato impiegato con successo per l'individuazione di corpi apoptotici nell'encefalo dei "pesci Zebra". Presuntivi corpi apoptotici sono stati positivamente colorati mediante acridine orange e osservati mediante tecniche di microscopia a fluorescenza (Chen *et al.*, 2006; Hsieh *et al.*, 2008).

**Risultati e conclusioni** - Per quanto riguarda *P. lividus*, effetti significativi sullo sviluppo dei plutei sono stati registrati già a partire dalla concentrazione di  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ) con un  $\text{EC}_{50}$  di  $16,72 \mu\text{g l}^{-1} \pm 1,50$ , in accordo con quanto riportato in letteratura (Arizzi Novelli *et al.*, 2003). In *E. mathaei* una correlazione significativa tra la concentrazione di  $\text{HgCl}_2$  e la frequenza di aberrazioni nello sviluppo dei plutei è stata osservata già a concentrazioni inferiori a  $2 \mu\text{g l}^{-1}$  ( $P < 0,001$ ). Il valore di  $\text{EC}_{50}$  per questa specie è risultato pari a  $2,407 \pm 1,72$ . Le scansioni effettuate su embrioni di ambedue le specie mediante tecniche di HGM rivelano un segnale di fluorescenza che cresce con l'aumentare delle concentrazioni di  $\text{HgCl}_2$ . Pochi studi riportano gli effetti di sostanze tossiche su *E. mathaei*, tuttavia, sulla base dei risultati ottenuti in questo lavoro, la specie subtropicale sembrerebbe essere più sensibile rispetto a *P. lividus*, proveniente da una zona climatica temperata. Sulla base dei risultati ottenuti con microscopia HGM, l'esposizione a concentrazioni crescenti di  $\text{HgCl}_2$  induce un aumento del segnale di fluorescenza, una risposta che sembrerebbe legata alla presenza di corpi apoptotici (Hsieh *et al.*, 2008).

#### Bibliografia

- ARIZZI NOVELLI A., LOSSO C., GHETTI P.F., VOLPI GHIRARDINI A. (2003) - Toxicity of heavy metal using sperm cell and embryo toxicity with *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea): comparison with exposure concentration in the lagoon of Venice, Italy. *Environ. Toxicol. Chem.*, **22** (6): 1295-1301.
- CHEN S.-Y., HSIEH C.-S., CHU S.-W., LIN C.-Y., KO C.-Y., CHEN Y.-C., TSAI H.-J., HU C.-H., SUN C.-K. (2006) - Non invasive harmonics optical microscopy for long-term observation of embryonic nervous system development in vivo. *J. Biomed. Opt.*, **11**: 054022.
- FERNANDEZ N., BEIRAS R. (2001) - Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin. *Ecotoxicology*, **10**: 263-271.
- HSIEH C.-S., KO C.-Y., CHEN S.-Y., LIU T.M., WU J.-S., HU C.-H., SUN C.K. (2008) - In vivo Long term continuous observation of gene expression in zebrafish embryo nerve systems by using harmonic generation microscopy and morphant technology. *J. Biomed. Opt.*, **13** (6): 064041.
- MCCARTOR A., BECKER D. (2010) - *World's Worst Pollution Problems Report 2010*. Blacksmith Institute, New York. Available at <http://www.worstpolluted.org/files/FileUpload/files/2010/WWPP-2010-Report-Web.pdf>.
- SCHOLZE M., BOEDEKER W., FAUST M., BACKHAUS T., ALTENBURGER R., GRIMME H. (2001) - A general best fit method for concentration response curves and the estimation of low effect concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**: 448-457.
- WEIS J.S., KHAN A.A (1990) - Effects of mercury on the feeding behavior of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*, from a polluted habitat. *Mar. Environ. Res.*, **30**: 243-249.

A. SFRISO, C. FACCA, D. BON\*, A. BUOSI

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica (DAIS), Università di Venezia,  
Calle Larga, 2137 - 30123 Venezia, Italia.  
alessandro.buosi@unive.it

\*Area Tecnico Scientifica, Settore Acque, Osservatorio Alto Adriatico - ARPAV,  
Piazzale Stazione, 1 - 35131 Padova, Italia.

## FLORA E VEGETAZIONE DEI SISTEMI DI TRANSIZIONE DEL PO, PARAMETRI AMBIENTALI E STATO ECOLOGICO

### *FLORA AND VEGETATION OF PO DELTA TRANSITIONAL SYSTEMS, ENVIRONMENTAL PARAMETERS AND ECOLOGICAL ASSESSMENT*

**Abstract** - *Macrophytes and some environmental parameters from 17 stations within the Po Delta transitional system were sampled in May and October 2008 in order to obtain the first macrophyte checklist and to assess the Ecological Status according to the European WFD (2000/60/EC). The environment assessment was obtained by the application of the Macrophyte Quality Index (MaQI).*

**Key-words:** *phytobenthos, environmental factors, lagoons, Po Delta.*

**Introduzione** - Il sistema Lagunare del Delta del Po, posizionato a sud ovest del Veneto, presenta una copertura totale di 400 km<sup>2</sup> e si estende per 25 km lungo la costa del Mar Adriatico. Le acque di transizione del Delta del Po, anche se presentano un rilevante valore ecologico ed economico, sono state scarsamente studiate e in particolare non vi è nessun lavoro sulla vegetazione. Nel 2008, in ottemperanza alle richieste della Direttiva 2000/60/EC, è stato eseguito in collaborazione con ARPAV, il primo monitoraggio programmato per la classificazione dello stato ecologico delle acque, attraverso l'applicazione dell'EQB (Elementi di Qualità Biologica) macrofite supportato dalla determinazione di alcuni parametri fisico-chimico rilevati nella colonna d'acqua e nei sedimenti superficiali.

**Materiali e metodi** - Sono state effettuate due campagne di monitoraggio (13-15 maggio ed 13-15 ottobre) in 17 siti delle lagune del Po: Caleri, Marinetta, Vallona, Barbamarco, Canarin e Scardovari. Per ogni stazione sono stati raccolti campioni di macrofite in immersione, considerando sia i substrati duri che quelli incoerenti e valutando inoltre copertura e biomassa delle specie presenti. Temperatura, ossigeno disciolto, pH ed Eh sono stati ottenuti con strumentazioni portatili. Campioni di acqua, filtrata *in situ* e di sedimento superficiale sono stati raccolti per l'analisi dei nutrienti secondo le procedure riportate in Strickland e Parsons (1972). Alle liste tassonomiche ottenute e ai dati di copertura totale e specifica raccolti direttamente in campo è stato applicato l'indice MaQI (*Macrophyte Quality Index*) messo a punto e validato da Sfriso *et al.* (2009) ed accettato dal MATTM come indice nazionale.

**Risultati** - I parametri fisico-chimici non hanno evidenziato valori anomali e la salinità è variata nell'intervallo tra 14.9 e 29.2 psu. La percentuale di saturazione dell'ossigeno disciolto era molto alta in maggio, pari al 241%, mentre in ottobre si attestava al 87%. Nella stazione 460 (Canarin), in presenza di elevata biomassa e circolazione ridotta, si è osservata una percentuale pari al 334%. La trasparenza dell'acqua risulta molto bassa con variazioni di  $1.0 \pm 0.31$  m in maggio e  $1.1 \pm 0.45$  m in ottobre. Per quanto riguarda le concentrazioni dei nutrienti disciolti in acqua (fosfati, silicati, ammoniaca, nitriti e nitrati) sono risultati nella media tranne che per il fosforo che ha presentato picchi estremamente rilevanti in ottobre, nella

