



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E  
DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea Magistrale**

**BIOLOGIA MARINA**

**Composizione tassonomica e Analisi dei Tratti Biologici (BTA) della  
nematofauna in un sito LTER del Nord Adriatico: un caso studio di 3  
anni**

*Taxonomic composition and Biological Traits Analysis (BTA) of the  
nematofauna at a shallow LTER site of the Northern Adriatic Sea: a 3-  
year case study*

Tesi di Laurea Magistrale  
di:

Marilyn CARLETTI

Relatore:  
Chiar.mo Prof.

Cristina GAMBI

Correlatore:

Annalisa FRANZO

Sessione Estiva

Anno Accademico 2018/2019

# INDICE

1. Introduzione
  - 1.1 LTER (*Long Term Ecological Research*) (pag.2)
  - 1.2 Meiofauna e nematodi (pag.3)
  - 1.3 I nematodi come bioindicatori e l'approccio tassonomico (pag.4)
  - 1.4 Caratteristiche allometriche e Analisi dei Tratti Biologici (BTA) (pag. 7)
  - 1.5 I nematodi del Golfo di Trieste e presso la stazione C1-LTER (pag. 9)
- 2.Scopo della tesi (pag. 10)
- 3.Materiali e metodi
  - 3.1 Area di studio (pag. 11)
  - 3.3 Variabili ambientali (pag. 13)
    - 3.3.1 Carbonio Organico Totale (TOC) e Azoto Totale (TN) (pag. 13)
    - 3.3.2 Sostanza Organica Labile (LOM) e Carbonio Biopolimerico (BPC) (pag. 13)
    - 3.3.3 Clorofilla e feopigmenti (pag. 14)
  - 3.4 Estrazione della meiofauna, allestimento dei vetrini permanenti e d'identificazione dei nematodi (pag.14)
  - 3.5 Selezione dei Tratti Biologici (pag. 15)
  - 3.6 Analisi dei Tratti Biologici (BTA) (pag. 17)
  - 3.7 Analisi statistica (pag. 17)
4. Risultati
  - 4.1 Variabili ambientali (pag. 20)
  - 4.2 Analisi tassonomica dei nematodi(pag. 23)
  - 4.3 Analisi dei tratti biologici (pag. 34)
5. Discussione (pag. 53)
6. Conclusioni (pag. 61)
- 7.Bibliografia (pag. 62)
- 8.Sitografia (pag. 69)
- 9.Appendici (Pag. 70)

# 1. Introduzione

## 1.1 LTER (*Long Term Ecological Research*)

La Rete Italiana per la Ricerca Ecologica di Lungo Termine (LTER-Italia) è una delle 26 reti nazionali della Rete LTER Europea, che accoglie oltre 400 siti di ricerca e si inserisce anche nella Rete LTER Internazionale, distribuita in più di 40 Paesi nei 5 continenti. Della rete LTER-Italia fanno parte 79 siti inseriti in 25 macroaree, ripartite principalmente nel territorio nazionale e in cui sono condotte ricerche su scala pluridecennale da parte di Enti di Ricerca, Università e Istituzioni che si occupano di ricerca e monitoraggio ecologici. Tali siti, che variano per tipologia di habitat (terrestri, d'acqua dolce, acque di transizione e marine), sono rappresentativi degli ecosistemi in cui si trovano e spesso forniscono prodotti e servizi di rilevanza economica (pesca, foreste, protezione delle acque, prevenzione dei dissesti idrogeologici). Secondo l'iniziativa LTER, la costruzione, l'analisi e la condivisione di serie di dati ecologici su una scala temporale così lunga non solo permette di individuare cambiamenti degli ecosistemi ma anche di comprenderne le dinamiche e la funzionalità, al fine ultimo di promuovere un uso sostenibile delle risorse che questi forniscono (<http://www.lteritalia.it/>). La scala pluridecennale delle osservazioni consente inoltre di distinguere i segnali legati ad un temporaneo disturbo ambientale da quelli dovute a cambiamenti globali come il Riscaldamento Globale, minimizzando pertanto eventuali errori di interpretazione (Pugnetti *et al.*, 2013).

Tra i siti marini appartenenti alla rete LTER-Italia, la stazione C1 è situata in prossimità della Area Marina Protetta (AMP) di Miramare, l'unica SPAMI (*Specially Protected Area of Mediterranean Importance*) dell'intero Nord Adriatico (<http://www.riservamarinamiramare.it/>). Entrata a far parte della Rete nel 2006, la stazione LTER-C1 costituisce l'unico rappresentante della Rete nel Golfo di Trieste e vanta serie di dati di parametri fisici, chimici e biologici in colonna d'acqua risalenti già agli anni 70.

Recentemente la comunità LTER-Italia ha congiunto gli sforzi nella pubblicazione di un numero speciale (<https://natureconservation.pensoft.net/issue/1387/>) che costituisce la prima collezione ufficiale di studi condotti nei siti di LTER-Italia. Considerando ben 16 aree appartenenti alle varie tipologie di habitat (terrestre, acqua dolce, transizione e marino), gli autori hanno dimostrato l'efficacia dell'approccio LTER poiché solo l'analisi di serie temporali a lungo termine ha permesso l'individuazione di cambiamenti ecosistemici che sarebbero stati trascurati se fossero stati considerati intervalli di tempo minori. Per quanto riguarda la stazione C1-LTER, sono state analizzate le dinamiche a lungo termine di fitoplancton (Cerino *et al.*, 2019), microzooplancton

(Monti-Birkenmeier *et al.*, 2019) e processi di degradazione procariotica nel sedimento (Franzo *et al.*, 2019b). Tutti e tre gli studi hanno messo in evidenza una probabile suscettibilità di queste componenti ecosistemiche ai cambiamenti climatici previsti ed, in particolare, all'innalzamento delle temperature.

## 1.2 Meiofauna e nematodi

Con il termine meiobenthos si intendono gli animali bentonici di dimensioni comprese tra 30 µm e 1 mm, ossia intermedie rispetto agli organismi appartenenti al microbenthos e al macrobenthos (Danovaro *et al.*, 2003). Condividendo specifici rapporti ecologici, i suoi principali rappresentanti, i metazoi e i grandi protozoi bentonici (foraminiferi e ciliati) costituiscono un'unica unità ecologica alla quale ci si riferisce con il termine collettivo di *meiofauna* (Balsamo *et al.*, 2010). Per quanto riguarda i metazoi, questi rappresentano il gruppo più numeroso del benthos marino, con una abbondanza compresa tra  $10^5$  e  $10^6$  individui per m<sup>2</sup>. La loro abbondanza e biomassa variano in base a stagione, latitudine, profondità, granulometria del sedimento, tipo di habitat e altri fattori biotici e abiotici. Presentano, inoltre, la più elevata biodiversità di tutto il biota marino: 24 dei 35 phyla del regno Animalia hanno rappresentati meiobentonici per l'intero ciclo vitale (meiofauna permanente) o per parte di esso (meiofauna temporanea) (Balsamo *et al.*, 2010).

I nematodi costituiscono il phylum dominante della meiofauna dal momento che questi organismi rappresentano generalmente più del 50% dell'intero popolamento meiofaunale, raggiungendo anche abbondanze relative superiori al 90% nei sedimenti marini profondi (Balsamo *et al.*, 2010; Soetaert *et al.*, 2002). Si tratta di metazoi a simmetria bilaterale, non metamerici, cilindrici filiformi o fusiformi, di dimensioni comprese da frazioni di millimetro a qualche decimetro. Possono essere parassiti o condurre vita libera nei sedimenti dulciacquicoli, marini o nel terreno (Giere, 2009).

Rappresentando il gruppo dominante della meiofauna, i nematodi in linea di massima sono i maggiori fautori del ruolo ecologico esercitato da quest'ultima. Mediante la loro attività di bioturbazione del sedimento e di biocostruzione di cunicoli consolidati da muco, questi organismi influenzano gli scambi verticali delle principali variabili chimico-fisiche (ossigeno, nutrienti, ecc.) sia tra gli strati di sedimento che all'interfaccia sedimento-acqua, andando così a modificare importanti caratteristiche dell'ambiente sedimentario come la permeabilità e la stabilità dei sedimenti, i gradienti chimici, i flussi biogeochimici ed, in ultima analisi, i cicli dei nutrienti (Schratzberger ed Ingels, 2018). Da un punto di vista trofico, questi organismi rappresentano inoltre degli importanti (e numerosi) intermediari tra il comparto microbico/detritale e i livelli trofici

superiori. Come la meiofauna, i nematodi sono infatti allo stesso tempo importanti consumatori di diverse forme di Carbonio (C) -sostanza organica, procarioti, microalghe- e fonte di cibo per i consumatori secondari. Utilizzando il microbiota come fonte di sostentamento, i nematodi veicolano il trasferimento di C verso i livelli trofici superiori e collegano inoltre questi ultimi alla produzione primaria microbica, attribuibile alle microalghe, e alla decomposizione della materia organica, maggiormente a carico dei procarioti (Coull, 1999). Dal momento che nell'arco delle 24 ore i tassi di prelievo di batteri, diatomee e altri protozoi dal sedimento possono eguagliare l'intera biomassa meiofaunale (Schratzberger ed Ingels, 2018), la pressione trofica esercitata da questa comunità può conservare le abbondanze microbiche a livelli così contenuti da mantenere per tempi più lunghi il microbiota nella fase logaritmica di crescita poiché meno soggetta all'inibizione dovuta alla scarsità di substrato. Questo controllo *top-down* stimola quindi le attività maggiormente a carico dei procarioti, come la mineralizzazione della matrice organica sedimentaria, con ripercussioni a livello ecosistemico (Danovaro *et al.*, 2003; Schratzberger ed Ingels, 2018).

### **1.3 I nematodi come bioindicatori e l'approccio tassonomico**

Con un numero ipotizzato di specie superiore al milione, il phylum Nematoda viene considerato 'iperdiverso', nonostante questa stima non sia universalmente accettata (Lamshead e Boucher, 2003). Per quanto riguarda i mari italiani, la *checklist* più recente relativa alla loro biodiversità annovera 443 specie, 262 generi e 46 famiglie (Balsamo *et al.*, 2010). Una variabilità biologica così ampia assicura la presenza di questi organismi nei più diversi habitat acquatici (sedimenti costieri, profondi, lagunari, ghiaccio, ecc.) ed in svariate condizioni ambientali, inquinate o meno. Anche in aree fortemente impattate, infatti, i nematodi sono stati osservati in abbondanze sufficienti da creare dataset abbastanza robusti da permetterne lo studio, mentre altre comunità tradizionalmente impiegate nella bioindicazione come il macrobenthos, erano rappresentate da pochissimi organismi (Balsamo *et al.*, 2010; Losi *et al.*, 2013; Franzo *et al.*, 2018a). Oltre a questa ampia valenza ecologica, i nematodi presentano anche altre peculiarità che li rendono potenzialmente dei buoni bioindicatori, sebbene la tolleranza di molti generi/specie a diversi contaminanti o fattori di disturbo meriti di essere ulteriormente studiata (Semprucci *et al.*, 2015b). Le ridotte dimensioni degli organismi contestualmente alle loro elevate abbondanze riduce notevolmente lo sforzo di campionamento perché bastano volumi contenuti di sedimento per poter collezionare un numero sufficiente di individui da essere trattato opportunamente dal punto di vista statistico. Inoltre i nematodi non presentano dispersione larvale e sono caratterizzati da cicli di vita e di riproduzione molto brevi. Nel complesso, pertanto, queste caratteristiche permettono di

individuare recenti cambiamenti ambientali in una data area perché la composizione tassonomica del popolamento e metriche tradizionali come l'abbondanza degli individui e gli indici di diversità (ricchezza d, [Margalef, 1986](#); diversità H', [Shannon e Weaver, 1949](#)) forniscono informazioni relative all'eventuale risposta della comunità a tali cambiamenti ([Balsamo et al., 2010](#)). Generalmente, in condizioni di instabilità o di contaminazione severa dei sedimenti, il popolamento tende a presentare abbondanze contenute ed una limitata biodiversità.

L'idoneità dei nematodi come comunità-target in studi di monitoraggio ha favorito inoltre lo sviluppo di indici dedicati relativamente facili da applicare e, soprattutto, maggiormente comprensibili ai portatori d'interesse (*stake holders*) e alle autorità competenti. Tra questi, l'indice di Maturità (*Maturity Index*-MI) e l'indice di Diversità Trofica (*Index of Trophic Diversity*-ITD) sono due delle metriche più ampiamente adottate e vengono spesso affiancate alle stime di diversità nello studio dei nematodi. MI fornisce un'indicazione relativa allo stato di 'maturità' della comunità in una data area, inteso come reciproca proporzione di organismi a strategia-r ed a strategia-k ([Bongers, 1990](#); [Bongers et al., 1991](#)). In condizioni di instabilità ambientale, i primi, considerati 'pionieri', tendono ad essere più numerosi rispetto ai secondi che invece prosperano quando la comunità, non subendo considerevoli ed improvvise perturbazioni, ha tempo di instaurare una più complessa rete di legami interspecifici. Per calcolare MI, i nematodi vengono classificati sulla base di una scala c-p (*colonizer-persister*) a 5 livelliche va dai colonizzatori estremi (strategia r: rapidi tempi di generazione, elevata capacità di colonizzazione e di tolleranza allo stress), a cui viene attribuito il punteggio 1, agli organismi persistenti (strategia-k: lunghi tempi di generazione, bassi tassi riproduttivi, limitata capacità di colonizzazione e scarsa tolleranza al disturbo), a cui invece viene dato un punteggio via via crescente fino ad un massimo di 5. L'indice viene quindi calcolato come la media pesata del punteggio ottenuto da ciascun genere secondo la formula:

$$MI = \sum v_i f_i$$

Dove:

- $v_i$  è il valore c-p attribuito al genere i-esimo ([Borger et al., 1991](#));
- $f_i$  è la frequenza del genere i-esimo nel campione analizzato

Maggiore è il valore di MI, più la comunità sarà caratterizzata da nematodi a strategia-k e quindi soggetta a condizioni di stabilità ambientale.

Dimostrando che la diversa struttura boccale dei nematodi può essere associata ad una strategia trofica prevalente (batterivori, erbivori, predatori, ecc.), [Wieser \(1953, 1959\)](#) propose di

classificare questi organismi in 4 gruppi trofici funzionali: depositori selettivi e non selettivi, erbivori e predatori/onnivori. Dopo aver assegnato ciascun genere osservato ad un determinato gruppo trofico, ITD viene calcolato secondo la formula proposta da [Heip et al., \(1985\)](#):

$$ITD = \sum_{i=1}^n \theta^2$$

Dove:

- $\theta$  è il contributo di ciascun gruppo trofico all'abbondanza totale dei nematodi
- $n$  è il numero di gruppi trofici

Il valore di ITD varia quindi da un minimo di 0.25 ad un massimo di 1, dove 0.25 corrisponde alla più alta diversità trofica (i.e. ogni gruppo trofico rappresenta il 25% dell'intera comunità ed è equamente rappresentato) mentre 1 indica una condizione in cui il 100% degli organismi appartiene ad un unico gruppo trofico. Sebbene sia stata osservata una certa plasticità da parte di alcuni taxa nel passare da una strategia all'altra a seconda delle condizioni ambientali, l'indicazione ottenibile merita comunque le dovute, anche se caute, considerazioni.

Lo studio dei nematodi mediante il tradizionale approccio tassonomico sopradescritto si è dimostrato potenzialmente utile nella determinazione dello stato ambientale di un'area d'interesse ([Semprucci et al., 2015a](#), per una *review* focalizzata sui mari italiani) al punto da essere proposto come alternativa al macrozoobenthos come Indicatore Ecologico (EcoInds), così come viene definito da direttive europee come la [2000/60/EC](#). Relativamente a ciò, [Moreno et al., \(2011\)](#) hanno proposto delle soglie per le principali metriche utilizzate nello studio dei nematodi (come  $H'$ , ITD e MI) a cui sono associati i giudizi di qualità ambientale (Elevata, Buona, Sufficiente, ecc.). Sebbene questa proposta meriti la dovuta considerazione, la valutazione dello stato ecologico mediante l'utilizzo dei nematodi come EcoInds ha dato anche risultati ambigui o comunque di difficile interpretazione ([Franzo et al., 2018a](#)). Questa discrepanza deriva dal fatto che le soglie proposte da [Moreno et al., \(2011\)](#) sono state stabilite sulla base di studi condotti in aree costiere a profondità limitata, caratterizzate quindi da comunità di nematodi soggette a forzanti ambientali diverse da quelle che si possono verificare in altri habitat (come sedimenti lagunari o profondi). Da qui deriva la necessità di implementare i valori soglia ottenuti per le aree costiere con altri derivanti da studi condotti in altre tipologie di habitat.

## 1.4 Caratteristiche allometriche e Analisi dei Tratti Biologici (BTA)

Sebbene i nematodi siano considerati organismi-modello per esplorare le relazioni tra la loro biodiversità ed il funzionamento ecosistemico (Danovaro *et al.*, 2008), l'approccio tassonomico tradizionale non tiene conto della differente biologia dei vari generi (come la diversa strategia trofica, il tipo di locomozione, il ciclo di vita, ecc.), omettendo, pertanto, importanti funzioni ecologiche espletate dai vari generi (o specie) facenti parte del popolamento. In parallelo allo studio tassonomico tradizionale, pertanto, l'analisi delle caratteristiche allometriche dei nematodi ha introdotto aspetti più intrinsecamente legati alla funzionalità di questi organismi poiché si basa sull'assunzione secondo cui lunghezza (L), larghezza (W) e morfotipo (L/W) degli individui sono il risultato del loro adattamento a determinate condizioni di granulometria, ossigenazione o disponibilità di cibo (Tita *et al.*, 1999; Vanaverbeke *et al.*, 2011; Losi *et al.*, 2013). La forma del corpo fornisce infatti informazioni relative alla fisiologia, alla richiesta di energia e alla locomozione (Peters, 1983; Calder, 1984). Supponendo inoltre che forme simili corrispondano, in una certa misura, ad adattamenti simili, nematodi appartenenti a generi diversi ma che presentano un comune morfotipo, possono presentare adattamenti simili o svolgere funzioni simili.

Un esempio di come lo studio delle caratteristiche allometriche possa fornire indicazioni relative all'adattamento dei nematodi alla granulometria, è stato fornito da Tita *et al.*, (1999). In aree di estuario caratterizzate da una differente percentuale della frazione sedimentaria più fine (silt-argilla), gli autori hanno riportato concomitanti diverse larghezze medie dei nematodi. Nei sedimenti fangosi, le piccole dimensioni degli spazi interstiziali potrebbero non permettere a questi organismi di vivere al loro interno e di muoversi tra uno spazio e l'altro, favorendo, pertanto, i nematodi che scavano tunnel e che quindi per fare ciò tendono ad essere più grandi (sia più larghi che più lunghi). Nei sedimenti sabbiosi, invece, gli spazi tra i clasti potrebbero essere sufficientemente ampi da ospitare nematodi interstiziali, i quali, pertanto sono abbastanza piccoli per poter vivere in tali spazi.

Anche la disponibilità di ossigeno può rappresentare un fattore che influisce sulle caratteristiche allometriche dei nematodi, secondo Soetaert *et al.*, (2002), la barriera tra zona ossica e anossica del sedimento non può essere uno sbarramento chimico dal momento che il 50-70% dei nematodi osservati dagli autori in 18 stazioni lungo il margine Galiziano sono stati trovati al di sotto della zona ossica. Tuttavia, poiché questi organismi compiono una respirazione aerobica, non possono vivere permanentemente in un ambiente privo di ossigeno, pertanto, per evitare conseguenze dannose associate all'esposizione a lungo termine all'anossia, devono avere la capacità di muoversi velocemente tra gli strati di sedimento. Le diverse caratteristiche allometriche osservate



dagli autori nei popolamenti degli strati ossico ed anossico delle stazioni analizzate, hanno confermato questo tipo di adattamento. Nel popolamento dello strato ossico prevalevano le forme tozze, caratterizzate da strutture come spine ed armature lungo la cuticola con probabile funzione di difesa dai predatori a compensare la ridotta mobilità associata a questo morfotipo. Negli strati anossici, invece, prevalevano nematodi filiformi, un morfotipo a cui viene attribuita una maggiore capacità di spostarsi facilmente e velocemente tra i *patch* di cibo presenti negli strati anossici e le aree ossigenate oppure di fungere fisicamente da ponte tra queste due condizioni sedimentarie. Inoltre, l'osservazione di un diverso rapporto superficie/volume degli organismi è stata associata all'efficienza di assorbimento dell'ossigeno per unità di volume. In condizioni di ipossia, gli organismi tendenzialmente più lunghi presentano una maggiore superficie di assorbimento del poco ossigeno presente. Anche la diversa disponibilità di cibo intesa in termini di sostanza organica sedimentaria si riflette nelle caratteristiche allometriche del popolamento. In condizioni di maggior refrattarietà del substrato organico, i nematodi tendono ad essere filiformi, cioè caratterizzati da un alto rapporto L/W (L: *length* – lunghezza; W: *width* - larghezza). Questo implica un tratto intestinale lungo che permette di ottimizzare l'assorbimento dei nutrienti presenti nella matrice refrattaria ingerita a causa dei tempi di transito maggiori e di una più ampia superficie di assorbimento (Tita *et al.*, 1999).

Mettendo insieme lo studio delle allometrie con due aspetti già considerati nell'approccio tassonomico tradizionale (MI che si basa sulla strategia di vita, ITD che fa riferimento alle strategie trofiche) è possibile sviluppare un'Analisi dei Tratti Biologici (*Biological Traits Analysis* - BTA) che costituisce pertanto un ulteriore sviluppo dello studio dei nematodi dal punto di vista funzionale. Con una forte base teorica (Bremner *et al.*, 2003), la BTA è stata inizialmente elaborata per il macrozoobenthos (Bremner *et al.*, 2006) e solo successivamente è stata estesa anche ai nematodi (Schratzberger *et al.*, 2018; Alves *et al.*, 2013; Losi *et al.*, 2013; Kalogeropoulou *et al.*, 2014) per la quale ha dimostrato di essere potenzialmente un promettente strumento di monitoraggio utile a valutare l'impatto umano sull'ambiente (Ristau *et al.*, 2015).

I tratti biologici più comunemente utilizzati per la BTA sono pertanto la strategia di vita, la strategia trofica, la lunghezza e la forma del corpo, la forma della coda (quest'ultima è legata alla locomozione e alla riproduzione dei nematodi; Thistle *et al.*, 1995), sebbene recentemente siano stati proposti anche la tipologia della cuticola e la forma dell'anfidio (Semprucci *et al.*, 2018). Rispetto al tradizionale approccio tassonomico, la BTA permette di esplorare variazioni del popolamento da un punto di vista funzionale. In altre parole, potenzialmente questo approccio può indicare se un cambiamento dal punto di vista tassonomico sia più o meno importante di un altro dal momento che alcuni implicano anche un cambiamento funzionale mentre altri no.

## 1.5 I nematodi del Golfo di Trieste e presso la stazione C1-LTER

Ad oggi, lo studio dei nematodi a vita libera nell'area più settentrionale del Nord Adriatico è ancora piuttosto sporadico e discontinuo. [Travizi e Vidaković \(1997\)](#) e [Travizi \(2010\)](#) hanno fornito delle checklist di specie relative ai nematodi al largo del versante croato mentre in un esperimento *in situ* [Taheri et al., \(2015\)](#) hanno studiato gli effetti dell'anossia a breve e a lungo termine sui popolamenti lungo la costa slovena. Per quanto riguarda il versante italiano, i nematodi sono stati studiati all'interno o nelle vicinanze dell'AMP di Miramare ([Sandulli et al., 2010](#); [Franzo et al., 2018b](#)).

Per quanto riguarda i sedimenti, la stazione C1-LTER ha cominciato ad essere regolarmente campionata nel 2002, sebbene il focus fosse limitato allo studio del microfitobenthos ([Cibic et al., 2007](#); [Cibic et al., 2008](#); [Cibic et al., 2012](#)) mentre altre comunità hanno suscitato un minor interesse (macrozoobenthos, [Nasi et al., 2017](#)) o sono state del tutto ignorate (meiofauna). A partire dal 2010, però, si è cominciato a studiare il dominio bentonico in maniera diversificata, estendendo le analisi alle principali comunità bentoniche e ai processi ad esse associati ([Franzo et al., 2016](#)). Per quanto riguarda i nematodi a vita libera, la serie di dati è cominciata nel luglio del 2010 con cadenza trimestrale e prosegue tutt'oggi. I dati dei nematodi del primo biennio (2010-2012) - composizione tassonomica fino al livello di genere, abbondanze e diversità trofica (ITD) - sono stati relazionati ad altre comunità mettendo in luce una stretta associazione con le diatomee bentoniche. La maggiore numerosità dei nematodi in estate è stata osservata in concomitanza con i picchi microfitobentonici ed era ascrivibile prevalentemente ai generi che si nutrono di microalghe. In inverno, invece, la presenza di diatomee con frustuli spessi (e quindi energeticamente più dispendiosi da forare/rompere) potrebbe sfavorire i nematodi erbivori che infatti tendono a presentare abbondanze più contenute in questa stagione ([Franzo et al., 2018b](#)). Questo dataset iniziale suggerisce una relazione tra la produzione primaria microalgale e nematodi che merita di essere approfondita mediante l'estensione dei dati su un arco temporale più ampio.

## **2. Scopo della tesi**

Dal momento che lo studio dei nematodi è continuato anche negli anni successivi al 2012, la serie di dati di nematodi relativi alla stazione C1-LTER ha cominciato a prendere consistenza. Sebbene questo dataset necessiti di coprire un arco di tempo più lungo per poter credibilmente fornire indicazioni su eventuali deviazioni temporali collegabili ai cambiamenti globali, esso può offrire anche la preziosa opportunità di testare in parallelo l'analisi tassonomica del popolamenti e la BTA. Tale comparazione permetterebbe di verificare se un approccio è più informativo dell'altro o, al contrario se l'informazione ottenuta da ciascuno costituisca un'integrazione utile a rendere più efficiente l'utilizzo di nematodi in studi di monitoraggio ambientale.

Nella presente tesi, 3 anni di dati di nematodi della stazione C1-LTER sono stati analizzati dai punti di vista tassonomico e dei tratti biologici al fine di rispondere alle seguenti domande:

1. La variazione temporale dei nematodi della stazione C1-LTER è maggiormente individuabile mediante l'analisi tradizionale basata sulla composizione tassonomica oppure mediante la BTA?
2. I due approcci mettono in risalto relazioni diverse con le molteplici variabili ambientali che vengono indagate sinotticamente presso C1-LTER?
3. Questi due approcci possono essere considerati alternativi oppure ognuno costituisce un'integrazione dell'altro?

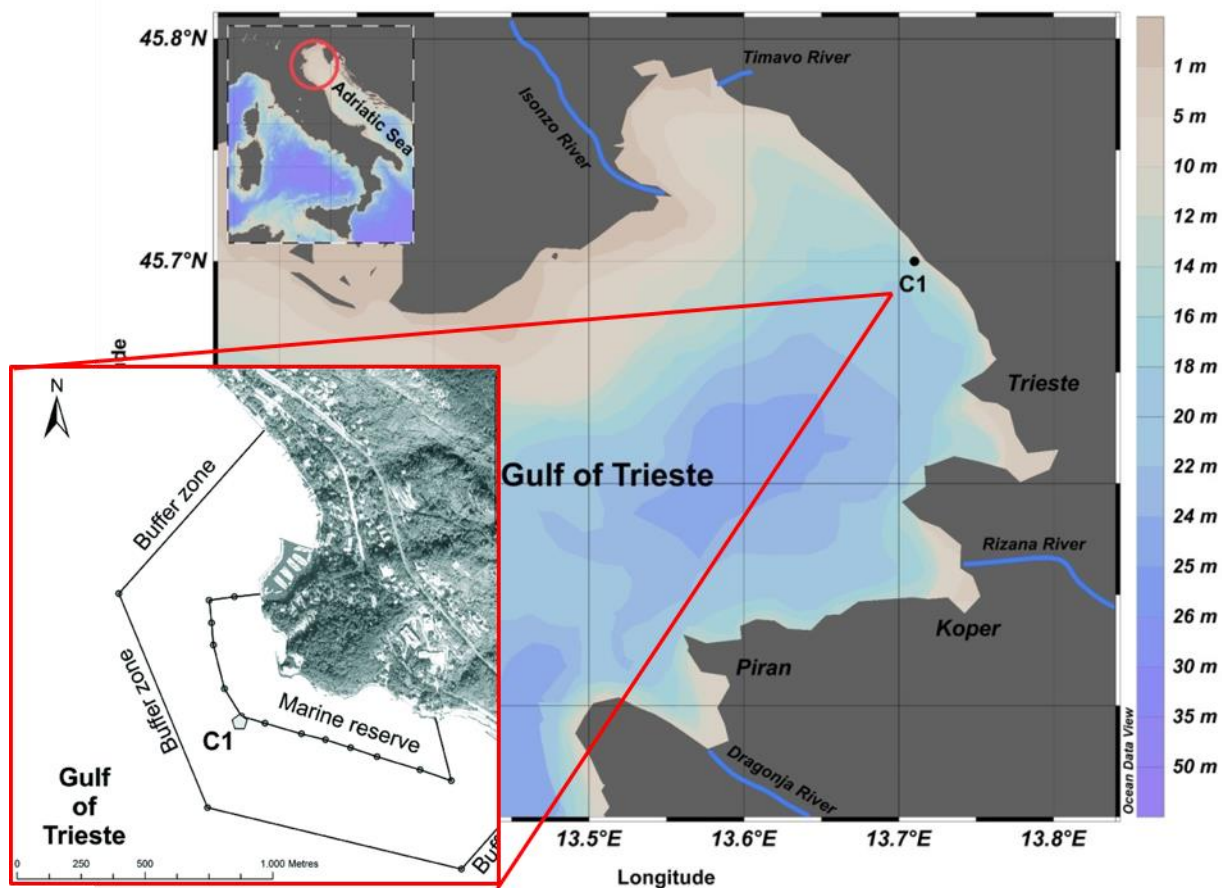
### **3. Materiali e metodi**

#### **3.1 Area di studio**

Il Golfo di Trieste, situato nella parte nord-occidentale del Mare Adriatico, è un bacino poco profondo (profondità media 17 metri; profondità massima non superiore ai 25 m, [Celio et al., 2002](#)) che si estende per 500 km<sup>2</sup> e con una linea di costa di circa 100 km. È quasi completamente circondato dalla terraferma ed è isolato dal resto dell'Adriatico da una soglia a circa 22 m di profondità che corre da Grado alla penisola di Salvore ([Ogorelec et al., 1991](#)). L'escursione mareale è di circa 1.5 m, la maggiore del Mediterraneo ([Cardin e Celio, 1997](#)). Il Golfo presenta escursioni termiche annuali (da 5 °C a più di 24 °C in superficie e da 6 °C a più di 20 °C in profondità) ed una stagionalità abbastanza definita. Sebbene l'acqua entri nel bacino da sud-est e la circolazione sia prevalentemente da sud-est a nord-ovest, tale *pattern* generale può modificarsi rapidamente a causa di condizioni meteorologiche come il vento intenso o a causa del variabile ingresso di acqua dolce ([Querin et al., 2007](#); [Malačič e Petelin, 2009](#)). La regione è, infatti, influenzata dalla Bora, un vento catabatico a forte intensità con direzione nord-est che contribuisce ad alimentare le correnti in uscita dal Golfo, il rimescolamento della colonna d'acqua e fenomeni di risospensione del sedimento ([Querin et al., 2007](#)). Lo Scirocco, invece, spirando da sud-est determina la formazione di correnti direzionate verso la costa ([Celio et al., 2002](#)). La principale fonte di acqua dolce è costituita invece dal fiume Isonzo, che presenta un regime alpino con picchi di piena in giugno, per lo scioglimento delle nevi, e in novembre, per le piogge autunnali ([Olivotti et al., 1986](#)).

L'Isonzo costituisce anche il principale vettore per l'ingresso di detrito e sedimenti terrestri ([Covelli e Fontolan, 1997](#)). La sedimentazione è controllata principalmente dagli input fluviali piuttosto che dalle correnti marine ([Brambati e Catani, 1988](#)) e presenta una velocità media annuale di circa 1 mm/anno in centro Golfo che aumenta fino a 2.5 mm/anno in prossimità della bocca dell'Isonzo ([Covelli et al., 1999](#) e [riferimenti ivi contenuti](#)). I sedimenti sono costituiti principalmente da fango sabbioso, anche se i fondali mobili possono essere diversi tra loro e variare quindi dalle sabbie con intersezioni rocciose al fango detritico ([Brambati e Catani, 1988](#)).

Nel presente studio, i sedimenti sono stati prelevati presso la stazione LTER-C1 che, situata a circa 200 m dalla costa (45° 42.05'N, 13° 42.60'E), si trova in prossimità del confine esterno dell'AMP di Miramare ad una profondità di circa 18 m ([Figura 1](#)).



**Figura 1.** La stazione C1-LTER ( $45^{\circ} 42.05' N$ ,  $13^{\circ} 42.60' E$ ), situata lungo il versante italiano del Golfo di Trieste (Nord Adriatico), in prossimità del bordo esterno della AMP di Miramare.

### 3.2 Attività di campionamento

Il campionamento è stato eseguito quasi stagionalmente tra marzo 2015 (Mar15) e gennaio 2018 (Jan18) per un totale di 11 prelievi. In occasione di ogni prelievo, sette carote di sedimento virtualmente indisturbato sono state raccolte mediante un KC *Haps bottom corer* (KC-Denmark, Silkeborg, Denmark) equipaggiato con *liner* di policarbonato trasparente (diametro interno: 13.3 cm; superficie  $127 \text{ cm}^2$ ). Di queste carote, tre sono state sub campionate per la meiofauna mediante l'utilizzo di siringhe da 60 mL (diametro interno: 2.7 cm; superficie:  $5.72 \text{ cm}^2$ ) a cui era stata preventivamente tagliata la punta. Tali subcampioni sono stati immediatamente estrusi (0-10 cm) e fissati in una soluzione di formalina al 4% (concentrazione finale) e acqua di mare filtrata. Dalle restanti quattro carote è stato prelevato lo strato superficiale (0-1 cm) di sedimento che è stato quindi omogeneizzato e ulteriormente subcampionato per le seguenti variabili ambientali: Carbonio Organico Totale (TOC), Azoto Totale (TN), Carbonio Biopolimerico (BPC), clorofilla (Chl *a*) e eopigmenti (Phaeo).

Ad ogni campionamento, la temperatura al fondo e la salinità sono state misurate mediante l'utilizzo di una sonda multiparametrica *Sea Bird Electronics SBE 19 Plus*.

### 3.3 Variabili ambientali

#### 3.3.1 Carbonio Organico Totale (TOC) e Azoto Totale (TN)

Per la stima del Carbonio Organico Totale (TOC) e dell'Azoto Totale (TN), le analisi sono state eseguite mediante un analizzatore elementare CHN Costech modello ECS 4010, secondo il metodo descritto da [Pella e Colombo \(1973\)](#) e [Sharp \(1974\)](#) utilizzando come standard l'acetanilide (Carlo Erba, purezza  $\geq 99.5\%$ ) per la computazione della retta di taratura. L'analisi su campioni di sedimento è stata effettuata previa liofilizzazione, disaggregazione e setacciamento su maglia da 250  $\mu\text{m}$ . Aliquote comprese tra 8 e 12 mg sono state poste in capsule di stagno (5x9 mm) per le analisi del carbonio e azoto totale e in capsule di argento (5x9 mm) per quelle del carbonio organico. Questi ultimi subcampioni sono stati trattati direttamente nelle capsule ([Nieuwenhuize \*et al.\*, 1994](#)) con successive aggiunte di HCl a concentrazioni crescenti (0.1 N e 1 N) fino all'eliminazione della frazione carbonatica. Per ogni campione l'analisi è stata effettuata su tre repliche.

#### 3.3.2 Sostanza Organica Labile (LOM) e Carbonio Biopolimerico (BPC)

Zuccheri semplici, acidi grassi e proteine costituiscono la frazione labile (Labile OrganicMatter-LOM) della sostanza organica che viene rapidamente mineralizzata, mentre la controparte refrattaria è formata da componenti più lentamente degradabili quali acidi umici, fulvici e carboidrati complessi ([Fabiano e Danovaro, 1994](#)). Ad ogni campionamento, lipidi, proteine e carboidrati sono stati stimati nel sedimento ossico superficiale liofilizzato come di seguito descritto. Lipidi: doposonicazione in acqua distillata, i lipidi totali sono stati estratti dal sedimento umido con cloroformio e metanolo e sono stati determinati secondo i metodi di [Bligh e Dyer \(1959\)](#) e [Marsh e Weinstein \(1966\)](#) applicati al sedimento. Soluzioni di tripalmitina (30, 60, 120, 180 e 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) sono state utilizzate come standard di riferimento. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità tripalmitina equivalenti e sono espresse in  $\mu\text{g g}^{-1}$  sedimento secco (s.s.). Proteine: dopo estrazione con NaOH (0.5 M, 4 h), le proteine sono state determinate in accordo con il metodo di [Hartree \(1972\)](#). Soluzioni di albumina bovina alle concentrazioni di 75, 150, 225 e 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$  sono state utilizzate come standard. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità albumina bovina equivalenti e sono espresse in  $\mu\text{g g}^{-1}$  s.s.

Carboidrati :nel presente studio, sono stati determinati sia i carboidrati colloidali solubili in acqua (30 °C) che quelli estraibili in EDTA (acido etilendiamminotetracetico) (de Brouwer e Stal, 2001). Dopo l'estrazione, entrambe le frazioni sono state analizzate in accordo con Gerchacov e Hatcher (1972) utilizzando soluzioni di D(+) glucosio (10, 20, 40, 70 e 100 µg mL<sup>-1</sup>) come standard. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità glucosio equivalenti e sono espresse in µg g<sup>-1</sup> s.s. Tutte le analisi sono state eseguite in quattro repliche. Per ciascuna analisi biochimica, i bianchi sono stati ottenuti utilizzando sedimenti trattati a 450 °C per 2h.

Lipidi, proteine e carboidrati e sono stati convertiti in equivalenti di carbonio utilizzando i fattori di conversione rispettivamente di 0.75, 0.50 e 0.45 g C g<sup>-1</sup>, in accordo con la composizione degli standard utilizzati per la retta di taratura (Fichez, 1991). La somma del carbonio delle tre componenti consente di stimare il Carbonio Biopolimerico totale (BPC), la frazione più prontamente utilizzabile della sostanza organica da parte degli organismi consumatori (Fabiano *et al.*, 1995).

### 3.3.3 Clorofilla e feopigmenti

La determinazione della clorofilla *a* (Chl *a*) e dei feopigmenti (Phaeo) è stata eseguita estraendo i pigmenti *overnight* (4°C, 90% acetone) da 4 aliquote (0.7-0.9 g) di sedimento superficiale. Dopo centrifugazione (2500 rpm, 20 min) la concentrazione di pigmenti è stata determinata spettrofluorimetricamente secondo il metodo di Lorenzen e Jeffrey (1980) come descritto da Pusceddu *et al.*, (2003). Le misure sono state effettuate prima (Chl *a* µg g<sup>-1</sup>) e dopo (feopigmenti, µg g<sup>-1</sup>) aver acidificato l'estratto con 2 gocce di HCl 1N, usando uno spettrofluorimetro JASCO FP 6500 (450 nm eccitazione e 665 nm di emissione) preventivamente calibrato con soluzioni standard di clorofilla *a* (Spinach, Sigma).

## **3.4 Estrazione della meiofauna, allestimento dei vetrini permanenti ed identificazione dei nematodi**

Ad ogni campionamento, i nematodi sono stati estratti dal sedimento insieme agli altri organismi meiofaunalimediante il metodo delle centrifugazioni descritto da Danovaro (2010). Ogni subcampione fissato in formalina è stato sonicato (3 cicli da un minuto alternati da intervalli di 30 secondi) per favorire il distacco degli organismi dalle particelle di sedimento e quindi setacciato utilizzando un primo filtro di maglia pari a 1000 µm. Il materiale passante è stato filtrato nuovamente mediante un setaccio con maglia pari a 30µm. Al materiale trattenuto dal secondo setaccio è stato quindi addizionato Ludox HS-40 (Sigma-Aldrich), opportunamente diluito con



acqua milliq al fine di ottenere una densità pari a 1.15-1.18 g cm<sup>-3</sup> che è pari o superiore a quella della meiofauna ma inferiore a quella del sedimento. I campioni così processati sono stati centrifugati 3 volte a 3000 rpm per 10 minuti. Dopo aver raccolto il surnatante su filtri da 30µm al termine di ogni centrifuga, gli organismi meiofaunali in esso contenuti sono stati conservati in una soluzione di formalina e acqua di mare filtrata (4% concentrazione finale) e colorati con alcune gocce di Rosa Bengala (Fluka) (0.5 g L<sup>-1</sup>).

Per ogni replica, il materiale fissato è stato accuratamente sciacquato con acqua e trasferito in una cuvette di Delfuss la cui suddivisione interna di 200 celle facilita una più agevole manipolazione dei nematodi ed un loro più preciso conteggio. Mediante l'utilizzo di uno stereo microscopio (Zeiss Discovery V20; ingrandimento finale di 40 o 80×), tutti i nematodi presenti sono stati contati (abbondanza espressa in numero di individui per 10 cm<sup>2</sup>) e i primi 120 sono stati pescati con un ago manicato al fine di assicurare un prelievo casuale. Nelle repliche caratterizzate da un numero di nematodi inferiore a 120, sono stati pescati tutti gli individui. Per l'allestimento dei vetrini permanenti, la formalina contenuta nei nematodi pescati è stata gradualmente sostituita da glicerolo mediante il trasferimento degli organismi in una serie di soluzioni di etanolo-glicerolo a concentrazione crescente per quest'ultimo (Seinhorst, 1959). Infine, gli organismi così disidratati e diafanizzati sono stati trasferiti con un ago manicato a gruppi di 10-12 in una goccia di glicerolo puro posta all'interno di un anello di paraffina su un vetrino porta oggetto. Tale procedimento è stato condotto sempre allo stereomicroscopio. Dopo aver posizionato un vetrino copri-oggetto su ogni goccia di glicerolo, i vetrini permanenti sono stati quindi sigillati mediante scioglimento dell'anello di paraffina con calore e sua immediata solidificazione a temperatura ambiente.

Osservati con un microscopio Olympus BX51 (ingrandimento 100×), tutti i nematodi nei vetrini permanenti sono stati identificati fino a livello di genere mediante l'ausilio delle più diffuse chiavi identificative (Platt e Warwick, 1983, 1988; Warwick *et al.*, 1998), così come le descrizioni originali dei generi ed il materiale bibliografico disponibile su NeMys (Bezerra *et al.*, 2019).

### **3.5 Selezione dei Trattati Biologici**

Tramite l'utilizzo di un microscopio ottico diritto (Olympus BX51, ingrandimento fino a 400×), tutti i nematodi dei vetrini permanenti sono stati analizzati per un totale di circa 3100 esemplari. Per ogni vetrino permanente, una mappa con la posizione reciproca degli organismi è stata disegnata ed un numero progressivo è stato assegnato ad ogni individuo. Con l'utilizzo del software Leica Application Suite-LAS, sono state quindi acquisite tre fotografie per ogni individuo



all'ingrandimento che permettesse di ottenere la massima risoluzione dell'oggetto d'interesse (4-40 ×). Per ogni individuo, pertanto, le 3 fotografie erano relative alla:

1. lunghezza totale (L), con esclusione della coda filiforme se presente;
2. larghezza massima (W);
3. coda.

Successivamente, il software ImageJ è stato utilizzato per misurare L e W (in  $\mu\text{m}$ ) per tutti gli organismi fotografati. Il rapporto di queste due caratteristiche allometriche, detto rapporto di De Man (Platt e Warwik, 1983), è stato utilizzato per la classificazione dei nematodi a seconda del loro morfotipo. In genere, organismi tozzi hanno un rapporto L/W basso (<18) mentre organismi longilinei presentano valori elevati per questo rapporto.

La BTA è stata quindi condotta sui seguenti tratti biologici:

- Il gruppo trofico (FT –*Feeding type*). Le principali strategie trofiche dei nematodi possono essere dedotte dalla morfologia generale dell'apertura boccale. Nel presente studio, è stata utilizzata la classificazione di Wieser (1953) perché, essendo la più comunemente utilizzata, assicura eventuali paragoni con altri studi. In base a questa classificazione i nematodi vengono suddivisi in depositivori selettivi (1A), depositivori non selettivi (1B), erbivori (2A) e predatori/onnivori (2B).
- La strategia di vita (LS –*Life strategy*). Come proposto da Bongers (1990) e Bongers *et al.*, (1991, 1999), i nematodi possono essere classificati secondo una scala c-p che va da 1 (colonizzatori estremi) a 5 (organismi a strategia k).
- La forma della coda (T –*Tail shape*). Considerato importante per la locomozione e la riproduzione, questo tratto funzionale viene generalmente classificato secondo Thistle *et al.*, (1995) in: coda corta/arrotolata, clavata (inizialmente conica, si allunga fino ad una punta generalmente smussata), conica (appuntita alla fine) e elongata-filiforme (lunga almeno 5 volte la larghezza massima dell'organismo).
- Lunghezza del corpo (L – *Body length*) e morfotipo (L/W – *Body shape*). Dal momento che i nematodi della stazione C1-LTER hanno presentato valori di L e di L/W che non potevano ragionevolmente rispecchiare le soglie utilizzate da Schratzberger *et al.*, (2007) per i nematodi del Mare del Nord (<1 mm; 1-2-mm; 2-4 mm; >4 mm), si è deciso di utilizzare come soglie la mediana, il 10° ed il 90° percentile, calcolati sull'interodataset di L e di L/W. Per L, pertanto, sono state utilizzate le seguenti soglie: <600  $\mu\text{m}$ , 600-1000  $\mu\text{m}$ , 1000-2000  $\mu\text{m}$  e >2000  $\mu\text{m}$ . Per L/W, invece, si è utilizzato <20, 20-28, 28-46 e >46.

### 3.6 Analisi dei Tratti Biologici (BTA)

Dopo la selezione dei tratti e delle categorie per ogni tratto, per il calcolo della BTA sono state seguite le procedure descritte da [Bremner et al., \(2003, 2006\)](#) per il macrozoobenthos e successivamente utilizzate da [Schratzberger et al., \(2007\)](#) e da [Alves et al., \(2014\)](#) per i nematodi. I 5 tratti biologici sopra descritti hanno fornito un totale di 21 categorie. Poiché tutti i nematodi sono stati analizzati a livello di genere, è stata costruita una matrice *genera by traits* (a quali categorie apparteneva ogni genere) assegnando a ciascun genere la rispettiva affinità alle categorie di ogni tratto (0 = nessuna affinità; 1 = affinità presente, Appendice 1). Mentre per i tratti *Feedingtype* e *Life strategy* l'affinità è stata dedotta da letteratura, per *Body shape*, *Body length* e *Tail shape*, l'affinità è stata assegnata in base alle dimensioni reali misurate per tutti gli organismi nei vetrini permanenti. Per ogni genere, quindi, il punteggio 1 è stato assegnato alle categorie all'interno delle quali ricadeva il numero più alto di organismi.

Successivamente, una matrice finale di *traits by station* (tratti biologici per ciascun campionamento) è stata costruita come prodotto incrociato della matrice *genera by traits* con la matrice *genera by station* (abbondanza dei generi in ciascun campionamento). Per ogni categoria di tratti, l'affinità di ciascun genere presente in un campionamento è stata quindi moltiplicata per la sua abbondanza osservata in quel campionamento. Successivamente, le abbondanze dei generi appartenenti alla stessa categoria sono state sommate al fine di ottenere un singolo valore per ciascuna categoria in ciascun campionamento ([Bremner et al., 2006](#)).

L'analisi multivariata è stata eseguita sulla matrice risultante.

### 3.7 Analisi statistica

La statistica descrittiva è stata condotta sui dataset relativi alle abbondanze dei generi e a quelle dei singoli tratti biologici al fine di calcolarne l'Abbondanza Relativa.

Le seguenti analisi univariate e multivariate sono state condotte mediante l'utilizzo del software PRIMER v6 ([Clarke e Gorley, 2006](#)) provvisto della funzione aggiuntiva PERMANOVA ([Anderson et al., 2008](#)). Per quanto riguarda le prime, la ricchezza tassonomica (d, [Margalef, 1986](#)) e la diversità di Shannon-Weaver ( $H' \log_2$ , [Shannon e Weaver, 1949](#)) sono state calcolate sulla base delle abbondanze dei generi osservati. Poiché la ricchezza è fortemente influenzata dal numero di individui osservati in ogni campione e dal fatto che alcuni generi presentano abbondanze anche molto maggiori di altri, è stata operata una standardizzazione della ricchezza mediante

l'applicazione dell'indice di rarefazione EG(51), che indica il numero previsto di generi osservabile in un campione teorico costituito da 51 individui.

Per quanto riguarda le analisi multivariate, invece, la variabilità temporale della comunità di nematodi nell'arco di tempo Mar15-Jan18 è stata studiata sia in termini di composizione dei generi che in termini di tratti biologici, presi singolarmente e combinati nella BTA. Dal momento che differenti dispersioni dei dati nei vari campionamenti temporali possono dare significativi risultati della PERMANOVA (*PERmutational Multivariate ANalyses Of VAriance*) senza tuttavia indicare necessariamente un'effettiva differenza statistica tra un campionamento e l'altro, prima della PERMANOVA è stato condotto il test di omogeneità della dispersione (PERMDISP) su tutti i dataset (abbondanze dei generi, dei tratti singoli, BTA). In tal modo si è verificato l'ipotesi nulla secondo cui i diversi campionamenti temporali erano caratterizzati da simili dispersioni dei dati, legittimando pertanto gli output della successiva PERMANOVA.

Per quanto riguarda quest'ultima, i dati di abbondanza dei corrispondenti dataset sono stati prima di tutto trasformati mediante radice quadrata e poi è stata applicata la similarità di Bray-Curtis. Sulle risultanti matrici di similarità è stata quindi condotta una PERMANOVA ad una via utilizzando come fattore il mese di campionamento, una permutazione illimitata dei dati grezzi e 9999 permutazioni. L'ipotesi nulla (nessuna differenza temporale significativa in termini di composizione dei generi e/o dei tratti funzionali singoli ed in combinazione) è stata rifiutata quando il livello di significatività  $p$  risultava inferiore a 0.05. In caso di significatività, comparazioni *pair-wise* sono state effettuate con le stesse specifiche (permutazione illimitata dei dati grezzi, 9999 permutazioni). In questo caso, il test di Monte Carlo -P(MC)- è stato utilizzato quando il numero di permutazioni risultava inferiore a 150.

L'analisi di Similarità percentuale SIMPER (cut-off del 50%) è stata condotta sulla matrice di abbondanze dei generi al fine di calcolare la dissimilarità tra i campionamenti ed di individuare i generi maggiormente responsabili.

La variabilità temporale della comunità in termini di diversità tassonomica -  $d$ ,  $H'$ , EG(51) - ed indici dedicati (ITD e MI), è stata invece testata mediante l'applicazione di un test PERMANOVA con lo stesso design utilizzato per le matrici di abbondanza (fattore 'mese di campionamento', illimitata permutazione dei dati grezzi e 9999 permutazioni). L'unica differenza consisteva nell'applicare la distanza Euclidea e non quella di Bray-Curtis ai dataset costituiti dai valori di questi indici.

Su ognuna delle matrici di similarità ottenute dai dataset di abbondanza (dei generi, dei tratti singoli e nella BTA) è stata anche condotta un'ordinazione nMDS (*non-metric Multidimensional scaling ordination*) al fine di visualizzare le differenze significative emerse

nella PERMANOVA (Clarke e Green, 1988). Successivamente, le matrici di similarità sono state utilizzate per un nMDS di secondo grado (*second-stage nMDS*) che permette di verificare se e quanto queste ultime sono correlate tra loro (Sommerfield e Clarke, 1995). Per questo test, le correlazioni di Spearman calcolate tra coppie di matrici di similarità vengono utilizzate per costruire l'ordinamento nMDS, che costituisce pertanto una visualizzazione di quanto le diverse variabili forniscano la stessa informazione: più i punti ascrivibili alle matrici di similarità sono vicini tra loro, più l'informazione fornita da queste ultime è la stessa.

Al fine di determinare quale variabile ambientale (Tabella 1) ha influenzato maggiormente la comunità di nematodi in termini di composizione tassonomica e di diversità funzionale, il DISTLM test (*distance-based linear model*, McArdle e Anderson, 2001) è stato effettuato sui dataset relativi alle abbondanze dei generi ed ai tratti biologici presi singolarmente e combinati nella BTA. Sono stati utilizzati la procedura di selezione *step-wise* ed il criterio di selezione *adjusted R<sup>2</sup>* (Anderson *et al.*, 2008). Prima dell'analisi la collinearità delle variabili ambientali è stata testata mediante Draftman plot e la correlazione di Spearman. Dal momento che nessuna coppia di variabili ambientali è risultata fortemente correlata ( $r^2 > 0.90$ ), nessuna di esse è stata omessa dall'analisi perché ridondante. Per compensare la distribuzione asimmetrica, una trasformazione mediante radice quadrata è stata applicata ai dati di TOC.

## 4. Risultati

### 4.1 Variabili ambientali

Le principali variabili ambientali considerate nel presente studio sono riassunte in [Tabella 1](#). Variando da un minimo di 9.4 °C in Jan16 ad un massimo di 22.0 °C in Jul16, la temperatura al fondo ha presentato un chiaro andamento stagionale caratterizzato da valori più elevati in estate e condizioni più fredde in inverno. Per quanto riguarda TN e TOC, le concentrazioni minime sono state osservate in Dec16 ( $1.1 \pm 0.0 \mu\text{g N g}^{-1}$  e  $9.8 \pm 0.2 \mu\text{gC g}^{-1}$ , rispettivamente) mentre le massime in Jun15 ( $1.7 \pm 0.0 \mu\text{g N g}^{-1}$  e  $15.1 \pm 0.3 \mu\text{gC g}^{-1}$ , rispettivamente) per entrambe le variabili. Sebbene un pattern stagionale non sia risultato particolarmente chiaro, i campionamenti estivi, cioè quelli condotti in giugno o luglio, sono risultati caratterizzati dai carichi più elevati sia di TOC che di TN. Similmente, il minimo di BPC è stato osservato in Dec16 ( $1001.5 \mu\text{g C g}^{-1}$ ) mentre il carico massimo,  $>1800 \mu\text{g C g}^{-1}$ , ha caratterizzato i sedimenti di Mar15, Jun15 e Jul16. Anche per questa variabile ambientale non è stato evidenziato un chiaro pattern stagionale con concentrazioni più elevate nei campionamenti estivi in alternanza a valori più contenuti durante l'inverno. Dopo il minimo di Dec16, l'ammontare di BPC è risultato poco variabile (compreso tra  $1475.3 \mu\text{g C g}^{-1}$  e  $1521.7 \mu\text{g C g}^{-1}$  in Oct17 e Jan18, rispettivamente) e mediamente inferiore alle concentrazioni misurate nei campionamenti antecedenti. Per quanto riguarda la composizione del pool biopolimerico, i carboidrati colloidali (CHO-H<sub>2</sub>O) hanno costituito la frazione minoritaria in tutti i campionamenti dal momento che i valori non hanno mai superato i  $147.9 \mu\text{g C g}^{-1}$  (Jul17). La loro controparte relativamente più refrattaria, i carboidrati estratti in EDTA (CHO-EDTA), ha presentato invece concentrazioni mediamente due volte più elevate ( $102.3$  e  $294.7 \mu\text{g C g}^{-1}$  per CHO-H<sub>2</sub>O e CHO-EDTA, rispettivamente). Diversamente da quanto osservato per il BPC, un evidente incremento dei valori di CHO-EDTA ha caratterizzato gli ultimi 3 campionamenti del presente studio ( $\sim 400 \mu\text{g C g}^{-1}$ ) mentre in quelli precedenti le concentrazioni sono risultate quasi sempre  $< 300 \mu\text{g C g}^{-1}$ . Proteine (PRT) e lipidi (LIP) hanno costituito le due frazioni biopolimeriche dominanti in tutti i campionamenti. Per entrambe, le concentrazioni minime sono state osservate in Dec16 ( $231.8 \pm 7.9$  e  $447.9 \pm 78.01 \mu\text{g C g}^{-1}$ , rispettivamente). L'ammontare più contenuto di BPC negli ultimi 3 campionamenti è risultato imputabile a concentrazioni mediamente più contenute sia di PRT ( $384.0 \mu\text{g C g}^{-1}$  rispetto al valore medio calcolato da Mar15 a Dec16 e pari a  $437.4 \mu\text{g C g}^{-1}$ ) che di LIP ( $606.8 \mu\text{g C g}^{-1}$  rispetto al valore medio calcolato da Mar15 a Dec16 e pari a  $791.5 \mu\text{g C g}^{-1}$ ). Mentre per PRT un pattern stagionale è stato in parte osservato, le altre frazioni biopolimeriche hanno presentato un'evidente variabilità. Nel corso dello studio, le concentrazioni di Chl *a* invece

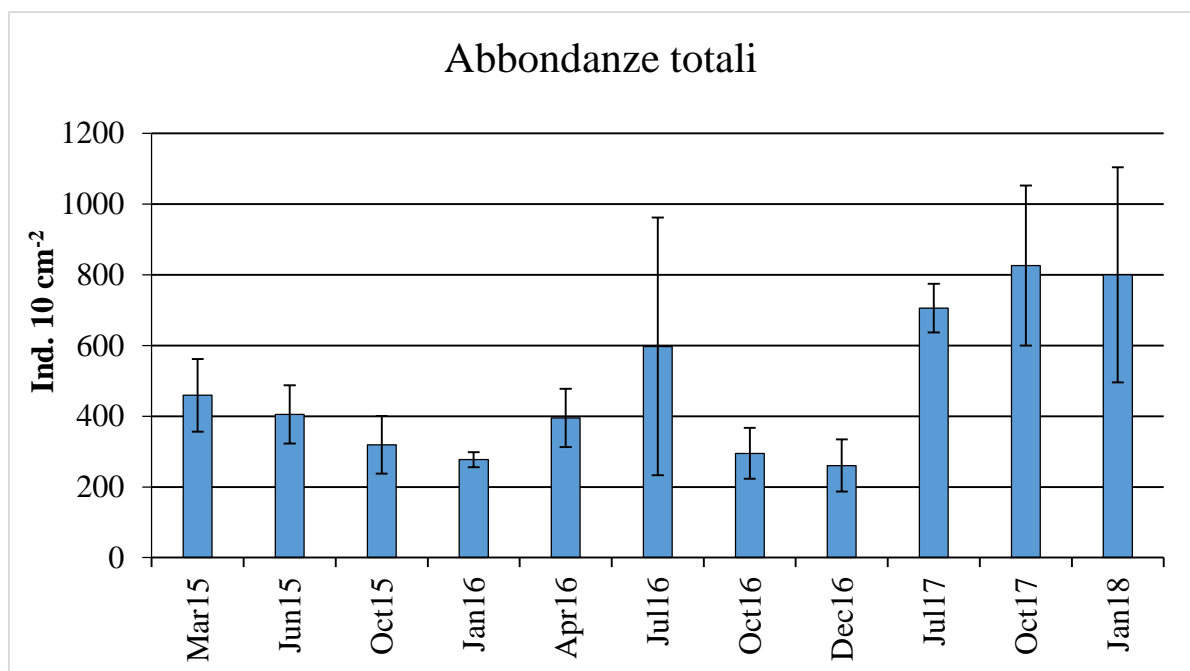
hanno messo in evidenza un pattern temporale abbastanza chiaro, caratterizzato da minimi invernali (Jan16,  $2.6 \pm 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ ; Dec16,  $4.3 \pm 0.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ), massimi estivi ( $>12 \mu\text{g g}^{-1}$  in Jun15 e Jul17) e valori intermedi nei campionamenti di aprile ed ottobre. Deviazioni da tale pattern generale sono state osservate in Oct15, per il valore molto contenuto ( $3.8 \pm 0.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ), in Jul16, per la concentrazione decisamente inferiore a quella degli altri campionamenti estivi, e in Jan18 dal momento che, sebbene invernale, ha presentato concentrazioni piuttosto elevate ( $6.0 \pm 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$ ). I feopigmenti hanno rispecchiato in larga misura l'andamento di Chl *a* con minimi e massimi in inverno ( $12.3 \pm 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$  in Dec16) ed in estate ( $>32 \mu\text{g g}^{-1}$ ), rispettivamente. Anche per questa variabile ambientale Jan18 ha presentato concentrazioni piuttosto elevate e comparabili con campionamenti sia primaverili che autunnali ( $>25 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

**Tabella 1.** Variabili ambientali misurate al fondo (temperatura) o nel sedimento superficiale (0-1 cm) nel periodo Mar15-Jan18. Temp = Temperatura; TN = azoto totale; TOC = carbonio organico totale; CHO-H<sub>2</sub>O = carboidrati colloidali estratti in acqua; CHO-EDTA = carboidrati estratti in EDTA; PRT = proteine; LIP = lipidi; BPC = carbonio biopolimerico; Chl *a* = Clorofilla *a*; Phaeo = feopigmenti.

	Temp °C	TN mg N g <sup>-1</sup>	TOC mg C g <sup>-1</sup>	CHO-H <sub>2</sub> O µg C g <sup>-1</sup>	CHO-EDTA µg C g <sup>-1</sup>	PRT µg g <sup>-1</sup>	LIP µg g <sup>-1</sup>	BPC µg C g <sup>-1</sup>	Chl <i>a</i> µg g <sup>-1</sup>	Phaeo µg g <sup>-1</sup>
Mar15	10	1.7 ± 0.0	13.1 ± 0.1	87.5 ± 2.2	226.0 ± 12.7	691.4 ± 13.7	823.8 ± 50.1	1828.7	8.7 ± 0.3	25.3 ± 1.9
Jun15	19.5	1.7 ± 0.0	15.1 ± 0.3	144.2 ± 0.3	274.6 ± 10.1	444.9 ± 19.5	954.5 ± 55.7	1818.4	13.4 ± 0.7	32.4 ± 2.0
Oct15	17.4	1.4 ± 0.0	12.4 ± 0.1	76.1 ± 2.1	253.4 ± 1.3	613.6 ± 10.6	748.5 ± 26.9	1691.7	3.8 ± 0.1	25.1 ± 0.3
Jan16	9.45	1.5 ± 0.0	12.9 ± 0.0	93.7 ± 3.4	267.3 ± 6.1	322.1 ± 18.8	1067.78 ± 30.7	1750.2	2.6 ± 0.3	21.4 ± 2.3
Apr16	13.1	1.3 ± 0.0	12.5 ± 0.2	102.6 ± 1.2	308.7 ± 19.6	316.3 ± 14.4	662.5 ± 30.1	1390.1	10.6 ± 0.2	23.4 ± 0.2
Jul16	22	1.6 ± 0.0	13.3 ± 0.0	129.9 ± 2.1	325.2 ± 8.5	462.5 ± 30.2	921.3 ± 34.1	1838.8	7.9 ± 0.1	28.3 ± 0.3
Oct16	18.7	1.5 ± 0.0	12.7 ± 0.1	119.4 ± 6.3	94.4 ± 2.5	419.1 ± 23.6	705.9 ± 37.8	1338.8	14.4 ± 0.1	29.5 ± 0.2
Dec16	13	1.1 ± 0.0	9.9 ± 0.2	47.7 ± 2.1	274.01 ± 4.3	231.8 ± 7.9	447.9 ± 78.1	1001.5	4.3 ± 0.1	12.3 ± 0.2
Jul17	17.7	1.6 ± 0.0	13.5 ± 0.0	147.9 ± 1.6	420.3 ± 1.1	470.9 ± 24.2	479.5 ± 30.2	1518.6	14.7 ± 0.2	34.9 ± 0.1
Oct17	19.2	1.4 ± 0.0	12.6 ± 0.1	96.4 ± 2.5	411.5 ± 6.1	385.8 ± 0.9	581.6 ± 22.7	1475.3	11.0 ± 0.3	33.1 ± 1.8
Jan18	10.9	1.3 ± 0.0	12.2 ± 0.1	80.8 ± 0.6	386.3 ± 11.1	295.4 ± 10.2	759.2 ± 55.6	1521.7	6.0 ± 0.2	25.1 ± 0.5

## 4.2 Analisi tassonomica dei nematodi

Nel corso del triennio 2015-2018, l'abbondanza dei nematodi è variata da  $260.6 \pm 73.9$  ind.  $10 \text{ cm}^{-2}$  a  $826.1 \pm 226.5$  ind.  $10 \text{ cm}^{-2}$  in Dec16 e Oct17, rispettivamente (Figura 2). Sebbene la PERMANOVA abbia evidenziato significative variazioni di abbondanza (Tabella 2), un chiaro pattern temporale, caratterizzato da un popolamento più numeroso in estate rispetto all'inverno, non è risultato individuabile dalle comparazioni *pair-wise* (Figura 3, Appendice 3). Ciononostante i campionamenti del 2017 (Jul17 e Oct17) hanno presentato valori di abbondanza complessivamente e significativamente più elevati rispetto alle osservazioni antecedenti e comparabili con Jan18 che infatti non è risultato statisticamente diverso da Jul17 e Oct17 in termini di abbondanza totale dei nematodi. Dal momento che le comparazioni *pair-wise* tra campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno - luglio) nell'arco dei tre anni sono risultate generalmente non significative, una scarsa variabilità interannuale ha caratterizzato le Abbondanze Totali dei nematodi almeno per quanto riguarda quei periodi dell'anno (Figura 3).



**Figura 2.** Abbondanze totali dei nematodi (valore medio  $\pm$ SD) calcolati sull'intero periodo di campionamento.

**Tabella 2.** Output della PERMANOVA *main test* condotta sulla matrice dei generi e sulle principali metriche utilizzate per i nematodi. Abu medie = Abbondanze medie; d = ricchezza; H' = Indice di Shannon; EG(51) = numero di generi atteso; MI = Indice di Maturità; ITD = Indice di Diversità Trofica. df = degree of freedom; SS = Sum of Squares; MS = Mean Squares.



	Source	Df	SS	MS	Pseudo-F	P (Perm)
<b>Abbondanza</b>	Mese	10	1.26E+06	1.26E+05	3.7614	<b>0.0107</b>
	Residual	19	6.34E+05	33371		
	Total	29	1.89E+06			
<i>Genera composition</i>	Mese	10	19967	1996.7	2.8535	<b>0.0001</b>
	Residual	19	13295	699.75		
	Total	19	13295	699.75		
<b>d</b>	Mese	10	35.553	0.35553	1.4588	0.2309
	Residual	19	46.304	0.24371		
	Total	29	81.857			
<b>H'</b>	Mese	10	31.549	0.31549	3.0756	<b>0.0164</b>
	Residual	19	1.949	0.10258		
	Total	29	51.038			
<b>EG (51)</b>	Mese	10	48.747	4.8747	1.5723	0.1852
	Residual	19	58.909	3.1005		
	Total	29	107.66			
<b>MI</b>	Mese	10	0.76744	0.076744	5.5493	<b>0.0015</b>
	Residual	19	0.26276	0.01383		
	Total	29	10.302			
<b>ITD</b>	Mese	10	0.2186	0.02186	5.5	<b>0.0011</b>
	Residual	19	0.075516	0.0039745		
	Total	29	0.29411			

ABU	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											
Genera	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											
H'	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											
MI	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											

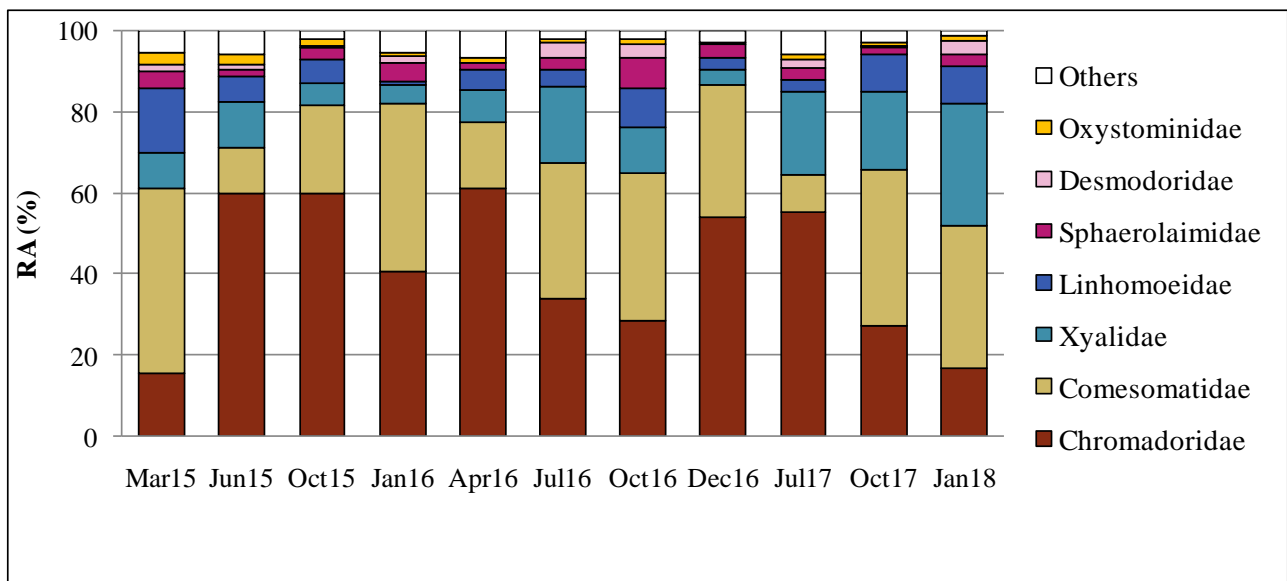
ITD	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15	Red										
Oct15	Red	Grey									
Jan16	Yellow	Grey	Grey								
Apr16	Orange	Grey	Grey	Grey							
Jul16	Yellow	Yellow	Orange	Grey	Yellow						
Oct16	Grey	Grey	Yellow	Grey	Grey	Grey					
Dec16	Yellow	Grey	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey				
Jul17	Red	Yellow	Orange	Grey	Yellow	Grey	Grey	Grey			
Oct17	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey		
Jan18	Grey	Grey	Yellow	Grey	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	

**Figura 3.** Output della PERMANOVA *pair-wise* condotta sulla matrice dei generi e sulle principali metriche utilizzate per i nematodi. ABU = Abbondanze medie; H' = Indice di Shannon; MI = Indice di Maturità; ITD = Indice di Diversità Trofica; grigio = non significativo; giallo =  $P < 0.05$ ; arancione =  $P < 0.01$ ; rosso =  $P < 0.001$

Per quanto riguarda la composizione tassonomica del popolamento, nel corso dello studio sono stati osservati un totale di 56 generi appartenenti a 24 famiglie (Appendice 2). Costituendo mediamente l'83.4% dell'intera comunità, Chromadoridae, Comesomatidae e Xyalidae sono risultate chiaramente le famiglie dominanti in tutti i campionamenti ed hanno presentato abbondanze relative medie pari a 41.3%, 29.2% e 12.9%, rispettivamente (Figura 4). Mentre per solo altre 4 famiglie sono state calcolate abbondanze relative medie superiori all'1% (Linhomoeidae, 6.5%; Sphaerolaimidae, 3.4%; Desmodoridae, 1.7%; Oxistominidae, 1.3%), per quelle rimanenti i valori sono risultati così contenuti da costituire nella loro totalità solo il 3.7% del popolamento. Quella dei Chromadoridae è risultata la famiglia caratterizzata dal maggior numero di generi (9): *Actinonema*, *Chromadorina*, *Chromadorita*, *Dichromadora*, *Euchromadora*, *Prochromadorella*, *Pseudochromadora*, *Ptycholaimellus* e *Spilophorella*. Comesomatidae e Xyalidae, invece, erano costituiti da 7 e da 6 generi, rispettivamente.

Queste tre famiglie dominanti hanno presentato una diversa variabilità temporale nel corso del triennio 2015-2018. Sebbene le Abbondanze Relative minime dei Chromadoridae siano state osservate in Mar15 (15.8%) ed in Jan18 (16.8%), non tutti i campionamenti invernali hanno presentato % così contenute. Ad esempio, in Dec16 questa famiglia costituiva il 54% dell'intera popolamento. Analogamente, le abbondanze relative massime non sono state osservate in un particolare periodo dell'anno ma in Apr16 (61.2%), Jun15 (60.1%) e Oct15 (60.0%). I Comesomatidae hanno presentato % comprese tra 16.3% (Apr16) e 45.2% (Mar15), con l'eccezione di due minimi osservati nei campionamenti estivi di Jul17 (9.3%) e Jun15 (11.2%). Sebbene siano

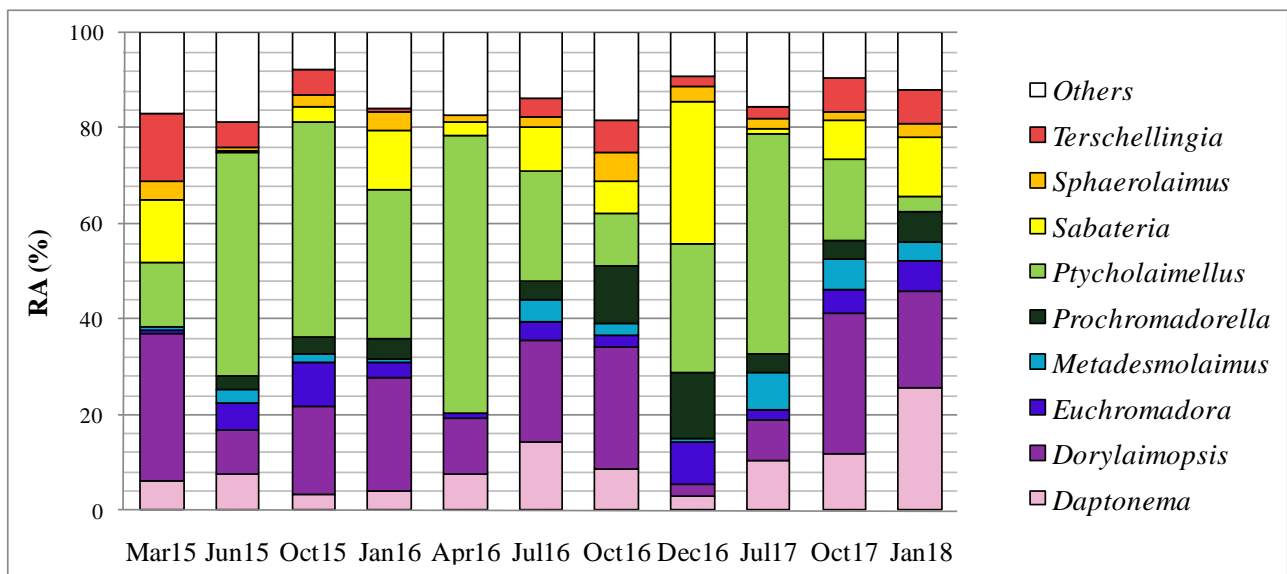
state osservate abbondanze relative >10% solo in Jun15, Jul16 e Oct16, i nematodi appartenenti alla famiglia degli Xyalidae hanno presentato un chiaro aumento della loro numerosità a partire da Jul17.



**Figura 4.** Abbondanze relative (%) delle 7 famiglie dominanti osservate nel corso del triennio Mar15-Jan18.

Costituendo mediamente il 66.0% dell'intera comunità, *Ptycholaimellus*, *Dorylaimopsis*, *Sabatieria* e *Daptonema* sono risultati chiaramente i generi dominanti in tutti i campionamenti ed hanno presentato abbondanze relative medie pari a 29.3%, 18.3%, 9.0% e 9.4%, rispettivamente (Figura 5). Questi generi hanno rispecchiato, in parte, i pattern osservati per le famiglie di appartenenza presentando una diversa variabilità temporale nel corso del triennio 2015-2018. Con abbondanze relative comprese tra 3.2% (Jan18) e 58.1% (Apr16), *Ptycholaimellus* ha mostrato tendenzialmente una maggiore numerosità nei campionamenti estivi come Jun15 (46.8%) e Jul17 (46.0%) con l'eccezione del 2016, anno in cui questo genere ha costituito più del 50% del popolamento in aprile per poi decrescere nel campionamento successivo (Jul16, 22.9%). Con l'esclusione di Dec16, *Dorylaimopsis*, il secondo genere dominante, ha presentato abbondanze relative attorno o inferiori al 10% in estate come Jun15 (9.3%) e Jul17 (8.4%) e una numerosità tendenzialmente maggiore negli altri campionamenti. In complementarietà al pattern di *Ptycholaimellus*, *Dorylaimopsis* ha costituito solo il 12.0% del popolamento in Apr16. L'altro genere dominante appartenente alla famiglia dei Comesomatidae è risultato essere *Sabatieria*. Similmente a quanto osservato per *Dorylaimopsis*, *Sabatieria* ha presentato % contenute (<1%) in estate (Jun15 e Jul17) e superiori al 12% in inverno, in particolare in Dec16 (29.9%). *Daptonema*, infine, non ha

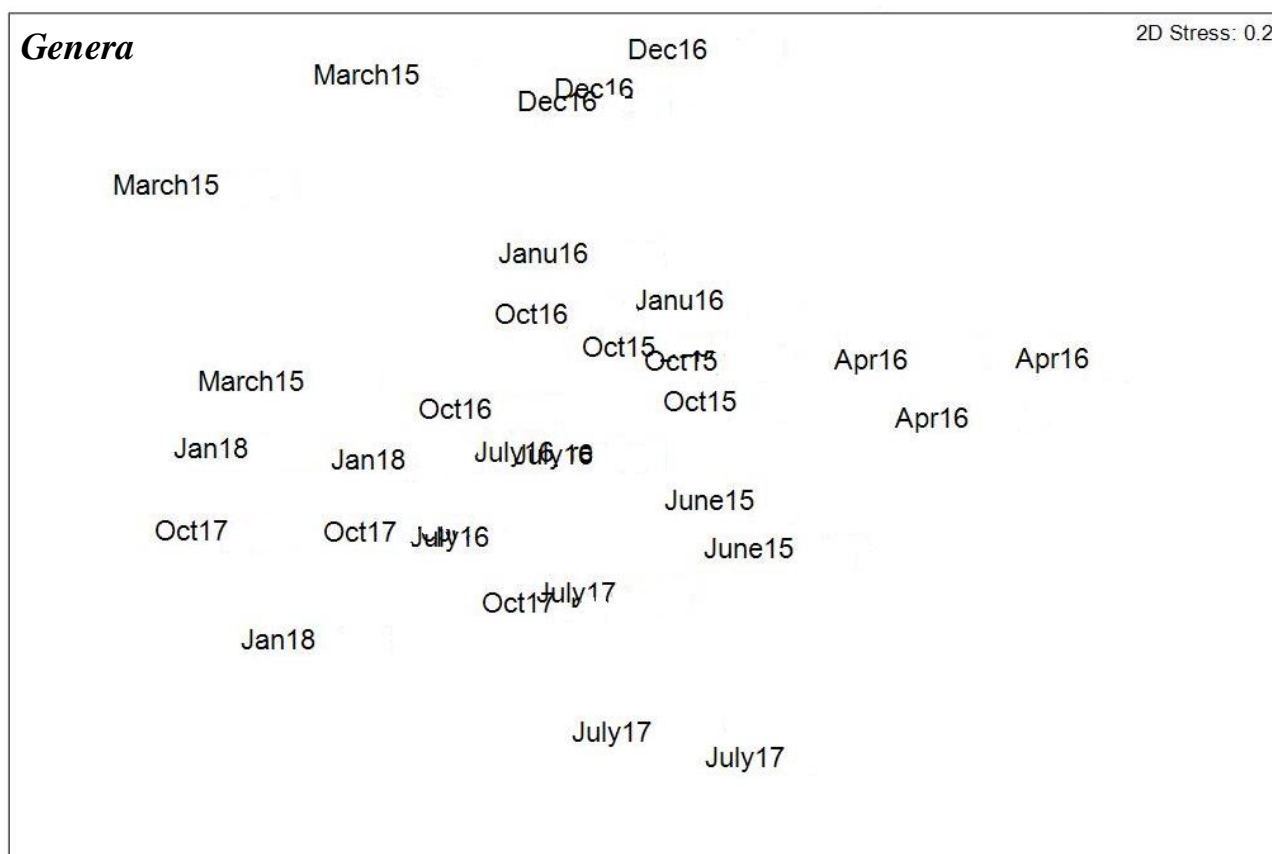
mostrato un chiaro pattern stagionale mentre un incremento della numerosità ascrivibile a questo genere (>10%) è stata osservata a partire da Jul17 fino a raggiungere il 25.8% in Jan18.



**Figura 5.** Abbondanze Relative (%) dei generi dominanti osservati nel corso del triennio Mar15-Jan18.

La mancanza di significatività dell'output dell'analisi PERMDISP condotta sulle abbondanze dei generi ha indicato come nei vari campionamenti del triennio 2015-2018 la distribuzione dei dati fosse simile ( $F=3.5518$ ,  $P=0.2652$ ). Al contrario, i risultati della PERMANOVA hanno suggerito nel complesso significative differenze nella composizione tassonomica nel corso dello studio e, più precisamente, tra specifiche coppie di campionamenti messe a confronto (Tabella 2 e Figura 3). Le comparazioni *pair-wise* hanno messo in evidenza ad esempio che la composizione della comunità in Apr16 e in Dec16 si è discostata da quella osservata negli altri campionamenti, risultato confermato anche dall'analisi SIMPER (Appendice 4). Come anche indicato da quest'ultima, infatti, le dissimilarità maggiori hanno riguardato il confronto di Apr16 e di Dec16 con gli altri campionamenti. Per quanto riguarda Apr16, l'elevata abbondanza di *Ptycholaimellus* concomitante con la pressoché assenza di *Terschellingia* e *Metadesmolaimus*, ha reso il popolamento di questo campionamento significativamente diverso dagli altri. Similmente, i nematodi di Dec16 si discostano dalle altre osservazioni per le numerosità non trascurabili di Chromadoridae diversi da *Ptycholaimellus* (*Euchromadora* e *Prochromadorella*) e da *Sabatieria*. Una certa variabilità interannuale è stata messa in evidenza dalla significatività tra campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno-luglio) nel corso dei tre anni di studio (Figura 3). La composizione del popolamento in Jun15 e Jul17 è risultata dissimile per le

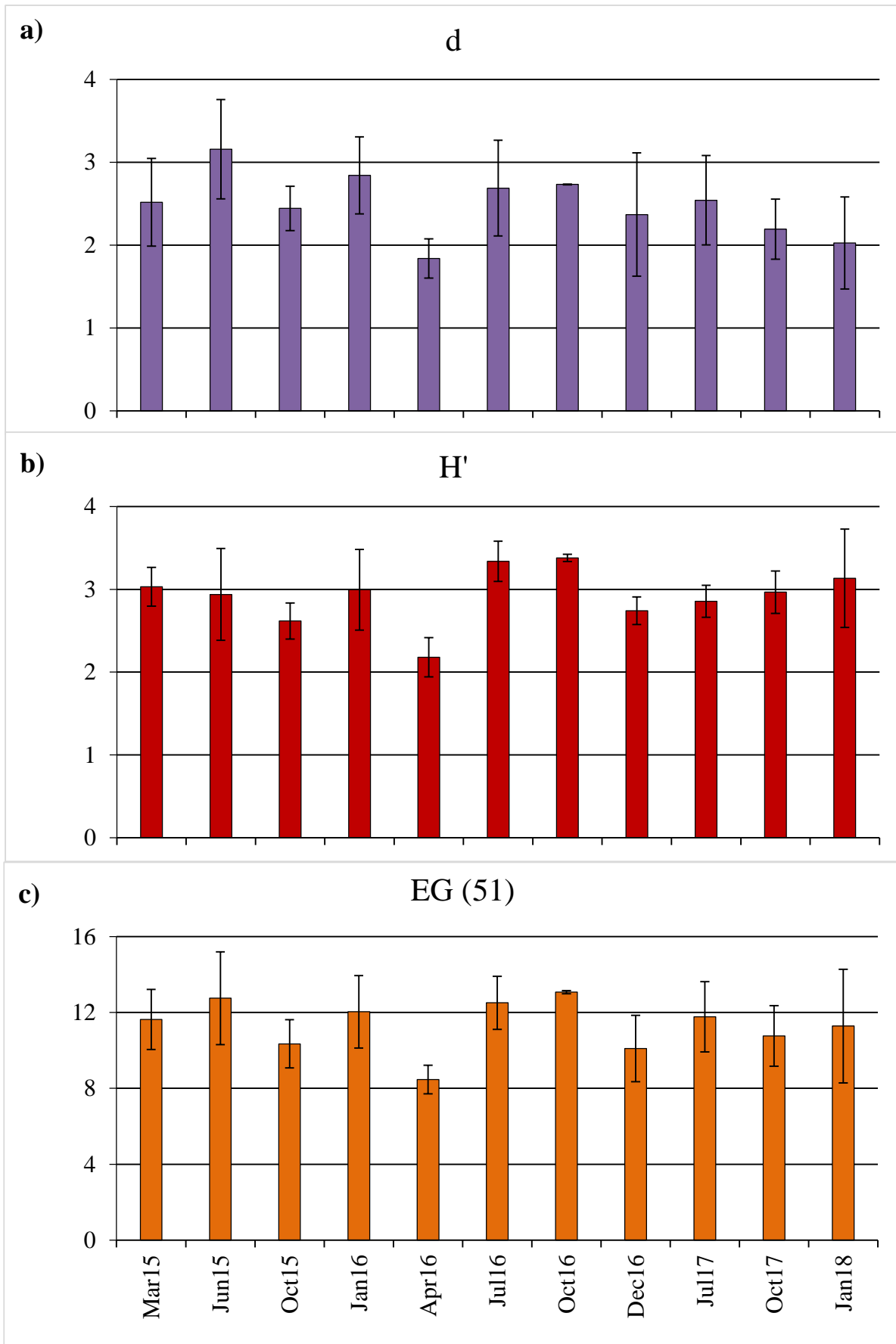
abbondanze maggiori di *Ptycholaimellus*, *Daptonema* e *Metadesmolaimus* nel 2017 e per quelle più elevate di *Euchromadora*, *Chromadorina* e *Terschellingia* nel 2015. La variabilità interannuale è risultata tuttavia più accentuata comparando i campionamenti svolti nel mese di ottobre, come evidenziato dalla significatività tra Oct17 e Oct15 e tra Oct17 e Oct16 (Figura 3). La composizione del popolamento in Oct17 si è discostata da Oct15 e Oct16 per la generale maggiore abbondanza di generi appartenenti alle famiglie Comesomatidae (*Dorylaimospis* e *Sabatieria*) e Xyalidae (*Daptonema* e *Metadesmolaimus*). In Figura 6, l'nMDS riassume graficamente i risultati della PERMANOVA: Apr16 e Dec16 sono posizionati rispettivamente a destra e nella parte alta del plot mentre le repliche degli ultimi 3 campionamenti si concentrano preferenzialmente in basso a sinistra e solo in parte si sovrappongono ad altri campionamenti (Jul16).



**Figura 6.** Non-parametric multidimensional scaling (nMDS) basato sull'abbondanza dei generi.

Per quanto riguarda le principali metriche utilizzate per i nematodi, i valori di ricchezza tassonomica (d) sono variati da un minimo di  $1.8 \pm 0.2$  (Apr16) ad un massimo di  $3.1 \pm 0.6$  (Jun15) mentre quelli di H' da  $2.2 \pm 0.2$  (Apr16) a  $3.4 \pm 0.0$  (Oct16) (Figura 7a,b). Analogamente, EG(51) è variato tra  $8.5 \pm 0.8$  (Apr16) e  $13.1 \pm 0.1$  (Oct16) (Figura 7c). Il popolamento in Apr16 ha mostrato quindi una diversità minore per tutti i sopradetti indici, sebbene una significatività statistica sia

stata ottenuta solo per  $H'$  (Tabella 2). Il confronto *pair-wise* condotto sugli output di quest'ultimo ha messo in evidenza che non solo il popolamento di Apr16 ma anche quello di Oct15 presentava una diversità significativamente minore di quella osservata in Jul16 e Oct16 (Figura 3, Appendice 3). Questi output hanno messo in evidenza pertanto anche una certa variabilità interannuale per i campionamenti svolti nel mese di ottobre di tutti e tre gli anni di studio dal momento che hanno messo in evidenza la presenza di un popolamento più biodiverso nel 2016 rispetto all'anno precedente. Analoghi risultati non sono stati invece osservati per quanto riguarda il confronto tra Jun15, Jul16 e Jul17.



**Figura 7.** Valori medi ( $\pm$ SD) calcolati sull'intero periodo di campionamento. a) d = ricchezza; b) H' = Indice di Shannon; c) ES(51)=numero di generi atteso.



Compresi tra  $2.3 \pm 0.1$  in Jan18 e  $2.8 \pm 0.0$  in Apr16 (Figura 8a), i valori di MI hanno presentato una variabilità significativa nel triennio 2015-2018 (Tabella 2; Figura 3; Appendice 3). Gli output della comparazioni *pair-wise* hanno messo in evidenza che i popolamenti di Jun15, Oct15, Apr16, Jul17 erano caratterizzati da una comunità più matura rispetto a quanto osservato in Jul16, Oct16, Oct17 e Jan18. Pertanto, per MI una variabilità interannuale è stata osservata sia per i campionamenti svolti in giugno/luglio sia per quelli svolti in ottobre: Jul16 e Oct16 hanno presentato valori di MI significativamente più bassi rispetto agli stessi ma dell'anno precedente (2015) o successivo (2017). Con l'eccezione del minimo di ITD calcolato in Mar15 ( $0.3 \pm 0.0$ ), la seconda metà dello studio ha presentato valori leggermente inferiori rispetto a quanto osservato da Jun15 ad Apr16 (Figura 8b). Questo si è rispecchiato anche negli output della PERMANOVA (Tabella 2, Appendice 3) dal momento che nella comparazione *pair-wise* è emerso chiaramente che il popolamento da Jun15 a Apr16 ha presentato valori di ITD significativamente più elevati rispetto ai campionamenti successivi (Figura 3). Questo output ha messo in evidenza una certa variabilità interannuale. Il popolamento di Jun15 ha presentato, infatti, una diversità trofica maggiore rispetto a Jul16 e Jul17 e, analogamente, anche Oct15 è risultato caratterizzato da valori di ITD significativamente maggiori di quelli di Oct16.



**Figura 8.** Valori medi ( $\pm$ SD) calcolati sull'intero periodo di campionamento. a) MI = Indice di Maturità; b) ITD = Indice di Diversità Trofica.

L'analisi DISTLM condotta sulle principali variabili ambientali campionate sinotticamente ai nematodi non ha messo in evidenza nessuna variabile che possa aver significativamente influenzato la composizione tassonomica del popolamento durante il triennio 2015-2018 (Tabella 3).

**Tabella 3.** Risultati dell'analisi DISTLM condotta sulle abbondanze dei generi. F= F statistic; SS = mean square

SEQUENTIAL TESTS						
Variable	Adj R <sup>2</sup>	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.	Cumul.
TOC	0.0566	1186.9	1.6	0.0962	0.15094	0.15094
Phaeo	0.10767	1063.1	1.515	0.1323	0.13519	0.28613
TN	0.099113	1009.3	1.4247	0.2028	0.12835	0.27929
C-LIP	0.21007	870.68	1.4017	0.2184	0.11072	0.52604
C-CHO-EDTA	0.14923	984.3	1.4713	0.1759	0.12517	0.40446

### 4.3 Analisi dei tratti biologici

La mancanza di significatività dei risultati dell'analisi PERMIDIP condotta sia sui tratti singoli che combinati ha messo in evidenza come, nel complesso, i diversi campionamenti fossero caratterizzati da simili distribuzioni dei dati (Tabella 4). Al contrario, nel corso del triennio 2015-2018, sono state osservate differenze significative tra i campionamenti come indicato dagli output della PERMANOVA in Tabella 5.

**Tabella 4.** Output dell'analisi PERMDISP condotta sulle matrici dei tratti singoli e su quella della BTA.

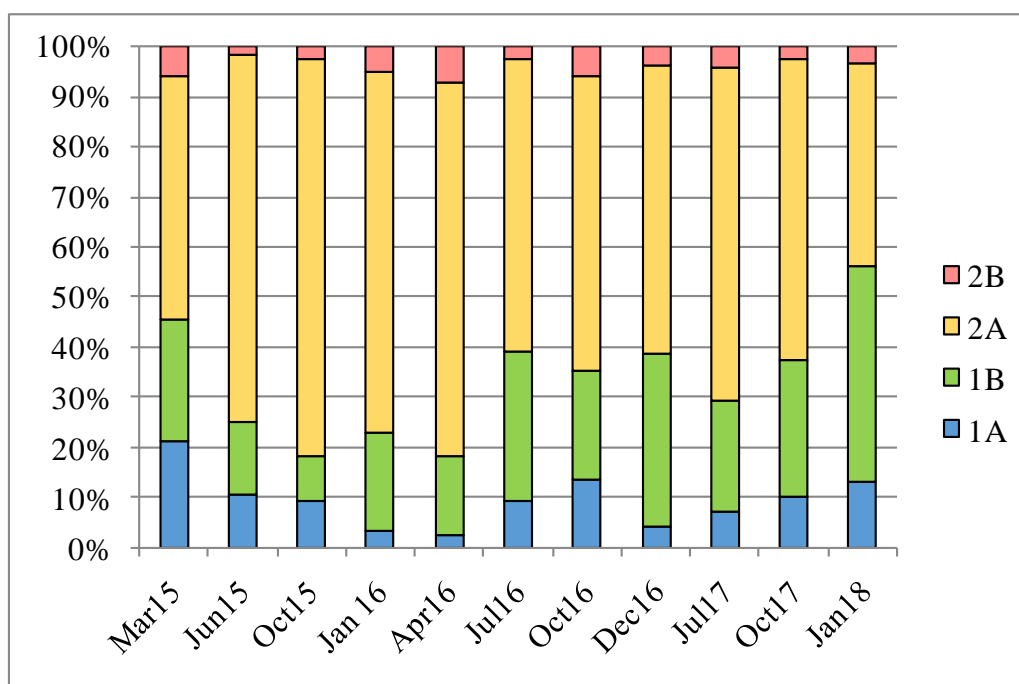
	F	P(perm)
<i>Feeding type</i>	2.152	0.5256
<i>Life strategy</i>	2.6857	0.3216
<i>Tail shape</i>	2.2476	0.4074
<i>Body length</i>	1.5196	0.8182
<i>Body shape</i>	1.817	0.6176
<i>BTA</i>	2.398	0.5103

**Tabella 5.** Output della PERMANOVA *main test* relativa ai tratti biologici presi singolarmente e combinati nella BTA. df = degree of freedom; SS = Sum of Squares; MS = Mean Squares

	Source	Df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)
<i>Feeding type</i>	Mese	10	4363.2	436.32	4.2585	<b>0.0001</b>
	Residual	19	1946.7	102.46		
	Total	29	6309.9			
<i>Life strategy</i>	Mese	10	4096.2	409.62	4.7831	<b>0.0001</b>
	Residual	19	1627.2	85.641		
	Total	29	5723.4			
<i>Tailshape</i>	Mese	10	5245.6	524.56	4.1176	<b>0.0001</b>
	Residual	19	2420.5	127.4		
	Total	29	7666.1			
<i>Body length</i>	Mese	10	5009.4	500.94	4.0252	<b>0.0001</b>
	Residual	19	2364.6	124.45		
	Total	29	7374			
<i>Body shape</i>	Mese	10	5226	522.6	3.548	<b>0.0001</b>
	Residual	19	2798.6	147.29		
	Total	29	8024.6			
<b>BTA</b>	Mese	10	4644	464.4	4.1633	<b>0.0001</b>
	Residual	19	2119.4	111.55		
	Total	29	6763.4			

Per quanto riguarda il tratto *Feeding type*, i nematodi appartenenti ai gruppi trofici 2A (*epigrowth feeders*) e 1B (*non-selective deposit feeders*) sono risultati i più numerosi durante l'intero periodo dello studio dal momento che hanno rappresentato in media il 62.9% e il 23.4%, rispettivamente (Figura 9, Appendice 4). Sebbene abbiano costituito sempre la frazione dominante del popolamento, i nematodi 2A sono risultati leggermente meno numerosi nel periodo invernale come Jan18e Mar15, campionamenti per i quali sono state osservate le percentuali minime di questo gruppo trofico (42.3 e 47.8%, rispettivamente). Con l'esclusione di Mar15, questi nematodi hanno rappresentato più del 70% dell'intero popolamento fino ad Apr16 per poi decrescere leggermente (abbondanza relativa media pari a 57%) da Jul16 fino a Jan18. Al contrario, i depositivori non selettivi (1B) hanno presentato delle percentuali minori (Abbondanza Relativa media pari al 16%)

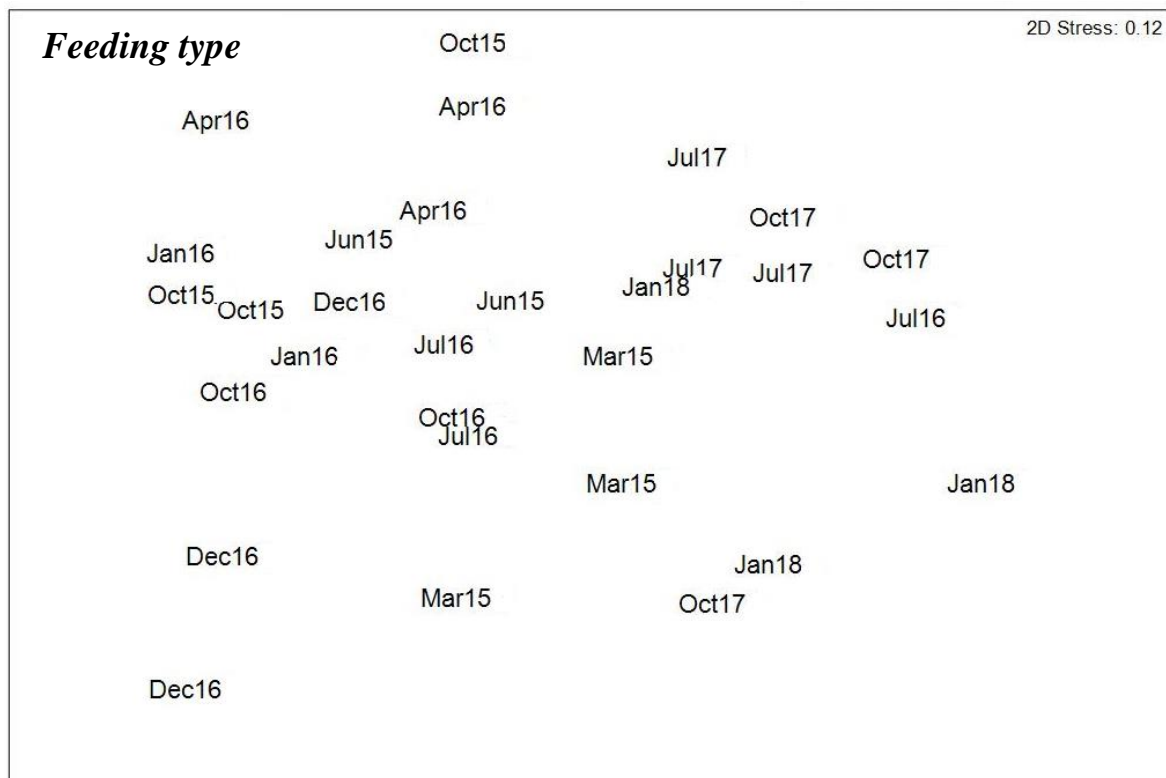
durante la prima parte dello studio, specialmente in Jun15 e Oct15, per poi aumentare da Jul16 a Jan18 (AbbondanzaRelativa media pari a 29%). Le comparazioni *pair-wise* della PERMANOVA hanno messo in evidenza come tali differenze fossero significative. Nel complesso, gli output indicano che la composizione trofica del popolamento di Mar15 e degli ultimi tre campionamenti, caratterizzata da percentuali relativamente maggiori di depositivori (1A e 1B) fosse significativamente diversa da quella osservata nella maggior parte degli altri campionamenti, in particolare da quelli del 2016 (Figura10, Appendice 4). La comparazione dei campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno/luglio) in tutti e tre gli anni dello studio ma messo in evidenza una variabilità interannuale caratterizzata dalla dominanza di nematodi 2A nel 2015 seguita da un graduale incremento dei depositivori non selettivi nel 2017. L'ordinamento nMDS basato su questo tratto biologico riassume graficamente i risultati della PERMANOVA dal momento che le repliche afferenti a Mar15, Jul17, Oct17 e Jan18 sono posizionate nella metà destra del plot mentre tutti gli altri campionamenti sono distribuiti a sinistra (Figura 11).



**Figura 9.** Percentuali dei 4 gruppi trofici (Wieser, 1953) utilizzati per il tratto biologico *Feeding type* nel triennio Mar15-Jan18. 1A= depositivori selettivi; 1B= depositivori non-selettivi; 2A= erbivori; 2B= onnivori/predatori.

Feeding type	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											

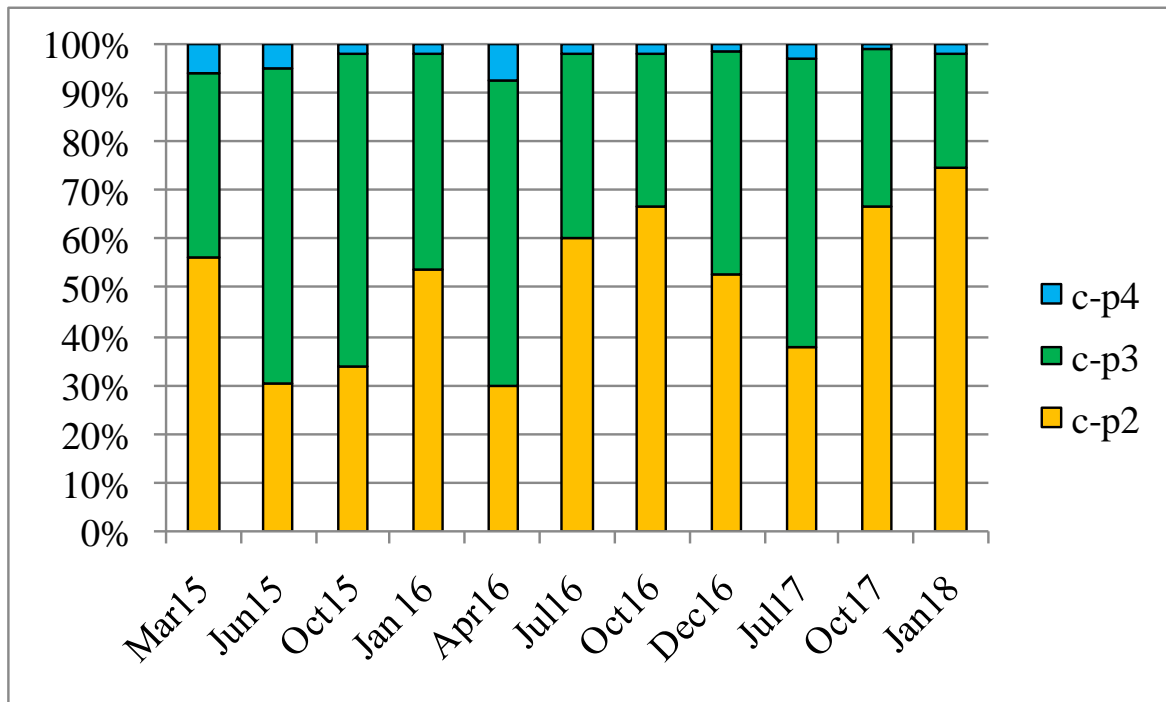
**Figura 10.** Output della PERMANOVA *pair-wise* relativo alla matrice di abbondanza per il tratto *Feeding type*. grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$



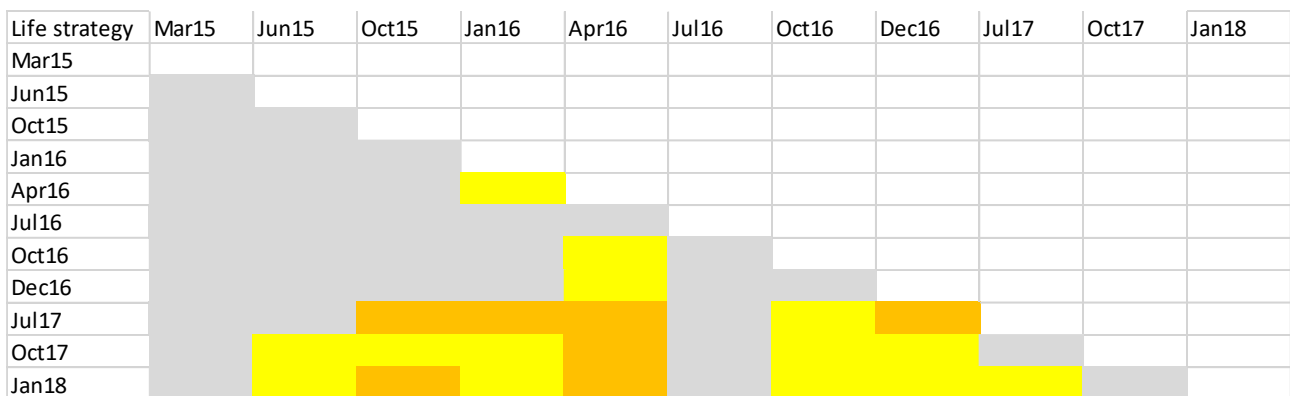
**Figura 11.** *Non-parametric multidimensional scaling* (nMDS) basato sul tratto *Feeding type*.

Per quanto riguarda il tratto *Life strategy*, i nematodi appartenenti alle classi c-p2 e c-p3 hanno costituito più del 90% del popolamento in tutti i campionamenti mentre organismi appartenenti alle classi c-p1 e c-p5 non sono stati osservati nel corso dello studio (Figura 12, Appendice 5). Nel complesso, i nematodi c-p2 hanno presentato percentuali minori nei campionamenti estivi o tardo-estivi (Jun15, Oct15 e Jul17) mentre hanno costituito più del 50% del popolamento in autunno-inverno. Nel corso del 2016 questo pattern generale è risultato leggermente

anticipato, dal momento che il minimo di c-p2 è stato osservato in Apr16 invece che in Jul16. Nel 2017, invece, alla percentuale relativamente bassa di Jul17 (37.9%) è seguito un cospicuo incremento in Oct17 (66.4%) per poi raggiungere la percentuale massima in Jan18 (74.8%). Gli organismi appartenenti alla classe c-p3, invece, hanno presentato un andamento complementare, caratterizzato pertanto da percentuali maggiori durante i campionamenti estivi (come Jun15, 7.0% e Jul17, 6.8%) e minori durante quelli invernali (Jan18, 3.2%). Anche in questo caso, questo pattern generale è risultato leggermente anticipato nel corso del 2016 dal momento che il valore massimo di c-p3 ha caratterizzato Apr16 (62.6%) e non Jul16 (37.8%). Le comparazioni *pair-wise* della PERMANOVA hanno messo in evidenza solo parzialmente una significatività per quanto riguarda le differenze sopradescritte. I campionamenti estivi (Jun15 e Jul17) ed Apr16 sono risultati solo in parte diversi da quelli invernali. L'anomala composizione osservata negli ultimi 3 campionamenti dello studio è risultata abbastanza accentuata da rendere meno evidente il pattern stagionale caratterizzato da c-p3 numerosi in estate e c-p2 numerosi in inverno (Figura 13 e Appendice 5). Una variabilità interannuale è stata osservata solo paragonando i campionamenti svolti nei mesi di ottobre del triennio. Mentre il popolamento di Oct17 si è discostato significativamente da Oct16 per differenze principalmente legate alla maggiore numerosità degli organismi, nel confronto con Oct15, queste sono state anche associate ad una percentuale più elevata di c-p2. In accordo con i risultati della comparazione *pair-wise* della PERMANOVA, nell'ordinamento nMDS le repliche di Jun15 e Jul17 sono disposte nella parte superiore del plot, vicino a quelle di Oct15 e di Apr16, campionamento quest'ultimo che infatti ha presentato una composizione del popolamento per il tratto *Life strategy* molto simile a quella osservata in estate (Figura 14, Appendice 5). Allo stesso tempo l'ordinamento ha messo in evidenza l'anomala composizione degli ultimi tre campionamenti, posizionandoli nella parte destra del plot ed in prossimità di Mar15.

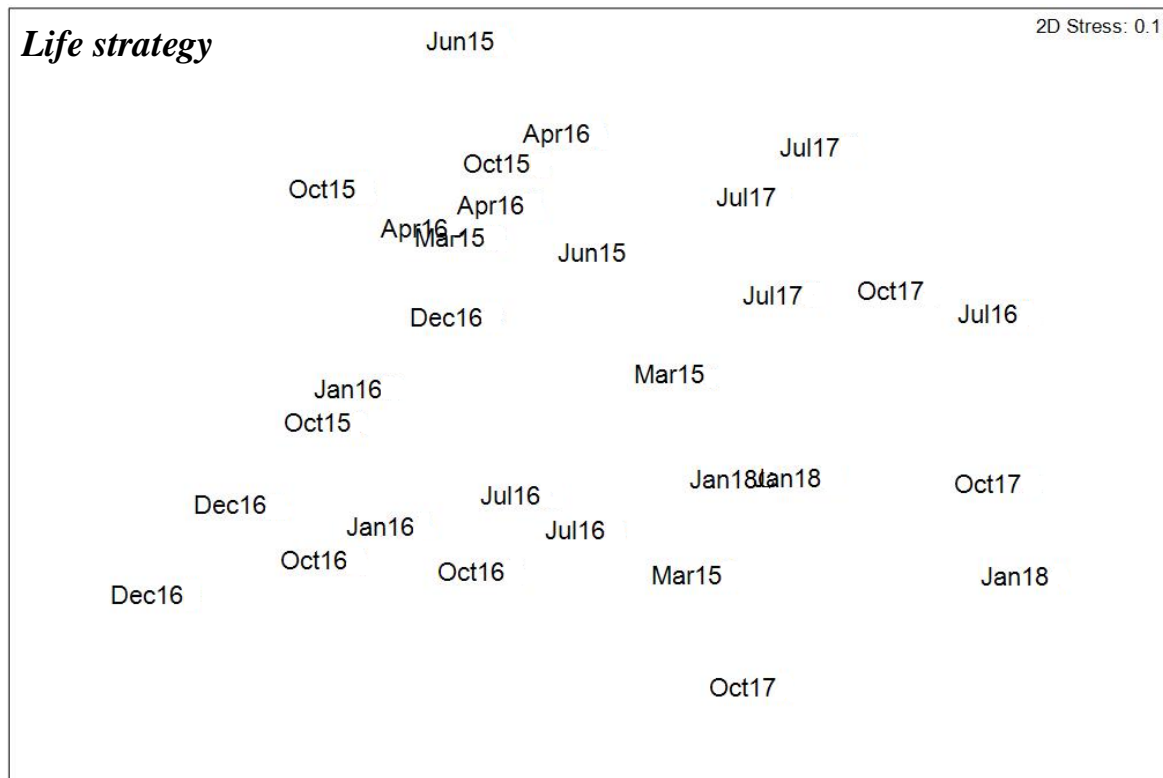


**Figura 12.** Percentuali dei gruppi c-p utilizzati per il tratto biologico *Life strategy* nel triennio Mar15-Jan18.



**Figura 13.** Output della PERMANOVA *pair-wise* relativo alla matrice di abbondanza per il tratto *Life strategy*. Grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$

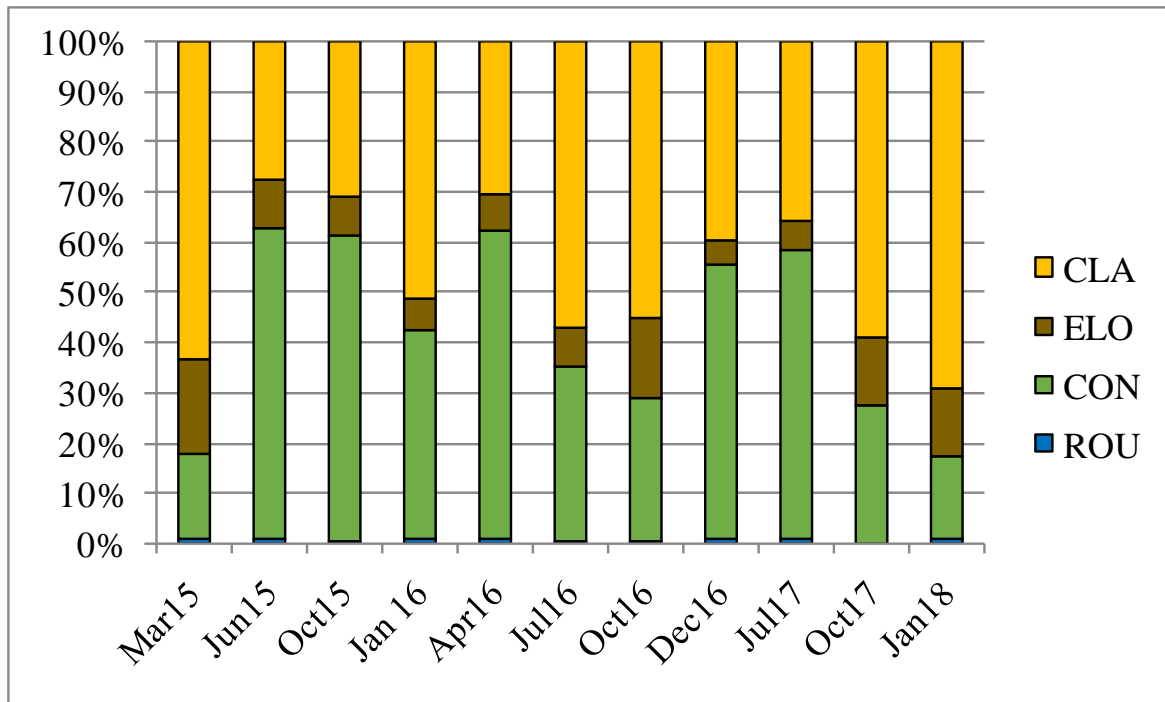




**Figura 14.** Non-parametric multidimensional scaling (nMDS) basato sul tratto *Life strategy*.

Con abbondanze relative medie pari a 46.3% e 42.6%, i nematodi del presente studio hanno presentato principalmente code clavate (CLA) e coniche (CON), rispettivamente (Figura 15, Appendice 5). Le prime sono state osservate con percentuali minori nei campionamenti estivi (minimo pari al 27.2% in Jun15) e maggiori in inverno (64.8 e 60.2% in Jan18 e Mar15, rispettivamente). Le code CON, invece, hanno presentato un andamento speculare, caratterizzato da percentuali minori in inverno (Mar15, 18.4%; Jan18, 19.5%) e picchi in estate (> 60% in Jun15, Jul16 e Oct15). Le altre due tipologie di coda considerate (ROU e ELO) hanno costituito frazioni minoritarie in tutti i campionamenti, specialmente per quanto riguarda ROU. Le comparazioni *pair-wise*, tuttavia, non hanno messo in evidenza una chiara distinzione tra campionamenti estivi e invernali in termini di diversa percentuale di code clavate o coniche. Al contrario, gli output hanno indicato principalmente che gli ultimi tre campionamenti (da Jul17 a Jan18) dello studio differivano significativamente da quelli del 2015 e 2016 per il tratto *Tail shape* (Figura 16, Appendice 5). Una variabilità interannuale è stata osservata comparando campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno-luglio) nei tra anni dello studio. Sia Jun15 che Oct15 si sono discostati significativamente da Jul17 e Oct17 per una maggior numerosità di nematodi con coda clavata nell'ultimo anno del triennio. L'ordinamento nMDS condotto per questo tratto ha confermato sia la variabilità indicata dagli output della PERMANOVA per quanto riguarda il pattern stagionale (i campionamenti estivi non sono chiaramente separati da quelli invernali) sia

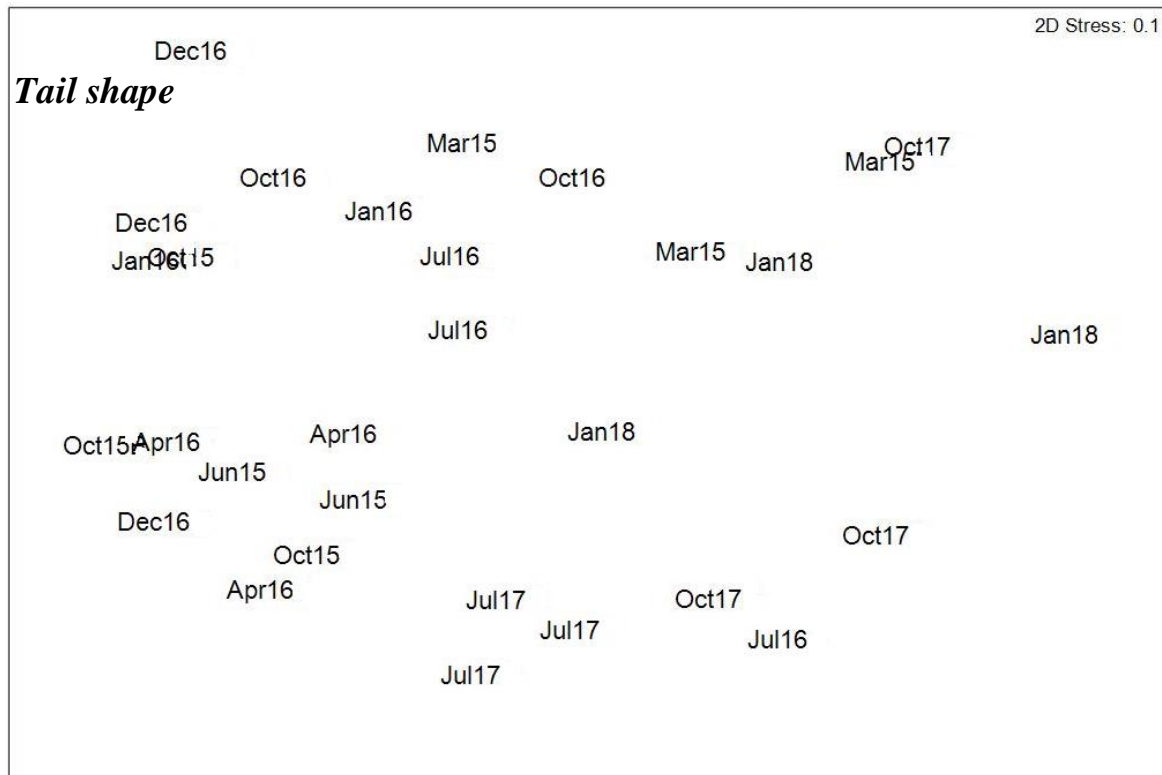
l'anomala composizione di Jul17, Oct17 e Jan18 le cui repliche si discostano infatti nella parte destra della [Figura 17](#), in posizione parzialmente separate dagli altri campionamenti.



**Figura15.**Percentuali delle 4 categorie utilizzate per il tratto biologico *Tail shape* nel triennio Mar15-Jan18. CLA= clavata; ELO= elongata; CON= conica; ROU= arrotondata

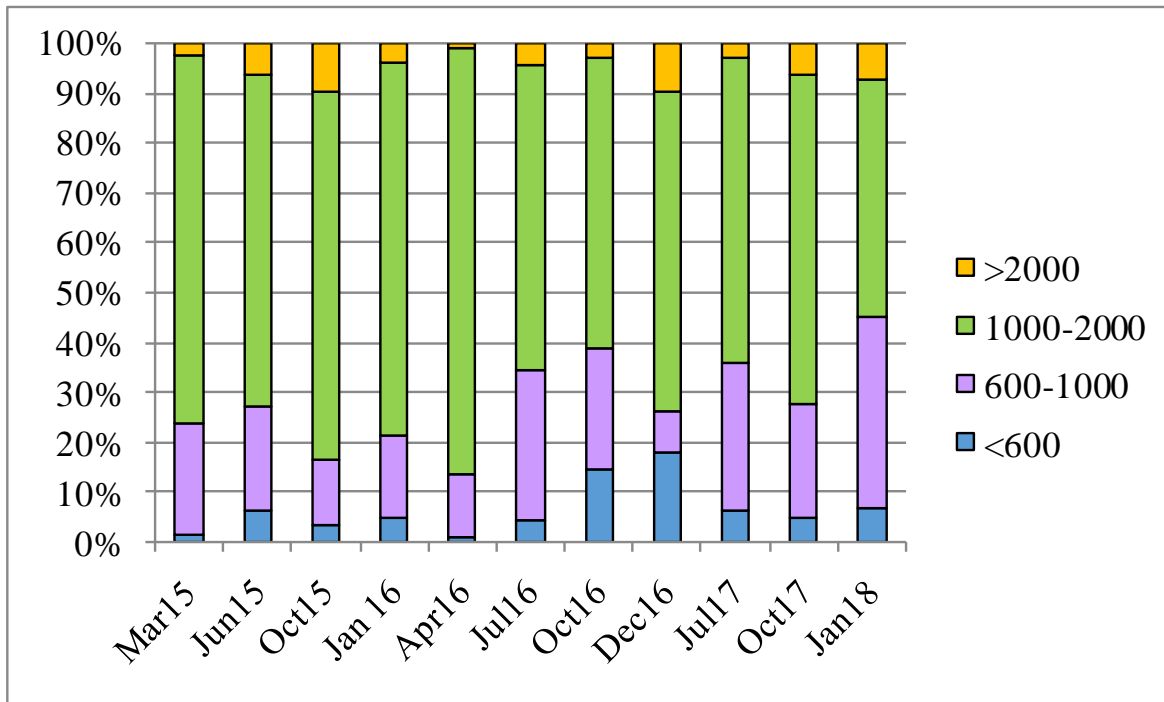
Tail shape	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Jun15	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Oct15	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Jan16	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Apr16	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Jul16	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Oct16	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Dec16	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Jul17	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
Oct17	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Jan18	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey

**Figura 16.**Output della PERMANOVA *pair-wise* relativo alla matrice di abbondanza per il tratto *Tail shape*. grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$

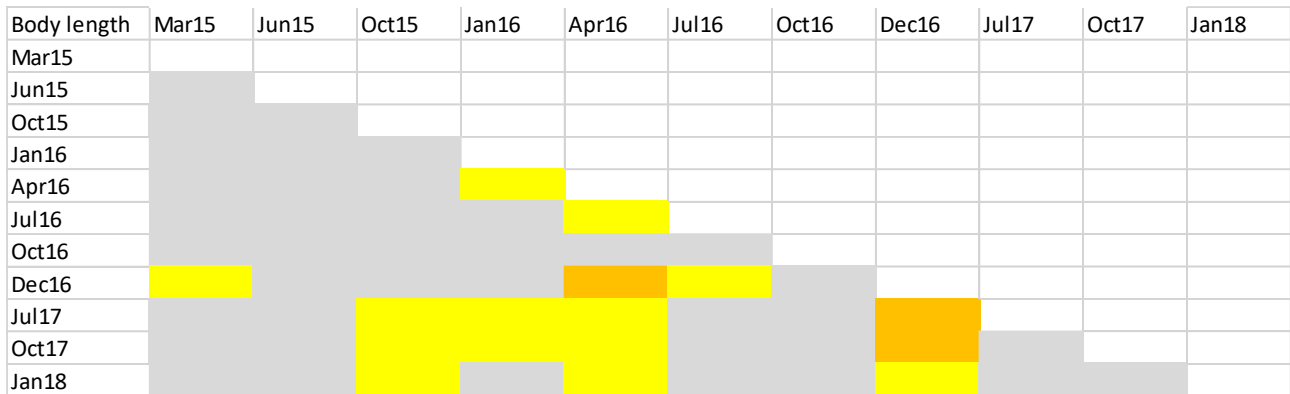


**Figura 17.** *Non-parametric multidimensional scaling (nMDS) basato sul tratto Tail shape.*

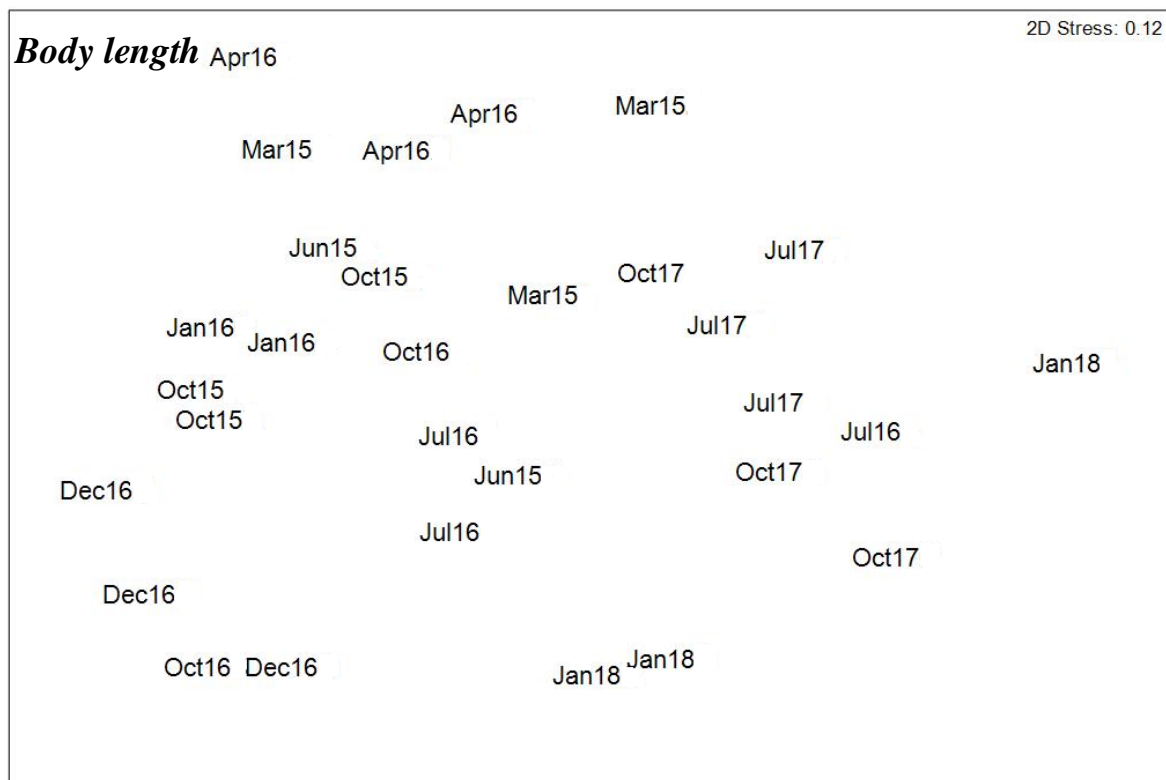
Per quanto riguarda il tratto *Body length*, i nematodi hanno presentato mediamente abbondanze relative pari a 66.0% e 21.8% per le classi di taglia 1000-2000  $\mu\text{m}$  e 600-1000 $\mu\text{m}$ , rispettivamente. Organismi più lunghi ( $L > 2000 \mu\text{m}$ ) e più corti ( $L < 600 \mu\text{m}$ ), invece, hanno costituito le frazioni minoritarie del popolamento in tutti i campionamenti con l'eccezione di Dec16, campionamento caratterizzato da percentuali pari a 9.7 e 17.7 %, rispettivamente, cioè leggermente superiori alla percentuale degli organismi con  $L$  di 600-1000 $\mu\text{m}$  (9.3%) (Figura 18, Appendice 5). Un chiaro pattern temporale (dominanza di specifiche classi di taglia in determinati periodi dell'anno) non è stato evidenziato per nessuna delle categorie considerate. La comparazione *pair-wise* ha indicato tuttavia come alcuni campionamenti (ad esempio Dec16, Jul16, Oct17 e Jan18) abbiano presentato una composizione significativamente diversa rispetto ad altri per quanto riguarda questo particolare tratto biologico (Figura 19; Appendice 5). La comparazione di campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno-luglio) di tutti e tre gli anni, non ha suggerito una chiara variabilità interannuale dal momento che solo Oct15 e Oct17 sono risultati dissimili tra loro. L'ordinamento nMDS risultante (Figura 20) ha messo in evidenza la mancanza di un chiaro pattern stagionale per il tratto *Body length* mentre la separazione degli ultimi tre campionamenti sulla parte destra del plot riassume graficamente gli output della PERMANOVA *pair-wise*.



**Figura 18.** Percentuali delle 4 categorie utilizzate per il tratto biologico *Body length* nel triennio Mar15-Jan18.



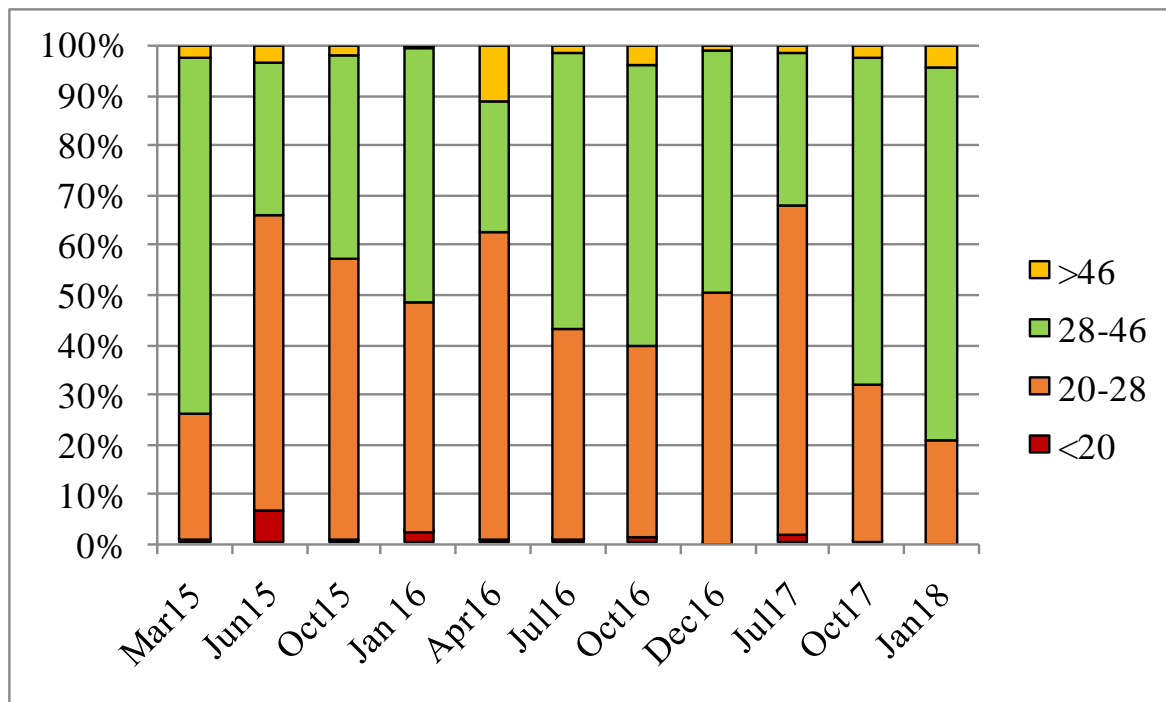
**Figura 19.** Output della PERMANOVA *pair-wise* relativo alla matrice di abbondanza per il tratto *Body length*. grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$



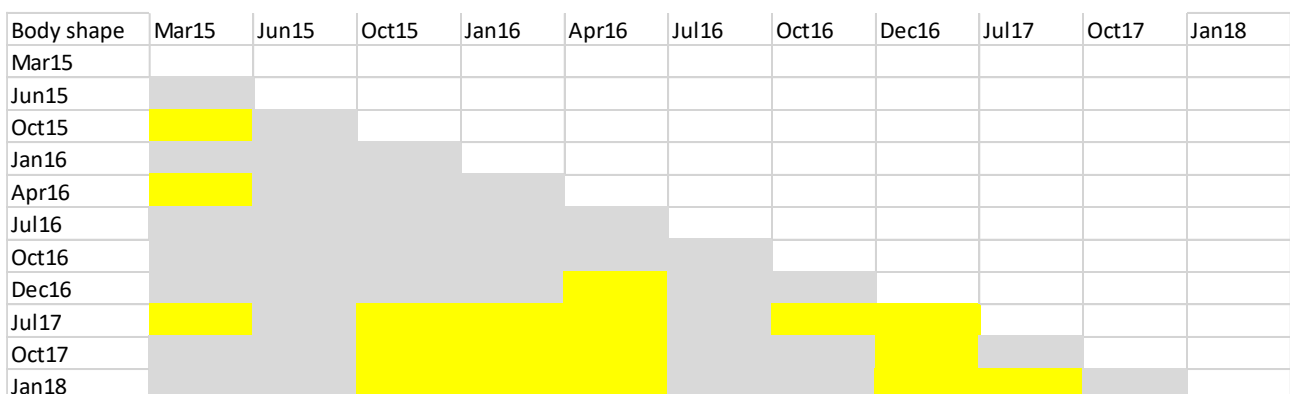
**Figura 20.** *Non-parametric multidimensional scaling (nMDS) basato sul tratto *Body length*.*

Con Abbondanze Relative medie pari a 51.2% e 44.9%, le categorie ascrivibili ai morfotipi 28-46 e 20-28 sono risultate le dominanti nell'arco dell'intero studio (Figura 21). Organismi tozzi (<20) e longilinei (>46), invece, hanno presentato abbondanze relative piuttosto contenute con l'eccezione di Jun15 per i primi (>6%) e di Apr16 per i secondi (>12%). Per quanto riguarda i nematodi appartenenti al morfotipo 20-28, percentuali maggiori (>60%) hanno caratterizzato i campionamenti estivi come Jun15, Jul16 e Jul17 mentre i minimi (~25%) sono stati osservati in inverno (Mar15 e Jan18), sebbene non in tutti i campionamenti afferenti a questa stagione. L'altro morfotipo dominante (28-46), invece, ha presentato un andamento speculare a quanto sopra descritto, caratterizzato pertanto da Abbondanze Relative >70% in Mar15 e Jan18 e da percentuali minori nei campionamenti estivi. Nel complesso, anche per questo tratto biologico è stata osservata una certa variabilità temporale al punto da non permettere l'individuazione di un chiaro pattern stagionale (Figura 22). Similmente a quanto osservato per *Body length*, la comparazione di campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno-luglio) di tutti e tre gli anni, non ha suggerito una chiara variabilità interannuale dal momento che solo Oct15 e Oct17 sono risultati dissimili tra loro. Nell'ordinamento nMDS, i campionamenti caratterizzati da una maggiore numerosità di nematodi appartenenti al morfotipo 20-28 (Jun15, Apr16 e Jul17) hanno occupato principalmente la parte superiore del plot (Figura 23). Allo stesso tempo, gli ultimi tre

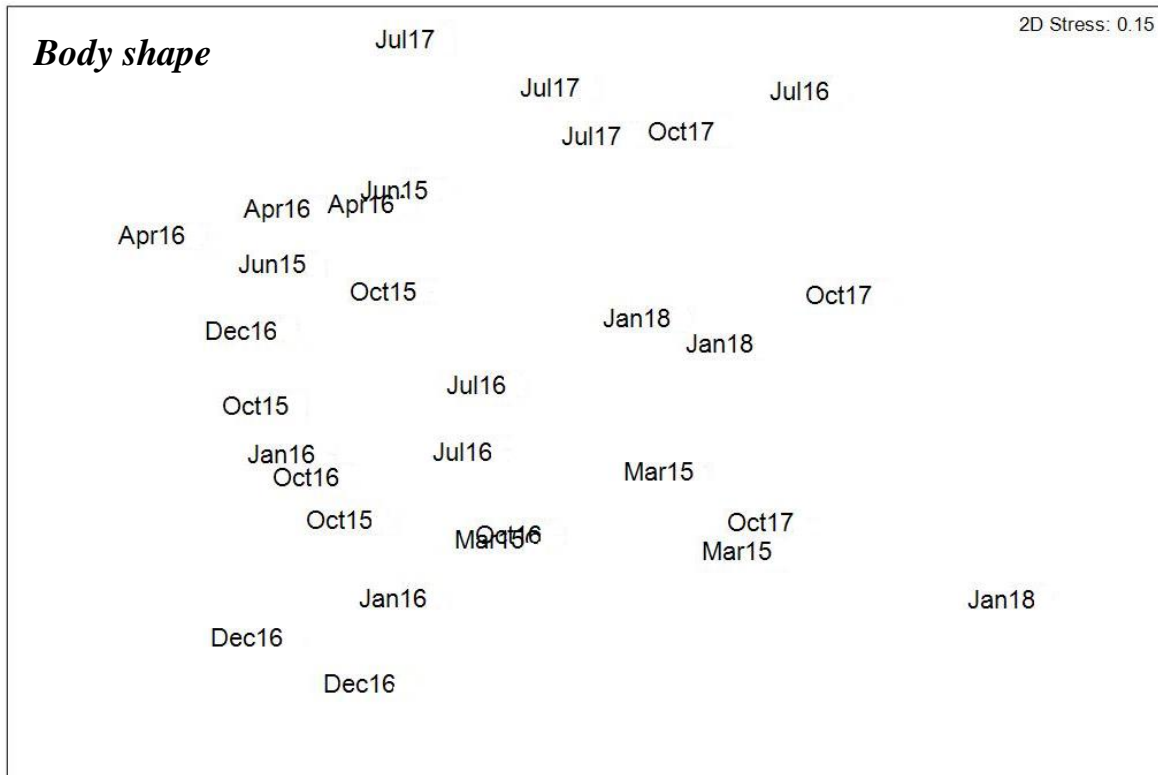
campionamenti dello studio sono stati disposti nell'area destra del plot in accordo con i risultati della PERMANOVA *pair-wise* (Figura 22; Appendice 5).



**Figura 21.**Percentuali delle 4 categorie utilizzate per il tratto biologico *Body shape* nel triennio Mar15-Jan18.



**Figura 22.** Output della PERMANOVA *pair-wise* relativo alla matrice di abbondanza per il tratto *Body shape*. grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$



**Figura 23.** *Non-parametric multidimensional scaling (nMDS) basato sul tratto Body shape.*

Nel corso dello studio, sono state osservate 52 combinazioni dei 5 tratti. Sebbene la maggior parte sia stato osservato in percentuali contenute, 4 combinazioni sono risultate dominanti rappresentando in media il 66.3% del totale (Tabella 6). I nematodi più abbondanti sono risultati i c-p3 appartenenti al gruppo trofico 2A, dotati di coda conica, piuttosto lunghi (1000-2000  $\mu\text{m}$ ) e con rapporto L/W intermedio (20-28). Le loro percentuali minori sono state osservate in Jan18 (3.23%) mentre le Abbondanze Relative maggiori hanno caratterizzato Apr16 (58.7%), Jun15 (49.1%) e Jul17 (46.2%). La seconda combinazione dominante di tratti ha compreso sempre nematodi 2A, appartenenti però alla classe c-p2, con code clavate, lunghezza di 1000-2000  $\mu\text{m}$  ed più longilinei (L/W pari a 28-46). Sebbene un chiaro pattern stagionale non sia stato evidenziato, la percentuale minima ha caratterizzato il campionamento di Dec16 (2.6%) mentre la massima quello di Mar15 (32.5%). Entrambe le altre due combinazioni dominanti hanno riguardato depositori non selettivi (1B) della classe c-p2, con coda clavata e longilinei (L/W= 28-46). Differivano pertanto solo per la diversa appartenenza alle categorie del tratto *Body length*: una combinazione comprendeva organismi relativamente corti (L= 600-1000  $\mu\text{m}$ ) mentre l'altra riguardava nematodi relativamente lunghi (1000-2000  $\mu\text{m}$ ). Per quanto riguarda la prima combinazione, Abbondanze Relative maggiori sono state osservate a partire da Jul16 per tutto il periodo di campionamento seguente (con l'eccezione di Dec16) fino ad un massimo in Jan18 (23.5%). Il minimo, invece, ha caratterizzato Oct15 (4.0%), Dec16 (4.2%) e Jan16 (4.5%). L'ultima combinazione di tratti dominante, invece, ha

presentato Abbondanze Relative >10% preferenzialmente nei campionamenti invernali, come Jan16 (12.1%), Dec16 (32.1%) e Jan18 (10.7%), o tardo-invernali come Mar15 (15.0%) mentre le percentuali minime sono state osservate in estate come Jun15 (0.5%) e Jul17 (1.0%).

**Tabella 6.** Abbondanze Relative (%) delle combinazioni dei singoli tratti in ciascun mese. 1A = depositori selettivi; 1B = depositori non selettivi; 2A = erbivori; 2B = onnivori/predatori ([Wieser, 1953](#)). c-p = colonizzatori-persistenti ([Bonger et. al., 1991, 1995](#)). CON = coda conica; ELO = coda elongata; CLA = coda clavata; ROU = coda rotonda. Lunghezza del corpo espressa in  $\mu\text{m}$ . L/W = rapporto lunghezza/larghezza.

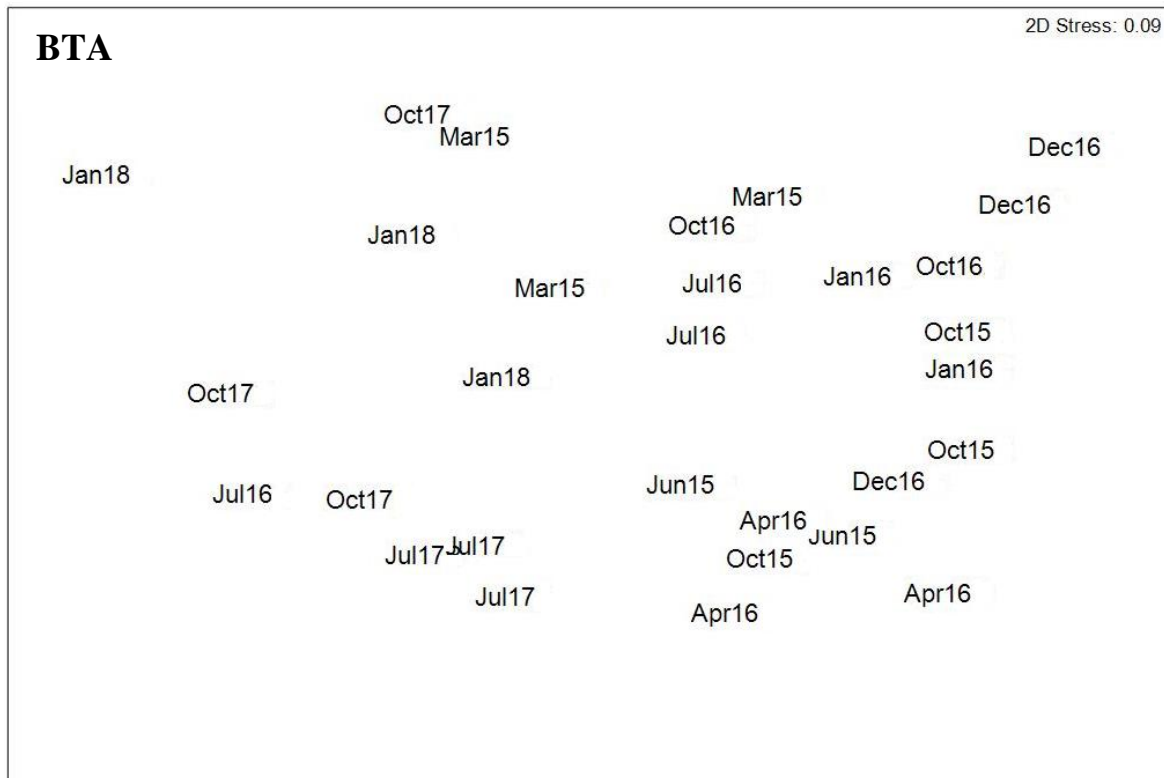


Combinazione di tratti					Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
1A	c-p2	CLA	<600	28-46	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.3	0.0
1A	c-p2	ELO	600-1000	20-28	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p2	ELO	1000-2000	28-46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.3	0.9	0.0
1A	c-p3	CON	1000-2000	20-28	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p3	CLA	600-1000	20-28	2.0	0.9	0.9	1.5	0.4	3.9	3.4	0.3	2.2	0.3	3.6
1A	c-p3	ELO	1000-2000	20-28	4.0	5.6	10.9	0.5	0.0	3.5	6.8	1.9	2.5	8.0	6.8
1A	c-p3	ELO	>2000	>46	1.0	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.3	0.3	0.6	1.6
1A	c-p3	ROU	1000-2000	20-28	0.5	0.0	0.3	0.0	0.0	0.6	0.0	0.3	0.3	0.0	0.3
1A	c-p3	ROU	1000-2000	28-46	0.0	0.0	0.3	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p4	CON	<600	<20	0.5	0.9	0.3	0.0	0.4	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p4	CLA	1000-2000	20-28	1.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p4	CLA	1000-2000	28-46	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1A	c-p4	ELO	600-1000	>46	0.5	2.3	1.4	0.5	1.1	1.3	1.5	0.0	0.9	0.6	1.6
1A	c-p4	ROU	600-1000	20-28	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.3	0.3	0.0	0.0
1B	c-p2	CON	<600	20-28	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
1B	c-p2	CLA	<600	28-46	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0
1B	c-p2	CLA	600-1000	20-28	1.0	3.7	2.3	1.0	0.0	5.5	2.4	0.6	7.6	6.7	4.9
1B	c-p2	CLA	600-1000	28-46	10.0	7.5	4.0	4.5	8.5	13.9	8.8	4.2	10.8	12.5	23.0
1B	c-p2	CLA	1000-2000	<20	0.0	0.9	0.3	1.0	0.4	0.3	1.5	0.3	0.6	0.0	0.0
1B	c-p2	CLA	1000-2000	28-46	15.0	0.5	3.1	12.1	2.5	8.4	5.9	32.2	0.9	8.3	10.7
1B	c-p2	ELO	1000-2000	>46	0.0	0.5	0.0	0.0	4.6	0.6	2.0	0.6	0.3	1.2	1.0
1B	c-p2	ROU	600-1000	>46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6
1B	c-p3	CLA	600-1000	20-28	1.5	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1B	c-p4	ELO	1000-2000	28-46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
2A	c-p2	CON	<600	<20	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
2A	c-p2	CON	<600	20-28	0.0	0.0	2.9	4.0	0.0	4.5	14.1	12.9	4.1	4.0	8.1
2A	c-p2	CON	<600	28-46	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2A	c-p2	CON	600-1000	20-28	0.5	0.9	0.0	1.5	1.1	3.2	1.0	0.0	3.5	0.6	0.0
2A	c-p2	CLA	<600	20-28	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2A	c-p2	CLA	1000-2000	28-46	32.5	8.9	17.4	24.1	11.7	22.6	24.4	2.6	8.5	28.1	19.1
2A	c-p2	ELO	600-1000	28-46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3	0.3
2A	c-p2	ELO	1000-2000	28-46	0.0	0.0	0.3	0.5	0.0	0.0	0.5	1.0	0.6	0.9	0.3
2A	c-p3	CON	<600	20-28	0.5	2.3	0.0	0.5	0.7	0.3	1.5	3.5	0.3	0.3	0.6
2A	c-p3	CON	600-1000	20-28	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
2A	c-p3	CON	1000-2000	<20	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2A	c-p3	CON	1000-2000	20-28	0.0	1.9	0.3	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
2A	c-p3	CON	1000-2000	20-28	18.0	49.1	42.3	32.2	58.7	19.7	11.2	24.4	46.2	17.1	3.2
2A	c-p3	CON	>2000	28-46	1.5	5.1	9.4	3.0	1.1	5.2	2.9	9.3	2.2	4.3	7.1
2A	c-p3	CLA	600-1000	<20	0.0	2.3	0.3	1.5	0.0	0.3	0.0	0.0	0.9	0.0	0.0
2A	c-p3	CLA	600-1000	20-28	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
2A	c-p3	CLA	1000-2000	28-46	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
2A	c-p3	ELO	1000-2000	20-28	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
2A	c-p3	ELO	1000-2000	28-46	0.5	0.5	0.6	4.5	1.1	1.9	4.4	0.0	0.0	1.2	2.9
2A	c-p4	ELO	600-1000	20-28	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.6	0.6	0.3	0.0
2B	c-p3	CLA	600-1000	20-28	3.5	0.9	2.3	4.0	1.4	1.6	5.9	3.2	2.2	1.8	3.6
2B	c-p3	CLA	1000-2000	28-46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
2B	c-p3	CLA	>2000	<20	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
2B	c-p3	ELO	>2000	28-46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
2B	c-p4	CLA	600-1000	28-46	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2B	c-p4	CLA	1000-2000	28-46	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
2B	c-p4	CLA	1000-2000	>46	0.0	2.3	0.0	0.0	5.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
2B	c-p4	ROU	>2000	28-46	0.5	0.5	0.3	0.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3	0.0	0.0

Nel complesso, la PERMANOVA condotta sulla matrice composta dai tratti biologici combinati ha confermato gli *output* ottenuti per ogni tratto biologico preso singolarmente (Figura 24; Appendice 5). Dal confronto dei campionamenti svolti nello stesso mese (ottobre) o in mesi molto vicini (giugno-luglio), una variabilità interannuale è stata osservata paragonando Jul17 o Oct17 ai campionamenti svolti negli anni precedenti. Similmente, l'ordinamento nMDS nel complesso ha rispecchiato quelli ottenuti sui singoli tratti: posizionati a sinistra, Jul17, Oct17 e Jan18 si discostano dagli altri campionamenti mentre allo stesso tempo la maggior parte delle repliche afferenti ai campionamenti estivi sono disposte nell'area inferiore del plot (Figura 25).

BTA	Mar15	Jun15	Oct15	Jan16	Apr16	Jul16	Oct16	Dec16	Jul17	Oct17	Jan18
Mar15											
Jun15											
Oct15											
Jan16											
Apr16											
Jul16											
Oct16											
Dec16											
Jul17											
Oct17											
Jan18											

**Figura 24.** Output della PERMANOVA *pair-wise* relativi alla BTA. grigio=non significativo; giallo=  $P < 0.05$ ; arancione=  $P < 0.01$

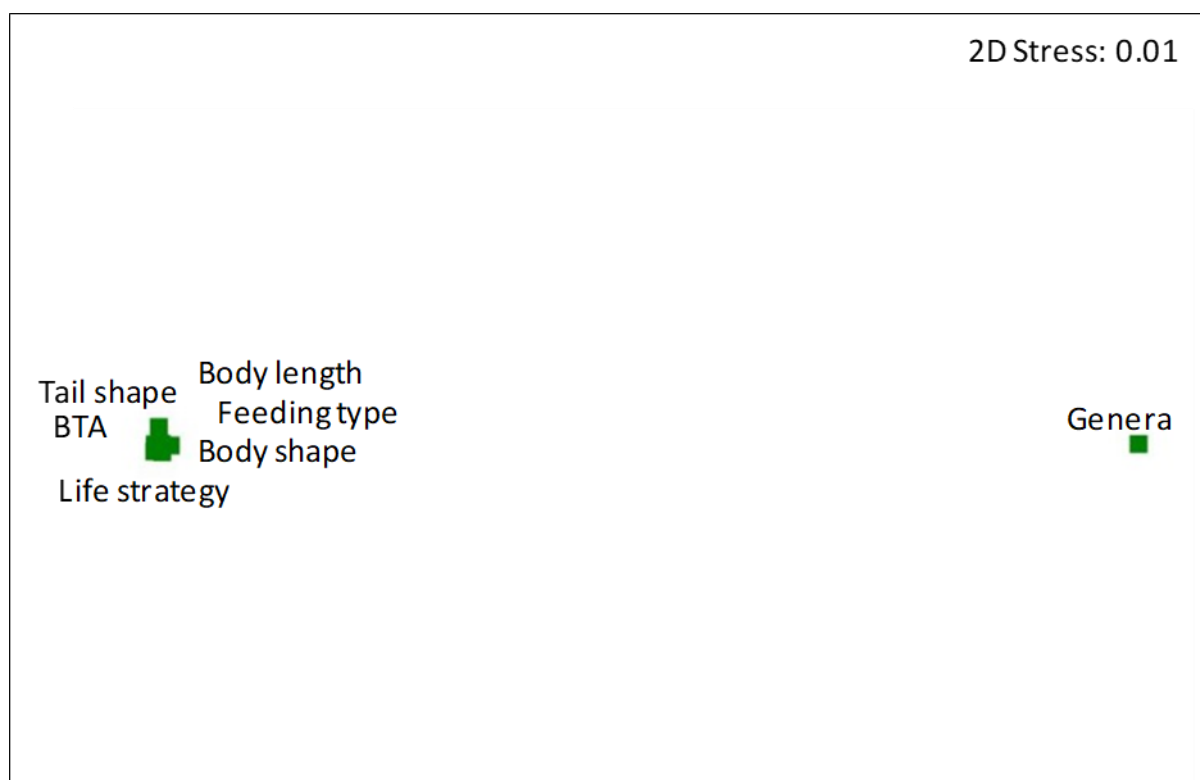


**Figura 25.** *Non-parametric multidimensional scaling (nMDS)* basato sulla matrice BTA.

Nella costruzione dell'ordinamento nMDS di secondo grado, la matrice di similarità relativa alla BTA è risultata significativamente correlata a tutti e 5 i tratti biologici considerati singolarmente (Tabella 7). La loro quasi completa sovrapposizione in Figura 26 indica pertanto come per i nematodi della stazione C1-LTER l'informazione ecologica fornita dai tratti singoli fosse analoga a quella ascrivibile ai tratti biologici combinati. Al contrario, l'informazione derivante dall'analisi tassonomica non è risultata significativamente correlata con quella funzionale tanto da determinare la corrispondente matrice di similarità in posizione discostata rispetto alle altre considerate per la costruzione dell'nMDS di secondo grado (Figura 26).

**Tabella 7.** Correlazioni di Spearman tra tutte le coppie di matrici di similarità (generi, tratti singoli e combinati) usate per la costruzione dell'ordinamento nMDS di secondo grado. \*\* =  $P < 0.01$ ; \* =  $P < 0.05$

	Genera	Feeding type	Tail shape	Body length	Body shape	Life strategy	BTA
Genera							
Feeding type	0.43						
Tail shape	0.46	<b>0.76*</b>					
Body length	0.41	0.65	0.57				
Body shape	0.52	0.68	<b>0.80*</b>	0.56			
Life strategy	0.39	0.72	<b>0.78*</b>	0.64	0.75		
BTA	0.52	<b>0.87*</b>	<b>0.91**</b>	<b>0.78*</b>	<b>0.87*</b>	<b>0.89**</b>	



**Figura 26.** *Non-parametric multidimensional scaling* (nMDS) di secondo grado condotto sulle correlazioni di Spearman tra le matrici di similarità relative alle abbondanze dei generi, dei tratti singoli e combinati nella BTA.

L'analisi DistLM condotta sulle variabili di [Tabella 1](#), ha indicato i carboidrati estratti in EDTA (CHO-EDTA) come la variabile ambientale che significativamente ha influenzato la diversità funzionale dei nematodiper tutti i tratti biologici considerati, sia presi singolarmente sia combinati nella BTA ([Tabella 8](#)).

**Tabella 8.** Risultati del DistLM *sequential test* relativi alla variabile C-CHO-EDTA = carboidrati estratti in EDTA; phaeo = feopigmenti. SS = mean square; F = F statistic.

		Adj R <sup>2</sup>	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop. %	Cumul.
<b><i>Feeding type</i></b>	C-CHO-EDTA	0.29642	582.34	5.2131	0.0169	0.36678	0.36678
	Phaeo	0.43405	286.52	3.1887	0.0449	0.18046	0.54724
<b><i>Life strategy</i></b>	C-CHO-EDTA	0.28147	522.40	4.9174	0.0075	0.35333	0.35333
<b><i>Tail shape</i></b>	C-CHO-EDTA	0.20138	506.95	3.5215	0.0431	0.28124	0.28124
<b><i>Body lenght</i></b>	C-CHO-EDTA	0.28429	611.84	4.9721	0.0114	0.35586	0.35586
<b><i>Body shape</i></b>	C-CHO-EDTA	0.18501	489.62	3.2701	0.0336	0.26651	0.26651
<b><i>BTA</i></b>	C-CHO-EDTA	0.26603	557.09	4.6246	0.014	0.33943	0.33943

## **5. Discussione**

Nel presente studio, i nematodi della stazione C1-LTER sono stati analizzati con cadenza quasi stagionale in un arco di tempo di 3 anni, da marzo 2015 a gennaio 2018. In accordo con la filosofia LTER, il campionamento regolare di questo popolamento costituisce lo step fondamentale per la costruzione di una serie di dati destinata auspicabilmente ad allungarsi in futuro e con la finalità principale di permettere l'individuazione di eventuali deviazioni da pattern temporali dovute a cambiamenti globali o su scala ecosistemica. Oltre a ciò, il dataset analizzato nel presente studio ben si presta a comparare i due principali approcci utilizzati nello studio dei nematodi: la tradizionale analisi tassonomica e lo studio dei tratti biologici. Per quanto riguarda la stazione LTER-C1, questi due approcci sono stati applicati in parallelo per verificare tre aspetti: (1) se i pattern temporali dei nematodi siano più facilmente individuabili dall'analisi tassonomica piuttosto che da quella dei tratti; (2) se i due approcci mettano in risalto relazioni diverse del popolamento con le molteplici variabili ambientali; (3) se possano essere considerati alternativi o, viceversa, uno costituisca l'integrazione dell'altro.

Per quanto riguarda l'analisi tradizionale tassonomica, il popolamento è stato studiato in termini di abbondanza, composizione dei generi, diversità ( $d$ ,  $H'$  e EG51), MI e ITD. Sebbene la numerosità degli organismi sia risultata, nel complesso, inferiore a quella riportata durante il biennio 2010-2012 (Franzo *et al.*, 2018b), abbondanze più elevate sono state osservate tendenzialmente durante i campionamenti estivi sia in questo studio che in precedenza. Simili picchi di abbondanza in giugno-luglio sono stati riportati anche lungo la costa slovena da Vrišer (1997) e da Vrišer e Vukovič, (1999) e attribuiti dagli autori in parte ai pattern di riproduzione degli organismi meiofaunali che tendono a riprodursi con temperature più miti. Ciononostante, sia nel biennio 2010-2012 che nel presente studio sono state osservate delle significative deviazioni da questo pattern generale, indicando una notevole variabilità relativamente a questo parametro. Nel primo caso, Feb11 ha presentato non solo abbondanze quasi due volte più elevate ( $>880$  ind.  $10\text{ cm}^{-2}$ ) di quanto osservato negli altri campionamenti invernali (Nov10 e in Dec11; Franzo *et al.*, 2018b) ma anche comparabili con l'anomala elevata numerosità di Jan18 nel presente studio ( $\sim 800$  Ind.  $10\text{ cm}^{-2}$ ), a sua volta circa 3 volte più elevata rispetto a quanto riportato nei due inverni precedenti (Jan16 e Dec16).

La composizione del popolamento in termini di famiglie e generi dominanti è risultata in linea con quanto riportato in altri siti a granulometria fine del Nord Adriatico (Balsamo *et al.*, 2010; Semprucci 2013; Semprucci *et al.*, 2015b), lungo la costa croata (Travizi. 2010) e anche presso la

stazione C1-LTER nel biennio 2010-2012 (Franzo *et al.*, 2018b). Per quanto riguarda le famiglie, Comesomatidae e Chromadoridae sono state confermate essere le due famiglie dominanti, con percentuali più elevate dei primi in quasi tutti i campionamenti invernali o tardo-autunnali (con l'eccezione di Dec16) mentre i secondi hanno dimostrato di essere particolarmente più numerosi in estate. Come osservato da Franzo *et al.*, (2018b), tali variazioni di abbondanza sono attribuibili principalmente a quelle di due generi: *Dorylaimopsis* per i Comesomatidae e *Ptycholaimellus* per i Chromadoridae. Sebbene in Dec16 anche altri generi appartenenti a queste due famiglie abbiano raggiunto percentuali degne di nota (*Sabatieria*, *Euchromadora* e *Prochromadorella*), le loro abbondanze assolute sono risultate comunque piuttosto contenute e comparabili con altri campionamenti del presente studio, suggerendo la presenza di un popolamento dissimile dagli altri prevalentemente per la numerosità limitata di *Dorylaimopsis* e di *Ptycholaimellus*. Gli Xyalidae, la terza famiglia dominante, hanno presentato invece delle percentuali maggiori rispetto a quanto osservato nel biennio 2010-2012, attribuibili principalmente a *Daptonema* ed a *Metadesmolaimus*, specialmente negli ultimi 3 campionamenti dello studio.

Sebbene l'analisi tassonomica a livello di genere non sia stata in grado di individuare un chiaro pattern stagionale del popolamento, ha messo in evidenza significative deviazioni dalla composizione generale dei nematodi presso la stazione LTER-C1. La distribuzione nMDS (Figura 6) e gli output della PERMANOVA condotta sulle abbondanze dei generi (Figura 3) suggeriscono infatti che i popolamenti in Apr16, Dec16 e, soprattutto negli ultimi 3 campionamenti dello studio siano diversi dagli altri. Per quanto riguarda Apr16, questo campionamento si è discostato significativamente da tutti quelli condotti da Oct16 in poi principalmente per la dominanza di *Ptycholaimellus* concomitante alle limitate abbondanze di *Sabatieria* e altri Chromadoridae (*Euchromadora* e *Prochromadorella*) e alla quasi totale assenza di *Terschellingia*. Dec16, invece, si è discostato sia da Apr16 che da Jul17, Oct17 e Jan18 per la dominanza di *Sabatieria* a scapito di *Dorylaimopsis*, l'altro Comesomatidae più abbondante dello studio, e per le abbondanze leggermente più elevate di *Prochromadorella* ed *Euchromadora* in relazione alla netta dominanza di *Ptycholaimellus* che invece caratterizza la maggior parte degli altri campionamenti. Jul17, Oct17 e Jan18, invece, si sono discostati dalla maggioranza degli altri campionamenti (eccetto che tra di loro e con Jul16) per le abbondanze maggiori di *Metadesmolaimus* e di *Daptonema*.

È interessante sottolineare che gli output della PERMANOVA condotta sulla composizione dei generi non hanno evidenziato un'alternanza tra popolamenti tipicamente estivi e popolamenti invernali, a differenza del significativo scostamento degli ultimi 3 campionamenti (Jul17, Oct17 e Jan18) da quelli antecedenti.

Per quanto riguarda le metriche volte alla stima della biodiversità,  $d$  e EG(51) non sono risultate abbastanza sensibili da individuare una differenza significativa tra i campionamenti (Tabella 2). Sebbene  $H'$  sia stato invece in grado di mettere in evidenza la presenza di popolamenti significativamente più o meno biodiversi nel corso dello studio, gli output della PERMANOVA (Figura 3) hanno rispecchiato quanto indicato dall'analisi delle abbondanze dei generi solo per Apr16 (Figura 3 e Figura 6). In altre parole, Dec16 e gli ultimi tre campionamenti non hanno presentato popolamenti che si discostavano dagli altri in termini di biodiversità, sebbene fossero dissimili in termini di composizione. Compresi tra  $2.2 \pm 0.2$  (Apr16) e  $3.4 \pm 0.0$  (Oct16), i valori di  $H'$  sono risultati nel complesso superiori a quanto osservato da Bianchelli *et al.*, (2018) e inferiori a quanto riportato da Semprucci *et al.*, (2015b) lungo le coste marchigiane. In entrambi i casi, tuttavia, i risultati di questi autori suggeriscono una limitata capacità di questa metrica nell'individuare eventuali pattern dal momento che non è stato evidenziato un ripetuto manifestarsi di popolamenti più biodiversi in determinati periodi dell'anno o in determinate stazioni.

Sebbene legate ad aspetti più funzionali (strategia trofica e cicli di vita), le altre due metriche considerate, MI ed ITD, sono state sviluppate esclusivamente per i nematodi a vita libera e spesso vengono utilizzate come integrazione all'analisi dei nematodi soprattutto in un'ottica di utilizzo di questi organismi come indicatori ecologici (Bianchelli *et al.*, 2018; Semprucci *et al.*, 2015a; Semprucci *et al.*, 2015b; Franzo *et al.*, 2019a). MI ha mostrato di cogliere la differente composizione del popolamento di Apr16, indicata già dalla composizione tassonomica in termini di generi, rispetto a quella di diversi altri campionamenti, soprattutto da Jul16 in poi. Meno evidente invece è il discostamento di Jul17, Oct17 e Jan18 dagli altri campionamenti, sebbene sia stato individuato parzialmente per Oct17 e Jan18 (Figura 3). Al contrario, la diversa composizione tassonomica di Dec16 suggerita dall'nMDS e dalla PERMANOVA (Figura 3 e Figura 6) non è stata individuata in termini di MI. Compreso tra  $2.3 \pm 0.1$  (Jan18) e  $2.8 \pm 0.0$  (Apr16), i valori di questa metrica sono risultati nel complesso maggiori rispetto a quanto riportato da Semprucci *et al.*, (2015b) e da Bianchelli *et al.*, (2018). In Apr16, la dominanza di *Ptycholaimellusa* scapito di alcuni generi osservati con numerosità maggiori in altri campionamenti come *Daptonemae* *Metadesmolaimus* in Oct17 e Jan18, si è manifestata in un popolamento che risultava allo stesso tempo sia meno biodiverso (minimo di  $H'$ ) che più 'maturo' (massimo di MI). Questo risultato è dovuto al fatto che *Ptycholaimellus* è un c-p3 e pertanto in Apr16 ha contribuito all'ottenimento di valori di MI più elevati rispetto ai campionamenti dove prevalevano o erano presenti in abbondanze non trascurabili altri generi comuni in LTER-C1 ma che sono per la maggior parte c-p2 (*Sabatieria*, *Dorylaimopsis* o gli Xyalidae). Variando tra  $0.35 \pm 0.01$  (Mar15) e  $0.65 \pm 0.05$  (Oct15), ITD ha messo in evidenza una diversità trofica significativamente maggiore a



Mar15, che non è stata tuttavia individuata chiaramente in termini di una maggiore variabilità della composizione tassonomica (Figura 6). Al contrario, questa metrica è riuscita a cogliere la diversa composizione degli ultimi tre campionamenti, ascrivibile agli Xyalidae. Appartenenti al gruppo trofico 1B, infatti, le abbondanze non trascurabili di *Daptonema* e di *Metadesmolaimus* specialmente in Oct17 e in Jan18 hanno contribuito ad una maggiore numerosità dei depositori non-selettivi che ha limitato così la dominanza dei nematodi 2A osservata nella maggior parte degli altri campionamenti, determinando così valori più contenuti di ITD. Similmente a quanto riportato in precedenza nel biennio 2010-2012 (Franzo *et al.*, 2018b), condizioni di minor diversità trofica (specialmente in Jun15 e Oct15) erano infatti ascrivibili prevalentemente alla dominanza dei nematodi 2A. Nella comparazione con altri siti a bassa profondità dell'Adriatico occidentale, i valori di ITD sono risultati comparabili con quanto riportato da Semprucci *et al.*, (2015a) e da Bianchelli *et al.*, (2018), sebbene in quest'ultimo caso limitatamente alla stazione di Portonovo (Adriatico centrale).

Nella comparazione dell'informazione fornita dall'analisi tassonomica con quella ottenibile dalle varie metriche tipicamente utilizzate per lo studio dei nematodi, i risultati suggeriscono che i pattern temporali e le deviazioni da tali pattern sono stati più efficacemente individuati dalla classica analisi del dataset di abbondanze dei generi piuttosto che dagli indici, soprattutto quelli di diversità. Per quanto riguarda MI ed ITD, queste metriche hanno dimostrato di cogliere in parte le variazioni nel popolamento che tuttavia ha mostrato di presentare una variabilità temporale di non facile interpretazione dal momento che nessuna variabile ambientale testata sembra influire sui cambiamenti osservati. Sebbene l'analisi tassonomica abbia rivelato la presenza di un popolamento caratterizzato sia da generi tipici di sedimenti fangosi (*Sabatieria*, *Dorylaimopsis*, *Daptonema*) che delle sabbie fini (in generale i Chromadoridae), i cambiamenti osservati nel corso dello studio probabilmente non sono determinati da una diversa composizione granulometrica dei sedimenti dal momento che quest'ultima tende a rimanere piuttosto costante nel corso del tempo (sabbia <10%), come riportato per il biennio 2010-2012 durante il quale non è stata indicata, infatti, dall'analisi DISTLM tra le variabili ambientali che più probabilmente sono responsabili dei cambiamenti osservati nel popolamento (Franzo *et al.*, 2018b). Nel presente studio, l'analisi DISTLM non ha indicato alcuna variabile ambientale (Tabella 1) quale responsabile dei cambiamenti osservati, contrariamente a quanto riportato da (Bianchelli *et al.*, 2018) per quanto riguarda le varie componenti del pool organico sedimentario (fitopigmenti e BPC) e da Franzo *et al.*, (2018b) per quanto riguarda la Chl<sub>a</sub>. Sebbene l'approccio tassonomico abbia colto delle variazioni temporali nel popolamento (in particolare l'aumento degli Xyalidae negli ultimi tre campionamenti), per il triennio 2015-2018 non è stato in grado di ascrivere tali cambiamenti a precise variabili ambientali,

come invece osservato in precedenza nella stessa LTER-C1 (Franzo *et al.*, 2018b). Non si esclude, inoltre, che variabili ambientali diverse da quelle considerate in questo studio potrebbero aver determinato le variazioni osservate. Dal momento che la proliferazione estiva dei Chromadoridae (in particolare *Ptycholaimellus*), individuata anche nel triennio 2015-2018, sembra essere strettamente dipendente da quella delle microalghe bentoniche (diatomee) (Franzo *et al.*, 2018b), la futura analisi del presente dataset con i dati di microfitobenthos potrebbe chiarire meglio le cause dei cambiamenti tassonomici osservati.

Per la stima della diversità funzionale, i nematodi della stazione LTER-C1 sono stati analizzati sulla base dei 5 tratti biologici più comunemente utilizzati (*Feedingtype*, *Life strategy*, *Tailshape*, *Body length* e *Body shape*; Schratzberger *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2014; Franzo e Del Negro, 2019), che sono stati considerati singolarmente e combinati in un'analisi dei Tratti Biologici (BTA).

Per quanto riguarda il tratto *Feeding type*, sebbene i valori ITD siano risultati comparabili con quanto riportato in altre aree costiere dell'Adriatico occidentale, in realtà rispecchiano una composizione delle quattro categorie trofiche (Wieser, 1953) abbastanza diversa da quanto riportato da Semprucci *et al.*, (2015b) eda Bianchelli *et al.*, (2018). Entrambi gli autori, infatti, hanno documentato una chiara dominanza dei depositivori non-selettivi rispetto alle altre categorie considerate mentre per i sedimenti della stazione LTER-C1 i nematodi 2A sono risultati chiaramente più numerosi, sebbene gli 1B siano ben rappresentati soprattutto in Oct17 e in Jan18. La generale dominanza dei 2A è in accordo con quanto riportatoneel biennio 2010-2012 (Franzo *et al.*, 2018b), suggerendo come questa peculiarità del popolamento non sia meramente stocastica ma mantenuta nel tempo. I pattern di distribuzione dell'nMDS e gli output della comparazione PERMANOVA *pair-wise* condotta sul *Feeding type* (Figura 11 e Figura 10) hanno dimostrato come nel corso dello studio questo tratto biologico sia stato in grado di cogliere la presenza di una diversa composizione del popolamento dal punto di vista trofico, traducibile prevalentemente negli ultimi tre campionamenti discostati dalla maggior parte di quelli precedenti a causa di un'aumentata numerosità dei depositivori non-selettivi.

Relativamente al tratto *Life strategy*, la dominanza di nematodi appartenenti alle classi c-p2 e c-p3 non è un tratto distintivo dei nematodi di LTER-C1 ma è comunemente riscontrato anche in altre aree costiere (Semprucci *et al.*, 2015b), estuariali (Alves *et al.*, 2014) e di transizione (Franzo e Del Negro, 2019). In accordo con quanto osservato in precedenza da Franzo *et al.*, (2018b), la maggiore o minore numerosità di nematodi c-p2 e c-p3 osservata nel presente studio ha rispecchiato la variabilità temporale dei generi dominanti. Mentre abbondanze maggiori di c-p3 erano ascrivibili

prevalentemente ai Chromadoridae ed in particolare alla proliferazione di *Ptycholaimellus*, l'aumentata numerosità degli Xyalidae (*Daptonemae Metadesmolaimus*) a partire da Jul17 è stata individuata da questo tratto in termini di maggior numerosità di c-p2. La distribuzione nMDS e gli output della PERMANOVA *pair-wise* (Figura 14 e Figura 13) hanno messo in evidenza il discostamento di Jul17, Oct17 e Jan18 dalla maggior parte degli altri campionamenti, dimostrando pertanto la capacità di questo tratto biologico di cogliere tale cambiamento.

Per quanto riguarda il tratti *Tailshape*, la dominanza di code coniche e clavate è in accordo con quanto osservato nel Mare del Nord (Schratzberger *et al.*, 2007) e parzialmente in aree estuariali (Alves *et al.*, 2014). Anche per questo tratto biologico, i Chromadoridae (in particolare *Ptycholaimellus*) sono i principali responsabili dell'elevata numerosità dei nematodi con coda conica mentre i Comesomatidae (*Dorylaimopsis* e *Sabatieria*) e gli Xyalidae (*Daptonema* e *Metadesmolaimus*) di quelli con coda clavata. La distribuzione nMDS e gli output della PERMANOVA *pair-wise* (Figura 17 e Figura 16) hanno dimostrato di cogliere la differente composizione del popolamento per questo tratto, ascrivibile alle abbondanze maggiori di *Daptonema* e di *Metadesmolaimus* negli ultimi 3 campionamenti dello studio.

Per quanto riguarda il tratto *Body Length*, nel presente studio si è scelto di utilizzare 4 categorie derivate dal pool di misurazioni reali condotte su circa 3100 organismi. Tale scelta, adottata anche da Franzo e Del Negro (2019) per le lagune del delta del Po, è stata fatta per rendere l'informazione ecologica ottenibile dall'analisi di questo tratto biologico il più possibile fedele al popolamento reale. L'impiego di categorie derivate da letteratura e quindi sviluppate nell'ambito di studi condotti in habitat anche molto diversi da LTER-C1 come i sedimenti profondi, infatti, potrebbe introdurre degli errori o non rendere questo tratto abbastanza informativo. Ad esempio, se nel presente studio fossero state utilizzate le stesse categorie che Schratzberger *et al.*, (2007) ha derivato da letteratura per condurre una BTA sui nematodi del Mare del Nord (<1 mm, 1-2 mm, 2-4 mm e 4 mm), nelle due categorie relative agli organismi più grandi sarebbero ricaduti solo circa l'8% (2-4 mm) e lo 0% (>4 mm) degli oltre 3000 nematodi analizzati. Questo avrebbe reso l'utilizzo del tratto biologico *Body length* poco efficace perché, raggruppando praticamente tutti i nematodi all'interno di solo 2 categorie, non si sarebbe potuto cogliere che Jul17, Oct 17 e Jan18 differivano dagli altri campionamenti per una maggiore numerosità di organismi di lunghezza 600-1000  $\mu$ m, che sono poi ascrivibili prevalentemente ai generi *Daptonema* e *Metadesmolaimus*.

Sebbene fossero state adottate delle categorie di lunghezza derivate dal pool di misurazioni reali degli organismi in 4 lagune del Po, questo tratto è risultato il meno informativo perché non in grado di discernere tra nematodi lunghi ma limitatamente filiformi, come *Sabatieria*, da quelli

altrettanto lunghi ma più sottili, come *Terschellingia*, in una limitazione amplificata dal fatto che entrambi questi generi erano dominanti (Franzo e Del Negro, 2019). Nel presente studio, invece, questo tipo di problema non si è presentato sia perché questi due generi costituivano una frazione piuttosto limitata dell'intero popolamento, sia perché i generi dominanti (*Ptycholaimellus* e *Daptonema/Metadesmolaimus*) appartenevano a categorie diverse (1000-2000  $\mu\text{m}$  e 600-1000  $\mu\text{m}$ , rispettivamente). Per questo motivo il tratto biologico *Body length* nel presente studio ha dimostrato di saper cogliere le variazioni principali già individuate dall'analisi tassonomica e dagli altri biologici finora discussi. La distribuzione nMDS e gli output della PERMANOVA *pair-wise* (Figura 20 e Figura 19) hanno infatti messo in evidenza come Jul17, Oct17 e Jan18 fossero in qualche misura caratterizzati da organismi meno lunghi rispetto agli altri campionamenti.

Similmente, *Body shape*, il tratto biologico strettamente associato a *Body Length*, ha dimostrato di individuare una differente composizione del popolamento negli ultimi 3 campionamenti rispetto a quelli precedenti (Figura 22 e Figura 23). Tale variazione è ascrivibile ad una maggiore numerosità di nematodi leggermente più tozzi, cioè appartenenti alla categoria 28-46, in Jul17, Oct17 e Jan18, che erano principalmente ascrivibili a *Daptonema*.

La combinazione dei 5 tratti biologici nella BTA ha fornito un'informazione ecologica simile a quella ottenuta dall'analisi dei tratti presi singolarmente. La distribuzione nMDS e gli output della PERMANOVA *pair-wise* (Figura 25 e Figura 24), infatti, hanno messo in evidenza principalmente il discostamento degli ultimi 3 campionamenti dello studio da quelli precedenti. L'analisi delle principali combinazioni dei 5 tratti osservate nel presente studio (Tabella 6), permette di chiarire come mai l'informazione ecologica fornita dai tratti singoli combaciasse in larga misura con quella fornita dalla BTA. Il principale cambiamento individuato nell'arco di tempo considerato sia dai tratti singoli che dalla BTA (ultimi tre campionamenti dissimili rispetto a quelli precedenti) è attribuibile ad una maggiore abbondanza di organismi caratterizzati da una particolare combinazione (c-p2, 1B, coda clavata, 600-1000  $\mu\text{m}$ , 28-46) che si differiva da quella dominante (c-p3, 2A, coda conica, 1000-2000  $\mu\text{m}$ , 20-28) per tutti e 5 i tratti considerati. Questo ha reso la differenziazione di Jul17, Oct17 e Jan18 rispetto agli altri campionamenti evidente per ogni tratto.

Diversamente da quanto osservato per l'analisi tradizionale tassonomica, tutte le variazioni dei tratti biologici osservate nel corso dello studio sono risultate influenzate dai carboidrati estratti in EDTA (Tabella 8). Ciononostante, nessun rilevante evento biologico (anomalie nella composizione delle fioriture fitoplanctoniche o nella loro stagionalità) o relativo alla climatologia della stazione LTER-C1 sembra essere avvenuto durante il 2017 (Cerino *et al.*, 2019). Pertanto, in questa sede ci limiteremo a mettere in relazione tale frazione biopolimerica con i nematodi senza

tuttavia speculare sulle cause di tale incremento. L'aumento della concentrazione di CHO-EDTA nel 2017-2018, sembra quindi aver favorito la presenza di nematodi deposivori non-selettivi, colonizzatori e caratterizzati da coda clavata e da dimensioni inferiori rispetto agli altri membri del popolamento. Questa frazione del pool organico viene considerata di minor qualità, almeno rispetto alle proteine, tanto che il rapporto PRT/CHO viene utilizzato come indicazione di un maggiore (valori bassi) o minor grado di refrattarietà (valori alti) della sostanza organica sedimentaria (Pusceddu *et al.*, 1999; Dell'Anno *et al.*, 2008). Sebbene comparabile con alcuni campionamenti precedenti (Apr16 e Dec16), nel presente studio i valori di PRT/CHO negli ultimi tre campionamenti sono risultati piuttosto bassi, cioè compresi tra 0.6 (minimo assoluto misurato in Jan18) e 0.8. Questo suggerisce una situazione caratterizzata da una matrice organica tendenzialmente meno appetibile che potrebbe aver rappresentato un fattore di disturbo per i nematodi e aver così contribuito a favorire organismi colonizzatori (c-p2) e generalisti (deposivori non-selettivi).

Nella comparazione tra l'analisi tassonomica tradizionale e quella dei tratti biologici, l'informazione ecologica ottenuta dai due approcci è risultata in buona misura coincidente anche se l'output del *2nd stage* nMDS ha messo in evidenza una certa separazione tra le corrispondenti matrici di similarità (Figura 26) e l'assenza di correlazioni significative tra la composizione dei generi e quelle attribuite ai tratti (Tabella 7). Ciononostante, il fatto che le combinazioni dei tratti maggiormente responsabili delle variazioni temporali osservate erano riconducibili quasi univocamente a generi precisi come *Ptycholaimellus* e *Daptonema* ha permesso di individuare la principale variazione temporale del triennio 2015-2018 sia in termini tassonomici che funzionali. Sebbene *Ptycholaimellus* le categorie ad esso associate siano state comunque dominanti anche nei popolamenti di Jul17, Oct17 e Jan18, infatti, la concomitante maggiore numerosità di *Daptonema* in questi campionamenti è risultata rilevabile. Allo stesso tempo, in altri campionamenti altri generi hanno determinato dei cambiamenti tassonomici che però hanno comportato variazioni funzionali meno percepibili di quelle associate a *Daptonema* perché, ad esempio, le corrispondenti combinazioni dei tratti condividevano con quella di *Ptycholaimellus* 1, 2 o più categorie. Ad esempio, abbondanze maggiori di *Dorylaimopsis* in Oct15 o Jan16 hanno comportato dei cambiamenti funzionali meno percepibili di quelle attribuite a *Daptonema* in Oct17 o Jan18 perché la combinazione di tratti ascrivibile a *Dorylaimopsis* differiva da quella dominante (*Ptycholaimellus*) solo per la *Life strategy* (c-p2 invece di c-p3), la *Tail shape* (clavata invece che conica) e il *Body shape* (28-46 invece che 20-28) ma non per il *Feeding type* (sono entrambi 2A) né per il *Body Length* (entrambi appartengono alla categoria 1000-2000 µm).

## **6. Conclusioni**

Lo studio dei nematodi presso la stazione LTER-C1 nel triennio 2015-2018 ha messo in evidenza i seguenti punti.

La composizione tassonomica del popolamento fino al livello di genere è risultata in linea con quanto osservato in precedenza (2010-2012), cioè caratterizzata da picchi di abbondanza nei mesi tardo-primaverili ed estivi, determinati prevalentemente da Chromadoridae ed in particolare da *Ptycholaimellus*.

Sebbene l'approccio utilizzato sia stato in grado di cogliere il principale cambiamento temporale osservato nel triennio, ossia la maggiore numerosità di *Daptonema* (fam. Xyalidae) in Jul17, Oct17 e Jan18, non ha messo in evidenza un chiaro pattern stagionale.

Mentre le principali metriche per la stima della biodiversità -  $d$ , EG(51) e  $H'$  - non sono risultate particolarmente informative, MI ed ITD si sono dimostrati utili nell'individuare, almeno in parte, le principali variazioni nel popolamento.

Sono stati evidenziati dei pattern temporali simili considerando i principali tratti biologici, sia presi singolarmente, sia combinati nella BTA. Questo risultato è dovuto principalmente al fatto che la principale variazione avvenuta nel popolamento nel corso dello studio è ascrivibile ad una maggiore abbondanza negli ultimi 3 campionamenti di nematodi, caratterizzati da una combinazione di categorie che differiva per tutti e 5 i tratti (1B, c-p2, coda clavata, 600-1000 $\mu$ m, 28-46) da quella dominante (2A, c-p3, coda conica, 1000-2000 $\mu$ m, 20-28). Le altre combinazioni principali hanno apportato cambiamenti funzionali meno accentuati, e quindi meno individuabili, dal momento che condividevano con quest'ultima 1, 2 o più categorie.

Lo studio della composizione dei nematodi fino a livello di genere non è stato in grado di ricondurre le variazioni osservate a precise variabili ambientali. L'analisi dei tratti biologici, invece, ha messo in evidenza un legame tra la maggiore numerosità dei depositori non-selettivi, relativamente piccoli e colonizzatori, con un accumulo di CHO-EDTA. Sebbene le cause dell'aumento di questa frazione biopolimerica siano di difficile attribuzione, la minore qualità della sostanza organica che ne deriva sembra indurre un cambiamento funzionale nei nematodi che non sarebbe stato colto mediante il solo studio tassonomico del popolamento.

La comparazione dei due approcci utilizzati nel presente studio suggerisce, pertanto, come sia più auspicabile un loro utilizzo integrato piuttosto che in alternativa.

## **7. Bibliografia**

- Alves A.S., Adão H., Ferreroc T. J., Marquesa J. C., CostadM. J., Patrício J. (2013) Benthic meiofauna as indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: The use of nematodes in ecological quality assessment
- Alves A.S., Veríssimo H., Costa M.J., Marques J. C. (2014) Taxonomic resolution and Biological Traits Analysis (BTA) approaches in estuarine free-living nematodes
- Anderson M.J., Gorley R.N., Clarke K.R. (2008) PERMANOVA A+ for PRIMER: \_ Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E Plymouth, 214 pp.
- Balsamo M., Albertelli G., Ceccherelli V.U., Coccioni R., Colangelo M.A., Curini-Galletti M., Danovaro R., D'Addabbo R., De Leonardis C., Fabiano M., Frontalini F., Gallo M., Gambi C., Guidi L., Moreno M., Pusceddu A., Sandulli R., Semprucci F., Todaro M.A., Tongiorgi P. (2010) Meiofauna of the Adriatic Sea: present knowledge and future perspectives. *ChemEcol* 26:45-63
- Bezerra T.N.; Decraemer W.; Eisendle-Flöckner U.; Hodda M.; Holovachov, O.; Leduc D.; Miljutin D.; Mokievsky V.; Peña Santiago R.; Sharma J.; Smol N.; Tchesunov A.; Venekey V.; Zeng Z.; Vanreusel A. (2019) Nemys: World Database of Nematodes. Accessed at <http://nemys.ugent.be> on 2019-01-16
- Bianchelli S., Buschi E., Danovaro R., Pusceddu A. (2018) Nematode biodiversity and benthic trophic state are simple tools for the assessment of the environmental quality in coastal marine ecosystems. *Ecological Indicators* 95:270-287.
- Bongers T. (1990) The maturity index: an ecological measure of an environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83:14-19
- Bongers T., Alkemade R., Yeates G.W. (1991) Interpretation of disturbance induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. *Mar Ecol Prog Ser* 76:135-142
- Bongers T., Ferris H., (1999). Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends Ecol. Evol.* 14, 224–228.
- Brambati A., Catani G. (1988) Le coste ei fondali del Golfo di Trieste dall'Isonzo a Punta Sottile: aspetti geologici, geomorfologici, sedimentologici e geotecnici. *Hydrores information* 5:13-28
- Bremner J., Roger S.I., Frid C.L.J. (2003) Assessing functional diversity in marine benthic ecosystems: a comparison of approaches. *Marine Ecology Progress Series* 254:11-25.

- Bremner J., Rogers S.I., Frid .CL.J. (2006) Methods for describing ecological functioning of marine benthic assemblages using biological traits analysis (BTA). *Ecological Indicators* 6:609-622.
- Calder W.A. (1984) *Size, function, and life history*. Harvard University Press, Cambridge
- Cardin V., Celio M. (1997) Cluster analysis as a statistical method for identification of the water bodies present in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *Boll GeofisTeorAppl* 38:119-135
- Celio M., Comici C., Bussani A. (2002) Thermohaline anomalies in the spring and early summer of 2000 in the Gulf of Trieste. *PSZNI Mar Ecol* 23:101-110
- Cerino F., Fornasaro D., Kralj M., Giani M., Cabrini M. (2019) Phytoplankton temporal dynamics in the coastal waters of the north-eastern Adriatic Sea (Mediterranean Sea) from 2010 to 2017. *Nature Conservation*, 34:343-372, <https://doi.org/10.3897/natureconservation.34.30720>
- Cibic T., Blasutto O., Burba N., Fonda Umani S. (2008) Microphytobenthic primary production as <sup>14</sup>C uptake in sublittoral sediments of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea): methodological aspects and data analyses. *Estuar Coast Shelf Sci* 77 (1):113-122
- Cibic T., Blasutto O., Falconi C., Fonda Umani S. (2007) Microphytobenthic biomass, species composition and nutrient availability in sublittoral sediments of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *Estuar Coast Shelf Sci* 75:50-62
- Cibic T., Comici C., Bussani A., Del Negro P. (2012) Benthic diatom response to changing environmental conditions. *Estuar Coast Shelf Sci* 115:158-169
- Clarke K.R. and Gorley R.N. (2006) *Primer v6: User Manual/Tutorial*. Primer-E, Plymouth.
- Clarke K.R., Green R.H. (1988) Statistical design and analysis for a 'biological effects' study. *Mar EcolProgSer* 46: 213-226.
- Coull B. C., (1999) Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats
- Covelli S., Faganeli J., Horvat M., Brambatia A. (1999) Porewater Distribution and Benthic Flux Measurements of Mercury and Methylmercury in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea)
- Covelli S., Fontolan G. (1997) Application of a normalization procedure in determining regional geochemical baselines. *Environ Geol* 30:34-45
- Danovaro R., (2010). *Methods for the Study of Deep-sea Sediments, Their Functioning and Biodiversity*. CRC Press, Boca Raton, 428 pp



- Danovaro R., Gambi C., Dell'Anno A., Corinaldesi C., Fraschetti S. (2008) Exponential decline of deep-sea ecosystem functioning linked to benthic biodiversity loss
- Danovaro R., Gambi C., Mirto S., Sandulli R., Ceccherelli VU (2003) Meiofauna. In: Gambi M.C., Dappiano M (eds), *Manuale di metodologie di campionamento e studio del bentos marino mediterraneo*. Biol. Mar. Mediterr 11 (Suppl 1): 61-108
- de Brouwer J. F. C. , Stal L. J. (2011) Short-term dynamics in microphytobenthos distribution and associated extracellular carbohydrates in surface sediments of an intertidal mudflat
- Dell'Anno A., Pusceddu A., Langone L., Danovaro R., (2008) Biochemical composition and early diagenesis of organic matter in coastal sediments of the NW Adriatic Sea influenced by riverine inputs. *ChemEcol* 24: 75-85
- Fabiano M., Danovaro R., (1994) Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass
- Fabiano M., Danovaro, R., Fraschetti, S., (1995). A three-year time series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sandy sediments of the Ligurian Sea (north western Mediterranean). *Cont. Shelf Res* 15, 1453–1469.
- Ferris, V.R., Ferris, J.M., (1979). Thread worms (Nematoda). In: Hart, C.W., Fuller, S.L.H. (Eds.), *Pollution Ecology of Estuarine Environments*. Academic Press, London, pp. 1–33.
- Fichez R. (1991) - Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments; implications for the biogeochemical cycle of organic carbon. *Oceanologica Acta*, 14 (4): 369-377
- Franzo A., Asioli A., Roscioli C., Patrolecco L., Bazzaro M., Del Negro P., Cibic T. (2019a) Influence of natural and anthropogenic disturbances on foraminifera and free-living nematodes in four lagoons of the Po delta system. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 220:99-110. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.039>
- Franzo A., Celussi M., Bazzaro M., Relitti F., Del Negro P., (2019b) Microbial processing of sedimentary organic matter at a shallow LTER site in the northern Adriatic Sea: an 8-year case study. *Nature Conservation* 34:397-415, <https://doi.org/10.3897/natureconservation.34.30099>
- Franzo A., Cibic T., Del Negro P. (2016) Integrated approach for the assessment of the benthic ecosystem functioning at a coastal site in the northern Adriatic Sea. *Cont Shelf Res* 121:35-47. doi:10.1016/j.csr.2015.12.005
- Franzo A., Del Negro P. (2019) Functional diversity of free-living nematodes in river lagoons: can biological traits analysis (BTA) integrate traditional taxonomic-based

approaches as a monitoring tool? *Marine Environmental Research* 145:164-176.  
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.02.015>

- Franzo A, Guilini K, Cibic T, Del Negro P (2018a) Structure and function of nematode assemblages in contaminated sediments: what can we learn from the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea)? *Journal of the marine biological association of the UK* <http://doi.org/10.1017/S0025315418000553>
- Franzo A, Guilini K, Cibic T, Del Negro P (2018b) Interactions between free-living nematodes and benthic diatoms: insights from the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *Mediterranean Marine Science*, <http://dx.doi.org/10.12681/mms.15549>
- Gerchakov S. M., P. G. Hatcher (1972) Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment
- Giere O. (2009). *Meiobenthology. The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments* The impact of oil pollution on intertidal meiofauna. Field studies after the Coruna spill, May (1976). *Cahiers de Biologie Marine* 20, 231-251.
- Hartree E. F. (1972) Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response.
- Heip C., Vincx M., Vranken G. (1985) The ecology of marine nematodes. *Oceanogr Mar Biol: An Annual Review* 23:399-489
- Kalogeropoulou, V., Keklikoglou, K., & Lampadariou, N. (2014). Functional diversity patterns of abyssal nematodes in the eastern Mediterranean: a comparison between cold seeps and typical deep sea sediments. *Journal of Sea Research*. doi:10.1016/j.seares.2014.11.003.
- Lamshead P. J. e Boucher G., (2003) Marine nematode deep-sea biodiversity - Hyperdiverse or hype?
- Lorenzen C., Jeffrey J. (1980) Determination of chlorophyll in sea water. *UNESCO Tech Pap Mar Sci* 35:1-20
- Losi V., Montefalcone, M., Moreno M., Giovannetti E., Gaozza L., Rovere A., Firpo M., Marques J.C., Albertelli G., (2013). The use of nematodes in assessing ecological conditions in shallow waters surrounding a Mediterranean harbour facility *Adv. Oceanogr. Limnol* 2(5)
- Margalef R. (1986) *Ecologia*. Omega, Barcellona
- Marsh J.B., Weinstein D.B. (1966) Simple charring method for determination of lipids.
- McArdle B.H., Anderson M.J. (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82(1):290-297

- Monti-Birkenmeier M., Diociaiuti T., Umani S.F. (2019) Long-term changes in abundance and diversity of tintinnids in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *Nature Conservation*, 34:373-395, <https://doi.org/10.3897/natureconservation.34.29841>
- Moreno M., Semprucci F., Balsamo M., Fabiano M., Albertelli G., (2011). The use of nematodes in assessing ecological quality status in the Mediterranean coastal ecosystems. *Ecol. Indic.* 11, 328–336.
- Nasi F., Auriemma R., Bonsdorff E., Cibic T., Aleffi I.F., Bettoso N., Del Negro P. (2017) Biodiversity, feeding habits and reproductive strategies of benthic macrofauna in a protected area of the northern Adriatic Sea: a three-year study. *Mediterranean Marine Science* DOI: <http://dx.doi.org/10.12681/mms.1897>
- Nieuwenhuize J., Middelburg J. J., Yvonne E. M. M., (1994) Rapid analysis of organic carbon and nitrogen in particulate materials
- Ogorelec B., Misic M., Faganelj J. (1991) Marine geology of the Gulf of Trieste (northern Adriatic): sedimentological aspects. *Mar Geol* 99:79-92
- Olivotti R., Faganelli J., Malej A. (1986) Impact of “organic” pollutants on coastal water-Gulf of Trieste. *Water Science and Technology* 18: 57-68. <https://doi.org/10.2166/wst.1986.0078>
- Pella E., Colombo B. (1973) Peters RH (1983) The ecological implications of body size. Cambridge University Press, Cambridge
- Platt H.M., Warwick R.M. (1983) Free-living Marine Nematodes. Part. I. British Enoplids. In: *Synopses of the British Fauna*, vol. 28. Cambridge University Press, Cambridge
- Pugnetti A., Acri F., Bernardi Aubry F., Camatti E., Cecere E., Facca C., Franzoi P., Keppel E., Lugliè A., Mistri M., Munari C., Padedda B.M., Petrocelli A., Pranovi F., Pulina S., C.T. Satta., Sechi N., Sfriso A., Sigovini M., Tagliapietra D., Torricelli P. (2013) The Italian Long Term Research (LTER-Italy) network: result, opportunities, and challenges for coastal transitional ecosystems
- Pusceddu A., Sarà G., Armeni M., Fabiano M., Mazzola A. (1999) Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea) *Hydrobiologia* 397:59-70.
- Pusceddu A., Dell’Anno A., Manini E., Fabiano M., Sarà G., Danovaro R. (2003) Enzymatically hydrolyzable protein and carbohydrate sedimentary pools as indicators of the trophic state of ‘detritus sink’ system: a case study in a Mediterranean coastal lagoon. *Estuaries* 26: 641-650

- Querin S., Crise A., Deponte D., Solidoro C. (2007) Numerical study of the role of wind forcing and freshwater buoyancy input on the circulation in a shallow embayment (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *J Geophys Res* 112(C3): 1-19
- Ristau K., Spann N., & Traunspurger W. (2015). Species and trait compositions of fresh water nematodes as indicative descriptors of lake eutrophication. *Ecological Indicators*, 53, 196–205
- Sandulli R., De Leonardis C., Vanaverbeke J. (2010) Meiobenthic communities in the shallow subtidal of three Italian Marine Protected Areas. *Italian Journal of Zoology*, 77:186-196
- Schratzberger M., Ingels J. (2018) Meiofauna matters: The roles of meiofauna in benthic ecosystems. *J Exp Mar Biol Ecol* doi:10.1016/j.jembe.2017.01.007
- Schratzberger M., Warr, K., Rogers S.I. (2007) Functional diversity of nematode communities in the southwestern North Sea
- Seinhorst J.W. (1959) A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerine. *Nematologica* 4:67-69
- Semprucci F. (2013) Marine Nematodes from the shallow subtidal coast of the Adriatic Sea: species list and distribution. *International Journal of Biodiversity*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/187659>
- Semprucci F., Cesaroni L., Guidi L., Balsamo M. (2018) Do the morphological and functional traits of free-living marine nematodes mirror taxonomical diversity? *Marine Environmental Research* 135:114-122. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.02.001>.
- Semprucci F., Frontalini F., Sbrocca C., Armynot du Châtelet E., Bout-Roumazelles V., Coccioni R. Balsamo M. (2015a) Meiobenthos and free-living nematode as tools for biomonitoring environments affected by riverine impact. *Environmental Monitoring Assessment* 187:251, <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-015-4493-7>
- Semprucci F., Losi V., Moreno M. (2015b) A review of Italian research on free-living marine 630 nematodes and the future perspectives on their use as Ecological Indicators (EcoInds). *Mediterranean Marine Science* 16:352-365. <https://doi.org/10.12681/mms.1072>.
- Shannon C.E., Weaver W. (1949) *The Mathematical Theory of Communication*. Illinois Press, Urbana, Illinois
- Sharp J. H. (1974) Improved analysis for “particulate” organic carbon and nitrogen from seawater<sup>1</sup>
- Soetaert K., Mathumbi A., Heip C., (2002) Size and shape of ocean margin nematodes: morphological diversity and depth-related patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 242: 179-193

- Somerfield P., Clarke K. R., (1995) Taxonomic levels in marine community studies, Revisited
- Taheri M., Grego M., Riedel B., Vincx M., Vanaverbeke J. (2015) Patterns in nematode community during and after experimentally induced anoxia in the northern Adriatic Sea. *Marine Environmental Research* 110:110-123
- Thistle D., Lambshed P.J.D. Sherman K.M. (1995) Nematode tail-shaped groups respond to environmental differences in the deep sea. *Vie et Milieu* 45:107-115
- Tita G. Vincx M., Desroisiers G (1999) Size spectra, body width and morphotypes of intertidal nematodes: an ecological interpretation. *J. mar Biol Assoc U. K.* 79:1007-1015
- Travizi A. (2010) The nematode fauna of the northern Adriatic offshore sediments: community structure and biodiversity. *Acta Adriatica* 51:169-180.
- Travizi A., Vidaković J. (1997) Nematofauna in the Adriatic Sea: review and check-list of free-living nematode species. *Helgol. Wissenschaftliche. Meeresunters.* 51: 503-519.
- Vanaverbeke J., Merckx B., Degraer S., Vincx M., (2011). Sediment-related distribution patterns of nematodes and macrofauna: two sides of the benthic coin? *Marine Environmental Research* 71, 31e40.
- Vrišer B., (1997). Seasonal and three-year variability of meiofauna in the Gulf of Trieste (northern Adriatic). *Periodicum Biologorum*, 99 (2), 209-212.
- Vrišer B., Vukovič A., (1999). Seasonal and long-term variability of meiofauna in the environment frequently affected by hypoxia in central part of the Gulf of Trieste. *Annales, Series Historia Naturalis*, 9 (2), 203-208.
- Warwick R.M., Platt H.M., Somerfield P.J., (1998). Free-Living Marine Nematodes. Part III. British Monhysterids. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, vol. 53. Field Studies. Council, Shrewsbury.
- Wieser W. (1953) Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen nematoden. *Ark Zool* 4:439-484
- Wieser W. (1959) Free-living nematodes and other small invertebrates of Puget Sound beaches. *the Adriatic Sea: present knowledge and future perspectives.* *ChemEcol* 26:45-63

## 8. Sitografia

- Area Marina Protetta di Miramare (<http://www.riservamarinamiramare.it/>)
- ILTER-International (<https://www.ilter.network>)
- LTER-Italia ICT Group, LTER-ITA. ([http://www.lteritalia.it/lter\\_italia\\_ict](http://www.lteritalia.it/lter_italia_ict))
- Nature Conservation (<https://natureconservation.pensoft.net/issue/1387>)

## 8. Appendici

**Appendice 1.** Matrice *genera by traits* in cui a ciascun genere è stata assegnata la rispettiva affinità alle categorie di ogni tratto (0 = nessuna affinità; 1 = affinità presente)

	1 A	1 B	2 A	2 B	R O U	C O N	E L O	C L A	< 6 0 0	6 00 - 10 00	10 00 - 20 00	> 2 0 0	< 2 0 0	2 0- 2 8	2 8- 4 6	> 4 6	c- p 2	c- p 3	c- p 4
<i>Actinonema</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Aegialoalaimus</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Amphimonhystrella</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Anticoma</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Antomicron</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Aponema</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Bathyeurystomina</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Campylaimus</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Chromadorina</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Chromadorita</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Comesa</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Daptonema</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Dichromadora</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
<i>Dorylaimopsis</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Eleutherolaimus</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Euchromadora</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Filitonchus</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Halalaimus</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Halichoanoalaimus</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Hopperia</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Leptolaimoides</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Leptolaimus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Linhystera</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Linhomoeus</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0

<i>Longicyatholaimus</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Marylynnia</i>		0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Metadanysemella</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Metadesmolaimus</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Metalinhomoeus</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Metasphaerolaimus</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
<i>Molgolaimus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Nannolaimus</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Oxystomina</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Paracantonchus</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Paracomesoma</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Parodontophora</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Paralongicyatholaimus</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Paramesonchium</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Parasphaerolaimus</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
<i>Pierrickia</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Polygastrophora</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Pomponema</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Prochromadorella</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Prooncholaimus</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Pseudochromadora</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Ptycholaimellus</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Sabatieria</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Siphonolaimus</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Sphaerolaimus</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Spilophorella</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Steineria</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Rhabdodemia</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
<i>Terschellingia</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Theristus</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Tricoma</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Vasostoma</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0



**Appendice 2.** Abbonanze Relative dei 56 generi negli undici mesi di campionamento

	Mar 15	Jun 15	Oct 15	Jan 16	Apr 16	Jul 16	Oct 16	Dec 16	Jul 17	Oct 17	Jan 18
<i>Actinonema</i>	3.9	0.0	0.0	0.0	0.0	3.2	0.0	2.2	4.5	2.4	0.0
<i>Aegialoalaimus</i>	1.3	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.6	2.1	0.0	0.0
<i>Amphimonhystrella</i>	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.7	0.0	0.0
<i>Anticoma</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2	2.2	8.1	0.0
<i>Antomicron</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Aponema</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0
<i>Bathyeurystomina</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0
<i>Campylaimus</i>	5.2	2.3	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Chromadorina</i>	0.0	7.7	0.9	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
<i>Chromadorita</i>	2.2	2.3	0.0	1.3	3.1	1.1	5.0	9.9	2.1	3.0	4.1
<i>Comesa</i>	0.0	0.0	0.0	2.9	0.0	1.1	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0
<i>Daptonema</i>	29.0	31.2	11.3	11.1	29.5	85.9	26.1	8.2	74.7	99.1	206.5
<i>Dichromadora</i>	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	0.0
<i>Dorylaimopsis</i>	141.3	37.7	58.2	66.4	47.6	127.6	74.3	5.8	59.5	243.1	162.2
<i>Eleutherolaimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.2
<i>Euchromadora</i>	4.0	21.6	29.7	8.3	4.2	23.8	7.7	23.6	15.9	39.2	49.6
<i>Filitonchus</i>	1.3	0.0	0.9	0.0	0.0	2.8	0.0	1.1	2.2	0.0	2.0
<i>Halalaimus</i>	10.0	10.0	5.2	1.3	4.8	5.3	3.6	0.0	6.6	5.4	12.0
<i>Halichoanoalaimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0	2.1	0.0
<i>Hopperia</i>	0.0	1.6	0.8	13.0	1.5	4.6	11.0	0.0	0.0	11.1	18.0
<i>Leptolaimoides</i>	3.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Leptolaimus</i>	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	2.4	0.0	2.2	2.1	0.0
<i>Linhystra</i>	3.5	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	2.2	2.4	2.0
<i>Linhomoeus</i>	1.3	2.3	1.2	0.0	0.0	0.0	1.2	0.6	2.3	6.0	10.1
<i>Longicyatholaimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0
<i>Maryllynnia</i>	0.0	9.4	0.8	4.4	0.0	1.1	0.0	0.0	6.8	0.0	0.0
<i>Metadanysemella</i>	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Metadesmolaimus</i>	2.2	12.6	6.0	2.6	0.0	26.7	7.4	1.4	53.8	53.1	30.9
<i>Metalinhomoeus</i>	0.0	2.3	0.0	0.0	17.7	2.8	6.7	1.7	2.2	9.6	6.3
<i>Metasphaerolaimus</i>	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0
<i>Molgolaimus</i>	9.1	3.9	2.6	4.4	0.0	22.1	10.3	0.6	15.7	2.4	25.9
<i>Nannolaimus</i>	0.0	0.0	0.8	0.0	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Oxystomina</i>	3.9	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Paracantonchus</i>	0.0	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Paracomesoma</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Parodontophora</i>	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	0.0
<i>Paralongicyatholaimus</i>	0.0	0.0	1.2	1.5	0.0	0.0	1.7	2.2	4.3	6.2	3.6
<i>Paramesonchium</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1
<i>Parasphaerolaimus</i>	0.0	4.5	1.2	2.8	1.5	4.3	3.6	0.6	4.4	0.0	0.0
<i>Pierrickia</i>	10.2	2.3	0.8	1.5	3.5	0.0	1.2	0.6	0.0	0.0	0.0

<i>Polygastrophora</i>	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0
<i>Pomponema</i>	2.5	1.6	0.0	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Prochromadorella</i>	0.0	10.6	10.3	11.1	0.0	23.4	36.1	36.3	28.7	34.2	51.6
<i>Prooncholaimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	22.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
<i>Pseudochromadora</i>	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	0.0	0.0
<i>Ptycholaimellus</i>	62.7	189.5	144.4	87.2	229.7	136.4	32.4	69.7	324.3	140.4	26.0
<i>Rhabdodemia</i>	2.5	2.3	0.0	2.8	0.0	1.1	0.0	1.1	2.3	0.0	0.0
<i>Sabatieria</i>	59.6	2.3	10.0	33.9	10.0	56.7	19.2	77.7	6.9	65.9	98.4
<i>Siphonolaimus</i>	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.7	0.0	0.0
<i>Sphaerolaimus</i>	17.4	3.2	7.7	11.1	6.0	12.2	17.7	8.5	15.7	15.4	24.2
<i>Spilophorella</i>	0.0	4.5	6.3	4.1	3.8	16.8	3.4	0.0	13.2	6.0	0.0
<i>Steineria</i>	2.2	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Terschellingia</i>	65.4	21.3	17.0	1.5	0.0	22.8	20.6	5.8	18.2	59.0	54.3
<i>Theristus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0
<i>Tricoma</i>	2.5	4.5	0.9	0.0	1.6	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Vasostoma</i>	2.5	0.0	0.0	0.0	2.9	7.5	1.7	0.0	0.0	0.0	2.1

**Appendice 3.** Comparazioni *pair-wise*. Abundance = Abbondanze medie (ind 10 cm<sup>-2</sup>); d = ricchezza; H' = Indice di Shannon; MI = Indice di Maturità; ITD = Indice di Diversità Trofica

Abundance	t	P(perm)	perms	P(MC)
Dec16, Mar15	2.8187	0.1078	10	0.0486
Dec16, Jul17	7.5087	0.1041	10	0.0022
Dec16, Oct17	4.6871	0.1006	10	0.0088
Dec16, Jan18	2.9655	0.1002	10	0.0452
July17, Mar15	3.3504	0.101	10	0.0255
Jul17, Jun15	4.5101	0.1025	10	0.0213
Jul17, Oct15	6.2731	0.0961	10	0.0031
Jul17, Jan16	7.8636	0.1004	10	0.0049
Jul17, Apr16	4.8585	0.0997	10	0.0091
Jul17, Oct16	6.4021	0.1013	10	0.0068
Oct17, Mar15	2.8661	0.0982	10	0.0432
Oct17, Oct15	4.1843	0.0989	10	0.0131
Oct17, Jan16	3.7342	0.0989	10	0.031
Oct17, Apr16	3.4765	0.0998	10	0.0242
Oct17, Oct16	3.549	0.1104	10	0.0392
Genera				
composition	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Jul17	1.8355	0.0947	10	0.0423
Oct15, Jan18	1.9101	0.1002	10	0.0376
Apr16, Mar15	2.1948	0.1029	10	0.0234
Apr16, Oct15	1.9474	0.0982	10	0.0347
Apr16, Jul16	2.3262	0.0982	10	0.0205
Apr16, Oct16	2.1199	0.0985	10	0.0431
Apr16, Dec16	2.8307	0.1003	10	0.0088
Apr16, Jul17	2.0808	0.1009	10	0.0267
Apr16, Oct17	2.2897	0.0985	10	0.0207
Apr16, Jan18	2.637	0.0998	10	0.0111
Dec16, Mar15	2.0561	0.1016	10	0.0343
Dec16, Jun15	2.076	0.0987	10	0.0481
Dec16, Oct15	1.9093	0.1028	10	0.0429
Dec16, Jul16	2.0767	0.0995	10	0.0255
Dec16, Jul17	2.3246	0.0967	10	0.0231
Dec16, Oct17	1.9389	0.099	10	0.0454
Dec16, Jan18	2.1213	0.1028	10	0.0297
H'	t	P(perm)	perms	P(MC)
Apr16, Mar15	4.4218	0.0957	10	0.0111
Apr16, Jul16	5.8996	0.0989	10	0.0047
Apr16, Oct16	6.7331	0.099	10	0.0071
Apr16, Dec16	3.3478	0.1018	10	0.0306
Apr16, Jul17	3.8137	0.097	10	0.0189
Apr16, Oct17	3.8908	0.1031	10	0.0179
Jul16, Oct15	3.8176	0.1021	9	0.0201
Jul16, Dec16	3.508	0.0998	10	0.0266

Oct16, Oct15	4.6492	0.0972	10	0.0181
Oct16, Dec16	5.0646	0.1018	10	0.0143
Oct16, Jul17	3.5812	0.0992	10	0.0359
MI	t	P(perm)	perms	P(MC)
Jun15, Jul16	5.5363	0.0971	10	0.0116
Jun15, Oct16	4.6517	0.3356	3	0.0407
Jun15, Oct17	3.3228	0.2017	10	0.046
Jun15, Jan18	5.3579	0.0961	10	0.011
Oct15, Jul16	3.3263	0.1019	10	0.0271
Oct15, Oct17	2.8404	0.0945	10	0.0477
Oct15, Jan18	4.1534	0.0938	10	0.0139
Apr16, Jan16	4.9339	0.0986	10	0.015
Apr16, Jul16	16.202	0.0979	10	0.0002
Apr16, Oct16	14.909	0.1006	10	0.0013
Apr16, Dec16	3.3051	0.0962	10	0.0269
Apr16, Oct17	4.8383	0.1012	10	0.0062
Apr16, Jan18	9.1332	0.1038	10	0.0009
Jul17, Jul16	4.9544	0.1039	10	0.0086
Jul17, Oct16	4.5276	0.1022	10	0.0178
Jul17, Oct17	3.1687	0.1013	10	0.0343
Jul17, Jan18	5.3234	0.1018	10	0.0052
ITD	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Jun15	16.233	0.0997	10	0.0008
Mar15, Oct15	10.298	0.1021	10	0.0009
Mar15, Jan16	4.6167	0.1034	10	0.0193
Mar15, Apr16	8.9022	0.101	10	0.0015
Mar15, Jul16	2.8747	0.1017	10	0.0465
Mar15, Dec16	3.5419	0.0979	10	0.0227
Mar15, Jul17	17.559	0.0998	10	0.0002
Jun15, Jul16	3.2664	0.2071	10	0.0497
Jun15, Jul17	4.8027	0.1006	10	0.0172
Oct15, Jul16	4.9014	0.0992	10	0.009
Oct15, Oct16	3.4139	0.1033	10	0.0379
Oct15, Dec16	3.4747	0.1012	10	0.0254
Oct15, Jul17	4.9798	0.1018	10	0.0091
Oct15, Jan18	4.274	0.0973	10	0.0129
Apr16, Jul16	3.4979	0.0995	10	0.0255
Apr16, Jul17	3.0353	0.0977	10	0.0381
Apr16, Jan18	3.1461	0.0991	10	0.0354

**Appendice 4.** Output del test Simperottenuto correlando tutte le coppie di matrici di similarità (generi, tratti singoli e combinati) usate per la costruzione dell'ordinamento nMDS di secondo grado. \*\* = P<0.01; \* = P<0.05

<b>Mar15 vs Jun15</b>				
Average dissimilarity = 53.58	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabateria</i>	4.61	2.48	8.61	8.61
<i>Ptycholaimellus</i>	4.21	3.17	7.87	16.47
<i>Dorylaimopsis</i>	3.84	1.45	7.17	23.64
<i>Terschellingia</i>	2.41	2.33	4.5	28.15
<i>Euchromadora</i>	2.35	1.93	4.39	32.54
<i>Marylynnia</i>	2.15	7.59	4.01	36.55
<i>Prochromadorella</i>	2.04	2.77	3.81	40.36
<i>Chromadorina</i>	1.93	18.26	3.6	43.96
<i>Metadesmolaimus</i>	1.89	1.74	3.53	47.49
<i>Sphaerolaimus</i>	1.79	1.11	3.34	50.83
<b>Mar15 vs Oct15</b>				
Average dissimilarity = 50.69	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	4	1.84	7.89	7.89
<i>Terschellingia</i>	3.54	1.77	6.98	14.86
<i>Sabateria</i>	3.53	2.28	6.96	21.82
<i>Euchromadora</i>	3.33	2.17	6.56	28.38
<i>Ptycholaimellus</i>	3.19	1.45	6.29	34.67
<i>Prochromadorella</i>	2.35	2.41	4.64	39.31
<i>Spilophorella</i>	1.95	3.7	3.85	43.16
<i>Sphaerolaimus</i>	1.86	1.52	3.67	46.84
<i>Pierrickia</i>	1.82	1.38	3.6	50.43
<b>Jun15 vs Oct15</b>				
Average dissimilarity = 35.11	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	2.07	1.49	5.91	5.91
<i>Marylynnia</i>	2.02	2.89	5.75	11.66
<i>Dorylaimopsis</i>	1.87	1.63	5.32	16.98
<i>Daptonema</i>	1.82	1.5	5.18	22.15
<i>Chromadorina</i>	1.76	2.7	5.02	27.17
<i>Sabateria</i>	1.73	1.4	4.92	32.09
<i>Terschellingia</i>	1.61	1.47	4.57	36.66
<i>Metadesmolaimus</i>	1.41	1.17	4.02	40.68
<i>Spilophorella</i>	1.33	1.3	3.78	44.46
<i>Dichromadora</i>	1.32	0.91	3.75	48.21
<i>Sphaerolaimus</i>	1.16	1.27	3.31	51.52
<b>Mar15 vs Jan16</b>				
Average dissimilarity = 50.04	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Terschellingia</i>	5.68	3.52	11.36	11.36

<i>Dorylaimopsis</i>	3.42	2.22	6.84	18.19
<i>Prochromadorella</i>	2.61	15.19	5.21	23.4
<i>Hopperia</i>	2.47	1.98	4.93	28.33
<i>Sphaerolaimus</i>	1.95	1.86	3.9	32.23
<i>Sabateria</i>	1.73	1.12	3.45	35.68
<i>Pierrickia</i>	1.73	1.35	3.45	39.13
<i>Halalaimus</i>	1.65	1.1	3.3	42.43
<i>Euchromadora</i>	1.62	1.8	3.24	45.66
<i>Ptycholaimellus</i>	1.61	1.23	3.22	48.89
<i>Spilophorella</i>	1.58	4.49	3.16	52.04
<b>Jun15 vs Jan16</b>				
Average dissimilarity = 43.45	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabateria</i>	3.69	2.32	8.49	8.49
<i>Ptycholaimellus</i>	3.51	3.26	8.07	16.56
<i>Terschellingia</i>	3	2.02	6.9	23.46
<i>Chromadorina</i>	2.16	15.69	4.97	28.43
<i>Metadesmolaimus</i>	1.85	1.62	4.27	32.7
<i>Hopperia</i>	1.77	1.3	4.08	36.79
<i>Halalaimus</i>	1.73	2.44	3.98	40.77
<i>Dorylaimopsis</i>	1.71	1.6	3.94	44.71
<i>Sphaerolaimus</i>	1.51	1.56	3.48	48.19
<i>Daptonema</i>	1.43	1.03	3.29	51.48
<b>Oct15 vs Jan16</b>				
Average dissimilarity = 32.99	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	2.6	1.41	7.87	7.87
<i>Terschellingia</i>	2.58	1.29	7.83	15.7
<i>Hopperia</i>	2.35	1.46	7.12	22.82
<i>Sabateria</i>	2.29	2.08	6.95	29.77
<i>Euchromadora</i>	2.28	2.28	6.9	36.67
<i>Rhabdodemia</i>	1.51	21.88	4.57	41.23
<i>Dorylaimopsis</i>	1.49	1.03	4.5	45.74
<i>Metadesmolaimus</i>	1.42	1.15	4.29	50.03
<b>Mar15 vs Apr16</b>				
Average dissimilarity = 57.84	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Terschellingia</i>	6.48	5	11.2	11.2
<i>Ptycholaimellus</i>	5.81	3.12	10.05	21.25
<i>Dorylaimopsis</i>	4.06	1.54	7.01	28.27
<i>Prooncholaimus</i>	3.77	7.94	6.53	34.79
<i>Sabateria</i>	3.75	1.96	6.49	41.28
<i>Metalinhomoeus</i>	2.8	1.33	4.84	46.13
<i>Sphaerolaimus</i>	2.11	1.27	3.65	49.78
<i>Halalaimus</i>	1.91	1.21	3.3	53.08
<b>Jun15 vs Apr16</b>				

Average dissimilarity = 47.78	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Prooncholaimus</i>	3.78	6.21	7.92	7.92
<i>Terschellingia</i>	3.73	3.11	7.8	15.72
<i>Metadesmolaimus</i>	2.87	3.63	6.01	21.74
<i>Metalinhomoeus</i>	2.54	1.39	5.31	27.05
<i>Marylynnia</i>	2.47	6.86	5.17	32.22
<i>Prochromadorella</i>	2.33	2.87	4.88	37.1
<i>Euchromadora</i>	2.02	5.54	4.23	41.33
<i>Halalaimus</i>	1.86	1.74	3.89	45.22
<i>Chromadorina</i>	1.65	1.74	3.45	48.67
<i>Sabateria</i>	1.61	1.13	3.37	52.04
<b>Oct15 vs Apr16</b>				
Average dissimilarity = 43.86	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Prooncholaimus</i>	4.38	8.57	9.98	9.98
<i>Terschellingia</i>	3.37	1.9	7.69	17.67
<i>Ptycholaimellus</i>	3.37	1.5	7.68	25.35
<i>Metalinhomoeus</i>	3.26	1.33	7.43	32.79
<i>Euchromadora</i>	3.13	2.99	7.13	39.92
<i>Prochromadorella</i>	2.75	2.43	6.26	46.18
<i>Dorylaimopsis</i>	2	1.46	4.56	50.74
<b>Jan16 vs Apr16</b>				
Average dissimilarity = 46.20	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	5.19	2.93	11.23	11.23
<i>Prooncholaimus</i>	4.3	7.46	9.3	20.54
<i>Metalinhomoeus</i>	3.2	1.28	6.92	27.46
<i>Prochromadorella</i>	3.04	13.59	6.59	34.05
<i>Sabateria</i>	2.57	1.61	5.57	39.62
<i>Hopperia</i>	2.4	1.55	5.2	44.82
<i>Daptonema</i>	1.83	2.17	3.96	48.78
<i>Dorylaimopsis</i>	1.67	1.8	3.62	52.4
<b>Mar15 vs Jul16</b>				
Average dissimilarity = 47.80	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Prochromadorella</i>	3.09	20.29	6.47	6.47
<i>Terschellingia</i>	2.86	1.25	5.98	12.45
<i>Metadesmolaimus</i>	2.77	3.14	5.79	18.23
<i>Spilophorella</i>	2.6	6.11	5.44	23.68
<i>Ptycholaimellus</i>	2.44	1.09	5.11	28.79
<i>Daptonema</i>	2.4	1.42	5.01	33.8
<i>Euchromadora</i>	2.39	2.08	5	38.8
<i>Dorylaimopsis</i>	2.33	1.64	4.88	43.68
<i>Sabateria</i>	1.71	1.35	3.59	47.26
<i>Sphaerolaimus</i>	1.71	1.49	3.57	50.83
<b>Jun15 vs Jul16</b>				

Average dissimilarity = 42.05	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabateria</i>	3.76	2.09	8.94	8.94
<i>Ptycholaimellus</i>	3.43	2.42	8.17	17.11
<i>Dorylaimopsis</i>	3.2	2.24	7.61	24.71
<i>Daptonema</i>	2.48	1.31	5.9	30.61
<i>Chromadorina</i>	1.78	10.25	4.24	34.85
<i>Spilophorella</i>	1.72	1.33	4.08	38.92
<i>Terschellingia</i>	1.69	1.3	4.02	42.95
<i>Marylynnia</i>	1.56	2.64	3.71	46.65
<i>Molgolaimus</i>	1.51	1.34	3.6	50.25
<b>Oct15 vs Jul16</b>				
Average dissimilarity = 37.71	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	3.84	1.9	10.18	10.18
<i>Ptycholaimellus</i>	3.25	1.83	8.61	18.79
<i>Sabateria</i>	2.65	1.53	7.04	25.83
<i>Dorylaimopsis</i>	2.59	1.3	6.88	32.71
<i>Metadesmolaimus</i>	2.31	2.02	6.11	38.82
<i>Molgolaimus</i>	2.18	1.67	5.79	44.61
<i>Terschellingia</i>	2.14	1.65	5.67	50.28
<b>Jan16 vs Jul16</b>				
Average dissimilarity = 38.81	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	3.69	1.91	9.52	9.52
<i>Metadesmolaimus</i>	2.83	3.35	7.29	16.81
<i>Ptycholaimellus</i>	2.57	1.3	6.62	23.43
<i>Terschellingia</i>	2.42	1.46	6.23	29.66
<i>Molgolaimus</i>	2.26	1.61	5.82	35.48
<i>Dorylaimopsis</i>	1.98	1.52	5.11	40.59
<i>Sabateria</i>	1.65	1.18	4.25	44.84
<i>Vasostoma</i>	1.54	1.24	3.97	48.81
<i>Hopperia</i>	1.54	1.36	3.96	52.76
<b>Apr16 vs Jul16</b>				
Average dissimilarity = 51.62	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	4.35	1.72	8.42	8.42
<i>Metadesmolaimus</i>	3.77	7.8	7.31	15.73
<i>Prochromadorella</i>	3.51	18.47	6.8	22.53
<i>Prooncholaimus</i>	3.45	6.54	6.68	29.21
<i>Molgolaimus</i>	3.12	2.69	6.05	35.26
<i>Dorylaimopsis</i>	3.08	1.85	5.96	41.22
<i>Sabateria</i>	2.88	1.51	5.59	46.81
<i>Terschellingia</i>	2.65	1.31	5.14	51.94
<b>Mar15 vs Oct16</b>				
Average dissimilarity = 48.39	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Prochromadorella</i>	4.24	1.96	8.77	8.77



<i>Dorylaimopsis</i>	3.23	1.72	6.67	15.44
<i>Sabateria</i>	2.73	1.26	5.65	21.08
<i>Terschellingia</i>	2.71	2.16	5.6	26.68
<i>Hopperia</i>	2.5	8.82	5.17	31.85
<i>Sphaerolaimus</i>	2.1	1.94	4.34	36.19
<i>Pierrickia</i>	1.66	1.47	3.43	39.62
<i>Halalaimus</i>	1.62	1.25	3.34	42.96
<i>Ptycholaimellus</i>	1.6	1.25	3.3	46.26
<i>Euchromadora</i>	1.51	1.51	3.13	49.39
<i>Metadesmolaimus</i>	1.45	1.65	2.99	52.38
<b>Jun15 vs Oct16</b>				
Average dissimilarity = 43.03	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	6.11	6.47	14.19	14.19
<i>Prochromadorella</i>	2.41	1.16	5.6	19.8
<i>Marylynnia</i>	2.31	6.92	5.37	25.17
<i>Sabateria</i>	2.22	1.2	5.17	30.33
<i>Chromadorina</i>	2.07	17.74	4.82	35.15
<i>Sphaerolaimus</i>	2.06	2.04	4.78	39.93
<i>Dorylaimopsis</i>	1.88	1.2	4.36	44.29
<i>Hopperia</i>	1.76	2.85	4.09	48.39
<i>Euchromadora</i>	1.41	1.94	3.28	51.66
<b>Oct15 vs Oct16</b>				
Average dissimilarity = 37.82	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	5.25	2.64	13.89	13.89
<i>Prochromadorella</i>	2.71	1.23	7.16	21.05
<i>Hopperia</i>	2.41	3.26	6.37	27.42
<i>Euchromadora</i>	2.33	2.08	6.17	33.59
<i>Dorylaimopsis</i>	2.03	1.52	5.37	38.96
<i>Daptonema</i>	1.72	1.45	4.56	43.52
<i>Terschellingia</i>	1.68	1.85	4.45	47.97
<i>Molgolaimus</i>	1.59	1.72	4.2	52.17
<b>Jan16 vs Oct16</b>				
Average dissimilarity = 34.29	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	3.1	2.14	9.03	9.03
<i>Terschellingia</i>	3.1	2.7	9.03	18.06
<i>Prochromadorella</i>	2.1	0.91	6.12	24.18
<i>Sabateria</i>	2	1.4	5.83	30.02
<i>Molgolaimus</i>	1.6	1.12	4.68	34.7
<i>Metalinhomoeus</i>	1.48	0.86	4.3	39
<i>Rhabdodemia</i>	1.41	14.52	4.12	43.12
<i>Hopperia</i>	1.37	5.37	4	47.12
<i>Chromadorita</i>	1.32	1.32	3.84	50.96
<b>Apr16 vs Oct16</b>				

Average dissimilarity = 52.47	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	8.14	5.45	15.51	15.51
<i>Prochromadorella</i>	4.94	1.93	9.41	24.92
<i>Prooncholaimus</i>	4.1	7.7	7.81	32.73
<i>Terschellingia</i>	3.88	7.83	7.4	40.13
<i>Molgolaimus</i>	2.75	7.83	5.23	45.36
<i>Metalinhomoeus</i>	2.5	1.24	4.77	50.13
<b>Jul16 vs Oct16</b>				
Average dissimilarity = 37.03	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	3.23	1.14	8.73	8.73
<i>Daptonema</i>	2.73	1.37	7.36	16.09
<i>Sabateria</i>	2.29	1.24	6.18	22.27
<i>Dorylaimopsis</i>	1.95	1.31	5.27	27.53
<i>Spilophorella</i>	1.92	1.65	5.19	32.72
<i>Terschellingia</i>	1.75	1.36	4.73	37.45
<i>Metadesmolaimus</i>	1.71	3.1	4.63	42.08
<i>Prochromadorella</i>	1.65	2.18	4.46	46.54
<i>Euchromadora</i>	1.53	2.29	4.14	50.68
<b>Mar15 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 55.94	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	7.37	2.44	13.17	13.17
<i>Terschellingia</i>	4.93	3.11	8.81	21.98
<i>Prochromadorella</i>	4.76	3.24	8.51	30.49
<i>Euchromadora</i>	2.95	1.76	5.28	35.76
<i>Daptonema</i>	2.38	1.23	4.26	40.02
<i>Ptycholaimellus</i>	2.16	1.59	3.86	43.88
<i>Halalaimus</i>	2.03	1.07	3.63	47.51
<i>Sphaerolaimus</i>	1.99	1.58	3.55	51.07
<b>Jun15 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 53.18	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabateria</i>	6.57	3.46	12.36	12.36
<i>Ptycholaimellus</i>	4.94	1.91	9.28	21.64
<i>Dorylaimopsis</i>	3.01	4.35	5.66	27.3
<i>Marylynnia</i>	2.56	7.1	4.82	32.12
<i>Halalaimus</i>	2.55	11.37	4.8	36.92
<i>Daptonema</i>	2.41	1.33	4.53	41.44
<i>Prochromadorella</i>	2.36	1.14	4.43	45.87
<i>Chromadorina</i>	2.3	25.36	4.32	50.2
<b>Oct15 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 44.01	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabateria</i>	5.54	5.68	12.6	12.6
<i>Dorylaimopsis</i>	4.84	2.31	11	23.6
<i>Ptycholaimellus</i>	4.2	1.46	9.55	33.14

<i>Chromadorita</i>	2.93	3.56	6.65	39.79
<i>Prochromadorella</i>	2.73	1.3	6.2	45.99
<i>Spilophorella</i>	2.39	3.72	5.43	51.42
<b>Jan16 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 41.98	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	5.52	9.5	13.15	13.15
<i>Sabateria</i>	3.03	1.91	7.21	20.36
<i>Hopperia</i>	2.98	2.03	7.11	27.48
<i>Ptycholaimellus</i>	2.59	1.37	6.18	33.66
<i>Prochromadorella</i>	2.27	1.27	5.41	39.07
<i>Chromadorita</i>	2.05	1.86	4.88	43.95
<i>Spilophorella</i>	1.93	4.39	4.59	48.54
<i>Euchromadora</i>	1.79	1.53	4.27	52.81
<b>Apr16 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 57.80	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	7.01	2.17	12.13	12.13
<i>Sabateria</i>	5.86	3.27	10.13	22.26
<i>Prochromadorella</i>	5.61	3.29	9.71	31.97
<i>Prooncholaimus</i>	4.62	8.43	7.99	39.96
<i>Dorylaimopsis</i>	4.27	3.04	7.38	47.34
<i>Metalinhomoeus</i>	3.07	1.7	5.31	52.66
<b>Jul16 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 48.74	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	6.48	7.05	13.3	13.3
<i>Daptonema</i>	4.63	2.06	9.51	22.81
<i>Ptycholaimellus</i>	3.27	1.33	6.71	29.51
<i>Metadesmolaimus</i>	3.15	5.03	6.47	35.98
<i>Spilophorella</i>	3.05	6.2	6.26	42.25
<i>Molgolaimus</i>	2.88	2.2	5.9	48.15
<i>Sabateria</i>	2.43	2.11	4.98	53.13
<b>Oct16 vs Dec16</b>				
Average dissimilarity = 44.11	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	5.48	4.21	12.41	12.41
<i>Sabateria</i>	4.47	2.03	10.13	22.54
<i>Hopperia</i>	3.02	8.94	6.84	29.38
<i>Ptycholaimellus</i>	2.44	1.23	5.53	34.92
<i>Molgolaimus</i>	2.44	3.39	5.52	40.44
<i>Daptonema</i>	2.37	1.28	5.37	45.81
<i>Prochromadorella</i>	2.26	1.44	5.12	50.93
<b>Mar15 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 57.24	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	6.35	5.9	11.09	11.09
<i>Metadesmolaimus</i>	3.9	3.56	6.82	17.9

<i>Sabateria</i>	3.79	1.98	6.63	24.53
<i>Prochromadorella</i>	3.18	3.25	5.56	30.09
<i>Terschellingia</i>	3	1.43	5.25	35.34
<i>Dorylaimopsis</i>	2.81	1.86	4.9	40.24
<i>Daptonema</i>	2.25	1.36	3.93	44.17
<i>Spilophorella</i>	2.23	3.67	3.9	48.07
<i>Sphaerolaimus</i>	1.89	1.44	3.29	51.37
<b>Jun15 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 42.99	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	2.61	6.91	6.06	6.06
<i>Daptonema</i>	2.34	1.25	5.44	11.5
<i>Metadesmolaimus</i>	2.23	2.53	5.19	16.69
<i>Euchromadora</i>	1.74	2.02	4.05	20.74
<i>Chromadorina</i>	1.72	17.25	3.99	24.73
<i>Sphaerolaimus</i>	1.7	1.68	3.96	28.69
<i>Terschellingia</i>	1.58	1.15	3.69	32.38
<i>Halalaimus</i>	1.57	2.41	3.66	36.04
<i>Amphimonhystrella</i>	1.5	1.13	3.49	39.53
<i>Prochromadorella</i>	1.46	1.16	3.4	42.93
<i>Spilophorella</i>	1.45	1.24	3.38	46.31
<i>Siphonolaimus</i>	1.27	0.64	2.94	49.25
<i>Molgolaimus</i>	1.15	1.85	2.68	51.94
<b>Oct15 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 45.14	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	4.32	2.48	9.57	9.57
<i>Daptonema</i>	3.62	1.63	8.01	17.58
<i>Metadesmolaimus</i>	3.59	2.68	7.96	25.54
<i>Euchromadora</i>	2.16	1.48	4.78	30.32
<i>Terschellingia</i>	1.91	1.37	4.22	34.54
<i>Sabateria</i>	1.8	2.31	3.99	38.53
<i>Molgolaimus</i>	1.74	1.94	3.85	42.38
<i>Amphimonhystrella</i>	1.69	1.17	3.73	46.12
<i>Prochromadorella</i>	1.66	1.35	3.67	49.78
<i>Sphaerolaimus</i>	1.63	3.36	3.61	53.39
<b>Jan16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 48.65	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	5.95	8.52	12.22	12.22
<i>Metadesmolaimus</i>	4.08	3.74	8.38	20.6
<i>Daptonema</i>	3.48	1.62	7.15	27.75
<i>Sabateria</i>	2.9	1.58	5.96	33.71
<i>Hopperia</i>	2.17	1.95	4.46	38.17
<i>Terschellingia</i>	2.05	1.32	4.22	42.39
<i>Molgolaimus</i>	1.74	1.47	3.57	45.96

<i>Amphimonhystrella</i>	1.66	1.13	3.41	49.37
<i>Euchromadora</i>	1.5	1.52	3.08	52.45
<b>Apr16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 52.91	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Metadesmolaimus</i>	5.01	5.95	9.46	9.46
<i>Prochromadorella</i>	3.59	3.27	6.79	16.25
<i>Prooncholaimus</i>	3.3	7.9	6.24	22.49
<i>Molgolaimus</i>	2.67	4.73	5.04	27.53
<i>Daptonema</i>	2.36	1.24	4.47	32
<i>Terschellingia</i>	2.26	1.21	4.26	36.26
<i>Metalinhomoeus</i>	2.24	1.42	4.23	40.49
<i>Ptycholaimellus</i>	2.12	1.61	4	44.49
<i>Sphaerolaimus</i>	1.81	1.49	3.42	47.91
<i>Sabateria</i>	1.77	1.8	3.35	51.26
<b>Jul16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 39.92	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	4.37	1.46	10.94	10.94
<i>Sabateria</i>	3.11	1.64	7.79	18.73
<i>Dorylaimopsis</i>	1.87	1.67	4.69	23.42
<i>Daptonema</i>	1.86	1.36	4.65	28.08
<i>Terschellingia</i>	1.8	1.24	4.51	32.59
<i>Euchromadora</i>	1.69	1.88	4.23	36.82
<i>Sphaerolaimus</i>	1.43	1.71	3.59	40.41
<i>Amphimonhystrella</i>	1.39	1.17	3.48	43.89
<i>Vasostoma</i>	1.25	1.29	3.14	47.03
<i>Halalaimus</i>	1.22	1.35	3.07	50.09
<b>Oct16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 47.56	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	8.14	15.85	17.13	17.13
<i>Metadesmolaimus</i>	2.96	2.94	6.23	23.36
<i>Daptonema</i>	2.59	1.31	5.45	28.8
<i>Hopperia</i>	2.2	9.04	4.63	33.44
<i>Sabateria</i>	2.16	1.67	4.54	37.97
<i>Terschellingia</i>	1.65	1.25	3.47	41.45
<i>Amphimonhystrella</i>	1.6	1.13	3.36	44.81
<i>Prochromadorella</i>	1.57	1.35	3.31	48.13
<i>Spilophorella</i>	1.56	1.31	3.28	51.41
<b>Dec16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 57.95	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	7.31	3.42	12.61	12.61
<i>Sabateria</i>	5.35	2.75	9.23	21.84
<i>Metadesmolaimus</i>	4.45	4.64	7.68	29.53
<i>Daptonema</i>	4.38	1.74	7.56	37.09

<i>Dorylaimopsis</i>	3.89	4.04	6.72	43.8
<i>Spilophorella</i>	2.61	3.61	4.5	48.3
<i>Molgolaimus</i>	2.42	3.17	4.17	52.47
<b>Mar15 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 49.36	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Metadesmolaimus</i>	3.8	2.31	7.7	7.7
<i>Prochromadorella</i>	3.26	2.52	6.61	14.31
<i>Dorylaimopsis</i>	3.26	1.46	6.6	20.91
<i>Daptonema</i>	2.85	1.67	5.77	26.68
<i>Ptycholaimellus</i>	2.81	1.06	5.7	32.38
<i>Euchromadora</i>	2.69	1.48	5.45	37.83
<i>Sabateria</i>	2.55	1.26	5.17	43
<i>Metalinhomoeus</i>	1.88	5.64	3.81	46.81
<i>Sphaerolaimus</i>	1.63	1.73	3.3	50.11
<b>Jun15 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 49.26	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	5.34	2.14	10.84	10.84
<i>Sabateria</i>	3.78	1.4	7.68	18.51
<i>Ptycholaimellus</i>	3.32	2	6.74	25.25
<i>Daptonema</i>	2.92	1.52	5.94	31.19
<i>Metadesmolaimus</i>	2.16	1.51	4.39	35.58
<i>Euchromadora</i>	2.11	2.04	4.28	39.86
<i>Marylynnia</i>	1.87	7.06	3.79	43.66
<i>Terschellingia</i>	1.85	1.3	3.76	47.42
<i>Prochromadorella</i>	1.83	1.53	3.72	51.14
<b>Oct15 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 47.08	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	5.02	1.74	10.66	10.66
<i>Daptonema</i>	4.26	1.89	9.06	19.72
<i>Sabateria</i>	3.78	2.89	8.02	27.74
<i>Metadesmolaimus</i>	3.5	1.85	7.43	35.17
<i>Ptycholaimellus</i>	3.33	1.57	7.08	42.25
<i>Terschellingia</i>	2.83	1.44	6.01	48.26
<i>Euchromadora</i>	2.26	1.44	4.81	53.07
<b>Jan16 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 50.35	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Terschellingia</i>	4.55	2.26	9.05	9.05
<i>Dorylaimopsis</i>	4.41	1.72	8.76	17.81
<i>Daptonema</i>	4.12	1.87	8.18	25.99
<i>Metadesmolaimus</i>	3.97	2.23	7.89	33.88
<i>Sabateria</i>	3.2	2.95	6.36	40.24
<i>Ptycholaimellus</i>	3.03	1.3	6.01	46.25
<i>Euchromadora</i>	2.64	3.47	5.24	51.49

<b>Apr16 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 57.39	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	5.49	2.03	9.56	9.56
<i>Terschellingia</i>	5.22	2.78	9.09	18.65
<i>Metadesmolaimus</i>	4.88	2.84	8.5	27.15
<i>Ptycholaimellus</i>	4.03	1.54	7.02	34.18
<i>Sabateria</i>	3.85	2.23	6.71	40.89
<i>Prochromadorella</i>	3.67	2.52	6.39	47.28
<i>Prooncholaimus</i>	3.23	6.8	5.62	52.9
<b>Jul16 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 38.72	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	2.94	1.15	7.6	7.6
<i>Dorylaimopsis</i>	2.69	1.35	6.95	14.55
<i>Sabateria</i>	2.69	1.66	6.94	21.48
<i>Terschellingia</i>	2.4	1.17	6.2	27.68
<i>Daptonema</i>	2.03	1.37	5.23	32.92
<i>Molgolaimus</i>	1.99	1.92	5.13	38.05
<i>Euchromadora</i>	1.91	1.84	4.94	42.99
<i>Spilophorella</i>	1.7	1.52	4.39	47.39
<i>Prochromadorella</i>	1.26	3.62	3.25	50.63
<b>Oct16 vs Jul17</b>				
Average dissimilarity = 42.06	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	4.11	1.49	9.78	9.78
<i>Sabateria</i>	3.43	2.24	8.17	17.95
<i>Ptycholaimellus</i>	3.38	0.93	8.03	25.97
<i>Daptonema</i>	3.19	1.54	7.59	33.57
<i>Metadesmolaimus</i>	2.88	1.78	6.85	40.42
<i>Euchromadora</i>	2.59	2.65	6.15	46.57
<i>Terschellingia</i>	2.03	1.23	4.82	51.4
<b>Dec16 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 51.82	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Dorylaimopsis</i>	8.74	3.86	16.87	16.87
<i>Daptonema</i>	5.03	2.01	9.71	26.58
<i>Metadesmolaimus</i>	4.34	2.46	8.37	34.95
<i>Terschellingia</i>	3.86	1.94	7.45	42.4
<i>Ptycholaimellus</i>	3.6	1.19	6.95	49.35
<i>Sabateria</i>	2.7	0.93	5.21	54.56
<b>Jul17 vs Oct17</b>				
Average dissimilarity = 44.54	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	3.96	1.32	8.89	8.89
<i>Dorylaimopsis</i>	3.88	1.86	8.71	17.6
<i>Sabateria</i>	3.33	1.43	7.48	25.07
<i>Terschellingia</i>	2.5	1.28	5.62	30.7

<i>Euchromadora</i>	2.2	1.42	4.95	35.64
<i>Daptonema</i>	1.77	1.22	3.98	39.62
<i>Molgolaimus</i>	1.6	1.93	3.59	43.21
<i>Spilophorella</i>	1.51	1.54	3.39	46.6
<i>Hopperia</i>	1.34	1.2	3.01	49.61
<i>Amphimonhystrella</i>	1.32	1.17	2.96	52.57
<b>Mar15 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 49.83	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	5.03	1.34	10.08	10.08
<i>Prochromadorella</i>	3.62	1.33	7.26	17.34
<i>Euchromadora</i>	3.47	2.34	6.97	24.31
<i>Dorylaimopsis</i>	2.78	1.51	5.58	29.9
<i>Metadesmolaimus</i>	2.62	1.49	5.26	35.16
<i>Hopperia</i>	2.58	5.48	5.17	40.33
<i>Ptycholaimellus</i>	2.49	1.28	5	45.33
<i>Sabateria</i>	2.05	1.02	4.12	49.46
<i>Sphaerolaimus</i>	1.87	1.62	3.76	53.22
<b>Jun15 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 54.18	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	5.97	2.77	11.02	11.02
<i>Daptonema</i>	5.1	1.28	9.41	20.43
<i>Sabateria</i>	5	1.74	9.24	29.67
<i>Dorylaimopsis</i>	3.81	1.41	7.03	36.7
<i>Prochromadorella</i>	3.01	2.18	5.56	42.26
<i>Sphaerolaimus</i>	2.11	2.12	3.9	46.16
<i>Metadesmolaimus</i>	2.07	5.72	3.81	49.98
<i>Hopperia</i>	1.98	3.1	3.66	53.63
<b>Oct15 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 50.20	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	6.74	1.5	13.43	13.43
<i>Ptycholaimellus</i>	5.29	1.97	10.54	23.97
<i>Sabateria</i>	4.12	1.43	8.21	32.18
<i>Dorylaimopsis</i>	3.58	1.29	7.12	39.31
<i>Prochromadorella</i>	3.36	2.46	6.7	46.01
<i>Terschellingia</i>	2.69	1.56	5.35	51.36
<b>Jan16 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 50.62	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	6.56	1.45	12.96	12.96
<i>Terschellingia</i>	4.16	2.08	8.22	21.18
<i>Ptycholaimellus</i>	3.55	1.41	7.01	28.19
<i>Prochromadorella</i>	3.23	4.03	6.38	34.57
<i>Dorylaimopsis</i>	2.83	1.06	5.58	40.15
<i>Metadesmolaimus</i>	2.81	1.63	5.56	45.71



<i>Euchromadora</i>	2.69	2.1	5.32	51.03
<b>Apr16 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 62.39	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	7.58	3.05	12.15	12.15
<i>Daptonema</i>	5.48	1.26	8.78	20.93
<i>Terschellingia</i>	4.82	2.67	7.72	28.65
<i>Sabateria</i>	4.32	1.41	6.92	35.57
<i>Prochromadorella</i>	4.08	1.33	6.53	42.1
<i>Dorylaimopsis</i>	3.91	1.4	6.26	48.36
<i>Molgolaimus</i>	3.48	5.65	5.58	53.94
<b>Jul16 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 39.57	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	3.73	1.21	9.42	9.42
<i>Ptycholaimellus</i>	3.71	1.31	9.37	18.78
<i>Prochromadorella</i>	2.45	5.69	6.18	24.97
<i>Terschellingia</i>	2.42	1.4	6.11	31.07
<i>Sabateria</i>	2.32	1.11	5.87	36.95
<i>Spilophorella</i>	2.31	6.46	5.84	42.78
<i>Dorylaimopsis</i>	2.12	1.43	5.35	48.14
<i>Metadesmolaimus</i>	1.62	1.56	4.09	52.22
<b>Oct16 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 40.03	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	5.51	1.29	13.77	13.77
<i>Sabateria</i>	3.39	1.08	8.48	22.25
<i>Dorylaimopsis</i>	2.9	1.2	7.24	29.49
<i>Euchromadora</i>	2.73	2.09	6.82	36.31
<i>Prochromadorella</i>	2.61	1.39	6.52	42.83
<i>Metadesmolaimus</i>	2.39	3.59	5.98	48.81
<i>Terschellingia</i>	2.06	1.66	5.13	53.95
<b>Dec16 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 53.81	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Daptonema</i>	7.61	1.61	14.14	14.14
<i>Dorylaimopsis</i>	7.03	2.47	13.06	27.2
<i>Terschellingia</i>	3.45	1.73	6.41	33.61
<i>Molgolaimus</i>	3.26	4.19	6.06	39.67
<i>Ptycholaimellus</i>	3.1	1.22	5.77	45.44
<i>Metadesmolaimus</i>	3.02	1.68	5.61	51.05
<b>Jul17 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 52.23	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	7.7	4.26	14.74	14.74
<i>Sabateria</i>	4.24	1.58	8.12	22.86
<i>Daptonema</i>	3.67	1.37	7.03	29.89
<i>Dorylaimopsis</i>	2.59	1.25	4.95	34.84

<i>Terschellingia</i>	2.42	1.4	4.64	39.48
<i>Euchromadora</i>	2.34	1.5	4.48	43.96
<i>Hopperia</i>	2.32	5.46	4.45	48.41
<i>Prochromadorella</i>	2.31	2.32	4.42	52.82
<b>Oct17 vs Jan18</b>				
Average dissimilarity = 39.41	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Ptycholaimellus</i>	3.88	1.23	9.84	9.84
<i>Daptonema</i>	3.37	1.28	8.56	18.4
<i>Sabateria</i>	3.13	1.53	7.93	26.33
<i>Dorylaimopsis</i>	2.75	1.52	6.98	33.31
<i>Molgolaimus</i>	2.22	2.59	5.64	38.95
<i>Prochromadorella</i>	2.22	1.59	5.63	44.58
<i>Euchromadora</i>	1.95	1.11	4.95	49.53
<i>Metadesmolaimus</i>	1.92	1.14	4.87	54.4

**Appendice 5.** Comparazioni *pair-wise* relative ai singoli tratti biologici e alla *Biological Trait Analysis* (BTA) complessiva

<b><i>Feedingtype</i></b>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Oct15	2.1451	0.0982	10	0.0316
Mar15, Jan16	2.4428	0.105	10	0.0386
Mar15, Apr16	2.667	0.099	10	0.0158
Mar15, Dec16	2.0884	0.1025	10	0.0455
Mar15, Jul17	2.5482	0.0991	10	0.0403
Jun15, Jul17	3.2166	0.0995	10	0.0253
Oct15, Jul17	3.5223	0.1032	10	0.0129
Oct15, Oct17	2.9026	0.1005	10	0.0141
Oct15, Jan18	2.8411	0.0938	10	0.0183
Jan16, Jul17	5.0374	0.1057	10	0.0088
Jan16, Oct17	2.9263	0.1007	10	0.0377
Jan16, Jan18	2.871	0.0975	10	0.0333
Apr16, Jul17	3.1339	0.0997	10	0.0206
Apr16, Oct17	2.9428	0.1006	10	0.0138
Apr16, Jan18	2.8339	0.1007	10	0.0219
Oct16, Jul17	3.7416	0.1003	10	0.0195
Dec16, Jul17	3.4003	0.0965	10	0.0114
Dec16, Oct17	2.8609	0.0993	10	0.0177
Dec16, Jan18	2.8793	0.1004	10	0.0153
<b><i>Life strategy</i></b>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Jun15, Oct17	2.4265	0.1042	10	0.0414
Jun15, Jan18	2.9632	0.0982	10	0.0363
Oct15, Jul17	3.5374	0.096	10	0.0088
Oct15, Oct17	2.9924	0.1018	10	0.0163
Oct15, Jan18	3.3661	0.0957	10	0.0099
Jan16, Apr16	2.5861	0.1068	10	0.0336
Jan16, Jul17	4.7152	0.0995	10	0.0056
Jan16, Oct17	2.7468	0.0981	10	0.027
Jan16, Jan18	3.3374	0.0974	10	0.0197
Apr16, Oct16	3.1989	0.1025	10	0.0134
Apr16, Dec16	2.4357	0.1036	10	0.0388
Apr16, Jul17	3.2345	0.101	10	0.0093
Apr16, Oct17	3.1811	0.1012	10	0.0092
Apr16, Jan18	3.5753	0.0954	10	0.0078
Oct16, Jul17	4.1362	0.1018	10	0.01
Oct16, Oct17	2.599	0.1029	10	0.034
Oct16, Jan18	3.0758	0.0979	10	0.0304
Dec16, Jul17	4.0862	0.0998	10	0.0066
Dec16, Oct17	3.1842	0.1004	10	0.0145
Dec16, Jan18	3.534	0.0984	10	0.0124
Jul17, Jan18	3.1546	0.1018	10	0.0168

<i>Tail shape</i>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Oct15	2.5704	0.103	10	0.0302
Mar15, Apr16	2.8419	0.0988	10	0.0222
Mar15, Dec16	2.4354	0.1031	10	0.0317
Mar15, Jul17	2.9571	0.0997	10	0.0164
Jun15, Jul17	3.5846	0.1	10	0.0255
Jun15, Oct17	2.8472	0.0951	10	0.031
Oct15, Jul17	2.8943	0.0995	10	0.0194
Oct15, Oct17	3.1511	0.0995	10	0.0131
Oct15, Jan18	2.8181	0.0967	10	0.0226
Jan16, Jul17	3.9909	0.0995	10	0.0145
Jan16, Oct17	3.023	0.1028	10	0.0201
Apr16, Jul17	2.8952	0.0962	10	0.0239
Apr16, Oct17	3.1882	0.0976	10	0.0114
Apr16, Jan18	2.996	0.0956	10	0.0216
Oct16, Jul17	3.112	0.1048	10	0.0245
Dec16, Jul17	3.2915	0.1008	10	0.0114
Dec16, Oct17	3.3281	0.1019	10	0.0133
Dec16, Jan18	2.9159	0.0982	10	0.0148
Jul17, Oct17	2.8185	0.0996	10	0.0312
Jul17, Jan18	2.7543	0.1016	10	0.0308
<i>Body length</i>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Dec16	3.0202	0.1017	10	0.011
Oct15, Jul17	3.3523	0.0958	10	0.0118
Oct15, Oct17	3.136	0.0994	10	0.0142
Oct15, Jan18	2.0771	0.1013	10	0.0422
Jan16, Apr16	2.3094	0.0977	10	0.0499
Jan16, Jul17	3.7239	0.0977	10	0.0126
Jan16, Oct17	3.744	0.101	10	0.025
Apr16, Jul16	2.6525	0.0984	10	0.0226
Apr16, Dec16	3.6018	0.1062	10	0.0043
Apr16, Jul17	3.3046	0.0995	10	0.0103
Apr16, Oct17	3.6484	0.1002	10	0.0154
Apr16, Jan18	2.5804	0.0975	10	0.0216
Jul16, Dec16	2.2155	0.0938	10	0.0462
Dec16, Jul17	3.9541	0.1066	10	0.006
Dec16, Oct17	3.7666	0.1015	10	0.0059
Dec16, Jan18	2.5344	0.1001	10	0.0334
<i>Body shape</i>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Oct15	2.19	0.0972	10	0.0402
Mar15, Apr16	2.7472	0.0994	10	0.0126
Mar15, Jul17	2.6552	0.0987	10	0.021
Oct15, Jul17	2.8818	0.0999	10	0.0145
Oct15, Oct17	2.5192	0.0969	10	0.023
Oct15, Jan18	2.6592	0.1011	10	0.0215

Jan16, Jul17	2.5877	0.0982	10	0.0314
Jan16, Oct17	2.2185	0.1027	10	0.047
Jan16, Jan18	2.3388	0.1041	10	0.044
Apr16, Dec16	2.1287	0.098	10	0.0471
Apr16, Jul17	2.7042	0.099	10	0.0355
Apr16, Oct17	2.3996	0.1023	10	0.0234
Apr16, Jan18	2.4393	0.0984	10	0.0469
Jul16, Dec16	1.7391	0.0954	10	0.094
Oct16, Jul17	2.7224	0.0956	10	0.0264
Dec16, Jul17	2.8982	0.0956	10	0.0134
Dec16, Oct17	2.5696	0.095	10	0.0268
Dec16, Jan18	2.4309	0.0977	10	0.0278
Jul17, Jan18	2.684	0.1057	10	0.0253
<b>BTA</b>	t	P(perm)	perms	P(MC)
Mar15, Oct15	2.1817	0.0963	10	0.0363
Mar15, Apr16	2.2836	0.0991	10	0.0282
Mar15, Dec16	2.2991	0.1031	10	0.0262
Mar15, Jul17	2.4674	0.1015	10	0.019
Jun15, Jul17	2.5927	0.0986	10	0.0333
Jun15, Oct17	2.3185	0.1011	10	0.0402
Oct15, Jul17	3.3781	0.103	10	0.0078
Oct15, Oct17	3.0105	0.1067	10	0.0081
Oct15, Jan18	2.7356	0.1063	10	0.016
Jan16, Jul17	4.0839	0.1007	10	0.0084
Jan16, Oct17	2.9451	0.0973	10	0.022
Jan16, Jan18	2.5515	0.1018	10	0.0376
Apr16, Oct16	2.1153	0.0938	10	0.0444
Apr16, Dec16	2.2517	0.1001	10	0.0355
Apr16, Jul17	3.1272	0.099	10	0.0153
Apr16, Oct17	3.0474	0.1012	10	0.0079
Apr16, Jan18	2.7975	0.1047	10	0.0166
Oct16, Jul17	3.0773	0.0978	10	0.0167
Oct16, Oct17	2.2486	0.1037	10	0.0491
Dec16, Jul17	3.5912	0.0978	10	0.0066
Dec16, Oct17	3.1468	0.1027	10	0.0099
Dec16, Jan18	2.8372	0.0995	10	0.014
Jul17, Jan18	2.1375	0.0972	10	0.0421