

INDICE GENERALE

Relazione Inaugurale al 39° Congresso della Società Italiana di Biologia Marina

BECK M.W. - New tools for marine conservation and management to reduce coastal losses to natural and human communities.....	3
---	---

Tema 1 - Impatto dell'eutrofizzazione e delle microalghe potenzialmente tossiche sul funzionamento degli ecosistemi costieri

Relazione Introduttiva al Tema 1

HALLEGRAEFF G.M. - Harmful Algal Blooms, Coastal Eutrophication and Climate Change	6
--	---

Comunicazioni del Tema 1

CHIANTORE M., MANGIALAJO L., CASTELLANO M., PRIVITERA D., COSTA E., CANEPA C., CATTANEO-VIETTI R. - Dinamica di proliferazione di <i>Ostreopsis ovata</i> in Mar Ligure.....	18
--	----

FACCA C., SFRISO A., CEOLDO S. - Condizioni trofiche estive della laguna di Grado-Marano in relazione alla distribuzione di nutrienti e diatomee nelle acque e nei sedimenti.....	21
---	----

FORNI G., OCCHIPINTI AMBROGI A., MAZZIOTTI C. - Variazioni di portata del Po, eutrofizzazione e comunità macrobentonica in una stazione al largo di Porto Garibaldi (Emilia Romagna, nord Adriatico): dieci anni di studio	25
--	----

GIOVANARDI F., RUSSO S., RINALDI A., MONTANARI G., FERRARI C.R., MAZZIOTTI C. - Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna: approccio metodologico per l'identificazione dei corpi idrici e la definizione delle condizioni di riferimento	29
--	----

GUERRINI F., FELLER A., PEZZOLESI L., SANGIORGI V., BIANCO I., CIMINIELLO P., DELL'AVERSANO C., FORINO M., TARTAGLIONE L., FATTORUSSO E., PISTOCCHI R. - Growth and toxicity characteristics of two strains of <i>Ostreopsis ovata</i> (Dinophyceae).	32
---	----

MAZZIOTTI C., SILVESTRI C., BENZI M. - Variazione annuale del fitoplancton in relazione alla struttura della colonna d'acqua in un'area eutrofizzata al largo di Lido Adriano (Emilia Romagna, Nord Adriatico)	34
--	----

MILANDRI A., CANGINI M., COSTA A., GIACOBBE M.G., POLETTI R., POMPEI M., RICCARDI E., RUBINI S., VIRGILIO S., PIGOZZI S. - Caratterizzazione delle tossine PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) in mitili raccolti in differenti aree marine italiane.....	38
---	----

MONTANARI G., RINALDI A. - Eutrofizzazione delle acque costiere in Emilia-Romagna: tendenze evolutive dei processi anossici.....	42
--	----

PENNA A., FRAGA S., MASÒ M., GIACOBBE M.G., BRAVO I., BERTOZZINI E., ANDREONI F., VILA M., GARCES E., LUGLIÈ A., VERNESI C. - Analisi della biodiversità genetica di alcune specie microalgali responsabili di fioriture tossiche nel Mar Mediterraneo.....	46
PEZZOLESIL., GUERRINI F., PASTERIS A., GALLETTI P., TAGLIAVINI E., PISTOCCHI R. - Study of the toxic mechanism of the red-tide forming (Raphidophyceae) <i>Fibrocapsa japonica</i> (Northern Adriatic).....	50
POLETTI R., CANGINI M., CEREDI A., MAGNANI F., MILANDRI A., PIGOZZI S., POMPEI M., RICCARDI E., ZOFFOLI S. - Bioaccumulo di tossine algali liposolubili in <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck, 1819) del Nord Adriatico.....	54
SFRISO A., CURIEL D., FALACE A., FACCA C. - Macrofite, condizioni trofiche e stato ecologico della laguna di Grado-Marano.....	58
UNGARO N., PASTORELLI A.M., BLONDA M., ASSENNATO G. - Il monitoraggio di sorveglianza delle fioriture di <i>Ostreopsis ovata</i> nei mari pugliesi: approccio metodologico e risultati nella stagione estiva 2007.....	62

Tema 2 - Analisi quantitativa delle alterazioni antropiche degli ecosistemi marini costieri

Relazione introduttiva al Tema 2

BENEDETTI-CECCHI L. - Identificazione e misurazione di impatto antropico sui popolamenti marini: guardare oltre le differenze tra i valori medi di abbondanza.....	66
--	----

Comunicazioni del Tema 2

AIROLDI L., BALATA D., BECK M.W. - Quantifying the effects of habitat loss on marine diversity	78
BRAMBILLA F., PAIS A., FORCHINO A., SERRA S., ANTONINI M., TEROVA G., SAROGLIA M. - Impatto dell'attività di maricoltura <i>off-shore</i> sull'ecosistema bentonico: caso studio in corso presso un'azienda ittica sarda (Rada di Alghero).....	81
BRIGOLIN D., RAMPAZZO F., GIANI M., BERTO D., GIOVANARDI O., PASTRES R. - Il progetto europeo ECASA: indicatori e modelli per la valutazione dell'impatto ambientale delle mitilocolture in sospensione .	85
BULLERI F. - The evaluation of ecological impacts in coastal habitats: criteria for the selection of reference sites.....	89
CECCHERELLI G., PINNA S., SECHI N. - Does accessibility of locations interact with protection effect on shallow rocky habitats?.....	93
CURIEL D., MIOTTI C., MARZOCCHI M. - Distribuzione qualitativa delle macroalghie dei moli foranei della Laguna di Venezia .	97
FABI G., MANOUKIAN S., PUNZO E., SPAGNOLO A. - Impatto dello scarico di fanghi portuali sulle comunità bentoniche di fondo mobile (Nord Adriatico)	101

FONTANA G., UGLAND K.I., GRAY J.S., PASSARO R., SANTIN S., BORSINI C., TISSELLI S., CASELLI C., CECCARELLI M., BACCHI S., VAN ETTEN J., BRIASCO G., WILLIS T.J., ANDERSON M.J., AIROLDI L., FERRARO M., ALBERTI DI CATENAJA C., ABBIATI M. - BIODIVADR - Studio a scala regionale dell'impatto dell'attività estrattiva off shore sulla biodiversità dei popolamenti macrobentonici dell'alto Adriatico	105
FRANZELLITTI S., DONNINI F., FABBRI E. - Profili di espressione di geni sensibili alle alterazioni ambientali come indicatori dell'esposizione a fattori di stress in ambienti marini costieri.....	109
LUNA G.M., GILI C., DANOVARO R. - Identificazione dei batteri associati a necrosi in coralli duri tropicali	112
MANGIALAJO L., CHIANTORE M., CATTANEO-VIETTI R. - Changes in marine macroalgal assemblages due to human impacts: general trends and applications in coastal management.....	115
MARTINI P., CASTELLARI G., FERRARI C.R. - Analisi comparativa del bioaccumulo di inquinanti in alcuni livelli della rete trofica marina ..	118
MUNARI C., MISTRI M., MANINI E., PUSCEDDU A., DANOVARO R. - Validazione dell'indice macrobentonico BITS in due lagune adriatiche: Goro e Lesina	122
PONTI M., VASI G., PASTERIS A., GUERRA R., ABBIATI M. - Impact of dredging on macrobenthic assemblages in a northern Adriatic coastal lagoon	126
RISMONDO A., MION D. - Variabilità dei popolamenti a fanerogame marine in Laguna di Venezia: dinamismi naturali o modificazioni indotte?	130
SIMONINI R., ANSALONI A., GRANDI V., MASSAMBA N'SIALA G., IOTTI M., MAURI M., MONTANARI G., PRETI M., DE NIGRIS N., PREVEDELLI D. - Effetti dell'estrazione di sabbie e dello sversamento di dragaggi portuali sul macrozoobenthos di fondi molli: due casi di studio in Adriatico settentrionale.....	134
TERLIZZI A. - The perception of biodiversity and its implication in the quantification of human impacts on marine systems.....	138
TRABUCCO B., BACCI T., MARUSSO V., LOMIRI S., VANI D., MARZIALETTI S., CICERO A.M., DI MENTO R., DE BIASI A.M., GABELLINI M., VIRNO LAMBERTI C. - Studio della macrofauna attorno alle piattaforme <i>off-shore</i> in Adriatico centrale	141
<i>Poster del Tema 2</i>	
BOSCOLO R., CACCIATORE F., GIOVANARDIO. - Indice PCDDF/PC e analisi fattoriale per la valutazione quantitativa e qualitativa della decontaminazione da PCDD e PCDF in <i>Tapes philippinarum</i>	146
CAMMARATA M., PARISI M.G., BENENATI G., MARTORANA R., PARRINELLO N. - Effetti tossici del metilmercurio sulle risposte immunitarie dell'ascidia <i>Styela plicata</i>	148
CERRANO C., FAVA F., SCINTO A., PONTI M. - Epibenthic assemblages and coral rubbles: possible effects of human impacts on coral reefs	150

D'ADAMO R., ROSELLI L., SANTAMARIA C., FABBROCINI A. - Nutrienti quali indicatori dell'impatto di attività di maricoltura sull'ambiente marino: studio preliminare	152
DE BIASI A.M., PACCIARDI L. - Monitoraggio degli effetti della vasca di colmata del porto di Livorno sulle comunità bentoniche	154
DEL PRETE F., D'ASCOLI F., MASULLO P., VITIELLO V., SANSONE G. - Effetti di sostanze xenobiotiche (pesticidi) singole ed in miscela sulla sopravvivenza di embrioni di <i>Sparus aurata</i>	156
FAVA F., PONTI M., ABBIATI M. - Possible effects of different protection levels on the epibenthic assemblages: the tegrùe of Chioggia.....	158
FOSCHI J., MONARI M., MARIN M.G., CORTESI P., SERRAZANETTI G.P. - Heat Shock Protein 70 in <i>Chamelea gallina</i> esposta a differenti stress fisici e chimici.....	160
LANGELLOTTI A.L., BAGNOLI A., D'ADAMO R., DEL PRETE F., FABBROCINI A., MASULLO P., SORRENTI G., VITIELLO V., SANSONE G. - Studio preliminare di utilizzo di seme criopreservato di <i>Sparus aurata</i> (Linneo, 1758) in saggi ecotossicologici	162
LEDDA F.D., MANCONI R., PRONZATO R. - Tassi di ritenzione del carico batterico e organico di <i>Ircinia variabilis</i> (Demospongiae, Dictyoceratida) in spongicoltura sperimentale per la biorimediazione.....	164
MASULLO P., ATTIANESE M., DEL PRETE F., LANGELLOTTI A.L., SANSONE G. - Effetti di sostanze xenobiotiche (metalli pesanti) singole ed in miscela sulla sopravvivenza di larve di <i>Sparus aurata</i>	166
MONARI M., FOSCHI J., FABBRI M., MATOZZO V., SERRAZANETTI G.P. - Identificazione del CYP1A-immunopositive protein in cellule immunitarie di <i>Chamelea gallina</i> dopo esposizione a benzo(a)pirene.	168
NESTI U., PIAZZI L., BALATA D. - Variability in patterns of distribution and abundance of epiphytes of <i>Posidonia oceanica</i> exposed to anthropogenic nutrient enrichment.....	170
SBRESCIA L., DI STEFANO F., RUSSO M., RUSSO G.F. - Influenza della pesca sportiva sulle gorgonie nell'AMP di Punta Campanella.....	172
TARLAZZI S., SCARONI I. - Oil spill da attacco aereo sulla costa libanese - Luglio 2006.....	174

Tema 3 - Le biotecnologie applicate allo studio delle risorse della pesca e dell'acquacoltura

Relazione Introduttiva al Tema 3

CARVALHO G.R., COSTA F. - Detecting species in the Oceans: the global use of DNA barcoding	178
--	-----

Comunicazioni del Tema 3

ARCULEO M., MAGGIO T., LO BRUTTO S. - Due casi-studio di 'stock identification' con microsatelliti nel Mar Mediterraneo: la triglia di fango <i>Mullus barbatus</i> e il nasello <i>Merluccius merluccius</i>	180
---	-----

CAFFARA M., FLORIO D., GUSTINELLI A., FIORAVANTI M.L. - Diagnostica molecolare delle malattie dei pesci con particolare riferimento alle mixosporidiosi.....	184
CANNAS R., PASOLINI P., MANCUSI C., FOLLESA M.C., CABIDDU S., HEMIDA F., SERENA F., TINTI F. - Distribuzione, sistematica molecolare e filogeografia delle specie <i>Raja polystigma</i> e <i>Raja montagui</i> nel Mediterraneo	188
COLOMBO L., BELVEDERE P., DALLA VALLE L. - Genetic engineering in aquaculture: possibilities and limitations	192
DENARO R., CRISAFI F., YAKIMOV M., GENOVESE L. - Espressione dei geni deputati alla virulenza in risposta a stress ambientali nel patogeno <i>Listonella anguillarum</i>	196
GUARNIERO I., ZACCARO Z., PASOLINI P., RAGAZZINI C., RONGAI F., CARIANI A., FERRARA G., HEMIDA F., TRENTINI M., TINTI F. - Genetica molecolare e conservazione di elasmobranchi: sistematica, filogeografia e unità di popolazione in <i>Raja clavata</i> e <i>R. traeleni</i>	200
LIBERTINI A. - La manipolazione del corredo cromosomico: applicazioni in acquacoltura	203
ORSI RELINI L., PALANDRI G., GARIBALDI F., LANTERI L., CILLI E., FERRARA G., TINTI F. - Towards a new taxonomical approach to Mediterranean small tuna of genus <i>Auxis</i>	207
PATARNELLO T., MININNI A., FERRARESSO S., BARGELLONI L. - An integrated micro-array platform for investigating mRNA expression profiling in <i>Sparus aurata</i> L.	211
TEROVA G., RIMOLDI S., GORNATI R., BERNARDINI G., SAROGLIA M. - Regolazione genica della grelina nella spigola (<i>Dicentrarchus labrax</i>) in risposta alle fluttuazioni nella disponibilità dell'alimento.....	213
 <i>Poster del Tema 3</i>	
BURATTI S., FRANZELLITTI S., POLETTI R., CAPUZZO A., FABBRIO E. - Correlazione tra i livelli di biotossine algali e alcuni parametri fisiologici del mitilo <i>Mytilus galloprovincialis</i>	218
FABBROCINI A., BAGNOLI A., D'ADAMO R., LANGELLOTTI A.L., PANUNZIO M., SORRENTI G., VITIELLO V. - Motilità di seme criopreservato di orata (<i>Sparus aurata</i> L. 1758): valutazioni comparate tra analisi visuale e computerizzata	220
GUARNIERO I., PASSAMONTI M., RONGAI F., TRENTINI M., RINALDI A. - Analisi comparativa del frammento genico 18S rDNA nel mollusco bivalve <i>Macra corallina</i> (Linneo 1758).....	222
ISANI G., BONALDO A., FAGIOLI P., MARIANI L., CARPENÈ E., ANDREANI G. - Piruvato cinasi e miosine in orate (<i>Sparus aurata</i>) alimentate con diete a diverso contenuto lipidico.....	224
STABILI L., ACQUAVIVA M.I., CAVALLO R.A., CECERE E., LO NOCE R., NARRACCI M., PETROCELLI A. - Attività antibatterica di macroalghe prelevate nel Mar Piccolo di Taranto	226

Poster del Comitato Acquacoltura

CARLUCCI R., SASSANELLI G., MASTROTOTARO F., IMPERATRICE M., MATARRESE A. - Aspetti riproduttivi di <i>Ostrea edulis</i> (L., 1758) (Bivalvia: Ostreacea) nel Mar Grande di Taranto (Mar Ionio Settentrionale)	230
MANCUSO M., COSTANZO M.T., MARICCHIOLO G., ZACCONE R., PIRRERA L., GRISTINA M., CUCCU D., GENOVESE L. - Primo caso di vibriosi nell'aragosta rossa (<i>Palinurus elephas</i>) (Fabricius, 1787) in Sicilia.....	232
MARCHINI A., SAVINI D., OCCHIPINTI AMBROGI A. - Aqua- culture and introduced species in the EU-MED region. Part II: Dispersal risk into the wild.....	234
PAIS A., SERRA S., SABA S., MELONI G., DIMAURO C., SINI M., MANCA P. - Sopravvivenza e crescita di esemplari di <i>Anemonia viridis</i> (Forskål, 1775) alimentati con diete diverse in ambiente controllato	236
RONCARATI A., MELOTTI P., BRINA N., PIGNATA S., FELICI A., DEES A., MORDENTI O. - Quality traits of wild and farmed turbot commercialized by an Italian supermarket company.....	238
SAVINI D., MARCHINI A., OCCHIPINTI AMBROGI A. - Aqua- culture and introduced species in the EU-MED region. Part I: Status and trends.....	240
SCIROCCO T., FLORIO M., SPECCHIULLI A., CILENTI L., PAZIENZA G., BREBER P. - Prove di allevamento di <i>Crassostrea gigas</i> (Thunberg) in laguna di Varano (Italia)	242

Poster del Comitato Benthos

ALESSI R., SPANÒ N., GIACOBBE S. - Distribuzione di molluschi nudibranchi in un'area dello Stretto di Messina.....	246
AZZINI F., CALCINAI B., CERRANO C., PANSINI M. - Symbiotic associations of sponges and macroalgae: the case of <i>Haliclona</i> (<i>Gellius</i>) <i>cymaeformis</i> and <i>Ceratodictyon spongiosum</i> from the Ha Long Bay (Viet- nam)	248
BALDACCONI R., LONGO C. - Dati preliminari sul popolamento a poriferi associato alla piattaforma a vermetidi del litorale pugliese.....	250
BATTOCCHI C., CARUBBI M., CAPELLACCI S., TOTTI C., PENNA A. - Applicazione di tecniche molecolari per l'identificazione di microal- ghe bentoniche tossiche (Ostreopsidaceae) in aree costiere dell'Adriatico settentrionale	252
BERTOLINO M., CALCINAI B., BAVESTRELLO G., PICA D., GASPARDO M., CERRANO C. - Poriferi epibionti su <i>Carijoa</i> spp. (Cnidaria, Octocorallia) dall'Oceano Indiano	254
BIRARDI F., LENZI M., FRANCHI E., SOLARI D., ROFFILLI R., GENNARO P., FOCARDI S. - Spread of <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>cylin- dracea</i> in back-reef areas (Tuscany southern coast).....	256

CEGLIE V., LONGO C., MERCURIO M., NONNIS MARZANO C., CARDONE F., BALDACCONI R., CORRIERO G. - Distribuzione di <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>cylindracea</i> lungo le coste pugliesi	258
CUMANI F., DI PASCOLI A., BRESSAN G. - Osservazioni fenecotipiche di bioindicatori in coltura di laboratorio: <i>Pneophyllum fragile</i> Kützing e <i>Hydrolithon boreale</i> (Foslie) Chamberlain (Corallinales, Rhodophyta)..	260
D'ADDABBO R., DE LEONARDIS C., SANDULLI R., GALLO M. - Further studies of meiofauna and tardigrade fauna in two Italian Marine Protected Areas	262
DE LEONARDIS C., MONTEMORRA A., D'ADDABBO R., SANDULLI R. - Meiobenthos and nematode communities in the Venice Lagoon	264
DI PASCOLI A., TONIOLO M., BRESSAN G. - Modellizzazione tridimensionale come strumento per l'analisi del ricoprimento di Corallinales	266
FABI G., MANOUKIAN S., SARAPPA A., SPAGNOLO A. - Modificazioni temporali delle biocenosi bentoniche di fondo mobile lungo la costa del Promontorio del Conero (nord Adriatico)	268
FORNI G., CIGLIANO M., GUGLIELMO R., ARDESI E. - First record of <i>Malmgreniella liliana</i> e (Polychaeta Polynoidea: Polynoinea) along the Italian coast	270
GERGIC A., DI PASCOLI A., BRESSAN G. - Il macrofitobenthos del promontorio di Salvore (Croazia, Nord Adriatico). Studio floristico e applicazioni didattiche	272
MERCURIO M., SCISCIOLI M., LEPORE E., GHERARDI M. - Note sulla popolazione di <i>Hydroides dianthus</i> (Verrill, 1873) (Polychaeta: Serpulidae) del Mar Piccolo di Taranto (Mar Ionio)	274
MOLIN E., BOCCI M., PICONE M., PENNA G., ZANOVELLO G. - Analisi fotografica del megabenthos in tre affioramenti rocciosi (tegnùe) del Golfo di Venezia (nord Adriatico)	276
NURRA N., ORLANDO F., PESSANI D. - <i>Gibberula oryza</i> (Lamarck, 1822) (Prosobranchia Caenogastropoda): prima segnalazione per i mari italiani	278
PAGANELLI D., FORNI G. - Indagini sul macrobenthos di fondo incoerente a 10 km dalla costa dell'Emilia Romagna	280
PANETTA P., MASTROTOTARO F., CARLUCCI R., MATARRESE A. - Tanatocenosi a molluschi dei fondali incoerenti al largo dell'Area Marina Protetta di Torre Guaceto (Brindisi)	282
PORPORATO E., MANGANO M.C., DE DOMENICO F., GIACOBBE S., SPANÒ N. - Addensamenti di pennatulacei nello Stretto di Messina	284
RAGAZZOLA F., COSSU A. - Monitoraggio della vegetazione sommersa nella secca di Spargiotto (Arcipelago di La Maddalena)	286
SEMPRUCCI F., MORENO M., FABIANO M., BALSAMO M. - Nematode maturity index applied to different coastal areas of the Mediterranean Sea	288

SEMPRUCCI F., SBROCCA C., BALDELLI G., COLANTONI P., BALSAMO M. - Meiofauna biodiversity and ecology of some Maldive lagoons	290
VASAPOLLO C., IANNOTTA M.A., VAN TUSSENBROEK B., GAMBI M.C. - First data on frequency and spatial distribution of borer polychaetes in <i>Thalassia testudinum</i> seagrass meadows off the Western Caribbean	292
ZEPPELLI D., DANOVARO R. - Meiobenthic diversity in a shallow hydrothermal vent of the Pacific Ocean: preliminary results.....	294

Poster del Comitato Gestione e Valorizzazione della Fascia Costiera

AGNESI S., CASSESE M.L., MO G., TUNESI L. - Sites of community importance for <i>Posidonia oceanica</i> : tools for conservation in Italy.....	298
CARONNI S., CRISTO B., TORELLI A. - Osservazioni sul reimpianto di esemplari di <i>Pinna nobilis</i> (Linneo, 1758) ritrovati staccati e privi di bisso.....	300
CRISTO B., CARONNI S. - Osservazioni sullo stato di conservazione di <i>Patella ferruginea</i> (Gmelin, 1791) nelle vicinanze di Capo Ceraso (Golfo di Olbia, Sardegna nord-orientale).....	302
FIORIN R., CERASUOLO C., CURIEL D., RICCATO F. - Il popola- mento ittico e macroalgale delle scogliere del litorale veneziano: interazio- ne tra le alghe brune del genere <i>Cystoseira</i> e alcune specie di pesci.....	304
MORDENTI O., TRENTINI M., BASTONE G., SAVOIA L., SCARAVELLI D. - Caratterizzazioni ecologiche e morfologiche di una popolazione di <i>Aphanius fasciatus</i> (Valencienne, 1821).....	306
UNGARO N., PASTORELLI A.M., BLONDA M., GIOVANARDI F. - La tipizzazione delle aree marino-costiere nell'ambito della Direttiva 2000/60/CE: un esempio applicativo per la regione Puglia.....	308

Poster del Comitato Necton e Pesca

ANDREOTTI S., MICARELLI P., SPINETTI S., CAMIGLIANO G., FERRERO E., TRIPEPI S., SPERONE E. - Curiosità o aggressività? Comportamento predatorio di superficie di <i>Carcharodon carcharias</i> L. (Lamnidae)	312
BARTOLINO V., COLLOCA F., MAIORANO L., CARPENTIERI P., CRISCOLI A., BELLUSCIO A., MANNINI A., REALE B., PRANOVI F., ABELLA A., ARDIZZONE G.D. - Systematic conservation plan- ning: un approccio per l'identificazione di aree di chiusura alla pesca in Mediterraneo	314
BELLANTE A., BUSCAINO G., BUFFA G., DI STEFANO V., CUTTITTA A., BASILONE G., PATTI B., BONANNO A., MAZZOLA S. - Report sugli spiaggiamenti di cetacei lungo la costa della Sicilia sud- occidentale dal 1999 ad oggi	316

BORME D., LEGOVINI S., DE OLAZABAL A., FONDA UMANI S., TIRELLI V. - Alimentazione di <i>Sardina pilchardus</i> nel Golfo di Trieste (Adriatico settentrionale): prima stima del fabbisogno alimentare e descrizione della dieta	318
CAVANNA P., LANTERI L., BECCORNIA E., RELINI G. - Accrescimento di <i>Illex coindetii</i> (Verany, 1839) e <i>Todaropsis eblanae</i> (Ball, 1841) in Mar Ligure	320
FOLLESA M.C., MERELLA P., PORCU C., PAIS A., CAU A. - Considerations on recent findings of <i>Fistularia commersonii</i> Rüppell, 1838 off Sardinian coasts (central-western Mediterranean).....	322
GANCITANO V., BADALUCCO C., GANCITANO S., GRISTINA M., RIZZO P., SINACORI G., LABANCHI L., FIORENTINO F. - Potenzialità produttive e stato di sfruttamento di <i>Parapenaeus longirostris</i> (Lucas, 1846) (Crustacea; Decapoda) nello Stretto di Sicilia (GSA 16)....	324
GANCITANO V., CUSUMANO S., GIUSTO G.B., GAROFALO G., INGRANDE G., SABATELLA E., RAGONESE S., FIORENTINO F. - Valutazione dello stato di sfruttamento del gambero rosso <i>Aristaeomorpha foliacea</i> (Risso, 1827) (Crustacea; Decapoda) nello Stretto di Sicilia.	326
GENOVESE S., GANCITANO S., BUSCAINO G., BUFFA G., CUTTITA A., PATTI B., TRAINA A., MAZZOLA S. - Prime osservazioni biometriche sui tonni (<i>Thunnus thynnus</i> L., 1758) catturati nelle stagioni di pesca 2005 e 2006 presso la tonnara a rete fissa di Favignana (Sicilia)	328
IRACI SARERI D., TUDISCO A., VACCHI M., CANTONE G. - Variabilità degli ocelli di <i>Raja radula</i> del Mar Ionio.....	330
LEGOVINI S., BORME D., TULLI F., DE OLAZABAL A., TIRELLI V. - Risultati preliminari sul contenuto energetico di <i>Sardina pilchardus</i> nel Golfo di Trieste (Adriatico settentrionale).....	332
LIGAS A., BELCARI P., BERTOLINI D., MICHELI D., REALE B., SARTOR P. - Analisi di serie temporali di sbarcato commerciale nel Mar Tirreno settentrionale.....	334
LUCCHETTI A., PALUMBO V., ANTOLINI B., AFFRONTI M., CLÒ S., SALA A. - Reduction of loggerhead turtle (<i>Caretta caretta</i>) bycatch in Mediterranean bottom trawl fisheries	336
LUCCHETTI A., PALUMBO V., PERDICHIZZI F., RINELLI P., SALA A. - EC Reg. 1967/2006: is square-mesh better selective than larger mesh-size? Comparative experiment in Sicilian trawl fisheries	338
MONTANINI S., STAGIONI M., VALLISNERI M. - Note sulla biologia di <i>Chelidonichthys lucernus</i> (Teleostei: Triglidae) nell'alto-medio Adriatico.....	340
NOBILE E., LANTERI L., MANNINI A., BECCORNIA E., RELINI G. - Accrescimento di due specie di <i>Trachurus</i> in Mar Ligure	342
PERDICHIZZI A., PIRRERA L., PROFETA A., MODICA L., RINELLI P. - Distribuzione spaziale di reclute di <i>Galeus melastomus</i> (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) nel Mar Tirreno meridionale (Mediterraneo centrale).....	344

PIOVANO S., BASCIANO G., BINDA F., BIZZARRI S., CLÒ S., GIACOMA C. - Riduzione di catture accidentali di <i>Caretta caretta</i> e <i>Pteroplatytrygon violacea</i> con palangari derivanti.....	346
PROFETA A., BUSALACCHI B., PERDICHIZZI A., GIORDANO D. - Distribuzione e biologia del cefalopode <i>Illex coindetii</i> (Verany, 1839) nel Mar Tirreno meridionale	348
RICCATO F., FIORIN R., FRANZOI P., TORRICELLI P. - Popolamento ittico di una prateria a <i>Cymodocea nodosa</i> di acque basse della Laguna di Venezia	350
SABATINI L., FRANCESCHINI G., GIOVANARDI O. - Abitudini alimentari del sarago sparaglione (<i>Diplodus annularis</i>) nella zona di tutela biologica (ZTB) delle tegnùe di Chioggia	352
SARTOR P., LIGAS A., SBRANA M., BELCARI P. - Notes on a large specimen of <i>Thysanoteuthis rhombus</i> Troschel, 1857 (Cephalopoda, Thysanoteuthidae) caught in the northern Tyrrhenian Sea	354
SBRANA M., ROSSETTI I., SARTOR P., VANNUCCI A., DE RANIERI S. - Sperimentazione di differenti tipologie di trappole per la pesca del polpo <i>Octopus vulgaris</i> , Cuvier 1797, nel Mar Ligure orientale	356
STAGIONI M., MAZZONI E., VALLISNERI M. - Comparazione della dieta di due gadidi del Mar Adriatico	358
VALLISNERI M., STAGIONI M., MONTANINI S., PICCINETTI C. - Atlante degli otoliti di specie ittiche del Nord-medio Adriatico	360
VANNINI F., MANCUSI C., SILVESTRI R. - La nidificazione di <i>Lepidochelys olivacea</i> , <i>Dermochelys coriacea</i> e <i>Chelonia mydas agassizii</i> nella stagione 2007/2008 nella spiaggia del Tomatal, Oaxaca, Mexico	362
VITALE S., ARCULEO M., CANNIZZARO L., BADALUCCO C. - Aspetti riproduttivi di <i>Hoplostethus mediterraneus</i> nel Mediterraneo centrale	364
VITALE S., CANNIZZARO L., DE STEFANO G., MERCORELLA A., MILAZZO A., SALVO G. - Sulle risorse pescabili del Golfo di Pozzallo	366
ZUCCHETTA M., GEORGALAS V., CASTALDELLI G., VINCENZI S., FRANZOI P. - Utilizzo di modelli di vocazionalità ambientale per individuare gli habitat di nursery per <i>Sparus aurata</i> L. nella Sacca di Goro	368

Poster del Comitato Plancton

ARENA T., DANZÈ G., CALDARONE B., SMEDILE F., RUGGERI G., DE LUCA M., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. - Valutazione della biodiversità microbica nelle comunità eterotrofiche marine del Mar Mediterraneo occidentale mediante la tecnica <i>ARDRA</i> (Autunno 2006).....	372
BENZI M., SILVESTRI C. - Andamenti della popolazione zooplanctonica lungo la costa emiliano-romagnola (giugno 2001 – dicembre 2006) .	374

CASABIANCA S., VERNESI C., PECCHIOLI E., FRAGA S., PENNA A. - Applicazione di marcatori molecolari polimorfici per studi di genetica di popolazione su <i>Alexandrium minutum</i> nel Mar Mediterraneo	376
CERINO F., VIRGILIO D., CABRINI M. – Dinoflagellate cysts in recent sediments at a coastal station in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea)	378
CUCCHIARI E., ERICHSEN T., CERINO F., PENNESI C., ROMAGNOLI T., TOTTI C. - Caratterizzazione della banca di cisti di fitoplancton nei sedimenti costieri della costa marchigiana (Adriatico settentrionale).....	380
DE LUCA M., MINISSALE M.C., RUGGERI G., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E. - Distribuzione della comunità microbica luminosa nelle acque del Mar Mediterraneo occidentale.....	382
GIORDANO D., CONIGLIONE C., DE DOMENICO EL., BUSALACCHI B., DENARO R., YAKIMOV M. - Genetic identification of fish larvae in formaldehyde fixed plankton samples	384
GIORDANO D., DE DOMENICO EL., PERDICHIZZI F., SALVATI E., GIUSTI M., CANESE S., GRECO S., GRANATA A., GUGLIELMO L. - Distribuzione di Eufasiacei in un'area attorno le Isole Pelagie (Canale di Sicilia)	386
GUARDIANI B., BUSSANI A., CABRINI M. - Analisi del rapporto autotrofi/eterotrofi nel nanoplancton del Golfo di Trieste.....	388
MINGAZZINI M., PALUMBO M.T. – Specie algali proposte per lo studio del potenziale trofico (AGP) in acque di transizione	390
MINGAZZINI M., PALUMBO M.T., MERLI I. – Procedura biologica per lo studio dei prodotti extracellulari (EOM) di diatomee marine	392
MUSSAT SARTOR R., PESSANI D. - Primi dati sul meroplancton dell'area di Khao Lak (Mare delle Andamane) dopo l'evento catastrofico del dicembre 2004	394
SOCAL G., ACRI F., BANDELJ V., BASTIANINI M., BAZZONI A.M., BERNARDI AUBRY F., BIANCHI F., COSSARINI G., PUGNETTI A., SOLIDORO C. - Condizioni ambientali, ciclo vitale ed orologio endogeno nella dinamica del fitoplancton. Evidenze da osservazioni sperimentali nell'Adriatico nord occidentale.....	396
STANCA E., SABETTA L., FIOCCA A., BASSET A. - Dimensioni e forma nel fitoplancton: costrizioni funzionali alla distribuzione spaziale .	398
TONZAR E. - Distribuzione delle cisti di Dinoflagellate nel Golfo di Trieste.....	400
<i>Poster della Sessione Vari</i>	
ARIZZA V., ZENONE A., GIARAMITA F.T., RINALDI AL., SARÀ G. - Modulazione di <i>heat shock protein</i> (HSP) in <i>Brachidontes pharaonis</i> (Mollusca, Bivalvia) in condizioni di temperatura variabile.....	404
BENENATI G., PARISI M.G., CAMMARATA M. - Effetti dell'esposizione <i>in vitro</i> al cloruro di metilmercurio sulle risposte immunitarie di <i>Dicentrarchus labrax</i>	406

BIANCHI N., LEONZIO C., BACCETTI N., GIOVACCHINI P., ANCORA S. - Mercurio e selenio nelle uova di <i>Larus cachinnans</i> e <i>Larus audouinii</i> (Laridae) dell'Arcipelago Toscano e della Sardegna.....	408
CAFFARA M., ABETE M.C., PREARO M., GAVINELLI S., FIORAVANTI M.L. - Ricerca di protozoi zoonisici e metalli pesanti in molluschi bivalvi dell'Emilia-Romagna (Italia).....	410
CELI M., VAZZANA M., DI BELLA M.L., ARIZZA V., PARRINELLO N. - Effetti del cadmio sull'espressione delle HSP70 nelle cellule del sangue di spigola (<i>Dicentrarchus labrax</i> L., Osteichthyes, Moronidae).....	412
COLLEVECCHIO V., SABELLI B., GATTELLI R., MOLA L., MINELLI D. - Distribution of Calbindin D-28K in the habenular nuclei of the deep sea eel <i>Synaphobranchus kaupii</i> (Osteichthyes, Anguilliformes)	414
DE BIASI A.M., PACCIARDI L., FABI G. - Effetti di alcune variabili nominali sui metalli pesanti di otto piattaforme estrattive nel Mar Adria- tico.....	416
FERRARI C.R., SANTINI P., MARTINI P., BENZI M., ARDESI E., TARLAZZI S. - Caratterizzazione chimico fisica dei sedimenti del lito- rale emiliano romagnolo ai fini di una loro corretta gestione.....	418
GIARAMITA F.T., VIZZINI A., PARRINELLO D., MANSUETO V., SALERNO G., ARIZZA V. - Effetti del cadmio sulle attività cellulari dell'echinoderma <i>Paracentrotus lividus</i> (Echinoidea).....	420
LOCATELLO L., RICCIARDI F., MATOZZO V., MARIN M.G. - <i>Carcinus aestuarii</i> (Crustacea: Decapoda) come organismo sentinella nel biomonitoraggio della Laguna di Venezia.....	422
LONGO C., CORRIERO G., MERCURIO M., LICCIANO M., STABILI L. - Studio comparativo dell'accumulo microbiologico in due demosponge mediterranee.....	424
MANNINI A., REALE B., COLLOCA F., ABELLA A., DE RANIERI S. - Applicazione della routine R-Sufi ai dati raccolti durante le cam- pagne Medits 1995-2006 nella sub area geografica FAO 9.....	426
MATOZZO V., PREVIATO M., LOCATELLO L., MARIN M.G. - Proteine vitellogenina-like nella vongola <i>Tapes philippinarum</i> (Mollusca, Bivalvia) come biomarker di esposizione a xenoestrogeni in Laguna di Venezia.....	428
NESCI S., VENTRELLA V., TROMBETTI F., PIRINI M., BORGATTI A.R., PAGLIARANI A. - Risposta della Mg-ATPasi mitocondriale della ghiandola digestiva di <i>Mytilus galloprovincialis</i> allo stagno tributile (TBT).....	430
PENDUGIU A.A., MATTA G., PESCI P., SABATINI A., CAU A. - Morfologia e variabilità intraspecifica nella colonna vertebrale di <i>Spicara smaris</i> L., 1758 (Teleostea, Centranchidae).....	432
PRATO E., ACQUAVIVA M.I., BIANDOLINO F., LO NOCE R., NARRACCI M., CAVALLO R.A. - Effetto embriotossico di <i>Vibrio splendidus</i> II e <i>Vibrio mediterranei</i> in <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lam., 1819).....	434

SCHIROSI R., GIANGRANDE A., STABILI L. - Composizione proteo- lipidica di <i>Sabella spallanzanii</i> (Gmelin, 1791) (Annelida: Polychaeta).....	436
SOMIGLI S., PERRA G., BORGHINI F., FOCARDI S., UGOLINI A. - Gli anfipodi sopralitorali come possibili bioindicatori della contami- nazione da idrocarburi policiclici aromatici	438
TORRESI M., ACCIARI V., PIANO A., SERRATORE P., PRENCIPE V., MIGLIORATI G. - Ricerca di <i>Vibrio splendidus</i> e delle specie corre- late in <i>Chamelea gallina</i> prelevate nel tratto di mare Adriatico antistante la regione Abruzzo.....	440
UGOLINI A., SOMIGLI S., UNGHERESE G., BARONI D., FOCARDI S. - <i>Orchestia montagui</i> (Crustacea, Amphipoda): bioindicatore della con- taminazione da metalli pesanti dei litorali sabbiosi e rocciosi.....	442
UNGERESE G., BARONI D., UGOLINI A. - L'orientamento solare in <i>Talitrus saltator</i> : biomarcatore dell'esposizione a metalli in traccia?....	444
ZACCARONI A., SILVI M., GUSTINELLI A., SCARAVELLI D. - Primi rilievi di metalli pesanti in pesce luna (<i>Mola mola</i>) dell'alto Adria- tico.....	446
 Seminario sulla Biodiversità Marina	
BOERO F., RINALDI A. - La biodiversità e i macrodescrittori della storia dell'Adriatico.....	450
HISCOCK K. - The role of Marine Protected Areas for biodiversity con- servation and for science	457
TUNESI L., AGNESI S., DI NORA T., MO G. - La conservazione della biodiversità marina alla luce delle iniziative europee.....	463

M.W. BECK

The Nature Conservancy & Institute of Marine Sciences, University of California,
Santa Cruz, CA 95060 USA.
mbeck@tnc.org

NEW TOOLS FOR MARINE CONSERVATION AND MANAGEMENT TO REDUCE COASTAL LOSSES TO NATURAL AND HUMAN COMMUNITIES

NUOVI STRUMENTI PER LA CONSERVAZIONE E LA GESTIONE DEGLI AMBIENTI MARINO-COSTIERI

The Nature Conservancy (TNC) has been pioneering approaches (i) to identify where to invest in efforts that meet multiple management objectives and (ii) to protect those investments using private rights based approaches. To achieve better ecosystem-based management we must be able to account transparently for multiple objectives such as fishery production, habitat conservation, storm hazard mitigation and recreation. We are developing new approaches for explicitly accounting for these multiple management objectives to identify priority sites for conservation and management. For example, we illustrate how to simultaneously account for hazard reduction and biodiversity conservation objectives. Natural hazards cost the U.S. roughly \$50 billion annually and the cost of damages in the state of Louisiana from Hurricane Katrina alone have already been assessed at over \$39 billion. We analyze risks from coastal storms, assess of community vulnerability, and consider the mitigation value of ecosystems like salt marshes and oyster reefs which have the potential to help reduce those risks and vulnerability. These approaches are demonstrated at www.marineebm.org. TNC and partners have also been developing tools to protect investments in conservation, restoration and management. It has been commonly assumed that marine conservation must be substantially different than terrestrial conservation, because it is not possible for groups to acquire interest in the publicly owned oceans. This is an unfortunate misconception. Marine resources are available for lease and ownership in the United States and internationally for a diverse array of ecosystems including kelp forests, marshes, seagrasses, oyster reefs, and coral reefs. The Nature Conservancy and partners have been developing and testing these tools. In New York, we have acquired full ownership and stewardship of more than 13,000 acres of subtidal habitat. In Washington, we have helped to develop new state policy specifically for the conservation leasing of submerged lands. In California, we are working with industry partners on two different lease sites encompassing more than 1,700 acres of kelp forest along 15 miles of the Big Sur Coast to examine the effects of kelp canopy loss on juvenile rockfish nursery habitat. These case studies provide valuable lessons on the application of these new tools that can be added to the marine conservation toolbox.

G.M. HALLEGRAEFF

School of Plant Science, University of Tasmania, Private Bag 55, Hobart, Tasmania, Australia.
hallegraeff@utas.edu.au

HARMFUL ALGAL BLOOMS, COASTAL EUTROPHICATION AND CLIMATE CHANGE

FIORITURE DI ALGHE POTENZIALMENTE TOSSICHE, EUTROFIZZAZIONE COSTIERA E CAMBIAMENTI CLIMATICI

Abstract - Algal bloom phenomena range from harmless water discolorations ("red tides"), to species that cause disastrous mortalities of finfish in intensive aquaculture operations, and most seriously species that produce potent neurotoxins which in extreme cases can kill human consumers of seafood products (causative organisms of various Shellfish Poisoning and Fish Poisoning syndromes). Since many algal blooms are more or less monospecific, correctly assessing the precise taxonomic identity of the causative organisms is crucial in deciding whether knowledge on toxicology, physiology and ecology from similar blooms in other parts of the world can be applied to the local conditions. Molecular approaches (notably sequencing of the large subunit rRNA) have been indispensable in redefining HAB species, or detecting and monitoring previously cryptic taxa. Evidence for an alarming global increase in the past two decades in the frequency, intensity and geographic distribution of HAB phenomena has been brought to the attention of numerous international forums such as UNESCO, FAO and WHO and has been partly explained on the basis of increased public awareness and increased utilisation of coastal waters for aquaculture. However, ship ballast water discharges, coastal eutrophication, and also climate change are increasingly contributing to the impacts of algal blooms on fisheries, aquaculture, human health, tourism, the marine environment and thereby regional economies. Examples from the Mediterranean are discussed.

Key-words: climate change, HABs, ballast water, eutrophication.

Introduction - Harmful algal blooms (HABs) in a strict sense are completely natural phenomena which have occurred throughout recorded history. Even non-toxic algal blooms can have devastating impacts, however, when they lead to indiscriminate kills of fish and invertebrates by generating anoxic conditions in sheltered bays (as occurred off the Emilia-Romagna coast in September 1984; Vollenweider *et al.*, 1992). Other algal species, even though non-toxic to humans, can produce exudates that can cause damage to the delicate gill tissues of fish (raphidophytes *Chattonella*, *Heterosigma*, dinoflagellates *Karenia*, *Karlodinium*, haptophyte *Prymnesium*). Whereas wild fish stocks are free to swim away from problem areas, caged fish in intensive aquaculture operations are trapped and thus can suffer devastating mortalities. Of greatest concern to human society are algal species that produce potent neurotoxins that can find their way through shellfish and fish to human consumers where they evoke a variety of gastrointestinal and neurological illnesses. One of the first recorded fatal cases of food poisoning after eating contaminated shellfish happened in 1793, when English surveyor Captain George Vancouver and his crew landed in British Columbia (Canada) in an area now known as Poison Cove. He noted that, for local Indian tribes, it was taboo to eat shellfish when the seawater became bioluminescent due to algal blooms by the local dinoflagellate *Alexandrium catenella tamarense*, which we now know to be a producer of Paralytic Shellfish Poisons (PSP). The increase in shellfish farming worldwide is leading to more reports of Paralytic, Diarrhetic (first documented in 1976 in Japan), Neurotoxic (reported from the Gulf of Mexico as early as 1844) or Amnesic Shellfish Poisoning (first identified in 1987 in Canada). The English explorer Captain James Cook already suffered from the tropical illness of Ciguatera Fishfood Poisoning when visiting New Caledonia in 1774. Worldwide, close to 2000 cases of food poisoning from consumption of contaminated fish or shellfish are reported each year. Some 15% of these cases will prove fatal. If not controlled, the economic damage through the slump in local consumption and exports of seafood

products can be considerable. Whales and porpoises can also become victims when they receive toxins through the food chain via contaminated zooplankton or fish. Poisoning of manatees in Florida via contaminated sea grasses and of pelicans and sea lions via contaminated anchovies have also been reported (Hallegraeff *et al.*, 2003).

In the past three decades, harmful algal blooms seem to have become more frequent, more intense and more widespread. Four explanations for this apparent increase in algal blooms have been proposed: a greater scientific awareness of toxic species; the growing utilization of coastal waters for aquaculture; the stimulation of plankton blooms by domestic, industrial and agricultural wastes and/or unusual climate conditions; and the transportation of algal cysts either in ships' ballast water or associated with moving shellfish stocks from one area to another (Hallegraeff, 1993).

Increase of algal blooms by cultural eutrophication - While some organisms such as the dinoflagellates *Karenia brevis*, *Alexandrium*, *Dinophysis* and *Pyrodinium* appear to be unaffected by coastal nutrient enrichments, many other algal bloom species appear to be stimulated by "cultural eutrophication" from domestic, industrial and agricultural wastes. Fig. 1 illustrates an 8-fold increase in the number of red tides per year in Hong Kong Harbour in the period 1976 to 1986 (Lam and Ho, 1989). This increase (mainly *Karenia mikimotoi*, *Gonyaulax polygramma*, *Noctiluca scintillans* and *Prorocentrum minimum*) shows a striking relationship with the 6-fold increase in human population in Hong Kong and the concurrent 2.5-fold increase in nutrient loading, mainly contributed by untreated domestic and industrial waste. Red tide events in Hong Kong harbour were less frequent in 1989-97 until the major bloom year of 1998.

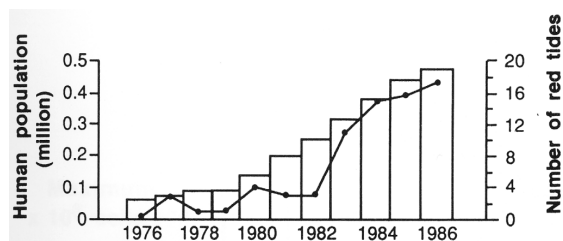


Fig. 1 - Correlation between the number of red-tide outbreaks per year in Tolo Harbour (continuous line) and the increase of human population in Hong Kong (bar diagram), in the period 1976 to 1986 (from Lam and Ho, 1989).

Correlazione fra il numero di episodi di red-tide registrati a Tolo Harbour (linea continua) e l'aumento della popolazione umana a Hong Kong (diagramma a barre), nel periodo dal 1976 al 1986 (da Lam e Ho, 1989).

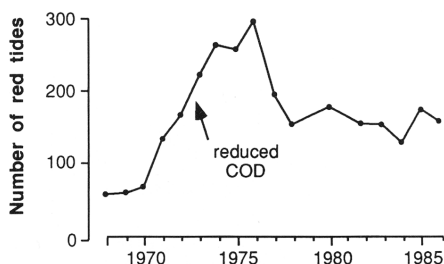


Fig. 2 - Long-term trend in the frequency of red-tide outbreaks in the Seto Inland Sea, Japan, in the period 1965-1986 (from Okaichi, 1990).

Tendenza a lungo termine della frequenza di episodi di red-tide in Seto Inland Sea, Giappone, nel periodo 1965-1986 (da Okaichi, 1990).

A similar experience was noted in the Seto Inland Sea, one of the major fish farm areas in Japan (Okaichi, 1989) (Fig. 2). Between 1965 and 1976 the number of confirmed red tide outbreaks (mainly *Chattonella antiqua*, since 1964; and *Karenia mikimotoi*, since 1965) progressively increased 7-fold, concurrent with a 2-fold increase in the COD (chemical oxygen demand) loading, mainly from untreated sewage and industrial waste from pulp and paper factories. During the most severe outbreak in 1972, a *Chattonella* red tide killed 14 million cultured yellow-tail fish. Effluent controls were then initiated to reduce the chemical oxygen demand loading by about half, to introduce secondary sewage treatment, and to remove phosphate from house-hold detergents (as happened with the replacement of polyphosphate in detergents in Italy). Following a time-lag of 4 years, the frequency of red tide events in the Seto Inland Sea then decreased by about 2-fold to a more stationary level.

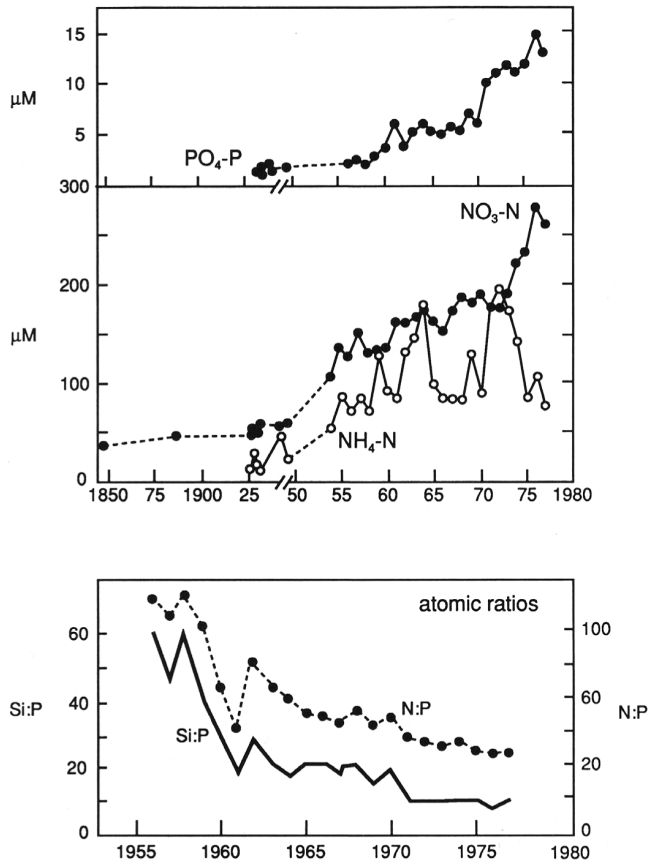


Fig. 3 - Long-term trend in the phosphate, nitrate and ammonia loading of the River Rhine (top) and concurrent changes in the N:P and Si:P nutrient ratios (bottom) (from Smayda 1990, using data by Van Bennekom & Salomons, 1981).

Tendenza a lungo termine del carico di fosfati, nitrati e ammoniaca del fiume Reno (in alto) e dei conseguenti cambiamenti nel rapporto dei nutrienti N:P e Si:P (in basso) (da Smayda 1990, utilizzando i dati di Van Bennekom & Salomons, 1981).

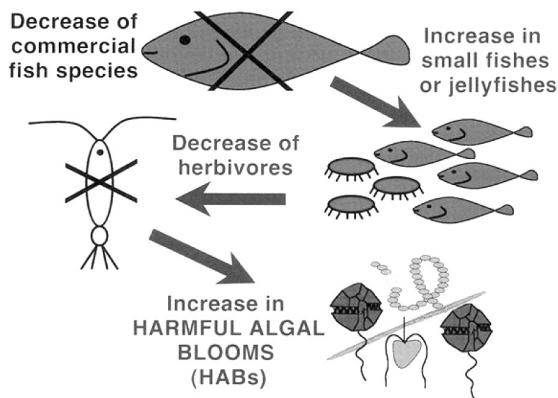
A similar pattern of a long-term increase in nutrient loading of coastal waters is evident for the North Sea in Europe (Smayda, 1990) (Fig. 3). Since 1955 the phosphate

loading of the River Rhine has increased 7.5-fold, while nitrate levels have increased 3-fold. This has resulted in a significant 6-fold decline in the Si:P ratio, because long-term reactive silicate concentrations (a nutrient derived from natural land weathering) have remained constant. More recently, improved wastewater treatment has been causing increases in the ammonia:nitrate ratio of River Rhine discharge (Riegman *et al.*, 1992). The nutrient composition of treated wastewater is never the same as that of the coastal waters in which it is being discharged. Furthermore, atmospheric deposition of N needs also be included in budgets of anthropogenic nutrient input. There is considerable concern (Officer and Ryther, 1980; Ryther and Dunstan, 1971; Smayda, 1990) that such altered nutrient ratios in coastal waters may favour blooms of nuisance flagellate species which replace the normal spring and autumn blooms of siliceous diatoms. The remarkable increase of foam-producing blooms of the haptophyte *Phaeocystis pouchetii*, which first appeared in Dutch coastal waters in 1978, is probably the best-studied example of this phenomenon (Lancelot *et al.*, 1987). The comparable “Mare Sporco” mucus phenomenon in the Adriatic Sea, even though reported as early as 1729, undoubtedly reflects a highly eutrophic ecosystem driven by nutrients from the River Po catchment (Stachowitsch *et al.*, 1990, Vollenweider *et al.*, 1992).

The 1988 bloom in the Kattegat of the haptophyte *Chrysochromulina polylepis*, not unusual in terms of biomass but unusual in terms of its species composition and toxicity, has been related to a change in the nutrient-status from nitrogen- to phosphorus-limitation (Maestrini and Graneli, 1991). As in Hong Kong and Japan, several North European countries have now agreed to reduce phosphate and nitrate discharges by 50% in the next several years, but their efforts will almost certainly be in vain if neighbours continue polluting. Furthermore, such indiscriminate reductions in nutrient discharges are not addressing the problem of changing nutrient ratios of coastal waters. Changed patterns of land use, such as deforestation, can also cause shifts in phytoplankton species composition by increasing the concentrations of humic substances in land run-off. Experimental evidence from Sweden indicates that river water draining from agricultural soils (rich in N and P) stimulates diatom blooms but that river water draining from forest areas (rich in humic and fulvic acids) can stimulate dinoflagellate blooms of species such as *Prorocentrum minimum* (Graneli and Moreira, 1990). Agricultural run-off of phosphorus can also stimulate cyanobacterial blooms, for example of *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea and in the Peel-Harvey Estuary, Australia.

A more complex “cultural eutrophication” scenario has emerged in coastal waters of New Jersey, New York and Rhode Island, USA, where an unusual “brown tide” by the chrysophyte picoplankton *Aureococcus anophagefferens* has been circumstantially linked to the discharge of chelators (such as citric acid) in detergents and lawn treatments, together with a suppression of zooplankton grazing by pesticides (Casper *et al.*, 1991). This “Ecosystem Disruptive Algal Bloom” (Sunda *et al.*, 2006) was responsible for a reduction in the extent and biomass of eelgrass beds and caused starvation and recruitment failure in commercial scallop populations. Overexploitation of top predator fish can increase populations of small planktivorous fish and jellyfish removing herbivorous zooplankton thus releasing HAB species from grazing pressure (Fig. 4; Boero *et al.*, 2008). Eutrophication problems like this cannot be readily diagnosed by routine monitoring programmes that focus on macronutrients or algal chlorophyll biomass alone.

Stimulation of algal blooms by unusual climatological conditions - The dinoflagellate *Pyrodinium bahamense* is presently confined to tropical, mangrove-fringed coastal waters of the Atlantic and Indo-West Pacific. A survey of cyst fossils (named *Polysphaeridium zoharyii*) going back to the warmer Eocene 50 million years ago indicates a much wider range of distribution in the past. For example, in the Australasian region at present, the alga is not found farther south than Papua New Guinea but, some 100



Algal Blooms through disruption of Top-Down Control of Food Webs

Fig. 4 - Possible pathways for HAB formation when the “top-down control” of the food chain is disrupted as e.g. by overfishing (from Turner & Graneli, 2006). Differential impacts of climate change on zooplankton or fish grazers can produce similar stimulation of HABs.

Possibili percorsi di formazione di HAB quando il controllo “top-down” della catena alimentare è perturbato come ad esempio dalla pesca eccessiva (da Turner & Graneli, 2006). Impatti differenziali di cambiamenti climatici sugli organismi che si nutrono di zooplankton o pesci possono produrre simili stimolazioni di Habs.

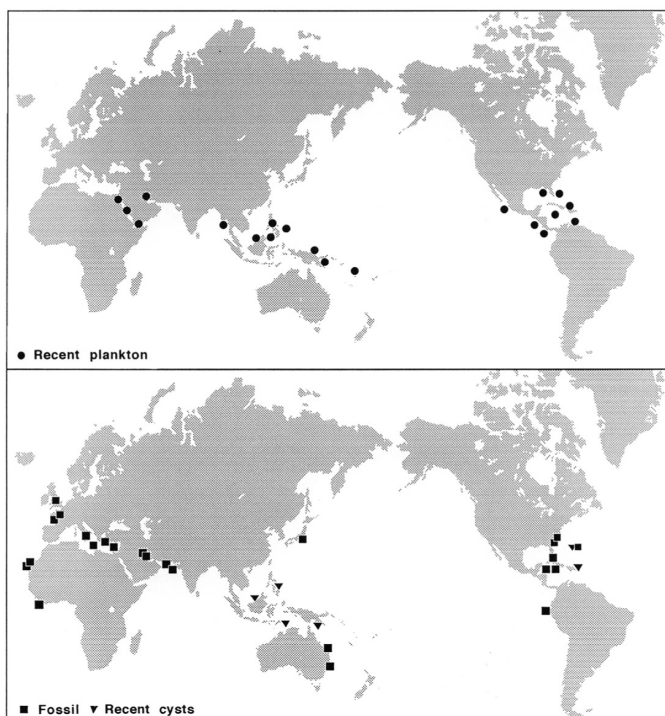


Fig. 5 - Global distribution of *Pyrodinium bahamense* in Recent Plankton (top) and much wider distribution in the fossil cyst record (bottom) (from Hallegraeff, 1993).

Distribuzione globale di Pyrodinium bahamense nel Plancton attuale (in alto) e distribuzione molto più ampia nel ritrovamento delle cisti fossili (in basso) (da Hallegraeff, 1993).

000 years ago, the alga ranged as far south as Sydney Harbour (McMinn, 1989). There is genuine concern that, with an increased greenhouse effect and warming of the oceans, this species may return to Australian waters (Fig. 5). In the tropical Atlantic, in areas such as Bahia Fosforescente in Puerto Rico and Oyster Bay in Jamaica, the glowing red-brown blooms of *Pyrodinium* are a major tourist attraction.

At first considered harmless, *Pyrodinium* blooms gained a more sinister reputation in 1972 in Papua New Guinea after red-brown water discolorations coincided with the fatal food poisoning of three children in a seaside village, diagnosed as PSP. Since then, these toxic blooms have apparently spread to Brunei and Sabah (1976), the central (1983) and northern Philippines (1987) and Indonesia (North Mollucas). There is strong circumstantial evidence of a coincidence between *Pyrodinium* blooms and the El Niño Southern Oscillation (ENSO). *Pyrodinium* is a serious public health and economic problem for these tropical countries, all of which depend heavily on seafood for protein. In the Philippines alone, *Pyrodinium* has now been responsible for more than 2000 human illnesses and 100 deaths resulting from the consumption of contaminated shellfish as well as sardines and anchovies (Hallegraeff & MacLean, 1989).



Fig. 6 - Impacts on the Mediterranean basin due to large and regional scale wind systems and the Mediterranean Oscillation (MO). Regional wind systems as shown for the central region (dark arrows) with Italian nomenclature exist under different names in other parts of the Mediterranean area. From: Workshop on the assessment, assimilation, and validation of data for Global Change related research in the Mediterranean area. Casablanca, Feb. 21-24, 2001.

Impatti sul bacino del Mediterraneo dovuti a sistemi di vento sia su ampia scala che su scala regionale e oscillazioni del Mediterraneo (MO). I sistemi di vento regionali, come indicato per la regione centrale (frece scure) con nomenclatura italiana, esistono con nomi diversi anche in altre parti del Mediterraneo. Da: Workshop sulla valutazione, l'assimilazione, e la convalida di dati per il Cambiamento Globale correlato alla ricerca nell'area del Mediterraneo. Casablanca, 21-24 febbraio, 2001.

Until recently, Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP) by the dinoflagellate *Karenia brevis* was considered to be endemic to the Gulf of Mexico and the east coast of Florida, where red tides had been reported as early as 1844. An unusual feature of NSP is the formation by wave action of toxic aerosols which can lead to respiratory asthma-like symptoms in humans (somewhat similar to the *Ostreopsis ovata* associated aerosols in Liguria in 2005). In 1987, a major Florida bloom was dispersed by the Gulf Stream northward into North Carolina waters, where it has since persisted (Tester *et*

al., 1991). Unexpectedly, in early 1993, more than 180 human Neurotoxic Shellfish Poisonings were reported from New Zealand. Most likely, this mixed bloom of *Karenia mikimotoi* and related species was again triggered by the unusual weather conditions at the time, including higher than usual rainfall and lower than usual temperature, which coincided with El Niño (Chang *et al.*, 1998). Predicted global change impacts on wind patterns in the Mediterranean are summarised in Fig. 6. There are early signs that some parts of the Mediterranean may become less productive in response to climate-driven increased sea surface temperatures and associated reduced nutrient availability (Goffart *et al.*, 2002).

Ciguatera caused by the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* is a tropical fishfood poisoning syndrome well-known in coral reef areas in the Caribbean, Australia, and especially French Polynesia. Whereas, in a strict sense, this is a completely natural phenomenon, from being a rare disease two centuries ago, ciguatera has now reached epidemic proportions in French Polynesia. From 1960 to 1984, more than 24,000 patients were reported from this area, which is more than six times the average for the Pacific as a whole. Evidence is accumulating that reef disturbance by hurricanes, military and tourist developments (Bagnis *et al.*, 1985), as well as coral bleaching (linked to global warming) and perhaps in future increasing coral damage due to ocean acidification (Hoegh-Guldberg, 1999) are increasing the risk of ciguatera. In the Australian region *Gambierdiscus toxicus* is well-known from the tropical Great Barrier Reef and southwards down to just north of Brisbane but in the past 5 years this species has undergone an apparent range extension into South-East Australian sea grass beds as far south as Melbourne, aided by a strengthening of the East Australian Current. A similar expansion of *Gambierdiscus* into the Mediterranean and Eastern Atlantic has also been reported (Aligizaki *et al.*, 2008). The red-tide dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (known from the Sydney region as early as 1860) since 1994 has expanded its range into Southern Tasmanian waters where it has caused problems for the salmonid fish farm industry (Hallegraeff, 2002). In the North Sea regional climate warming has caused an analogous northward shift of warm-water phytoplankton (Edwards & Richardson, 2004).

Range extensions by ship ballast water transport - Ballast water is seawater which has been pumped into a ship's hold or dedicated ballast tanks to steady it by making it heavier and thus less likely to roll; the water is released when a ship enters port. Ballast water on cargo vessels was first suggested as a means of dispersing marine plankton 100 years ago (Hallegraeff, 1998). However, it was only in the 1980s that the problem sparked considerable interest, after evidence was brought forward that non-indigenous toxic species such as the PSP dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* had been introduced into Southern Australian waters into sensitive aquaculture areas, with disastrous consequences for commercial shellfish farms. Molecular tools increasingly offer the potential to detect non-indigenous microalgal strains and in some cases even track donor source populations (Scholin *et al.*, 1995). An example is the recent detection in the Mediterranean ports of Sete and Barcelona of *Alexandrium catenella* with a temperate Asian ribotype not found anywhere else in Europe (Lilly *et al.*, 2002, Fig. 7). The creation of numerous artificial structures for the protection of beaches and harbours has also been invoked as a mechanism for the apparent increase of *Alexandrium* bloom events in the Mediterranean (Garcés *et al.*, 2000).

Climate Change - Prediction of the impact of global climate change on harmful algal blooms is fraught with uncertainties, but we can learn important lessons from the dinoflagellate cyst fossil record and long-term monitoring programmes such as the Continuous Plankton Recorder surveys. Increased temperature, enhanced surface

stratification, nutrient upwelling, stimulation of photosynthesis by elevated CO_2 , changes in land runoff and nutrient availability, altered ocean pH, may produce contradictory species- or even strain-specific responses. We can expect: (1) Range expansion of warm-water species at the expense of coldwater species which are driven pole wards; (2) Changes in abundance of selected HAB species; (3) Earlier timing of peak production of some phytoplankton; (4) Knock-on effects for marine food webs, notably when zooplankton and fish grazers are differentially impacted by climate change. Ecosystems disturbed by pollution or climate change tend to be more prone to ballast water invasions (Stachowicz *et al.*, 2002). Some harmful algal bloom phenomena (e.g. toxic dinoflagellates benefiting from land runoff and/or water column stratification, benthic dinoflagellates responding to coral reef disturbance) may increase, while others may diminish in areas currently impacted.

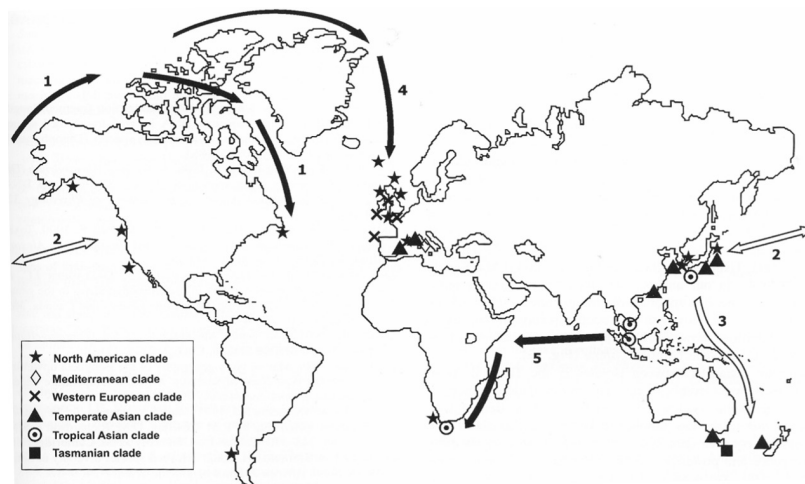


Fig. 7 - Molecular biogeography of LSU ribotypes in the *Alexandrium tamarense/catenella* dinoflagellate species complex. Black arrows indicate natural dispersal, while clear arrows suggest human-assisted dispersal. The appearance of temperate Asian ribotype in 1983 in the Mediterranean can only be explained by human-assisted introduction (after Scholin *et al.*, 1995).

Biogeografia molecolare di ribotipi LSU nella dinoflagellata Alexandrium tamarense/catenella complex. Le frecce scure indicano la dispersione naturale, mentre le frecce chiare indicano una dispersione favorita dall'uomo. La comparsa del ribotipo Asiatico temperato nel 1983 nel Mediterraneo può essere spiegata soltanto da un'introduzione favorita dall'uomo (da Scholin et al., 1995).

Conclusions - It is unfortunate that so few long-term records exist of algal blooms at any single locality; ideally we need at least 30 consecutive years. Whether the apparent global increase in harmful algal blooms represents a real increase or not therefore is a question that we will probably not be able to answer conclusively for some time to come. There is no doubt that our growing interest in using coastal waters for aquaculture is leading to a greater awareness of toxic algal species. People responsible for deciding quotas for pollutant loadings of coastal waters, or for managing agriculture and deforestation, should be made aware that one probable outcome of allowing polluting chemicals to seep into the environment will be an increase in harmful algal blooms. In countries which pride themselves on having disease- and pollution-free aquaculture, every effort should be made to quarantine sensitive aquaculture areas against the unintentional introduction of non-indigenous harmful algal species (e.g. the 2004

International Maritime Organisation (IMO) Convention for Ballast Water). Nor can any aquaculture industry afford not to monitor for an increasing number of harmful algal species in water samples (Zingone *et al.*, 2006) and for an increasing number of algal toxins in seafood products using increasingly sophisticated analytical techniques such as LC-MS (as routinely conducted by the National Reference Laboratory on Marine Biotoxins in Cesenatico). Last but not least, global climate change is adding a new level of uncertainty to many seafood safety monitoring programmes, as are range extensions of HAB species by ship ballast water transport and increased sea surface temperatures. The greatest problems for human society will be caused by being unprepared for significant range extensions or the increase of algal biotoxin problems in currently poorly monitored areas. Increased vigilance in seafood biotoxin monitoring programmes is recommended.

References

- ALIGIZAKI K., NIKOLAIDIS G., FRAGA S. (2008) - Is *Gambierdiscus* expanding to new areas? *Harmful Algae*, **36**: 6-7.
- BAGNIS R., BENNETT J., BARSINAS M. (1985) - Epidemiology of ciguatera in French Polynesia from 1960 to 1984. In: C. Gabrie, B. Salvat (eds), *Proc. 5th Int. Coral Reef Congress*. Tahiti: 475-482.
- BOERO F., BOUILLON J., GRAVILI C., MIGLIETTA M.P., PARSONS T., PIRAINO S. (2008) - Gelatinous plankton: irregularities rule the world (sometimes). *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **356**: 299-310.
- CHANG F.H., SHARPLES J., GRIEVE J.M., MILES M., TILL D.G. (1998) - Distribution of *Gymnodinium cf. breve* and shellfish toxicity from 1993 to 1995 in Hauraki Gulf, New Zealand. In: Reguera *et al.* (eds), *Harmful Algae*. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO: 139-142.
- COSPER E.M., GARRY R.T., MILLIGAN A.J., DOALL M.H. (1991) - Iron, selenium and citric acid are critical to the growth of the 'brown tide' micro-alga, *Aureococcus anophagefferens*. In: T.J. Smayda and Y. Shimizu (eds), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier Science Inc., New York (Developments in Marine Biology, 3): 667-74.
- EDWARDS M., RICHARDSON A.J. (2004) - The impact of climate change on the phenology of the plankton community and trophic mismatch. *Nature*, **430**: 881-884.
- GARCÉS E., MASO M., VILA M., CAMPO J. (2000) - Harmful algae events in the Mediterranean: are they increasing? *Harmful Algae News*, **20**: 10-11.
- GOFFART A., HECQ J.-H., LEGENDRE L. (2002) - Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (NW Mediterranean) over the last two decades: a response to changing climate? *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **236**: 45-60.
- GRANELI E., MOREIRA M.O. (1990) - Effects of river water of different origin on the growth of marine dinoflagellates and diatoms in laboratory cultures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **136**: 89-106.
- HALLEGRAEFF G.M. (1993) - A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, **32**: 79-99.
- HALLEGRAEFF G.M. (1998) - Transport of toxic dinoflagellates via ships' ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **168**: 297-309.
- HALLEGRAEFF G.M. (2002) - *Aquaculturist's guide to harmful Australian marine microalgae*. The Print Centre, Hobart.
- HALLEGRAEFF G.M., ANDERSON D.M., CEMBELLA A.D. (eds) (2003) - *Manual on Harmful Marine Microalgae*. UNESCO Monographs on Oceanographic Methodology, Paris, **11**: 792 pp.
- HALLEGRAEFF G.M., MACLEAN J.L. (eds) (1989) - *Biology, Epidemiology and Management of Pyrodinium bahamense Red Tides*. ICLARM Conference Proceedings, **21**: 286 p.
- HOEGH-GULDBERG Ø. (1999) - Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *J. Mar. Freshw. Res.*, **50**: 839-866.
- LAM C.W.Y., HO K.C. (1989) - Red tides in Tolo Harbour, Hong Kong. In: T. Okaichi, D.M. Anderson, T. Nemoto (eds), *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*. Elsevier Science Publishing, New York: 49-52.
- LANCELOT C., BILLEN G., SOURNIA A., WEISSE T., COLIJN F., VELDHUIS M., DAVIES A., WASSMAN P. (1987) - *Phaeocystis* blooms and nutrient enrichment in the continental zones of the North Sea. *Ambio*, **16**: 38-46.

- LILLY E.L., KULIS D.M., GENTIEN P., ANDERSON D.M. (2002) - Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from the western Pacific: Evidence from DNA and toxin analysis. *J. Plankton Res.*, **24**: 443-452.
- MACLEAN J.L. (1989) - Indo-Pacific Red Tides, 1985–1988. *Mar. Poll. Bull.*, **20**: 304–310.
- MAESTRINI S.Y., GRANALI E. (1991) - Environmental conditions and ecophysiological mechanisms which led to the 1988 *Chrysochromulina polylepis* bloom: an hypothesis. *Oceanological Acta*, **14**: 397–413.
- MCMINN A. (1989) - Late Pleistocene dinoflagellate cysts from Botany Bay, New South Wales, Australia. *Micropaleontology*, **35**: 1–9.
- OFFICER C.B., RYTHER J.H. (1980) - The possible importance of silicon in marine eutrophication. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **3**: 83–91.
- OKAICHI T. (1989) - Red tide problems in the Seto Inland Sea, Japan. In: T. Okaichi, D.M. Anderson, T. Nemoto (eds), *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*. Elsevier Science Publishing, New York: 137–142.
- RIEGMAN R., NOORDELOOS A.A., CADEE G.C. (1992) - *Phaeocystis* blooms and eutrophication of the continental zones of the North Sea. *Mar. Biol.*, **112**: 479-484.
- RYTHER J.H., DUNSTAN W.M. (1971) - Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environment. *Science*, **171**: 1008–1013.
- SCHOLIN C., HALLEGRAEFF G.M., ANDERSON D.M. (1995) - Molecular evolution of the *Alexandrium tamarense* “species complex” (Dinophyceae) and their dispersal in the North American and West Pacific regions. *Phycologia*, **34**: 472-485.
- SMAYDA T.J. (1990) - Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: Evidence for a global epidemic. In: E. Graneli, B. Sundström, L. Edler & D.M. Anderson (eds), *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier Science Publishing Co., New York: 29–40.
- STACHOWITSCH M., FANUKO N., RICHTER M. (1990) - Mucus aggregates in the Adriatic Sea: An overview of stages and occurrences. *P.S.Z.N.I.: Marine Ecology*, **11**: 327-350.
- STACHOWICZ J.J., TERWIN J.R., WHITLATCH R.B., OSMAN R.W. (2002) - Linking climate change and biological invasions: ocean warming facilitates non-indigenous species invasion. *Proc. Nat. Acad. Sc. USA*, **99**: 15497-15500.
- SUNDA W.G., GRANALI E., GOBLER C.J. (2006) - Positive feedback and the development and persistence of ecosystem disruptive algal blooms. *J. Phycol.*, **42**: 963-974.
- TESTER P.A., STUMPF R.P., VUKOVICH F.M., FOWLER P.K., TURNER J.T. (1991) - An expatriate red tide bloom: transport, distribution, and persistence. *Limnol. Oceanogr.*, **36**: 1953-1961.
- TURNER J.T., GRANALI E. (2006) - “Top-down” predation control on marine harmful algae. In: E. Graneli, J.T. Turner (eds), *Ecology of Harmful Algae*. Ecological Studies Series, Springer, **189**: 355-366.
- VAN BENNEKOM A.J., SALOMONS W. (1980) - Pathways of nutrients and organic matter from land. In: J.-M. Martin, J.D. Burton, D. Eisma (eds), *River Inputs to Ocean Systems*, UNEP/ UNESCO: 33–51.
- VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G. (1992) - Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten-year monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). In: R.A. Vollenweider, R. Marchetti, R. Viviani (eds), *Marine Coastal Eutrophication*. Elsevier: 63-106.
- ZINGONE A., SIANO R., D’ALELIO D., SARNO D. (2006) - Potentially toxic and harmful microalgae from coastal waters of the Campania region (Tyrrhenian Sea, Mediterranean Sea). *Harmful Algae*, **5**: 321-337.

M. CHIANTORE, L. MANGIALAJO, M. CASTELLANO, D. PRIVITERA,
E. COSTA, C. CANEPA*, R. CATTANEO-VIETTI

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
chiantor@dipteris.unige.it

*Dipartimento di Chimica Generale e Chimica Organica, Università di Torino,
Corso Massimo D'Azeglio, 48 – 10125 Torino, Italia.

DINAMICA DI PROLIFERAZIONE
DI *OSTREOPSIS OVATA* IN MAR LIGURE
BLOOM DYNAMICS
OF *OSTREOPSIS OVATA* IN THE LIGURIAN SEA

Abstract - *Ostreopsis ovata* blooms have been recorded in the Ligurian Sea in 2005 and 2006. In 2007 the concentrations of this dinoflagellate did not reach values as high as in the previous summer. Such bloom failure seems to rely in lower water temperature and higher hydrodynamic conditions. Complexity of microalgal blooms in very shallow waters is confirmed by difficult quantitative modelling of the process.

Key-words: benthic HABS, dinoflagellates, *Ostreopsis ovata*, Mediterranean Sea, environmental factors.

Introduzione - *Ostreopsis ovata*, dinoflagellato bentonico potenzialmente tossico, è segnalato da alcuni anni in diverse aree del Mediterraneo (Penna *et al.*, 2005). Nonostante il fenomeno sia oggetto di numerosi studi, i fattori che maggiormente potrebbero favorire lo sviluppo di tali alghe sono tuttora poco conosciuti. Nel 2005 e nel 2006 si sono verificate fioriture estive di *O. ovata* davanti al litorale genovese con effetti sulla salute umana (Mangialajo *et al.*, in press). Nel 2007 se ne è seguita l'evoluzione temporale dall'inverno alla fine dell'estate, lungo il litorale genovese e nell'Area Marina Protetta di Portofino, relazionandola con le condizioni idrologiche, meteo-marine, con la disponibilità di nutrienti e valutandone gli effetti sui popolamenti macrobentonici.

Materiali e metodi - La concentrazione di cellule nella colonna d'acqua e la loro densità sulle macroalge è stata misurata, da febbraio ad ottobre 2007, in tre siti a distanza crescente dal centro cittadino di Genova: Quarto, Pontetto e Cala Oro (AMP Portofino). Campionamenti sono stati condotti con frequenze mensile, inizialmente, poi quindicinale all'approssimarsi dei mesi più caldi. A Quarto, l'area più critica, nei mesi estivi sono stati condotti campionamenti su base giornaliera. Campioni di acqua e delle macroalge *Stypocaulon scoparium* e *Corallina elongata* sono stati raccolti a 0 e 5 m di profondità per il calcolo della concentrazione di *O. ovata*, rispettivamente in sospensione ed adesa. Nell'acqua sono stati inoltre misurati temperatura, salinità, ossigeno disciolto, le concentrazioni di nutrienti, di azoto, fosforo e di clorofilla-*a*. Gli effetti sul macrobenthos sono stati valutati sui principali erbivori: *Patella* spp., *Paracentrotus lividus* e *Arbacia lixula*.

Risultati - Le concentrazioni di *O. ovata* nel corso dell'estate 2007 non hanno raggiunto i valori tipici di una vera e propria fioritura e non hanno determinato alcun effetto sui popolamenti macrobentonici indagati, così come non si sono osservate estese formazioni di mucillagini brune. Tuttavia, nel corso del periodo di studio si è rilevato un evidente incremento del numero di cellule di *O. ovata* nell'acqua superficiale, con una chiara differenza tra Cala Oro e gli altri due siti. Nel primo, infatti, non sono mai stati raggiunti valori superiori a 4000 cell/l, mentre a Quarto e Pontetto si sono superate le 35000 cell/l. In Particolare, a Quarto, si sono osservati due massimi, il 9 ed il 20 di luglio (Fig. 1).

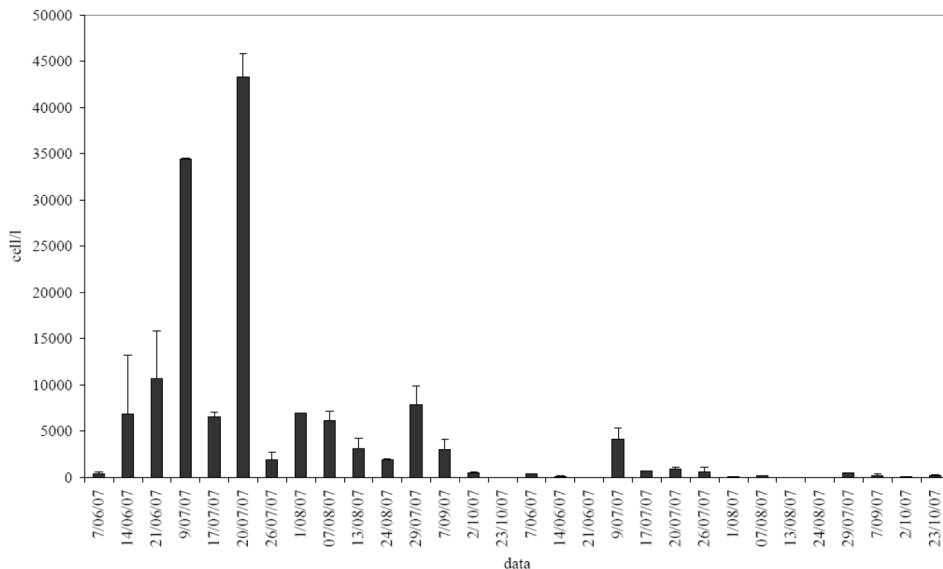


Fig. 1 - Concentrazioni di cellule di *O. ovata* nell'acqua superficiale nel sito di Quarto nel corso del periodo di studio, da febbraio ad ottobre 2007 (valori medi + 1SE).
O. ovata cell concentration in surface water in Quarto along the study period, from february to october 2007 (avg + 1SE).

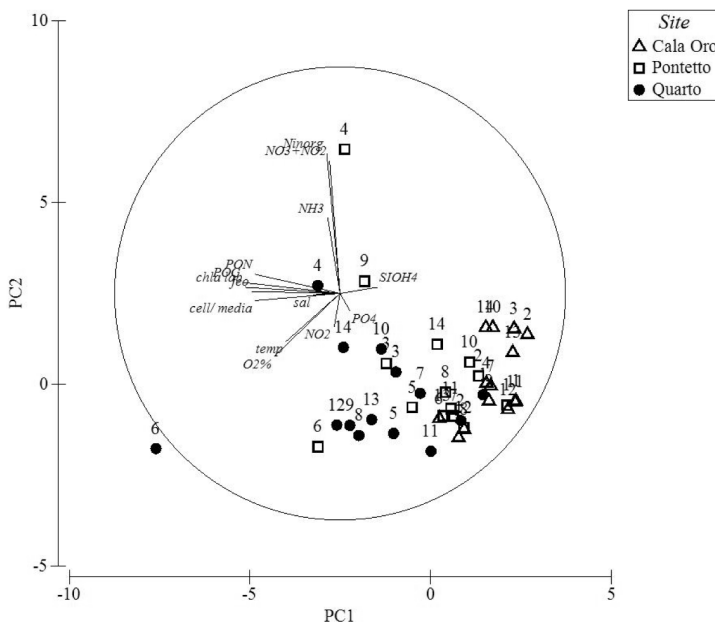


Fig. 2 - PCA condotta sulle concentrazioni di *O. ovata* e sulle differenti variabili indagate, nei tre siti in 14 differenti campionamenti occorsi tra febbraio ed ottobre 2007.
 PCA on *O. ovata* cell concentrations and water column variables, in the three sites in the 14 sampling occasions, fro february to october 2007.

Situazione simile si è osservata a 5 m, con valori decisamente più bassi che in superficie e più elevati a Pontetto, con picchi il 9 ed il 26 luglio. Similmente, sulle due macroalghe si sono trovate concentrazioni di *O. ovata* più elevate in superficie che a 5m, molto maggiori su *Stypocaulon scoparium* che su *Corallina elongata*. I valori più elevati si sono riscontrati il 9 luglio a 5 m, similmente sulle due macroalghe, mentre in superficie i massimi si sono raggiunti il 17 luglio su *Corallina* e il 20 luglio su *Stypocaulon*. Lungo l'intero periodo di studio anche sulle macroalghe le concentrazioni sono risultate significativamente più basse a Cala Oro rispetto agli altri due siti.

L'assenza di una marcata fioritura sembra da porsi in relazione alla temperatura dell'acqua che non ha mai raggiunto i valori del 2006, che nel periodo di fioritura avevano raggiunto i 30.2 °C, mentre nel 2007 non si sono superati i 27 °C. Inoltre, un ruolo rilevante sembra essere stato esercitato dalle condizioni idrodinamiche, che in tutto il periodo estivo si sono mantenute fortemente instabili. Tuttavia non risulta alcuna chiara relazione con le variabili chimico-fisiche indagate, con picchi di concentrazione di microalghe che si realizzano in condizioni apparentemente molto dissimili da un punto di vista idrologico (Fig. 2).

Conclusioni - Le fioriture di *O. ovata* si sono ripetute nel 2007 in Liguria, almeno nel levante genovese, senza però raggiungere i valori registrati nel 2006 (Mangialajo *et al.*, in press) e questo potrebbe essere dovuto ad eventi climatici differenti nelle due estati: mentre nel 2006 le condizioni anticicloniche costanti avevano provocato condizioni di mare calmo per un tempo più prolungato, nel 2007 tale fenomeno è stato praticamente assente e le condizioni del mare sono state per lo più turbolente. La complessità dei processi che portano alla proliferazione della microalga tossica e delle dinamiche che hanno luogo nelle comunità costiere superficiali è comprovata dalla difficoltà di realizzarne una modellizzazione quantitativa.

Bibliografia

- MANGIALAJO L., BERTOLOTTO R., CATTANEO-VIETTI R., CHIANTORE M., GRILLO C., LEMEE R., MELCHIORRE N., MORETTO P., POVERO P., RUGGIERI N. (in press) - The toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*: Quantification of proliferation along the coastline of Genoa, Italy. *Marine Pollution Bulletin*.
- PENNA A., VILA M., FRAGA S., GIACOBBE M.G., ANDREANI F., RIOBO' P., VERNESI C. (2005) - Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dino-phyceae) isolates in the Western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8S rDNA sequences. *Journal of Phycology*, **41**: 212-225.

C. FACCA, A. SFRISO, S. CEOLDO

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Venezia,
Calle Larga Santa Marta, 2137 – 30123 Venezia, Italia.
facca@unive.it

CONDIZIONI TROFICHE ESTIVE DELLA LAGUNA DI GRADO-MARANO IN RELAZIONE ALLA DISTRIBUZIONE DI NUTRIENTI E DIATOMEE NELLE ACQUE E NEI SEDIMENTI

SUMMER TROPHIC CONDITIONS OF GRADO-MARANO LAGOON IN RELATION TO NUTRIENT AND DIATOM DISTRIBUTION IN WATERS AND SEDIMENTS

Abstract – In July 2007, 19 water and sediment samples were collected in the whole Grado-Marano lagoon in order to study the main nutrient concentrations and the diatom distribution. Lagoon waters resulted rich in nitrate in the areas of the river discharges, where a planktonic diatom bloom occurred, and poor in nutrient and microalgae in other areas. Benthic microalgae were dominated by epiphytes and large species.

Key-words: nutrients, diatoms, water column, sediments, Grado-Marano lagoon.

Introduzione – La laguna di Grado-Marano si estende per 160 km² nel bacino del Mar Adriatico settentrionale e riceve le acque di numerosi corsi d'acqua che attraversano un bacino scolante a carattere prevalentemente agricolo con alcune attività industriali che hanno causato una forte contaminazione da Hg (Piani *et al.*, 2005). Lo sfruttamento antropico delle risorse lagunari è legato soprattutto all'acquicoltura. Il presente lavoro si inserisce in un piano di studio degli ambienti di transizione con lo scopo di valutare le condizioni dell'ecosistema per poter poi definire le classi di qualità come richiesto dalla FWD (EU 2000/60). Questi dati forniscono un primo quadro delle distribuzioni di nutrienti e di diatomee nelle acque e nei sedimenti di aree caratteristiche di tutta la laguna.

Materiali e metodi – In due giorni nel mese di luglio 2007 sono stati misurati alcuni parametri fisico-chimici (temperatura, salinità, ossigeno disciolto, pH) e sono stati raccolti campioni di acqua e di sedimento superficiale (ca. 5 cm) in 19 stazioni (profondità media di ca. 85±40 cm), distribuite in tutta la laguna di Grado-Marano. I campioni di acqua sono stati filtrati per la determinazione spettrofotometrica dei principali nutrienti (azoto inorganico disciolto DIN, fosforo reattivo RP e silicati), mentre i campioni di sedimento sono stati congelati e liofilizzati per la misura delle concentrazioni di fosforo e azoto totale. Aliquote di ciascun campione sono state poi fissate per il conteggio e l'identificazione tassonomica al microscopio ottico invertito delle diatomee planctoniche e bentoniche.

Risultati – I più importanti input di acque dolci, individuati da salinità attorno a 20, sono stati osservati in corrispondenza della foce del fiume Stella, mentre in gran parte della laguna sono stati registrati valori tra 29 e 35. Condizioni di sottosaturazione dell'ossigeno sono state misurate solo in un'area limitata nella zona orientale della laguna. In corrispondenza dei principali input fluviali, soprattutto quelli di risorgiva come il fiume Stella sono state registrate rilevanti concentrazioni di nitrati disciolti (fino a 51.6 µM) nella colonna d'acqua. Il loro contributo è stato, invece, modesto (~4.5 µM) nelle stazioni dell'area orientale dove era leggermente maggiore l'ammoniaca (~6 µM), i cui valori massimi (fino a 18.6 µM) sono stati registrati nell'area antistante Marano. La distribuzione della somma delle frazioni dell'azoto (DIN) ha messo ben

in evidenza gli input fluviali nell'area occidentale mostrando, comunque, che la zona orientale non ne è influenzata significativamente dato che le concentrazioni non hanno superato 16 μM (Fig. 1). I valori di fosforo reattivo nella colonna d'acqua sono stati

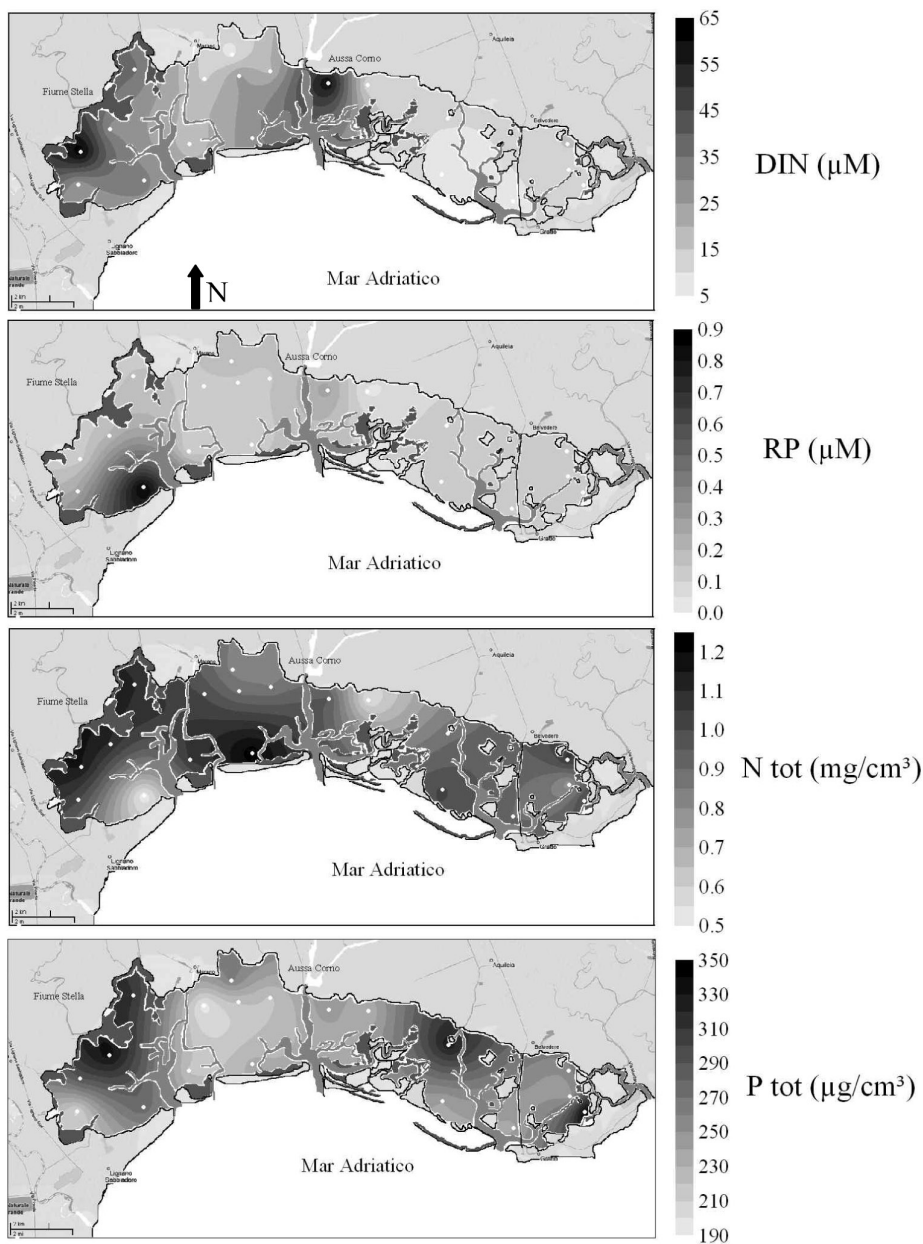


Fig. 1 – Concentrazione di azoto inorganico disciolto (DIN) e fosforo reattivo (RP) nella colonna d'acqua e di azoto totale (N tot) e fosforo totale (P tot) nei sedimenti. I punti bianchi indicano i siti di campionamento.

Dissolved inorganic nitrogen (DIN) and reactive phosphorus (RP) in the water column and total nitrogen (N tot) and total phosphorus (P tot) in surface sediments. The white circles indicate the sampling sites.

inferiori a $0.3 \mu\text{M}$ e piuttosto omogenei in tutta l'area. In un'unica stazione, in prossimità di un canale di scolo della zona turistica di Lignano-Sabbiadoro è stata misurata una concentrazione vicina a $0.9 \mu\text{M}$ (Fig. 1). Le concentrazioni dei nutrienti in acqua erano significativamente e negativamente correlate con la salinità ($r=-0.6$, $p<0.05$).

Per quanto riguarda i sedimenti superficiali, le concentrazioni di azoto totale variavano tra 0.75 e 1.25 mg cm^{-3} con due minimi di 0.5 mg cm^{-3} in prossimità dell'abitato di Lignano e nella parte centrale della laguna (Fig. 1). Il fosforo totale, al contrario, presentava una maggiore eterogeneità spaziale da cui si possono chiaramente osservare le aree di input fluviale che hanno raggiunto concentrazioni $>300 \mu\text{g cm}^{-3}$ (Fig. 1). La frazione organica del fosforo mediamente era ca. il 33% della frazione totale e mostrava una distribuzione spaziale simile.

L'abbondanza cellulare delle diatomee planctoniche, che rappresentavano mediamente il 40% della comunità fitoplanctonica, non ha superato 1.5×10^6 cells/l in 16 delle 19 stazioni studiate. Negli altri siti, posti in corrispondenza della foce del fiume Stella (Fig. 2) si è registrata una fioritura di *Cylindrotheca closterium* Lewin & Reimann (fino a 12.3×10^6 cells/l) abbinata a discrete abbondanze di *Nitzschia frustulum* Grunow. Nelle stazioni con le abbondanze minori il numero di specie è stato almeno doppio di quello osservato nelle aree di bloom. La componente planctonica è risultata significativamente correlata con la salinità ($r=-0.93$, $p<0.001$) e con la concentrazione dei nitrati ($r=0.63$, $p<0.05$).

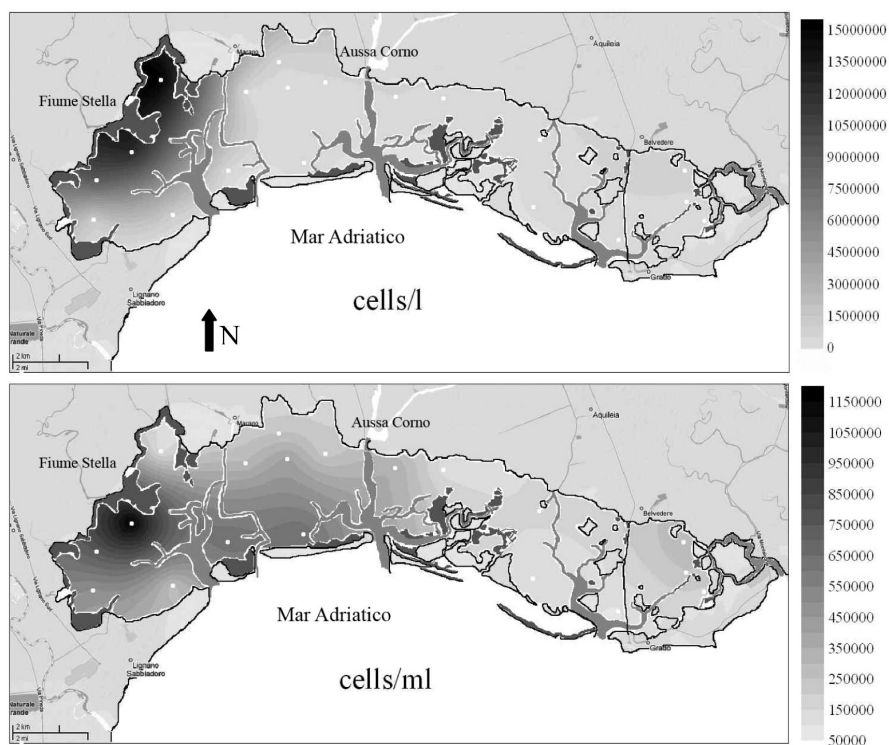


Fig. 2 - Abbondanza cellulare delle diatomee planctoniche (in alto) e bentoniche (in basso). I punti bianchi indicano i siti di campionamento.

Dissolved inorganic nitrogen (DIN) and reactive phosphorus (RP) in the water column and total nitrogen (N tot) and total phosphorus (P tot) in surface sediments. The white circles indicate the sampling sites.

In 18 delle 19 stazioni studiate, l'abbondanza cellulare delle diatomee bentoniche non ha superato 0.8×10^6 cells/ml (sedimento umido). Solo in prossimità del fiume Stella è stata osservata una comunità di 1.2×10^6 cells/ml (Fig. 2). Nel complesso, comunque, l'area occidentale ($\sim 0.5 \times 10^6$ cells/ml) è risultata più ricca di quella orientale ($\sim 0.2 \times 10^6$ cells/ml). Le specie più abbondanti erano le epifite *Amphora veneta* Kützing, *Cocconeis scutellum* Ehrenberg e *Synedra tabulata* Kützing e spesso si sono rinvenute specie di grandi dimensioni ($>100 \mu\text{m}$) appartenenti ai generi *Gyrosigma* e *Pleurosigma*.

Conclusioni – Precisando che questi dati si riferiscono ad una situazione puntuale, la laguna di Grado-Marano sembra essere classificabile ad un livello di eutrofizzazione medio-basso: l'area orientale ha presentato, infatti, basse concentrazioni di nutrienti, una buona diversità microalgale e specie di dimensioni $>50 \mu\text{m}$. La zona occidentale, invece, soprattutto in prossimità delle foci del Stella e del Aussa-Corno, ha mostrato concentrazioni di nitrati $>50 \mu\text{M}$, un'abbondante concentrazione di diatomee planctoniche di piccole dimensioni ($<30 \mu\text{m}$) ed una minor ricchezza di specie. In generale, lo studio delle diatomee bentoniche ha permesso di evidenziare una scarsa perturbazione dei fondali in quanto la comunità era formata da specie di grandi dimensioni che solo occasionalmente sono state rinvenute nella colonna d'acqua.

Questo ecosistema presenta, dunque, ambienti con qualità delle acque diverse che variano tra pessima/scadente e buona/elevata (vedi anche Sfriso *et al.*, questo congresso). Dal confronto di questi dati con quelli raccolti in un periodo simile nella laguna di Venezia è emerso che i valori di fosforo reattivo nell'acqua (Solidoro *et al.*, 2004) e di azoto totale nei sedimenti (Sfriso *et al.*, 2003) sono simili, mentre il DIN (Solidoro *et al.*, 2004) era tendenzialmente maggiore a Grado-Marano e il fosforo totale nei sedimenti era più abbondante a Venezia (Sfriso *et al.*, 2003).

Bibliografia

- PIANI R., COVELLI S., BIESTER H. (2005) – Mercury contamination in Marano lagoon (Northern Adriatic sea, Italy): source identification by analyses of Hg phases. *Appl. Geochem.*, **20**: 1546-1559.
- SFRISO A., FACCA C., CEOLDO S., SILVESTRI S., GHETTI P.F. (2003) – Role of macroalgal biomass and clam fishing on spatial and temporal changes in N and P sedimentary pools in the central part of the Venice lagoon. *Oceanol. Acta.*, **26**: 3-13.
- SOLIDORO C., PASTRES R., COSSARINI G., CIAVATTA S. (2004) – Seasonal and spatial variability of water quality parameters in the lagoon of Venice. *J. Marine. Syst.*, **51**: 7-18.

G. FORNI, A. OCCHIPINTI AMBROGI, C. MAZZIOTTI*

Dipartimento di Ecologia del Territorio, Sezione di Ecologia, Università di Pavia,
Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.
giulia.forni@unipv.it

*ARPAER, Struttura Oceanografica Daphne, Cesenatico (FC) Italia.

VARIAZIONI DI PORTATA DEL PO, EUTROFIZZAZIONE E COMUNITÀ MACROBENTONICA IN UNA STAZIONE AL LARGO DI PORTO GARIBALDI (EMILIA ROMAGNA, NORD ADRIATICO): DIECI ANNI DI STUDIO

PO RIVER DISCHARGE, EUTROPHICATION AND MACROBENTHIC COMMUNITY IN A STATION OFF PORTO GARIBALDI COAST (EMILIA ROMAGNA, NORTHERN ADRIATIC SEA): TEN YEARS STUDY

Abstract - *Soft bottom macrobenthos in a station located 10 km off the Po river delta has been investigated seasonally for ten years, from July 1996 to July 2006. The community structure has been studied in relation with the variations of the Po river flow regime and with the related trophic conditions.*

Key-words: *benthos, river flow, eutrophication, long term changes, Northern Adriatic Sea.*

Introduzione - Le acque costiere dell'Emilia Romagna sono influenzate dagli apporti fluviali padani, che causano una forte variabilità delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque e con il loro carico di nutrienti sono responsabili di fenomeni di eutrofizzazione. L'abbondanza di fitoplancton può inizialmente favorire gli organismi filtratori e detritivori, ma all'aumentare della materia organica nei sedimenti il numero di specie diminuisce mentre cresce la loro densità e possono insorgere situazioni di ipossia (Grall e Chavaud, 2002). Scopo del presente lavoro è valutare gli effetti a lungo termine che le variazioni di portata del Po e i conseguenti cambiamenti nelle condizioni trofiche hanno esercitato sulla comunità bentonica, nella stazione più prossima al delta padano, fra quelle da noi studiate dal 1996 al 2006.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati eseguiti stagionalmente, dal luglio 1996 al luglio 2006, in una stazione situata a 10 Km dalla costa, di fronte alla località di Porto Garibaldi e a circa 14 m di profondità, corrispondente alla stazione 1004 della rete di monitoraggio ARPAER (Fig. 1). I prelievi di materiale biologico sono stati effettuati a bordo della motonave "Daphne II", appartenente alla Struttura Oceanografica Daphne di Cesenatico, con benna Van Veen di 0,06 m² (quattro repliche setacciate su vaglio con maglie da 1 mm). Contemporaneamente è stato prelevato il sedimento per le analisi granulometriche. I dati chimico-fisici sono stati raccolti con cadenza circa settimanale dalla Struttura Oceanografica Daphne. I valori giornalieri di portata sono stati forniti dall'Ufficio Idrografico e Mareografico per il bacino del Po di Parma. L'analisi uni e multivariata della comunità bentonica è stata effettuata con l'ausilio del software PRIMER (Clarke e Warwick, 1994).

Risultati - Durante il periodo di studio sono stati individuati tre intervalli di tempo caratterizzati da differenti portate: dal 1996 al 1999, il valore medio (1486 m³.sec⁻¹) è in linea con la portata media nota per il Po di circa 1500 m³.sec⁻¹ (Syvitski e Kettner, 2007); dal 2000 al 2002, il valore medio del periodo comprendente l'evento di piena dell'ottobre 2000 con massimi superiori a 9000 m³.sec⁻¹, è pari a 1851 m³.sec⁻¹; dal 2003 al 2006 si assiste a una drastica riduzione della portata media (946 m³.sec⁻¹). Il

regime delle portate è presumibilmente alla base del mutamento nelle condizioni trofiche della stazione: vi è una diminuzione nel tempo delle concentrazioni di clorofilla "a" e di fosfati nella colonna d'acqua e un aumento della trasparenza e della percentuale di sabbia nei sedimenti; si riscontra inoltre un lieve aumento della concentrazione di ossigeno sul fondo, attribuibile al minor numero di episodi di ipossia verificatisi nell'ultimo periodo di studio.

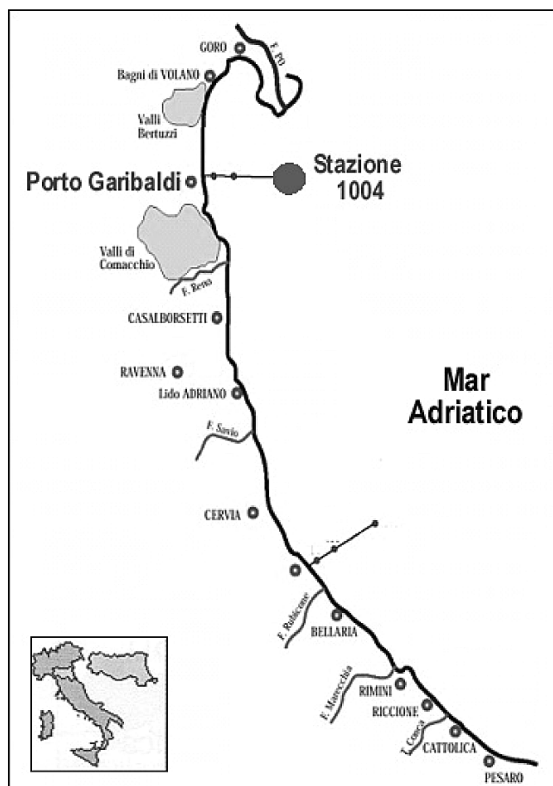


Fig. 1 - Area di studio e stazione di campionamento.

Study area and sampling station.

La comunità macrobentonica risponde alla riduzione dello stato di trofia con un complessivo lieve calo dei valori dei principali parametri strutturali, soprattutto ricchezza specifica, abbondanza e diversità (Tab. 1).

L'analisi multivariata effettuata sull'insieme dei campionamenti indica una progressiva evoluzione della comunità nel tempo. La suddivisione dei campioni in tre gruppi, corrispondenti ai tre periodi caratterizzati da diverse portate, dà differenze statisticamente significative (Test Anosim: $p = 0,01$) (Fig. 2). L'applicazione del Test SIMPER, che consente di stabilire quali specie contribuiscono a determinare questa differenza, indica una comunità fortemente caratterizzata da un ridotto numero di specie che si alternano con forti dominanze nei tre periodi. Il primo gruppo include i campioni dal 1996 al 1999 ed è caratterizzato per il 37,8% da *C. gibba*, per il 26,3% dal polichete *Owenia fusiformis* e da poche altre specie il cui contributo percentuale non supera l'8%; i campioni dal 2000 al 2002 sono caratterizzati per il 53,4% sempre da *C. gibba* e

Relativamente all'ossigeno, i più importanti episodi di ipossia (valori di ossigeno sul fondo inferiori ai 3 mg.l⁻¹), registrati per almeno tre misure settimanali consecutive, non sembrano sempre agire con la stessa gravità sulla comunità: nei campioni raccolti dopo l'ipossia dell'autunno '96 e dell'estate '03 si nota una riduzione del numero di specie e della densità totale ed un incremento del bivalve *Corbula gibba*, specie opportunistica che, se pur costantemente presente nella stazione in esame, in queste date aumenta in percentuale; diversamente, gli eventi ipossici dell'estate '97 e '03 non hanno conseguenze rilevanti sulla comunità. Considerando però l'effetto complessivo dei due eventi ipossici registrati dopo il periodo di forte variabilità delle portate, nell'estate '02 e di nuovo nell'estate '03, stagione solitamente di reclutamento per la comunità, si nota un forte calo del numero di individui.

Conclusioni – La comunità macrobentonica risponde alle modificazioni di lungo periodo registrate in questo tratto di mare a sud del delta padano. Infatti, la riduzione delle portate del Po nel periodo di studio, la conseguente diminuzione del trofismo delle acque e l'aumento della percentuale di sabbia nei sedimenti determinano una variazione nella struttura della comunità, con la sostituzione non solo delle specie dominanti, ma anche del corteggio di altre specie tipiche dell'area.

Le comunità bentoniche dell'area sono sottoposte all'influenza di fattori ambientali secondo le caratteristiche del disturbo intermedio (Connell, 1978) e mantengono un loro equilibrio con aggiustamenti della propria struttura e composizione a fronte di periodi caratterizzati da diverso flusso di acqua dolce e dal conseguente carico trofico (Rabalais *et al.*, 2002). Gli eventi di piena e i periodici eventi distrofici possono rappresentare il fattore scatenante, responsabile di modifiche più rapide che accentuano il passaggio tra diversi assetti della comunità.

Bibliografia

- CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth: 144 pp.
- CONNELL J.H. (1978) - Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, **199**: 1302-1310.
- GRALL J., CHAUVAUD L. (2002) - Marine eutrophication and benthos: the need for new approaches and concepts. *Global Change Biology*, **8**: 813-830.
- RABALAIS N.N., TURNER R.E., WISEMAN W.J. (2002) - Gulf of Mexico hypoxia, A.K.A. "The dead zone". *Annual review of ecology and systematics*, **33**: 235-263.
- SYVITSKI J.P.M., KETTNER A.J. (2007) - On the flux of water and sediment into the Northern Adriatic Sea. *Continental Shelf Research*, **27**: 296-308.

F. GIOVANARDI, S. RUSSO, A. RINALDI*, G. MONTANARI*, C.R. FERRARI*, C. MAZZIOTTI*

ICRAM – Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare
Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.
f.giovanardi@icram.org

*ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione Ambiente Emilia Romagna, Struttura Oceanografica Daphne,
Cesenatico (FC), Italia.

EUTROFIZZAZIONE DELLE ACQUE COSTIERE
DELL'EMILIA-ROMAGNA: APPROCCIO METODOLOGICO
PER L'IDENTIFICAZIONE DEI CORPI IDRICI
E LA DEFINIZIONE DELLE CONDIZIONI DI RIFERIMENTO

*EUTROFICATION COSTAL WATERS EMILIA-ROMAGNA REGION
METHODOLOGICAL APPROACH TO WATER BODIES
IDENTIFICATION AND REFERENCE CONDITION DEFINITION*

Abstract – In order to divide Emilia Romagna coastal waters in significant water bodies, according to WFD 2000/60, the data of the National Monitoring Programme (Law 979/82 “Defence of the Sea”) have been analysed. Homogeneous water masses have been identified. Specific polluting loads coming from Po river basin and from minor water courses have been evaluated. According to the results “MED GIG” have been defined to be utilised for Ecological Quality Ratio calculation.

Key-words: eutrophication, nutrients, coastal waters, trophic levels.

Introduzione – La Direttiva Comunitaria WFD 2000/60 introduce un nuovo approccio ai fini della valutazione dello stato di qualità dei corpi idrici, integrando sia gli aspetti chimici sia gli aspetti biologici. Questi ultimi assumono importanza rilevante, essendo la classificazione dello stato ecologico principalmente basata sugli Elementi di Qualità biologica. Nel processo di implementazione e di applicazione della Direttiva, il corpo idrico sarà l'oggetto delle attività di “reporting” e di verifica della congruità con i principali obiettivi ambientali previsti dalla D. 2000/60. Altrettanto importante è la necessità di fissare Condizioni standard di riferimento, perché questo rende possibile la valutazione della qualità ecologica del corpo idrico rispetto a quella che caratterizza il sito di riferimento (reale o anche virtuale), inteso dunque come obiettivo di qualità da raggiungere e/o con cui rapportarsi (EQR: Environmental Quality Ratio) (CIS Working Group 2.4. - Coast. 2002).

Materiali e metodi - Il percorso metodologico indicato dalla Direttiva per arrivare alla classificazione dello stato ecologico prevede due importanti passaggi intermedi: l'identificazione dei corpi idrici e l'individuazione delle condizioni di riferimento. Per la caratterizzazione di qualità delle acque costiere emiliano romagnole, si è fatto ricorso principalmente ai dati del SIDIMAR (Periodo 2001-2006: monitoraggio ex legge 979/82: Convenzioni delle Regioni con il M.A.T.T.M. – Direzione Protezione della Natura) e ai risultati dell'Indagine CIPE (Periodo Marzo 2004-Febbraio 2005), propedeutica alla verifica degli obiettivi del Piano di Tutela delle Acque (PTA) della Regione Emilia Romagna ai sensi del Dlgs 152/99.

Ai fini della caratterizzazione complessiva della fascia costiera Emiliano-romagnola, gli autori hanno comunque potuto fare affidamento sul data-base della Struttura Oceanografica Daphne che fornisce serie storiche a partire dai primi anni '80.

Infine per le elaborazioni statistiche complesse (e.g. Cluster Analysis) è stato utilizzato il programma R (V. 2.11 –R Development Core Team, 2005). R è un *free software*.

Risultati – Lungo la fascia costiera emiliano romagnola da diversi anni sono ricorrenti i processi di Eutrofizzazione, con impatti negativi oltre che sugli equilibri ambientali degli ecosistemi, anche sui settori economici del turismo e della pesca. È stato dimostrato effetto “eutrofizzante” dovuto agli apporti padani che condizionano l’intera area considerata, dal punto di vista delle concentrazioni sia di nutrienti, sia di Clorofilla (ARPAER Regione Emilia-Romagna, 1982-2006; Vollenweider *et al.*, 1992). Dovendo procedere secondo quanto indicato dalla Direttiva alla identificazione dei Corpi Idrici, un primo passo è consistito nell’elaborare i dati allo scopo di individuare aree costiere omogenee dal punto di vista qualitativo.

Le variabili considerate sono:

Parametri idrologici e chimico-fisici: Temperatura, Salinità, sigma_T, Stabilità della colonna d’acqua (N) e Rapporto di Diluizione (F%), O_{2D}, pH.

Parametri indicatori di stato trofico: N-NH₄, N-NO₃, N-NO₂, TN, P-PO₄, TP, Clorofilla, Disco Secchi, S-SiO₄.

Fitoplancton e indice Trofico TRIx: abbondanza di Diatomee, Dinoflagellate, Altro.

Sono inoltre state calcolate le portate medie e i carichi di nutrienti (N e P) del Po e dei fiumi emiliano-romagnoli, per il periodo Agosto 2004 -Luglio 2005.

Applicando l’Analisi dei Cluster ai dati relativi a 4 Transetti di 3 stazioni ciascuno emerge che le diverse stazioni si aggregano secondo 2 principali aree omogenee, quella immediatamente interessata dal delta del fiume Po e la zona posta più a sud. Il terzo cluster individuato, che comprende un lungo tratto di litorale da Lido Adriano a Cesenatico non si differenzia molto dal secondo. Il passo successivo ha riguardato l’analisi delle pressioni. Per rappresentare il diverso grado di impatto sui corpi idrici è stato scelto il carico di Fosforo, non soltanto perché esso è il principale elemento che innesca e sostiene le fioriture algali (Vollenweider, 1992; Giovanardi e Vollenweider, 2004), ma anche perché ben rappresenta e riassume tutti fattori di “pressione” dovuti alle attività umane. Per i carichi di nutrienti si può osservare che i valori di carico liberati dal bacino padano e immessi nel mare Adriatico (5200 tonn/anno di P totale), sono di gran lunga più elevati dei corrispondenti valori relativi ai bacini costieri. Sulla base di queste osservazioni, possiamo dunque suddividere la fascia costiera romagnola in due corpi idrici principali, distinti e ben differenziati, non solo per le loro caratteristiche di qualità, ma anche per la specificità degli impatti determinati dalla pressione antropica. Il primo corpo idrico è quello situato nella zona Nord, dal delta padano fino alle dighe di Ravenna, che sviluppandosi verso il largo per oltre tre km, rappresentano anche un limite di tipo fisico non trascurabile. Il secondo corpo idrico si sviluppa verso sud, dalle dighe di Ravenna fino al confine regionale.

Conclusioni - Secondo il criterio indicato dal M.A.T.T.M. (Dir. Qualità della Vita. Cfr. Allegati tecnici al Decreto 152/2006 di recepimento della Direttiva 2000/60), tutta la zona costiera dell’Alto Adriatico ricade nella Tipologia 1: Pianura Alluvionale – Stabilità Elevata. Questa Tipologia è risultata unica per tutta l’Eco-Regione Mediterranea, da cui ne deriva l’impossibilità pratica di intercalibrare i criteri di classificazione dello stato ecologico per l’Alto Adriatico con quelli applicabili ad altre zone costiere mediterranee, diverse per tipologia di appartenenza. Nel caso della Tipologia I, le decisioni del MED GIG “Intercalibration Group” (Ispra, 14-16 Maggio 2007), per i valori di riferimento relativi all’elemento di qualità biologica Fitoplancton e riguardanti il parametro Clorofilla, stabiliscono: 2.4 µg/L come limite tra lo Stato Ecologico Buono e quello Elevato, 3.5 µg/L tra lo Stato Ecologico Buono e quello Moderato; 1.8 µg/L come concentrazione di riferimento per il calcolo dell’EQR. Attualmente, la situazione relativa alla Clorofilla è di circa 6 µg/l nel primo corpo idrico, e tra 6 e 3 µg/L nel secondo. Soltanto nella zona più meridionale, al largo di Cattolica, il valore di Cloro-

filia scende sotto i 3 µg/L, corrispondenti ad uno stato trofico buono (TRIX<5). Per una verifica di congruità, i valori di riferimento indicati dal MED GIG possono essere confrontati con gli analoghi valori-obiettivo previsti dal PTA della Regione Emilia Romagna. Il Piano Tutela Acque prevedeva un livello trofico obiettivo di 5 unità di TRIX, come valore mediato a tutta la fascia costiera romagnola, da raggiungere entro il 2016. Per concludere occorre sottolineare che, sebbene l'individuazione di un sito di riferimento è compromessa dal fatto che la fascia costiera Adriatica è sempre stata indicata come "area sensibile" all'Eutrofizzazione e quindi non indenne dagli effetti derivanti dalle attività antropiche, l'area al largo di Cattolica, presenta già oggi requisiti di qualità che risultano in buon accordo con i valori di riferimento decisi dal MED GIG per gli elementi di qualità biologica e quindi può a tutti gli effetti essere utilizzata come "sito di riferimento" per le acque costiere emiliano-romagnole.

Bibliografia

- ARPAER REGIONE EMILIA-ROMAGNA - Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna, Rapporti annuali 1982-2006. A cura di: *Arpa Struttura Oceanografica Daphne. Pubbl. Assessorato Agricoltura, Ambiente e Sviluppo Sostenibile, Bologna.*
- CIS WORKING GROUP 2.4 (COAST) (2002) – Guidance on typology, reference conditions and classification systems for transitional and coastal waters. Final draft agreed at the meeting of the Water Directors on 21/22 November 2002 – Copenhagen.
- GIOVANARDI F., VOLLENWEIDER R.A. (2004) - Trophic conditions of marine coastal waters: experience in applying the Trophic Index TRIX to two areas of the Adriatic and Tyrrhenian seas. *J. Limnol.*, **63** (2): 199-218.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2005) - R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G. (1992) - Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of a ten years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). *Proc. Int. Conf. Marine Coastal Eutrophication. Sci. Total Environ.*, (Suppl.): 63-106.
- VOLLENWEIDER R.A. (1992) - Coastal marine eutrophication: principles and control. *Proc. Int. Conf. Marine Coastal Eutrophication. Sci. Total Environ.*, (Suppl.): 1-20.
- COASTAL MEDGIG PHYTOPLANKTON EXPERT MEETING (Ispra 14-16 Maggio 2007) - *Tipizzazione e definizione delle condizioni di riferimento per l'elemento di qualità biologica Fitoplankton* (Direttiva 2000/60/EC). Rapp. Interno ICRAM.

F. GUERRINI, A. FELLER, L. PEZZOLESI, V. SANGIORGI¹, I. BIANCO¹, P. CIMINIELLO²,
C. DELL'AVERSANO², M. FORINO², L. TARTAGLIONE², E. FATTORUSSO², R. PISTOCCHI

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali, Università di Bologna,
Via S.Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.
rossella.pistocchi@unibo.it

¹Arpa Lazio Sezione Provinciale di Latina, Italia.

²Dip. Chimica Sostanze Naturali, Università "Federico II", Napoli, Italia.

GROWTH AND TOXICITY CHARACTERISTICS OF TWO STRAINS OF *OSTREOPSIS OVATA* (DINOPHYCEAE)

CRESCITA E TOSSICITÀ DI DUE CEPPI DI OSTREOPSIS OVATA (DINOPHYCEAE)

Abstract – Two cultured strains of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae), one from the Adriatic and one from the Tyrrhenian Sea, resulted to have similar growth rates and different cell volumes. Both cells and extracellular medium were toxic towards *Artemia* sp. nauplii. LC-MS analysis evidenced the presence of two main toxins: ovatoxin-a (92%) and a putative palytoxin (7%).

Key-words: growth, ovatoxin-a, *Ostreopsis*, palytoxin, toxicity.

Introduction - The proliferation of benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* has been recently connected to human health problems along the Italian coasts. The most important event was reported from Liguria in 2005 (Brescianini *et al.*, 2006) with hospitalization of 200 persons exposed to marine aerosol. *Ostreopsis ovata* is a benthic dinoflagellate, epiphytic on red and brown macroalgae and on hard substrates. Chemical analysis of field algal samples from Liguria evidenced the presence of palytoxin-like compounds (Ciminiello *et al.*, 2006). We performed a comparative study on two strains of *O. ovata*, one isolated from the Tyrrhenian sea and one from the Adriatic Sea. On these strains we examined growth characteristics and the potential toxicity, through a mortality test with *Artemia* sp. and chemical analysis by LC-MS.

Materials and methods - Two strains of *O. ovata* were isolated from water samples collected in costal areas of Lazio and Marche. Cells were cultured in a two-fold diluted f/2 medium (Guillard, 1975), at salinity of 35 psu, at 20 °C under a 16:8 h L:D cycle (ca. 90 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Cell counts were made following Utermöhl method. Calculation of cell volume was made with the assumption of ellipsoid shape ($V = (\pi/6) \cdot a \cdot b \cdot c$, where a=dorsoventral diameter (length), b=width, c=cross section (height)). Toxicity was evaluated at the end of the exponential and stationary phase through the acute toxicity test (IRSA-CNR, 2003) on *Artemia* sp. nauplii exposed to increasing algal concentrations or variable dilutions of the extracellular medium. Data were expressed as EC50, calculated as a non-linear regression using Statistica 6.0 program. Chemical analyses were carried out by LC-MS, as described by Ciminiello *et al.* (2006).

Results - *Growth and biovolume.* The growth pattern of the two *O. ovata* strains was followed for 28 days by counting the cells every 2-3 days; however, after entering the stationary growth phase the cells appeared highly aggregated and the samplings could not be considered reliable. During the exponential phase both strains showed similar slow growth rates of 0,47 and 0,54 day⁻¹, respectively, for the Tyrrhenian and the Adriatic culture. The two strains appeared highly different in size and shape; the mean biovolume of the two strains was significantly different with the Adriatic strain being nearly two-fold larger than the Tyrrhenian. The cell volume did not significantly changed during the progression from the exponential to the stationary growth phase

although the Tyrrhenian *O. ovata* progressively changed from an ellipsoid to a spherical shape.

Artemia sp. test. The presence of *O. ovata* caused a rapid and strong mortality effect on *Artemia* sp. nauplii already at low cell concentrations: after 24 h nearly all the *Artemia* (10 for each test) died even in the presence of algal cell numbers as low as 6-8 per ml. From EC50 values calculated at 24 h cell toxicity of the two different strains did not appear highly different. The extracellular toxin content was evaluated after cell separation by the *medium*, through mild filtration, both in the exponential and stationary growth phase. Five different dilutions were performed starting from 1 ml culture *medium*. The media of both strains showed mortality effect on *Artemia* sp. nauplii attesting the presence of toxins released extracellularly; the EC50 values for both *O. ovata* strains were considerably lower in the stationary phase than in the exponential phase.

LC-MS analysis. Chemical analysis was performed for both Tyrrhenian and Adriatic strains in cells collected, through mild filtration, in two different growth phases. Results showed the predominance of two compounds: a putative palytoxin (7%) and a new analog named ovatoxin-a (92%). The chemical structure of these compounds appeared to be strictly related to that of a palytoxin standard, on the basis of molecular formula, fragmentation pattern and chromatographic behaviour. The extracellular *medium* analysis also showed that both strains of *O. ovata* released these two compounds in the same percentage and that toxin concentration in the *medium* increased in the stationary phase.

Conclusions – Two strains of *O. ovata* from different Italian coastal areas displayed similar growth behaviours but morphological differences, mainly evidenced by the different cell volumes. Although human heavy intoxication episodes were never reported in the areas where these algae were collected, the present results evidenced mortality effects on a test organism such as *Artemia* sp. These were probably due to the presence of a putative palytoxin and to ovatoxin-a in algal extracts, evidenced by chemical analysis. These toxins were previously evidenced in sample fields and culture of Ligurian strains of *O. ovata* during the 2006 toxic outbreak (Ciminiello *et al.*, 2008). The toxicity test and the chemical analysis evidenced the presence of toxins also in the extracellular *medium* which increased with increasing culture aging, presumably due to cell death and consequent lysis. This result lead us to think that also in the environment the toxin release could be higher at the end of the bloom period.

References

- BRESCIANINI C., GRILLO C., MELCHIORRE N., BERTOLOTTO R., FERRARI A., VIVALDI B., ICARDI G., GRAMACCIONI L., FUNARI E., SCARDALA S. (2006) - *Ostreopsis ovata* algal blooms affecting human health in Genova, Italy, 2005 and 2006. *Euro Surveill.*, **11** (9): E060907.3.
- CIMINIELLO P., DELL'AVERSANO C., FATTORUSSO E., FORINO M., MAGNO S., TARTAGLIONE L., GRILLO C., MELCHIORRE N. (2006) - The Genoa 2005 outbreak. Determination of putative palytoxin in Mediterranean *Ostreopsis ovata* by a new liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Anal. Chem.*, **78**: 6153-6159.
- CIMINIELLO P., DELL'AVERSANO C., FATTORUSSO E., FORINO M., TARTAGLIONE L., GRILLO C., MELCHIORRE N. (2008) - Putative palytoxin and its new analogue, Ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak. *J Am Soc Mass Spectrom.*, **19** (1): 111-120.
- GUILLARD R.R.L. (1975) - Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L., Chanley M.H. (eds), *Culture of Marine Invertebrates Animals*. Plenum Press, New York: 26-60.
- IRSA-CNR. Metodi analitici per le acque, APAT Manuali e Linee Guida 29/2003. Vol. 3: 8060 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con *Artemia* sp.: 1043-1050.

C. MAZZIOTTI, C. SILVESTRI, M. BENZI

ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia-Romagna, Struttura Oceanografica Daphne,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
cmazziotti@arpa.emr.it

VARIAZIONE ANNUALE DEL FITOPLANCTON
IN RELAZIONE ALLA STRUTTURA DELLA COLONNA
D'ACQUA IN UN'AREA EUTROFIZZATA AL LARGO DI LIDO
ADRIANO (EMILIA ROMAGNA, NORD ADRIATICO)

*ANNUAL TREND OF PHYTOPLANKTON IN RELATION TO SEA
WATER COLUMN STRUCTURE IN AN EUTROPHIC AREA OFF LIDO
ADRIANO (EMILIA ROMAGNA, NORTHERN ADRIATIC SEA)*

Abstract – Here we report about the annual variations in a phytoplankton community analysed in a offshore sampling station along the Emilia Romagna coast (depth 15 m). Data on freshwater inputs, nutrients, hydrodinamism and stratification were used to explain the changes in the community itself. Abundance and richness of the phytoplankton species were used as indicators of community variations. Conclusions are coherent with Margalef's Mandala.

Key-words: Diatoms, Dinoflagellates, eutrophication, nutrients, pycnocline.

Introduzione - Il sistema costiero emiliano-romagnolo è periodicamente interessato da processi eutrofici connessi sia agli apporti dei bacini idrografici del nord Italia, sia di quello padano veicolato dal fiume Po nonché dagli apporti dei bacini costieri (Vollenweider *et al.*, 1992). Al fine di meglio cogliere l'andamento annuale del processo trofico, si è scelto di analizzare la componente fitoplanctonica e la struttura trofica di una stazione situata 10 Km al largo di Lido Adriano che non fosse costantemente caratterizzata dagli apporti costieri e che, distando circa 40 km dalla foce del Po, fosse interessata dagli apporti padani solo in circoscritte occasioni. L'analisi della comunità fitoplanctonica viene qui fatta tenendo presenti i fattori che determinano la fioritura e non le condizioni esistenti al momento di questa ultima nella convinzione che tali ritardi temporali rischino di far fallire ogni tentativo di correlare la composizione in specie e le condizioni ecologiche in un determinato momento (Vollenweider, 1953).

Materiali e metodi – L'area presa in esame si trova ad una profondità di circa 15 metri ed ad una distanza da costa di circa 10 Km di fronte Lido Adriano (Ra): le coordinate geografiche del punto, espresse in ED50, sono Long. 12.43201 Lat. 44.45408. I campionamenti si sono svolti con frequenza mensile da settembre 2005 ad agosto 2006 ed hanno riguardato 3 quote: superficie, metà e fondo. I parametri idrologici sono stati rilevati mediante la strumentazione installata a bordo del battello oceanografico "Daphne II", utilizzando la sonda multiparametrica Idronaut mod. Ocean Seven 316. Oltre al fosforo totale ed ai silicati, vengono considerate le forme azotate riportate come Dissolved Inorganic Nitrogen (DIN), sommatoria di N-NO₃, N-NO₂, N-NH₃. Le determinazioni dei nutrienti sono state condotte utilizzando autoanalizzatori "AXFLOW" Mod. Traacs 800 e AA3. L'analisi dei campioni di fitoplancton è stata effettuata secondo il metodo di Uthermöhl (1958).

Risultati - In accordo con gli andamenti di portata del fiume Po (ARPAER Regione Emilia-Romagna, 1982-2006), un cospicuo apporto di acque dolci di provenienza padana ha interessato l'area in oggetto nel periodo autunnale con un picco massimo di portata di 2823 mc/sec registrato il 9 ottobre 2005. Questo apporto che, attraverso le correnti discendenti si è spinto anche oltre i 10 Km (Montanari *et al.*,

2006), ha favorito l'instaurarsi di una stratificazione salina che si è protratta fino alla fine di dicembre. La punta estrema della plume padana ha veicolato con sé alti carichi di nutrienti (DIN, ortofosfato e silice) tali da innescare una cospicua fioritura di Diatomee sostenuta principalmente da *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., *Pseudo-nitzschia* spp. che si è protratta nei mesi di febbraio-marzo; in particolare il taxon *Skeletonema* sp. ha raggiunto abbondanze di 3×10^7 cell. L⁻¹ nel mese di febbraio e di 2×10^7 cell. L⁻¹ nel mese di marzo portando ad un crollo dell'Eveness (Pielou, 1975) (Fig. 1). L'alto idrodinamismo del periodo invernale (alimentato da venti da NE) mantenendo tutta la colonna d'acqua omogenea, ha rappresentato, insieme all'apporto di nutrienti, l'altro fattore fondamentale per supportare la fioritura a Diatomee (Margalef, 1978).

La distribuzione annuale delle Dinoflagellate ha seguito il tipico andamento già riscontrato nelle acque emiliano-romagnole ovvero a forma di campana con una curvatura in corrispondenza dei mesi più caldi ed un decremento nei mesi più freddi (Mazziotti *et al.*, 2006). Durante i mesi estivi, con l'aumento dell'irradianza, si giunge alla formazione di due masse d'acqua a densità molto diverse che stabilizzano fortemente la colonna d'acqua impedendo gli scambi tra superficie e fondo. In questa circostanza le Dinoflagellate mostrano valori di abbondanze e di Eveness maggiori (Fig. 1).

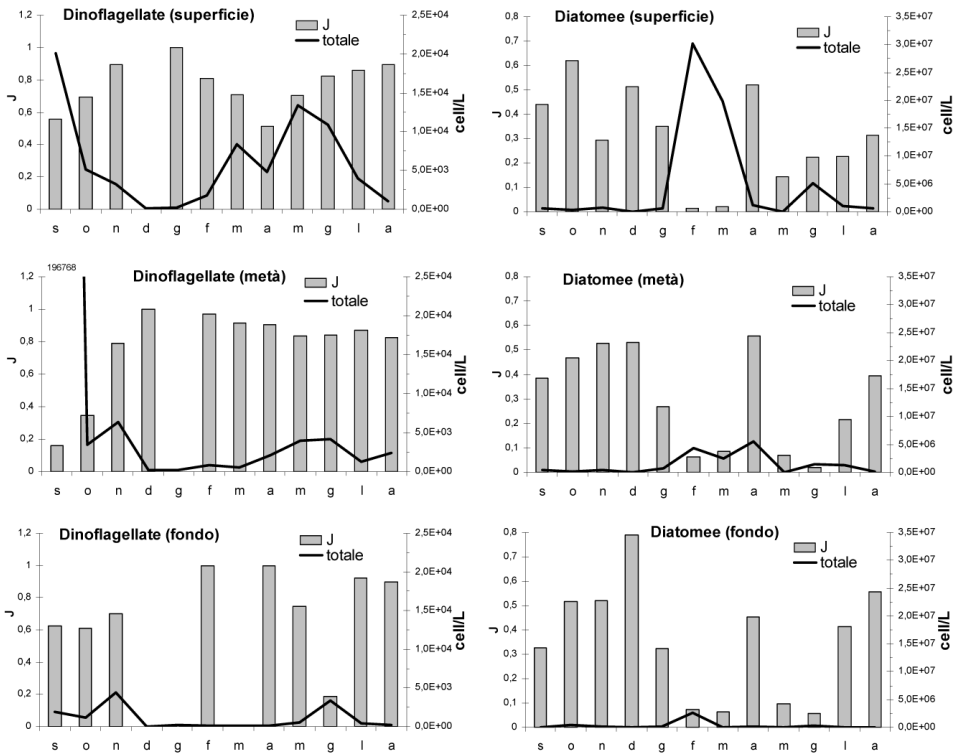


Fig. 1 - Andamento dell'Eveness (J) in relazione all'abbondanza per Diatomee e Dinoflagellate.
Trend of Eveness (J) related to abundance for Diatoms and Dinoflagellates.

Come si può notare dalla Fig. 2, l'area in esame ha mostrato avere sempre condizioni di fosforo limitazione; nei mesi freddi il sistema-fitoplancton, pur se sotto-

posto a concentrazioni simili di nutrienti, dimostra di avere tassi di turnover diversi (Innamorati e Giovanardi, 1992) con un minimo di efficienza trofica in dicembre ed un massimo in gennaio ed in febbraio: il ritardo con cui sono raggiunti i massimi di efficienza potrebbero essere spiegati con quanto sostenuto dal Mandala di Margalef (1978). Nei mesi estivi il sistema abbassa i livelli di efficienza trofica e si avvicina verso la condizione di azoto limitazione (pur non raggiungendola).

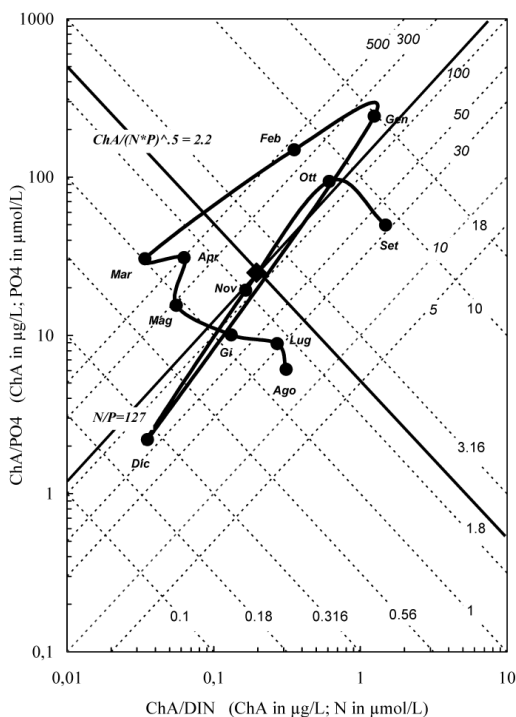


Fig. 2 - Distribuzioni normali bivariate dei rapporti clorofilla/nutrienti.

Normal bivariate distributions of the chlorophyll-nutrient ratios.

Conclusioni – In quest'area, l'individuazione dei fattori che hanno determinato una fioritura fitoplanctonica sono stati dedotti dalle condizioni di stabilità fisica e dal trofismo della colonna d'acqua; questi ultimi, insieme alle condizioni meteo-marine, sono in generale i primi fattori che regolano la composizione della comunità. L'analisi quali-quantitativa del fitoplancton riscontrata ha mostrato come le Diatomee con le fioriture invernali siano le responsabili dei livelli trofici elevati riscontrati lungo tutta la verticale; conseguentemente, in corrispondenza di queste fioriture l'andamento dell'indice di Pielou subisce un drastico calo. Invece le Dinoflagellate hanno mostrato valori di abbondanze e di uniformità di Pielou maggiori nei periodi caldi; in questi periodi, quando la colonna d'acqua era stratificata, le abbondanze ed i valori di Evenness si sono mantenuti elevati sia in superficie che alla quota mediana.

I tassi mensili di turnover del fitoplancton nel periodo freddo sono stati tra loro diversi ed hanno mostrato un minimo di efficienza trofica in dicembre ed un massimo in gennaio ed in febbraio.

Bibliografia

- ARPA REGIONE EMILIA-ROMAGNA - Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna, Rapporti annuali 1982-2006. A cura di: *Arpa Struttura Oceanografica Daphne. Pubbl. Assessorato Agricoltura, Ambiente e Sviluppo Sostenibile, Bologna.*
- INNAMORATI M., GIOVANARDI F. (1992) – Interrelationships between phytoplankton biomass and nutrients in the eutrophicated, areas of the North-Western Adriatic Sea. In: Marine Coastal Eutrophication. Proc. Bologna Conference March 21-24, 1990. *J. Science of the Total Environment*, Elsevier (Suppl. 1992): 235-250.
- MARGALEF R. (1978) – Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanol. Acta*, **1**: 493-509.
- MAZZIOTTI C., FERRARI C.R., MONTANARI G., BENZI M., SILVESTRI C., RINALDI A. (2006) – Tendenza evolutiva del fenomeno eutrofici nelle acque costiere emiliano-romagnole: 1982-2004. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 105-113.
- MONTANARI G., PINARDI N. (2006) - *Le correnti costiere in Emilia-Romagna nel periodo 1995-2002*. I quaderni di Arpa: 160 pp.
- PIELOU E.C. (1975) - *Ecological diversity*. John Wiley, New York: 165 pp.
- UTHERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommung der qualitativen Phytoplankton-Metodik. *Mitt. Int. Ver.Theor. Angew. Limnol.*, **9**: 1-38.
- VOLLENWEIDER R.A. (1953) – Einige Bemerkungen zur ökologisschen Valenzanalyse *Schweiz. Z. Hydrol.*, **15** (1): 190-7.
- VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G. (1992) - Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). In: Marine Coastal Eutrophication. *J. Science of the Total Environment*, Elsevier, (Suppl. 1992): 63-106.

Lavoro eseguito nell'ambito del Progetto "Studio per la caratterizzazione della colonna d'acqua, dei sedimenti marini e della biocenosi di fondo nella zona di mare antistante Marina di Ravenna, sede delle Sealine dirette verso i terminali SAROM 1-3 e 4" finanziato da Eni.

A. MILANDRI, M. CANGINI, A. COSTA¹, M.G. GIACOBBE², R. POLETTI,
M. POMPEI, E. RICCARDI, S. RUBINI³, S. VIRGILIO⁴, S. PIGOZZI

Centro Ricerche Marine, Via A. Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.

¹IZS della Sicilia, Palermo, Italia.

silvia.pigozzi@centroricerchemarine.it

²Istituto per l'Ambiente Marino Costiero CNR, Messina, Italia.

³IZS della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sezione di Ferrara, Cassana (FE), Italia.

⁴IZS della Sardegna, Sassari, Italia.

CARATTERIZZAZIONE DELLE TOSSINE PSP (PARALYTIC SHELLFISH POISONING) IN MITILI RACCOLTI IN DIFFERENTI AREE MARINE ITALIANE

PSP TOXIC PROFILE OF MUSSELS COLLECTED IN VARIOUS MARINE AREAS OF ITALY

Abstract - During the period November 2006 - August 2007, PSP toxins have been detected in mussels from three different Italian marine areas. Here we report about the toxic profiles of these molluscs, as revealed by HPLC-FL. Differences among the three areas are presumably related to the presence in the seawater of two *Alexandrium* (*Dinophyceae*) species: *A. catenella* in Sardinia and *A. minutum* in Sicily and Emilia Romagna.

Key-words: PSP toxic profile, *Alexandrium*, Italian shellfish, HPLC-FL.

Introduzione - La sindrome denominata Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) è una tra le più note biointossicazioni umane ed è legata alla presenza nei molluschi di potenti neurotossine (saxitossine) prodotte principalmente da dinoflagellate del genere *Alexandrium*. In Italia la presenza di tossine PSP nei molluschi è già stata segnalata in diverse zone costiere: dal 1994 in Emilia Romagna (Honsell *et al.*, 1996); dal 2001 nel Porto di Siracusa (Giacobbe *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2007); dal 2001 in Friuli Venezia Giulia (Milandri, dati non pubblicati); dal 2002 in Sardegna, Golfo di Olbia (Virgilio *et al.*, 2003). Negli anni 2006-2007 le attività di monitoraggio sanitario ed ambientale hanno evidenziato la presenza di saxitossine in mitili raccolti in Sicilia, Sardegna ed Emilia Romagna, suggerendo la necessità di un approfondimento circa l'identificazione chimica dei composti accumulati e la loro relazione con il fitoplancton presente nell'acqua.

Materiali e metodi - I campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) raccolti per il monitoraggio delle biotossine algali sono stati analizzati, oltre che con il saggio biologico ufficiale descritto nel DM 16/05/02 (G.U. n°165 del 16/07/02), anche con il metodo chimico AOAC OMA 2005.06 (Anonimo, 2005). Quest'ultimo prevede un'estrazione a caldo con acido acetico 1%, seguita da purificazione su cartucce per separazione in fase solida. La determinazione degli analiti, dopo ossidazione pre-colonna, avviene in HPLC-FL. L'analisi quali-quantitativa delle cellule di *Alexandrium* nei campioni d'acqua di mare è stata effettuata mediante il metodo di Utermöhl (1958).

Risultati - Nel periodo novembre-dicembre 2006 in mitili della Sardegna (Golfo di Oristano) sono stati riscontrati con il saggio biologico tenori di tossine PSP pari a 1720 µgSTXeq/kg di parte edibile. L'analisi chimica ha evidenziato la presenza di GTX1,4 (3,35 µmol/kg p.e.), C1,2 (2,94 µmol/kg p.e.), GTX5 (2,07 µmol/kg p.e.), GTX2,3 (0,34 µmol/kg p.e.), dcSTX (0,06 µmol/kg p.e.), GTX6 (1,77 µmol/kg p.e., analisi semi-quantitativa), per un totale di 1529 µgSTXdiHCleq/kg p.e. Nell'acqua, in quel periodo, era presente *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech con

una densità massima di 2240 cell/L. Analogamente, anche in Sicilia (Porto Grande di Siracusa), nel periodo febbraio-marzo 2007 il saggio biologico ufficiale ha evidenziato tenori di tossine PSP nei mitili superiori al limite di legge. Il campione più concentrato, prelevato alla fine di febbraio, è risultato contenere 921 $\mu\text{gSTXdiHCleq/kg}$ p.e.. Nello stesso campione l'analisi chimica ha rilevato la presenza di GTX1,4 (1,55 $\mu\text{mol/kg}$ p.e.), GTX2,3 (0,89 $\mu\text{mol/kg}$ p.e.), STX (0,12 $\mu\text{mol/kg}$ p.e.) e tracce di dcSTX, per un totale di 832 $\mu\text{gSTXdiHCleq/kg}$ p.e. Nell'agosto 2007 in Emilia Romagna (da Goro a Misano Adriatico) sono stati individuati con il test biologico mitili contaminati da tossine PSP. A Misano Adriatico un campione con concentrazione di tossine PSP pari a 503 $\mu\text{gSTXdiHCleq/kg}$ p.e. è stato esaminato anche con metodo chimico ed è risultato contenere 377 $\mu\text{gSTXdiHCleq/kg}$ p.e. di cui 0,68 $\mu\text{mol/kg}$ p.e. erano GTX1,4 e 0,53 $\mu\text{mol/kg}$ p.e. erano GTX2,3. Lo stesso profilo tossico è stato evidenziato in campioni prelevati nella zona di Goro, più a nord, sebbene i mitili contenessero più GTX2,3 che GTX1,4. Il campione scelto come rappresentativo conteneva 0,73 $\mu\text{molGTX2,3/kg}$ p.e., 0,44 $\mu\text{molGTX1,4/kg}$ p.e. e 0,09 $\mu\text{molSTX/kg}$ p.e., per un totale di 370 $\mu\text{gSTXdiHCleq/kg}$ p.e. Nella zona antistante la costa emiliano-romagnola è documentata la presenza di *A. minutum*, con 480 cell/L durante l'episodio di contaminazione e con valori fino a 2440 cell/L registrati nei mesi immediatamente precedenti.

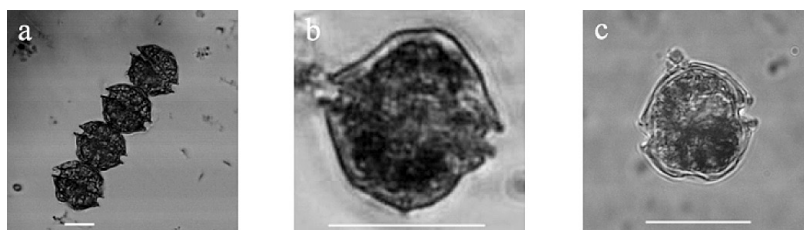


Fig. 1 - *Alexandrium* spp. identificati nelle tre aree di studio: (a) *A. catenella* del Golfo di Oristano; (b) *A. minutum* del Porto Grande di Siracusa; (c) *A. minutum* della costa emiliano romagnola. Barra = 20 μm .

Alexandrium spp. identified in the three study areas: (a) *A. catenella* from the Gulf of Oristano; (b) *A. minutum* from Syracuse Bay; (c) *A. minutum* from the coast of Emilia Romagna. Bar = 20 μm .

Conclusioni - Il susseguirsi di episodi di contaminazione tipo PSP in mitili italiani durante gli anni 2006 e 2007 rappresenta una situazione diffusa anche a livello globale e ha fornito lo spunto per aggiornare le conoscenze circa l'effettiva distribuzione di saxitossine nei molluschi allevati in Italia. Si ritiene che un'analisi dettagliata dei profili tossici, possibilmente associati alla individuazione delle microalghe produttrici, sia un utile strumento per gli operatori del settore della sorveglianza sanitaria.

Il profilo tossico dei mitili sardi prelevati nel Golfo di Oristano alla fine del 2006, caratterizzato dalla predominanza di C1,2, GTX1,4 e GTX5 è in accordo con la presenza di *A. catenella* nella colonna d'acqua (Krock *et al.*, 2007). Tale profilo concorda anche con quello di un ceppo isolato nel 2002 dal Golfo di Olbia (Lugliè *et al.*, 2003). Nei mitili della Sicilia, durante il mese di febbraio 2007, la maggiore concentrazione di GTX1,4 rispetto a GTX2,3 è in accordo con quanto già evidenziato durante i bloom di *A. minutum* avvenuti nella stessa area dal 2001 al 2005, specialmente per quanto riguarda il profilo tossico riscontrato in un campione naturale di fitoplancton raccolto durante l'aprile 2003 nel Porto di Siracusa, quando *A. minutum* raggiunse il picco massimo di $1,2 \times 10^6$ cell/L (Giacobbe *et al.*, 2006). Il profilo tossico riscontrato nei

mitili dell' Emilia Romagna (agosto 2007, da Goro a Misano Adriatico) è in accordo con la presenza di *A. minutum* nella colonna d'acqua. Nei campioni del tratto di costa meridionale della regione erano prevalenti le tossine GTX1,4, mentre in quello settentrionale le GTX2,3.

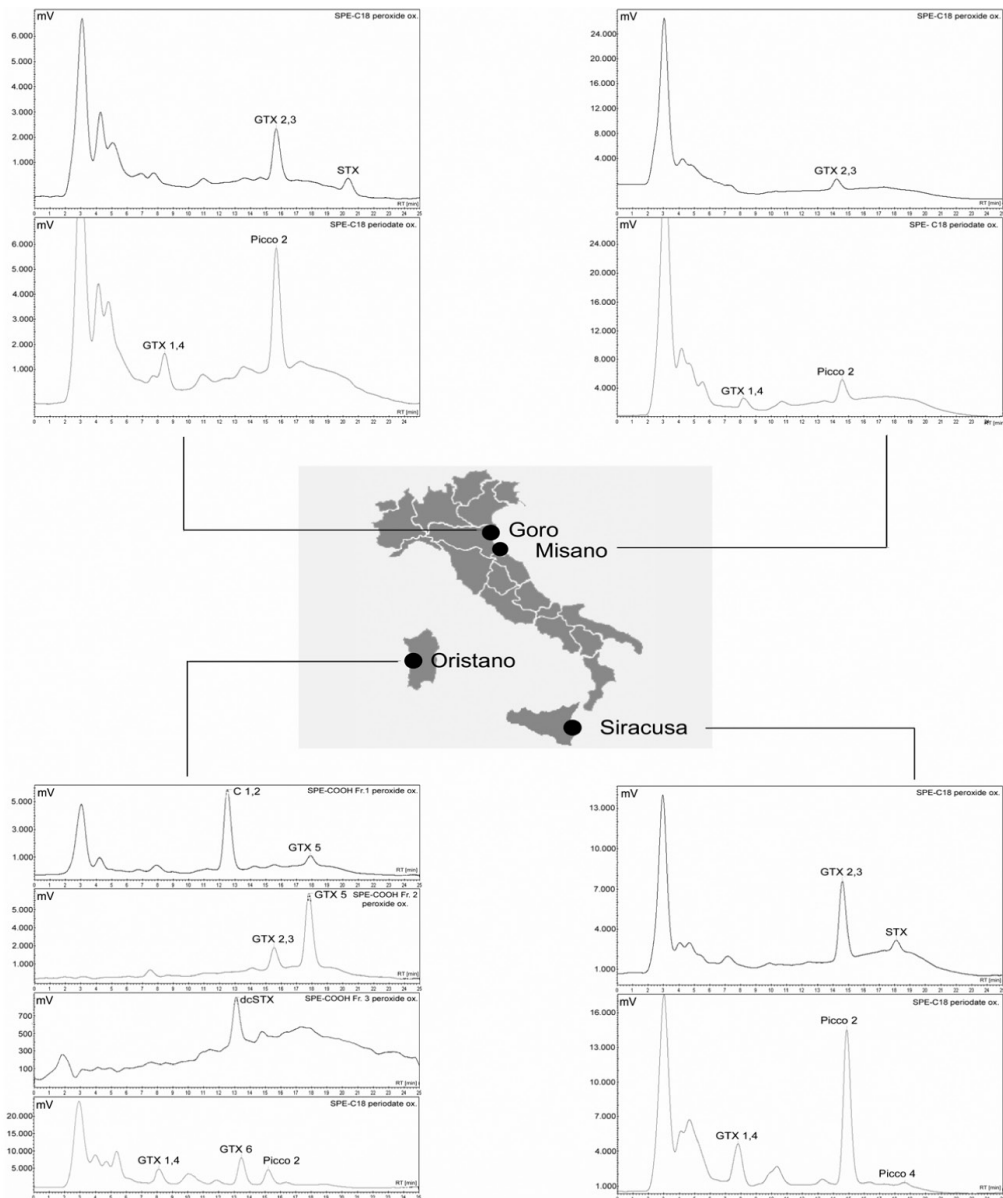


Fig. 2 - Localizzazione delle aree di campionamento. Ad ogni area sono associati i cromatogrammi relativi all'analisi HPLC-FL per la ricerca delle tossine PSP.

Study areas. Representative chromatograms related to the analysis of PSP toxins by HPLC-FL are reported for each area.

Le sovrapposizioni tra i dati riportati e quelli pregressi sono rilevanti, nonostante talvolta sia stato paragonato il profilo tossico dei molluschi con quello delle alghe produttrici. Le tossine infatti, una volta assimilate dagli organismi vettori, possono trasformarsi a causa di processi metabolici o di epimerizzazione; alcune trasformazioni possono avvenire anche durante la semplice manipolazione o conservazione del materiale da saggio. L'estrazione con acido acetico 1% dei campioni, prevista dal metodo chimico in HPLC AOAC OMA 2005.06, d'altra parte, ne altera minimamente la composizione originale e facilita il confronto con le alghe produttrici. I risultati ottenuti forniscono un'accurata descrizione della distribuzione attuale delle tossine PSP lungo le coste italiane.

Bibliografia

- ANONIMO (2005) - Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 2005. Method 2005.06: Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Shellfish. Prechromatographic Oxidation and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (First Action 2005).
- COSTA A., DI NOTO A.M., RUSSO ALESI E.M., ALIO V., MILANDRI A., POMPEI M., POLETTI M., GIACOBBE M.G., CARACAPPA S. (2007) - Presenza di biotossine algali del tipo P.S.P. (Paralytic Shellfish Poison) in mitili allevati nel porto grande di Siracusa. *Atti LXI Conv. Naz. S.I.S.Vet.*: 375-376.
- GIACOBBE M.G., MASÒ M., MILANDRI A., PENNA A., POLETTI R. (2006) - Plankton toxicity and shellfish contamination by phycotoxins in a new Mediterranean locality. In: Henshilwood K., Deegan B., McMahon T., Cusack C., Keaveney S., Silke J., O'Conneide M., Lyons D., Hess P. (eds), *Proceedings of the 5th International Conference on Molluscan Shellfish Safety*. Galway, 14-18 June 2004: 206-214.
- HONSELL G., POLETTI R., POMPEI M., SIDARI L., MILANDRI A., CASADEI C., VIVIANI R. (1996) - *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the Northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: Yasumoto T., Oshima Y., Fukujo Y. (eds), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris: 77-80.
- KROCK B., SEGUEL C.G., CEMBELLA A.D. (2007) - Toxin profile of *Alexandrium catenella* from the Chilean coast as determined by liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Harmful Algae*, **6**: 734-744.
- LUGLIÈ A., GIACOBBE M.G., PENNA A., MILANDRI A., POLETTI R., SANNIO F., FIOCCA R., RUIU R., SECHI N. (2003) - Conoscenza e gestione della fascia marina costiera. Presenza e significato di specie di *Alexandrium* in aree portuali della Sardegna. *98° Congresso della Società Botanica Italiana*. Catania, 24-26 settembre 2003.
- VIRGILIO S., MARONGIU E., PISANU M., MANCUSO R., PIRAS A., VIRDIS E., SABA A., LORENZONI G., ROSA M.N., CARUSILLO F., ARRAS L., SIAS S., POLETTI R. (2003) - Riconcontro di biotossine algali del tipo P.S.P. (Paralytic Shellfish Poisoning) in mitili allevati nel Golfo di Olbia, Sardegna. *Atti XIII Congr. Naz. AIVI*: 209-213.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. int. Ver. theor. angew. Limnol.* **9**: 1-38.

G. MONTANARI, A. RINALDI

ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia-Romagna, Struttura Oceanografica Daphne,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
gmontanari@arpa.emr.it

EUTROFIZZAZIONE DELLE ACQUE COSTIERE IN EMILIA-ROMAGNA: TENDENZE EVOLUTIVE DEI PROCESSI ANOSSICI

EUTROPHICATION, ALONG THE EMILIA-ROMAGNA COAST: TREND OF ANOXIC CONDITIONS

Abstract - In this paper we summarize the trend of anoxic processes focusing on the events that involved bottom waters, their space and time distribution and on trophic state indicators. Results support the evidence of a progressive reduction of these events (from the 1990) and a general improvement of the environmental status.

Key-words: anoxic conditions, eutrophication, nutrients.

Introduzione - I processi di eutrofizzazione nell'Alto Adriatico vengono monitorati dal 1980 dalla Struttura Oceanografica Daphne facente capo all'ARPA Emilia-Romagna (Regione Emilia-Romagna, 1982-2006; Marchetti, 1990; Rinaldi, Montanari, 1988; Vollenweider *et al.*, 1992). Detta attività ha consentito la predisposizione di una base dati sulle principali variabili associate all'insorgere dei fenomeni di eutrofizzazione e alle sue conseguenze ambientali. Gli impatti generati da detti eventi si manifestano con anomale colorazioni delle acque, calo nella trasparenza e distrofie nelle acque bentiche. L'instaurarsi di condizioni ipossiche e anossiche nel periodo estivo/autunnale rappresenta una delle principali problematiche (Montanari *et al.*, 1984; Rinaldi *et al.*, 1993) influenzando sulla biodiversità e su due importanti settori socio-economici quali il turismo e la pesca.

Materiali e metodi - I dati presentati si riferiscono alle misure effettuate settimanalmente nelle stazioni della rete di monitoraggio della Regione Emilia-Romagna finalizzata essenzialmente al controllo dello stato eutrofico, alla individuazione degli elementi causali ed agli effetti collaterali. Le stazioni di campionamento sono 32 distribuite su transetti lunghi 10 Km ortogonali alla linea di costa. Le misure vengono effettuate con sonda multiparametrica (Idronaut, mod. 316) e riguardano l'intera colonna d'acqua. La sonda viene calata ad una velocità di 40 cm/sec e acquisisce i dati ogni 10 cm. In corrispondenza della superficie e sul fondo la sonda viene lasciata in posizione fino a quando il valore dell'ossigeno disciolto si è stabilizzato. I dati rilevati sono sottoposti ad un immediato controllo di qualità, validati e memorizzati.

Risultati - Dai dati di ossigeno disciolto rilevati nelle acque di fondo emergono differenze sostanziali tra i casi di ipossia/anossia rilevati nel biennio 1984-1985 con quello riguardante il periodo 2005-2006. Dall'analisi dei dati raccolti in banca dati si può affermare che tali bienni sono temporalmente rappresentativi di periodi ben più estesi, di fatto rappresentano rispettivamente le annualità comprese tra il 1978-1990 e quelle del periodo compreso tra il 1991-2007.

In Fig. 1 si può osservare come nel primo biennio (1984-85) le distribuzioni dei casi di anossia delle acque bentiche sono più estese del secondo periodo. Oltre alle aree settentrionali prossime alle immissioni del Po, anche quelle meridionali venivano ricor-

rentemente interessate da situazioni di anossia/ipossia che in diversi casi si estendevano fino al riminese e raggiungevano estensioni di 400-500 Km².

Nel secondo periodo (2005-06) i casi di anossia si sono presentati in maniera discontinua e con estensioni più limitate, nell'ordine di qualche decina di Km². Un altro elemento caratterizzante i due periodi ci è dato dalla persistenza degli eventi: nel primo biennio/periodo si avevano durate degli eventi superiori alla settimana, nel secondo inferiore alla settimana. Conseguentemente, anche gli effetti sui popolamenti bentonici si manifestavano con rilevanti morie nel primo caso, stati di sofferenza con limitate morie nel secondo.

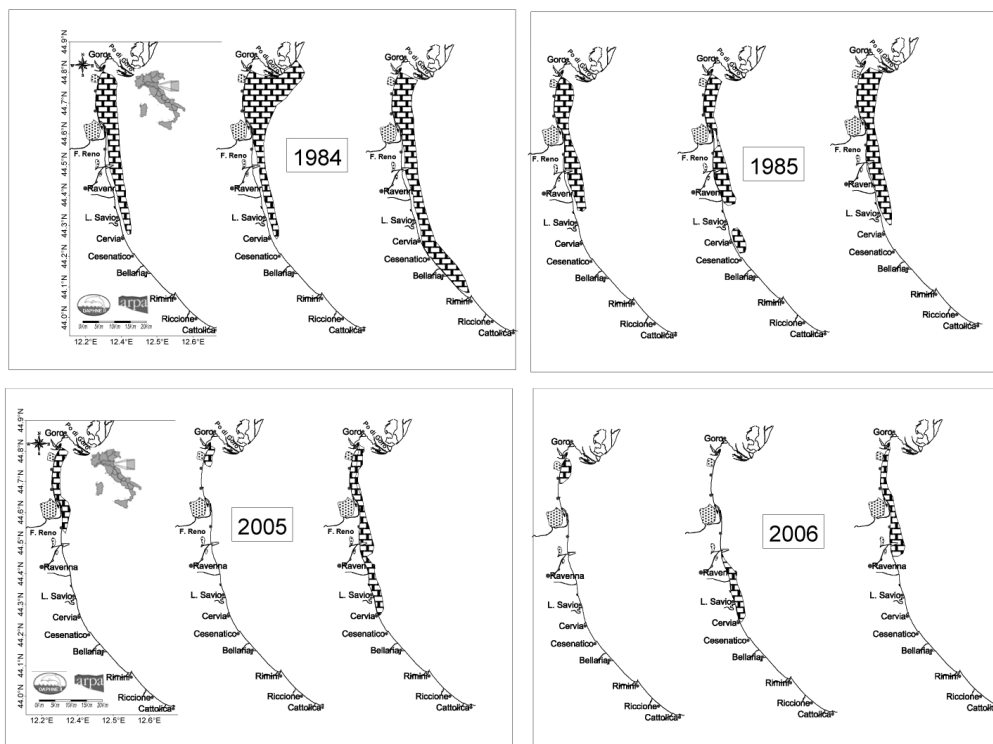


Fig. 1 - Mappe di distribuzione dello stato anossico di fondo riscontrate in due periodi distinti: 1984-1985 e 2005-2006.

Maps showing the distribution of anoxic conditions on the sea bottom: 1984-1985 and 2005-2006.

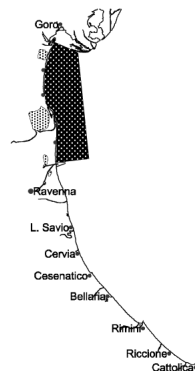
I motivi che hanno portato a questo significativo miglioramento dello stato ecologico dell'area presa in esame, sono evidenziati e sintetizzati nella Tab. 1. Vengono rappresentati i valori medi dei principali parametri indicatori dello stato trofico, viene aggiunto l'indice TRIX e la portata del fiume Po. Dalla loro analisi emerge una consistente diminuzione della Clorofilla "a" che si riduce, come valore medio, a 1/3. Il P-tot ed il P-PO₄ si dimezzano, mentre il DIN rimane pressoché invariato. L'indice TRIX riassume in maniera coerente tale tendenza (Vollenweider *et al.*, 1998) con un valore più basso nel secondo periodo che, per la zona Delta Po-Ravenna, passa da una condizione di stato Ambientale "Scadente" del periodo 1984-1985 a "Mediocre" nel 2005-2006. Le portate del fiume Po si sono fortemente ridimensionate negli ultimi

anni, dall'analisi delle sue portate (vedi anche il valore dei due bienni considerati) si evince che negli ultimi 6 anni vi è stato un riduzione attorno al 50% negli apporti.

Tab. 1 - Confronto dei valori medi dei parametri trofici nel periodo 1984-1985 e 2005-2006 rilevati nelle stazioni di monitoraggio antistanti la costa emiliano romagnola dal Delta del Po a Ravenna e da riva fino a 10 Km al largo.

Comparison between trophic parameters mean values detected in sampling stations along the Emilia Romagna coast from the Po river to Ravenna, from the shoreline to 10 Km.

1984-1985 Area delta Po-Ravenna 0-3 Km						
	Cl a	DIN	P-Tot	P-PO4	Portate Po	
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	TRIX	mc/sec
Media	25.1	335.7	57.1	12.8	6.3	1537
St. dev.	52.9	439.5	54.9	26.2	1.0	934
N dati	379.0	282.0	282.0	242.0	279.0	730
2005-2006 Area Delta Po-Ravenna 0-3 Km						
	Cl a	DIN	P-Tot	P-PO4	Portate Po	
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	TRIX	mc/sec
Media	8.7	383.5	31.7	5.0	5.6	801
St. dev.	8.4	411.4	17.7	8.1	1.0	447
N dati	642.0	642.0	642.0	642.0	642.0	730



Allo scopo di evidenziare la differenza trofica tra aree diverse delle acque marino-costiere in Regione Emilia-Romagna viene rappresentato in Fig. 2 l'andamento delle concentrazioni dell'ossigeno disciolto rilevato in superficie e sul fondo nei periodi estivi. Nella stazione più settentrionale, a 3 Km al largo di Porto Garibaldi, si notano concentrazioni mediamente più alte in superficie e basse sul fondo, mentre in quella di Cesenatico (sempre a 3 Km dalla costa) si hanno valori più omogenei con limitate differenze tra la parte superficiale e quella profonda. Come è noto l'ossigeno disciolto costituisce un buon indicatore dello stato trofico, in aree particolarmente produttive il divario tra valori di superficie in sovrassaturazione e quelli di fondo in sottosaturazione tende ad amplificarsi.

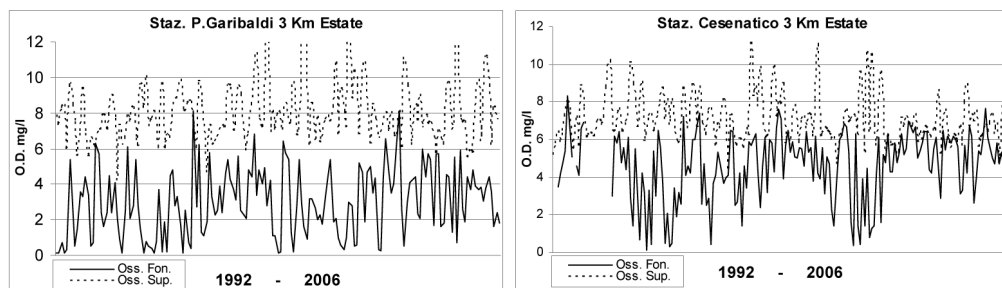


Fig. 2 - Andamenti dell'ossigeno disciolto in superficie e sul fondo nel periodo estivo rilevati nelle stazioni a 3 Km dalla costa di fronte P. Garibaldi e Cesenatico dal 1992 al 2006.

Trends of dissolved oxygen at surface and sea bottom, in two sample sites at 3 km offshore the coast of Emilia-Romagna (P. Garibaldi and Cesenatico). Samples collected during summer from 1992 to 2006.

Conclusioni – Dal 1990 si è registrata una riduzione degli eventi eutrofici accompagnata da una netta diminuzione delle concentrazioni della componente fosfatica. I motivi di tali mutamenti vanno attribuiti agli interventi attuati negli anni '80 volti a ridurre la componente fosfatica da sempre considerata il fattore limitante la crescita microalgale. La stabilità nel tempo delle concentrazioni del DIN va attribuita al fatto di non avere attuato misure “strutturali” di contenimento sulle fonti di generazione di questa componente. La riduzione dei processi eutrofici ha portato ad una regressione delle condizioni di ipossia e anossia delle acque bentiche sia come estensione che come frequenza e durata. Negli ultimi anni lo stato di ipossia e anossia degli strati prossimi al fondale sono risultati localizzati nella zona settentrionale della costa emiliano-romagnola, a ridosso del delta del fiume Po e con limitati impatti sull'ecosistema bentonico.

Bibliografia

- ARPA REGIONE EMILIA-ROMAGNA - Eutrofizzazione delle acque costiere dell' Emilia-Romagna, Rapporti annuali 1982-2006. A cura di: *Arpa Struttura Oceanografica Daphne. Pubbl. Assessorato Ambiente e Difesa del Suolo, Bologna.*
- MARCHETTI R. (1990) - Algal production in the Adriatic Sea. Proc. Workshop “Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and other Mediterranean coastal zones”. Roma, 28-30 May, 2. *Water Poll. Res. Rep.*, **16**.
- MONTANARI G., NESPOLI G., RINALDI A. (1984) - Formazione di condizioni anossiche nelle acque costiere della Regione Emilia Romagna. *Inquinamento*.
- RINALDI A., MONTANARI G. (1988) - Eutrophication in the Emilia-Romagna Coastal Waters in 1984-1985. *Ann. New York Acad. Sci.*, **534**: 959-977.
- RINALDI A., MONTANARI G., GHETTI A., FERRARI C.R. (1993) - Anossie nelle acque costiere dell'Adriatico Nord-Occidentale, Loro evoluzione e conseguenze sull'ecosistema bentonico. Atti 23° Congresso SIBM, Ravenna 8-12 Giugno 1992. *Biologia Marina, Suppl. Notiziario S.I.B.M.*, **1**: 79-89.
- VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G. (1992) - Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). In: Marine Coastal Eutrophication. Proc. Bologna Conference, March 21-24, 1990. *J. Science of the Total Environment*, Elsevier (Suppl. 1992): 63-106.
- VOLLENWEIDER R.A., GIOVANARDI G., MONTANARI G., RINALDI A. (1998) - Characterization of trophic conditions of marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic Sea: proposal for a trophic scale index. *Environmetrics*, **9**: 329-257.

A. PENNA, S. FRAGA¹, M. MASÒ², M.G. GIACOBBE³, I. BRAVO¹, E. BERTOZZINI,
F. ANDREONI⁴, M. VILA², E. GARCES², A. LUGLIÈ⁵, C. VERNESI⁶

Centro di Biologia Ambientale, Università degli Studi di Urbino
Viale Trieste, 296 - 61100 Pesaro, Italia.
antonella.penna@uniurb.it

¹IEO, Vigo, Spagna.

²ICM-CSIC, Barcelona, Spagna.

³IAMC-CNR, Messina, Italia.

⁴Centro Biotecnologie, Fano, Italia.

⁵Dip. Botanica ed Ecologia Vegetale, Sassari, Italia.

⁶Fondazione Edmund Mach, Trento, Italia.

ANALISI DELLA BIODIVERSITÀ GENETICA DI ALCUNE SPECIE MICROALGALI RESPONSABILI DI FIORITURE TOSSICHE NEL MAR MEDITERRANEO

GENETIC BIODIVERSITY OF THE MEDITERRANEAN HARMFUL ALGAL BLOOM DINOFLAGELLATES

Abstract – In this study a genetic diversity of the main Mediterranean dinoflagellate HAB species has been analysed using the phylogeographic based approach. Different microalgal species isolates were characterized by phylogenetic, phylogeographic and population genetic aspects using different molecular markers and genetic analyses.

Key-words: dinoflagellates, Harmful Algal Bloom, Mediterranean Sea, phylogeny, ribosomal genes.

Introduzione – Diversi generi e specie appartenenti alle dinoflagellate sono comunemente presenti lungo le aree costiere del Mar Mediterraneo. Le specie possono essere potenzialmente produttrici di biotossine e causare fioriture ad alta biomassa (Congestri *et al.*, 2006; Giacobbe *et al.*, 2007). Questo studio ha lo scopo di caratterizzare alcune specie microalgali appartenenti alle dinoflagellate dal punto di vista filogenetico e filogeografico analizzando differenti isolati algali del Mar Mediterraneo. L'analisi filogenetica e di popolazione è stata effettuata mediante l'utilizzo di diversi marcatori molecolari nelle regioni dei geni ribosomali e delle regioni non codificanti ITS, rivelando che questi marcatori sono soddisfacenti per la separazione inter e intra specifica.

Materiali e metodi – Oltre 250 isolati algali di differenti specie appartenenti alle dinoflagellate sono stati isolati e mantenuti in coltura in terreno F/2. Il DNA genomico di tutti gli isolati algali è stato estratto utilizzando il kit DNeasy Plant Kit (Qiagen, USA). Le condizioni di amplificazione per PCR e di sequenziamento delle regioni ribosomali 5.8S rDNA e ITS di tutti gli isolati algali sono descritte in Penna *et al.* (2005a). Le analisi di allineamento sono state condotte con il programma SAM (Karplus *et al.*, 1998). Le analisi filogenetiche, basate sulle regioni ITS-5.8S rDNA, sono state ottenute utilizzando vari metodi, quali Neighbour-Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML) e Bayesian Inference (BI) (Penna *et al.*, 2008). Gli indici di diversità molecolare sono stati calcolati con il programma Arlequin ver 3.0 software. Le relazioni filogenetiche tra le sequenze delle regioni 5.8S rDNA-ITS di differenti specie appartenenti ai generi *Alexandrium* e *Ostreopsis* sono state elaborate attraverso l'analisi statistica di parsimonia (Templeton *et al.*, 1992).

Risultati – **Genere *Alexandrium***. In Mediterraneo sono state identificate 11 specie appartenenti al genere *Alexandrium*, le cui sequenze nucleotidiche sono state comparate con quelle di altre aree geografiche. L'analisi filogenetica basata

sui geni 5.8S rDNA e ITS ha mostrato che all'interno del genere *Alexandrium* si distinguono due gruppi: uno che include *A. minutum*, *A. tamutum*, *A. taylori* e altre specie; l'altro gruppo comprende il complesso "*A. tamarense* species complex", *A. affine* e *A. tamiyavanichi*. Tutti gli isolati di *A. minutum* sono PSP-tossici e formano un clade omogeneo essendo le sequenze ribosomali identiche. *A. minutum* è filogeneticamente vicino a quello rappresentato dagli isolati algali di *A. tamutum*, *A. peruvianum* e *A. insuetum*. Gli isolati di *A. taylori* formano un clade omogeneo che raggruppa con il clade di *A. pseudogoniaulax*. L'altro grande gruppo all'interno del genere *Alexandrium* è meglio risolto filogeneticamente e le analisi filogenetiche all'interno del complesso "*A. tamarense* species complex" hanno mostrato che in Mediterraneo sono presenti tre differenti cladi: il clade Mediterraneo (ME) non tossico, il clade Ovest Europeo (WE) non tossico/tossico e il clade Asiatico (TA) PSP-tossico. Il raggruppamento filogeografico degli isolati algali è consistente con i ribotipi geografici, ma non con i morfotipi che costituiscono il complesso. Il clade Nord Americano (NA), che non è presente in Mediterraneo, segrega per primo ed è separato dagli altri cladi del complesso "*A. tamarense* species complex" da alti valori di bootstrap (100% e 90% per NJ e ML) e di inferenza bayesiana (0.96). Gli altri tre cladi ME, TA, WE raggruppano insieme; tutti gli isolati algali di *A. catenella* hanno sequenze identiche e raggruppano assieme agli isolati algali di *A. catenella* dell'area asiatica giapponese (Fig. 1).

Genere *Ostreopsis*. Isolati algali di dinoflagellate epifitiche appartenenti al genere *Ostreopsis* Schmidt provenienti da differenti aree costiere del Mar Mediterraneo e di altre aree extra-mediterranee sono stati esaminati attraverso l'analisi filogenetica, basata sulle sequenze del gene ribosomale 5.8S e le regioni non codificanti ITS, accoppiata all'analisi al microscopio ottico (LM) e a scansione elettronica (SEM). Le analisi genetiche hanno mostrato la presenza di differenti cladi: *O. cf. siamensis* in Mar Mediterraneo, *O. ovata* in Mar Mediterraneo, Isole Canarie, Brasile e Asia, *Ostreopsis* sp. in Indonesia e Isole Canarie. All'interno della specie *O. ovata* è presente un differenziamento genetico tra gli isolati algali mediterranei e asiatici.

Tab. 1 - Indici di diversità molecolare nelle regioni ribosomiali ITS e nel gene 5.8S tra i gruppi e all'interno di ciascun gruppo di *Ostreopsis* spp. (Penna, 2007).

Molecular diversity index in the ITS-5.8S rDNA among and within isolates of Ostreopsis spp.

Specie	<i>O. cf. siamensis</i> (Mediterraneo)	<i>Ostreopsis</i> spp. (Indonesia/ Canarie)	<i>O. ovata</i> Europa / Brasile	<i>O. ovata</i> Asia	<i>O. lenticularis</i> / <i>O. labens</i>
<i>O. cf. siamensis</i> (Mediterraneo) (n = 9)	0				
<i>Ostreopsis</i> spp. (Indonesia/Canarie) (n = 2)	81.1 ± 3.4	168.1 ± 16.0			
<i>O. ovata</i> Europa/ Brasile (n = 24)	154.8 ± 14.7	91.8 ± 8.7	0.4 ± 0.03		
<i>O. ovata</i> Asia (n = 12)	144.6 ± 13.7	75.9 ± 7.2	42.3 ± 4.0	19.2 ± 1.8	
<i>O. lenticularis</i> <i>O. labens</i>	197.3 ± 18.7	105.2 ± 10.1	193.2 ± 18.4	182.9 ± 17.4	10.1 ± 0.9

I dati sono espressi come percentuale della media ± SD delle differenze nucleotidiche fra le sequenze all'interno dei singoli gruppi (sulla diagonale), e come percentuale del numero netto delle differenze nucleotidiche tra i gruppi (al di sotto della diagonale). I valori di SD sono calcolati su 10.000 repliche di bootstraps. Data are expressed as percentage of the mean ± SD pair-wise nucleotide sequence differences within isolates (on the diagonal), and percentage of the net number of differences between isolates (below the diagonal). SD calculated on 10,000 bootstrap replicates.

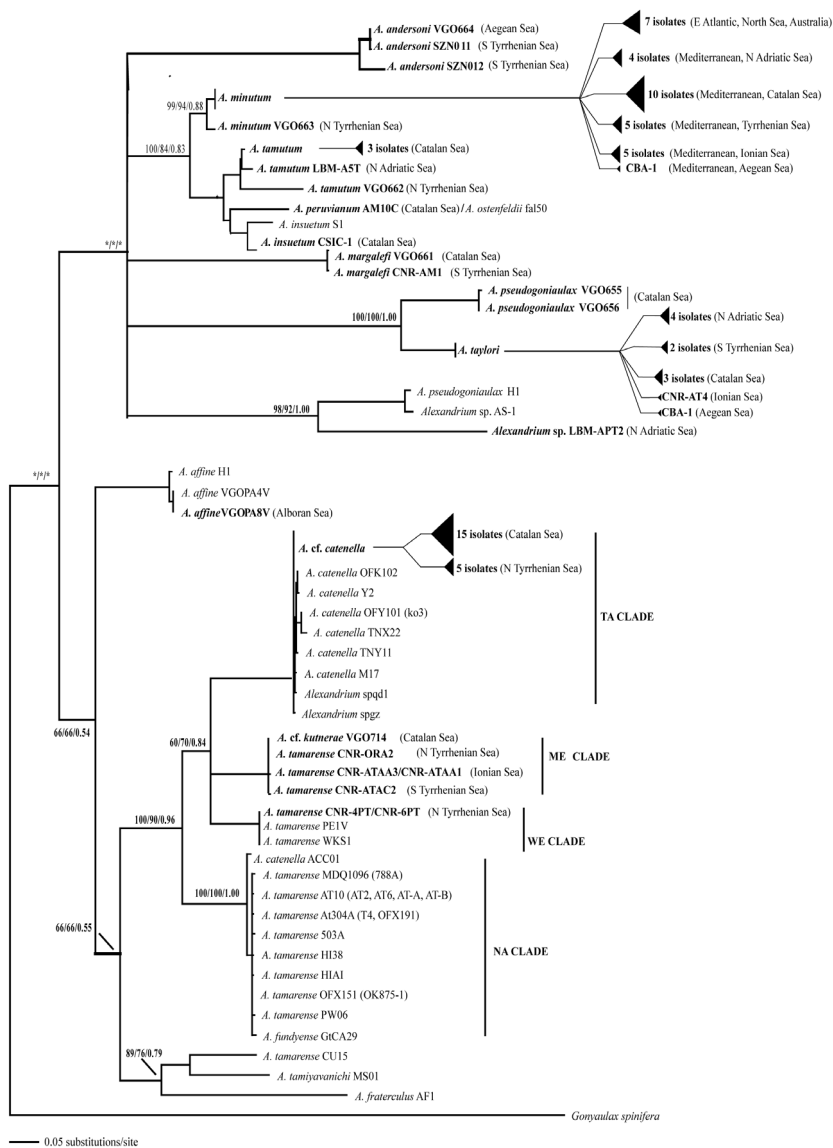


Fig. 1 - Analisi filogenetica di maximum likelihood del genere *Alexandrium* basato sulle sequenze del gene 5.8S-ITS. I numeri ai nodi maggiori rappresentano da sinistra a destra, i valori di bootstraps di NJ (10,000 repliche), di ML (1,000 repliche) e di Bayesian Inference. Sono mostrati solo i valori di bootstraps >50% e di probabilità a posteriori >0.5. L'albero ha come outgroup la sequenza di *Gonyaulax spinifera* AF051832. Le sequenze del gene 5.8S rDNA-ITS delle specie mediterranee di *Alexandrium* sono mostrate in grassetto.

Maximum likelihood phylogenetic tree of the genus Alexandrium based on the ITS region and 5.8S rDNA sequences. Numbers on the major nodes represent from the left to the right, NJ (10,000 replicates), ML (1,000 replicates) bootstrap values and BP values. Only bootstrap and posterior probability values >50% and 0.5 are shown, respectively and asterisk symbols at the major nodes represent bootstrap and posterior probability values >50% and 0.5, respectively. The tree is rooted using Gonyaulax spinifera AF051832 as outgroup. The ITS-5.8S rDNA sequences of the Mediterranean Alexandrium species are in bold.

Conclusioni – Il nostro studio fornisce nuovi dati sulle relazioni filogenetiche esistenti fra la maggior parte delle specie del genere *Alexandrium* e di isolati algali del genere *Ostreopsis* nel Mar Mediterraneo e in altre aree al di fuori del bacino del Mediterraneo basate sulle sequenze del gene 5.8S e delle regioni ITS1-ITS2. I marcatori genetici e le analisi morfologiche si sono rivelati validi metodi per comprendere la tassonomia e la posizione filogenetica del genere tossico *Ostreopsis*. Appare anche evidente che solamente l'attuale classificazione morfologica basata sull'analisi della forma, delle dimensioni e delle placche tecali di *Ostreopsis* non è sufficiente a chiarire la distinzione dei vari morfotipi e specie all'interno del genere. Le acque costiere del Mediterraneo sono di importanza strategica per le specie del genere *Alexandrium* e recentemente del genere *Ostreopsis* dal punto di vista ecologico, sanitario e di impatto economico a causa delle fioriture tossiche che possono originare questi taxa algali. Questo studio filogenetico sui generi *Alexandrium* e *Ostreopsis* ha significativamente migliorato le conoscenze derivate da pochi studi precedenti nelle stesse aree geografiche (Lilly *et al.*, 2002; Penna *et al.*, 2005a,b).

Bibliografia

- CONGESTRI R., PENNA A., ZINGONE A. (2006) - Bentox-net: a research and management initiative on *ostreopsis* spp. and other benthic microalgal blooms along the Italian coast. *Harmful Algal News*, **32**: 11-12.
- GIACOBBE M.G., PENNA A., GANGEMI E., MASÒ M., GARCÉS E., FRAGA S., BRAVO I., AZZARO F., N. PENNA. (2007) - Recurrent high-biomass blooms of *Alexandrium taylorii* (Dinophyceae), a HAB species expanding in the Mediterranean. *Hydrobiologia*, **580**: 125-133.
- KARPLUS K.B.C., HUGHEY R. (1998) - Hidden Markov Models for Detecting remote Protein Homologies. *Bioinformatics*, **14**: 846-856.
- LILLY E.L., KULIS D.M., GENTIEN P., ANDERSON D.M. (2002) - Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from the western Pacific: evidence from DNA and toxin analysis. *Journal of Plankton Research*, **24**: 443-452.
- PENNA A., VILA M., FRAGA S., GIACOBBE M.G., ANDREONI F., RIOBÒ P., VERNESI C. (2005a) - Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the Western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and ITS - 5.8S rDNA sequences. *Journal of Phycology*, **41**: 212-225.
- PENNA A., GARCÉS E., VILA M., GIACOBBE M. G., FRAGA S., LUGLIÉ A., BRAVO I., BERTOZZINI E., VERNESI C. (2005b) - *Alexandrium catenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. *Marine Biology*, **148**: 13-23.
- PENNA A. (2007) - *Internal Algal Symposium on Algal Toxins*. SITOX Conference, May 27-29, Trieste.
- PENNA A., FRAGA S., MASÒ M., GIACOBBE M.G., BRAVO I., VILA M., GARCÉS E., BERTOZZINI E., ANDREONI F., A. LUGLIÈ, C. VERNESI. (2008) - Phylogenetic relationships among the Mediterranean *Alexandrium* (Dinophyceae) species based on sequences of 5.8S gene and internal transcribed spacers of the rRNA operon. *European Journal of Phycology*, **43**: 163-178.
- TEMPLETON A.R., CRANDALL K.A., SING C.F. (1992) - A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**: 619-633.

L. PEZZOLESI, F. GUERRINI, A. PASTERIS, P. GALLETTI, E. TAGLIAVINI, R. PISTOCCHI

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali, Università di Bologna,
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.
laura.pezzolesi@unibo.it

STUDY OF THE TOXIC MECHANISM OF THE RED-TIDE FORMING (RAPHIDOPHYCEAE) *FIBROCAPSA JAPONICA* (NORTHERN ADRIATIC)

STUDIO DEL MECCANISMO DI TOSSICITÀ DI FIBROCAPSA JAPONICA (RAPHIDOPHYCEAE) RESPONSABILE DI FIORITURE NELL'ALTO ADRIATICO

Abstract - In this study *F. japonica* showed toxicity towards different species such as crustaceans of the genus *Artemia* sp. and fishes, however mortality was present only at high cell densities and after long exposition time. Reactive oxygen species were analyzed during the *Dicentrarchus labrax* assay and ¹H NMR analysis of the algal extract was performed to investigate brevetoxins production.

Key-words: brevetoxins, *Fibrocapsa japonica*, ichthyotoxicity, reactive oxygen species, toxicological assay.

Introduction – Red-tide blooms of *Fibrocapsa japonica* were related to episodes of extensive fish mortality (Toriumi and Takano, 1973), however the Adriatic strain of *F. japonica* has never caused ichthyotoxic events, even if blooms of this microalga are often recurrent in summers (Cucchiari *et al.*, 2007). The ichthyotoxicity of *F. japonica* has been connected to various causes, such as the ejection of mucocysts, the production of reactive oxygen species (ROS), that cause gill asphyxia (Oda *et al.*, 1997), and of haemolytic compounds (Marshall *et al.*, 2003). A possible production of neurotoxins similar to brevetoxins has also been reported (Khan *et al.*, 1996b). To investigate the toxicity of an Adriatic strain of *F. japonica* different organisms, such as *Artemia* sp. and fishes were used, brevetoxins were searched in its extract and ROS analyses were performed in the algal growth medium.

Materials and methods - Laboratory cultures.

The strain of *Fibrocapsa japonica* employed in this study was isolated from a bloom which occurred in July 2006 in the north-western Adriatic Sea in Palombina (Ancona, Italy). After initial growth in microPlates, cells were kept in sterile Erlenmeyer flasks sealed with cotton at 20 °C, during a 16:8 h light–dark period at about 90 μmol photons m⁻² s⁻¹ from cool white lamps. Cultures were established in natural seawater, at a salinity of 35 psu, with the nutrients added at the f/2-Si concentration. Cell counts were made in settling chambers following Utermohl method.

Toxicological study.

Artemia sp. assay was performed using the IRSA-CNR (2003) method. Increasing algal concentrations, dilutions of the extracellular medium and sonicated cultures (1 mL for the short-term test and 40 mL for the long-term test) were put into wells or beakers and 10 nauplii were added. Effects on the organisms were monitored for 24 h (short-term test) or 96 h (long-term test) and at the end of the experiment dead organisms were counted. Data were expressed as EC50, calculated as a non-linear regression using Statistica 6.0 program.

Dicentrarchus labrax assay was conducted with fishes (0.25±0.05 g) obtained from the sea bream hatchery Valle Ca' Zuliani (Pila di Porto Tolle, Rovigo, Italy) and kept into a 60-70 L aquarium, aerated with oxygen using a small oxygen dispenser (Hailea). Fishes were kept at room temperature, at 35 psu salinity. For the experi-

ments smaller aerated tanks containing 1,5 L *F. japonica* culture at cell concentrations ranging from 45,000 to 80,000 cells mL⁻¹ were used. Four fishes were put into each tank and observed for two weeks. The same volume of *Phaeodactylum tricornutum* culture was used as control tank.

Reactive Oxygen species analysis.

Superoxide anion radical and hydrogen peroxide produced by *F. japonica* in culture and during the fish assay were measured by the cytochrome C method (Oda *et al.*, 1997) and using the method described by Bellincampi *et al.* (2000).

Extraction and clean-up procedures.

Cultures were filtered using two different filters (GF/C Whatman, 1.2 µm and Milipore, 0.45 µm), then they were extracted in a Soxhlet apparatus with Methanol-Chloroform (50:50) for 24 h. The solution was concentrated to dryness in a rotavapor system at 40 °C. The extract was left to cool to room temperature and weighed, then it was redissolved in methanol (5 mL), passed through a C18 cartridge (Waters SEP-PAK Vac. 20 cc, 5 g). Different fractions were collected eluting with 100% water, 50% methanol and 100% methanol. The eluates were finally concentrated to dryness under vacuum .

NMR analysis.

The dried extract of *F. japonica* and the brevetoxin Btx-2 standard were dissolved in Chloroform-d and ¹H NMR spectra were recorded from these solutions with an INOVA 600 Varian spectrometer (600 MHz).

Results - Toxicological study and Reactive Oxygen species analysis.

Artemia sp. assay is generally based on mortality percentage evaluation of nauplii, however after 24 h in 1 ml *F. japonica* culture most of the organisms were still alive although inactive. In presence of this microalga, organisms showed abnormal movements, including swimming slowly, rotating fast around one fixed point or immobilization. The inactivation percentage increased with increasing algal cell density and mortality occurred only when the same number of organisms were tested with a high volume (40 ml) of culture (long-term test). The diatom *Phaeodactylum tricornutum* was used in the assay as a control, in fact it didn't show toxic effects on *Artemia* sp.

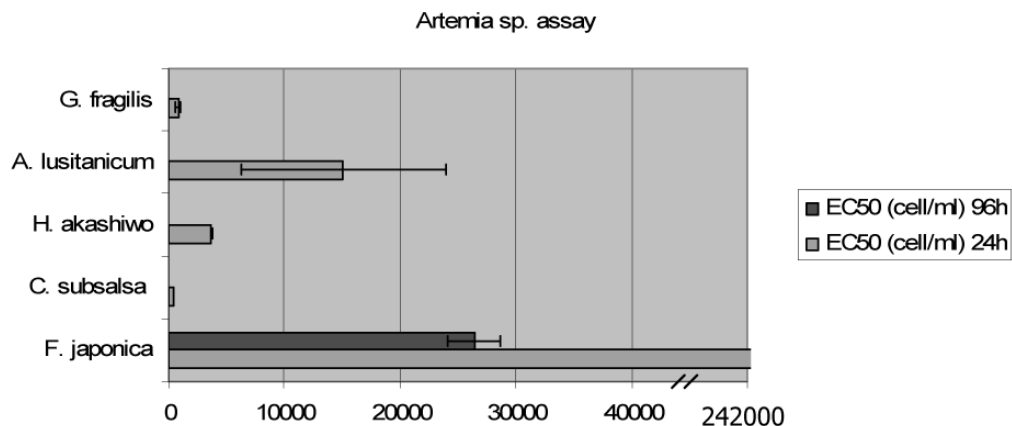


Fig. 1 - EC50 values obtained by *Artemia* sp. assay using different microalgae.

Valori di EC50 ottenuti con il saggio su *Artemia* sp. utilizzando diverse microalghe.

also at high cell density. Other two microalgae belonging to the Raphidophycean class (*Chattonella subsalsa* and *Heterosigma akashiwo*) and two dinoflagellates (*Alexandrium lusitanicum* and *Goniaulax fragilis*) were tested. EC50 values obtained with all these species were lower and in particular nauplii tested with the dinoflagellates behaved differently, reporting death after short time and creating an aggregation of the dead organisms in the middle of the well (Fig. 1).

Fishes exposed to *F. japonica* cultures were still alive after a 7 days-exposition, even at high cell density (70,000-80,000 cell mL⁻¹). However, few days after they began to die and in the 11th-12th day were all dead, while in the control tank fishes were alive. ROS analyses in the *medium* reported an increase of hydrogen peroxide after exposing fishes to algal cells, but only in the tanks where algal cultures caused fish mortality. The same result was obtained using different species of the genus *Chattonella* (Fig. 2).

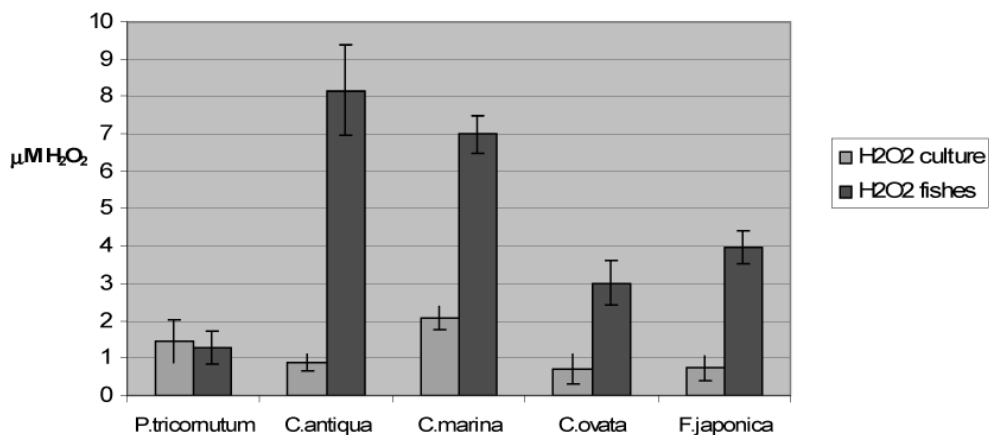


Fig. 2 - H₂O₂ analysis in the extracellular *medium* of different microalgae cultures before and after *Dicentrarchus labrax* assay.

Analisi del H₂O₂ nel *medium* extracellulare di diverse culture di microalghe prima e dopo il saggio con *Dicentrarchus labrax*.

Chemical analysis.

¹H-NMR analysis of the algal extract was performed and the presence of brevetoxins was not evidenced in *Fibrocapsa japonica*. ¹H-NMR spectrum of the brevetoxin PbTx-2 showed some peaks characteristic, in particular δ 9.52 (s, 1 H, CHO), 5.78-5.75 (m, 2 H, CH=CH), 5.73 (s, 1 H, =CH), 4.26 (d, 1 H, OCHC=), 2.66 (bs, 1 H, OH). These peaks were not evidenced in *F. japonica* spectrum.

Conclusions – Through *Artemia* sp. assay a low toxicity of a *F. japonica* Adriatic strain was shown, in fact mortality was observed only exposing organisms to high cell density for long time. Similar results were obtained in *D. labrax* assay, where fish mortality occurred after several days of exposition. This effect might be linked to the accumulation of mucus-like substances on the fish gills, which in fact resulted obstructed and damaged. Hiroishi *et al.* (2005) reported that mucus production might be induced by oxygen radicals and an increase of H₂O₂ production was observed during our experiments.

Acknowledgement - We wish to thank the hatchery Valle Ca' Zuliani (Pila di Porto Tolle, Rovigo, Italy) for the provision of juvenile sea breams.

References

- BELLINCAMPI D., DIPIERRO N., SALVI G., CERVONE F., DE LORENZO G. (2000) - Extracellular H₂O₂ induced by oligogalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated *rolB* gene expression in tobacco leaf explants. *Plant Physiol.*, **122**: 1379-1385.
- CUCCHIARI E., GUERRINI F., PENNA A., TOTTI C., PISTOCCHI R. (2007) - Effect of salinity, temperature, organic and inorganic nutrients on growth of cultured *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) from the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae*, in press.
- HIROISHI S., OKADA H., IMAI I., YOSHIDA T. (2005) - High toxicity of the novel bloom-forming species *Chattonella ovata* (Raphidophyceae) to cultured fish. *Harmful Algae*, **4**: 783-787.
- IRSA-CNR. Metodi analitici per le acque, APAT Manuali e Linee Guida 29/2003. Vol. 3: 8060 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con *Artemia* sp.:1043-1050.
- KHAN S., ARAKAWA O., ONOUE Y. (1996) - Neurotoxin Production by a Chloromonad *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae). *J. World Aquaculture society*, **27**: 254-263.
- MARSHALL J.A., NICHOLS P.D., HAMILTON B., LEWIS R.J., HALLEGRAEFF G.M. (2003) - Ichthyotoxicity of *Chattonella marina* (Raphidophyceae) to damselfish (*Acanthochromis polycaanthus*): the synergistic role of reactive oxygen species and free fatty acids. *Harmful Algae*, **2**: 273-281.
- ODA T., NAKAMURA A., SHIKAYAMA M., KAWANO I., ISHIMATZU A., MURAMATSU T. (1997) - Generation of reactive oxygen species by raphidophycean phytoplankton. *Biosci Biotechnol Biochem*, **61**: 1658-1662.
- TORIUMI S., TAKANO H. (1973) - *Fibrocapsa*, a new genus in Chloromonadophyceae from Atsumi Bay, Japan. *Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.*, **76**: 25-36.

R. POLETTI, M. CANGINI, A. CEREDI, F. MAGNANI, A. MILANDRI,
S. PIGOZZI, M. POMPEI, E. RICCARDI, S. ZOFFOLI

Centro Ricerche Marine, Via A. Vespucci 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
roberto.poletti@centroricerchemarine.it

BIOACCUMULO DI TOSSINE ALGALI LIPOSOLUBILI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) DEL NORD ADRIATICO

BIOACCUMULATION OF LIPOPHILIC ALGAL BIOTOXINS IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) IN OF THE ADRIATIC SEA

Abstract – We report about the evolution of Adriatic Sea *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) toxin profile during the last two decades. Since the first episodes of DSP toxicity (1989), the chemical composition of contaminants in mussels, as revealed by LC-MS/MS, has dramatically changed along with phytoplankton community characteristics. YTXs together with spirolides have gradually replaced OA and derivatives.

Key-words: *Mytilus galloprovincialis*, LC-MS (Liquid chromatography-Mass Spectrometry), Adriatic Sea, lipophilic toxins.

Introduzione - Per biotossine marine si intende un gruppo di molecole organiche dal principio attivo idro o liposolubile. Le tossine liposolubili, storicamente definite del tipo DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning), rappresentano in Italia il principale fattore di rischio correlato al consumo di molluschi. Si tratta di un gruppo di molecole molto eterogeneo sia per gli effetti tossicologici che per il meccanismo d'azione. Ne fanno parte: l'acido okadaico (OA) e derivati: le dinophysitossine (DTXs); le pectenotossine (PTXs); le yessotossine (YTXs); l'azaspiracido e suoi omologhi (AZAs). Tra le microalghe, sicuramente producono tossine liposolubili *Lingulodinium polyedrum*, *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera* (Rhodes *et al.*, 2006) e la maggior parte delle specie appartenenti ai generi *Dinophysis* e *Prorocentrum*.

Materiali e metodi - Su campioni di acqua e di molluschi raccolti con cadenza quindicinale (intensificata nel periodo estivo) dagli impianti di molluschicoltura dell'Emilia Romagna (Fig. 1) viene svolto, dal 1989, un continuo e sistematico monitoraggio sia delle specie fitoplanctoniche (con particolare riguardo a quelle tossiche e potenzialmente tossiche) che delle biotossine marine. La determinazione quali-quantitativa del fitoplancton viene eseguita utilizzando il metodo di Utermöhl (1958); per la ricerca delle biotossine liposolubili nei mitili (*Mytilus galloprovincialis*), è impiegata la metodica ufficiale (DM 16/05/2002) che prevede il saggio biologico (*mouse bioassay*). Analisi chimiche per la caratterizzazione dei principi attivi presenti nei campioni vengono eseguite con le tecniche analitiche HPLC (Lee *et al.*, 1987, modificato; Yasumoto e Takizawa, 1997) e, a partire dal 2005, LC - MS/MS (McNabb *et al.*, 2005).

Risultati - La prima dimostrazione della presenza di biotossine marine in mitili dell'Adriatico risale al giugno 1989, periodo in cui, lungo la costa emiliano romagnola, la presenza nelle acque delle specie *Dinophysis sacculus*, *D. fortii*, *D. rotundata*, *D. cf. acuminata*, *D. caudata*, *D. tripos*, anche se a basse concentrazioni (max. 88.000 cell/L), determinò problemi igienico-sanitari ai consumatori di molluschi bivalvi (Boni *et al.*, 1993). Acido okadaico, dinophysitossine e pectenotossine (Draisci, 1996) furono identificati quali responsabili di quei primi casi di DSP che da allora si sono ripetuti ogni anno, determinando la chiusura degli allevamenti per molti mesi, interessando anche

altre regioni adriatiche quali Marche, Abruzzo, Veneto e Friuli Venezia Giulia. Dal 1995, sono stati messi in evidenza nuovi principi tossici: la yessotossina (YTX) ed alcuni suoi analoghi quali la homoYTX, la 45-OH-YTX, la 45-OH-homoYTX ed in seguito la carboxyYTX e la carboxyhomoYTX, con dominanza della YTX (Ciminiello *et al.*, 2003), prodotti da *Lingulodinium polyedrum* e da *Protoceratium reticulatum*. Dal 2003 il profilo tossico riscontrato nei molluschi si è ulteriormente complicato per la presenza di spirolidi prodotti dalla dinoflagellata *Alexandrium ostenfeldii* (spirolide 13 desMeC ed analoghi). Successivamente, dal 2004, in conseguenza al ritrovamento nelle acque di *Gonyaulax spinifera*, il profilo tossico dei mitili si è nuovamente modificato: le yessotossine sono sempre presenti, tuttavia la YTX non è più la tossina dominante ma risultano prevalenti gli homo-derivati.

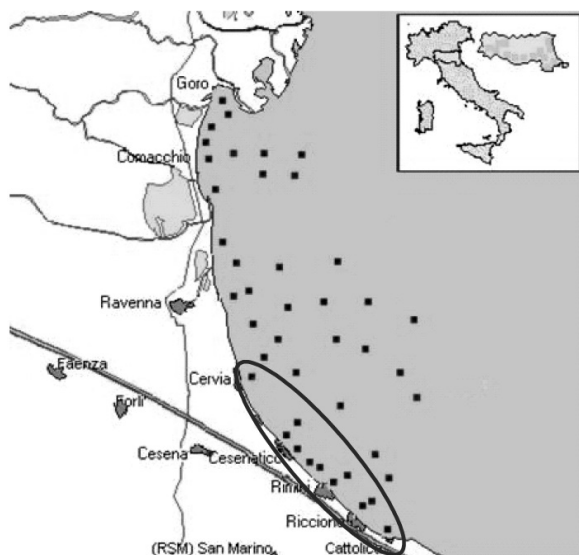


Fig. 1 - Distribuzione delle stazioni di monitoraggio.
Sampling stations in the study area.

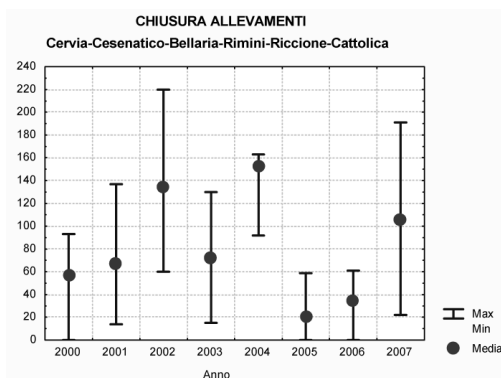


Fig. 2 - Periodi di chiusura allevamenti.
Mussel farms closure periods.

La presenza della tossicità ha reso necessaria, in questi anni, l'applicazione delle previste ordinanze di chiusura degli allevamenti anche per lunghi periodi, con notevoli danni all'economia di questo settore. Analizzando i risultati ottenuti nel periodo 2000-2007 per alcuni allevamenti situati nell'area fra Cervia e Cattolica, è possibile evidenziare che gli anni di maggior criticità sono il 2002, 2004 e 2007 (Fig. 2), con un periodo massimo di chiusura pari a 220 giorni, nel corso del 2002, anche se per un solo allevamento (Bellaria). Nel 2004, anno in cui il fenomeno ha interessato l'intera area in esame, è stato invece osservato il valore medio di chiusura più alto, pari a 153 giorni. Produttrici di yessotossina ed analoghi sono risultati *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedrum* e, a partire dal 2004, soprattutto *Gonyaulax spinifera*. In particolare, nel corso del 2007 quest'ultima specie, che si sviluppa soprattutto nei mesi autunnali (Fig. 3), ha determinato nei mitili un accumulo di yessotossine (oltre 20 mg/kg p.e.) superiori al limite di legge, quasi totalmente costituite da homo-derivati (Fig. 4).

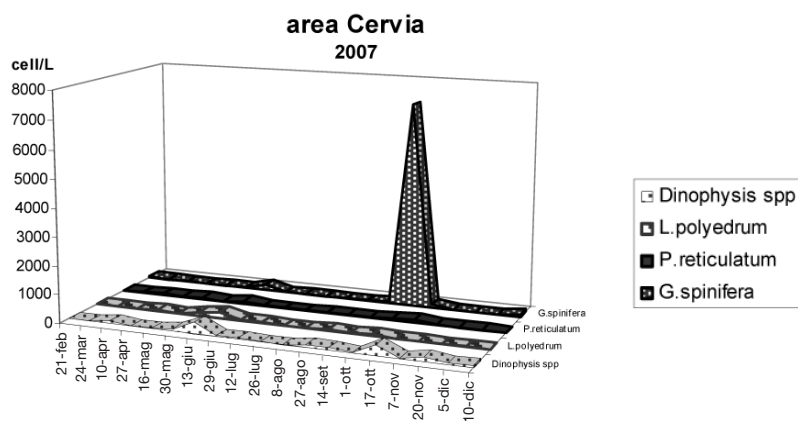


Fig. 3 - Concentrazioni delle microalghe produttrici di YTXs.
Concentrations of the species producing YTXs.

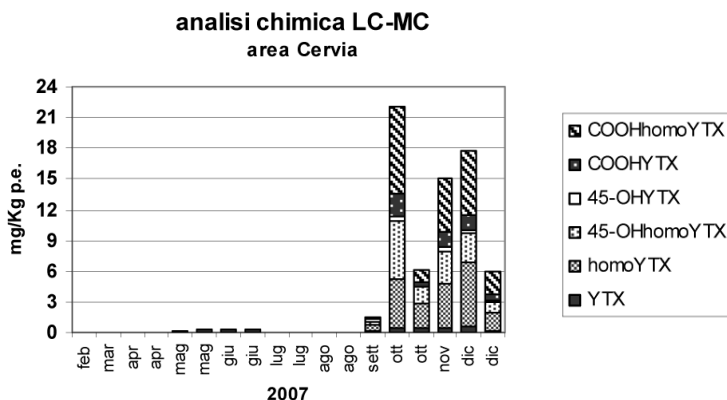


Fig. 4 - Concentrazioni di YTXs nei mitili prelevati nell'area antistante Cervia.
Concentrations of YTXs in mussels collected offshore Cervia.

Conclusioni - Le specie fitoplanctoniche tossiche quali *Dinophysis* spp., *Lingulodinium polyedrum*, *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera*, riscontrate lungo la costa emiliano romagnola determinano da lungo tempo problemi di carattere igienico sanitario ai molluschi bivalvi allevati in queste aree, con ripercussioni negative sull'economia di questo importante settore della pesca. L'utilizzo di tecniche analitiche sempre più specifiche per il monitoraggio delle biotossine marine nei mitili ha permesso una maggiore conoscenza dei principi tossici presenti ed è risultato un valido aiuto nella gestione delle aree di produzione.

Lo studio dei fenomeni tossici DSP rilevati per la prima volta nel 1989 in Adriatico ha evidenziato che la contaminazione, inizialmente attribuita al solo OA, presenta in realtà un quadro estremamente complesso, in considerazione del rilevamento nel fitoplancton e nei molluschi bivalvi di altre tossine note quali le DTXs, che come l'OA presentano un'azione diarrogena e di promozione tumorale, le PTXs e le YTXs. Queste ultime, ad azione non diarrogena, sono attualmente le principali responsabili della contaminazione dei mitili del nord Adriatico.

Bibliografia

- BONI L., MILANDRI A., POLETTI R., POMPEI M. (1993) - DSP cases along the coast of Emilia-Romagna (northwestern Adriatic sea). In: Smayda T.J., Shimizu Y. (eds), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam: 475-481.
- CIMINIELLO P., FATTORUSSO E., FORINO M., POLETTI R., VIVIANI R. (2000) - Structure determination of carboxyhomoyessotoxin, a new yessotoxin analogue isolated from Adriatic mussels. *Chem. Res. Toxicol.*, **13**: 770-774.
- DRAISCI R., LUCENTINI L., GUANNETTI L., BORIA P., POLETTI R., STACCHINI A. (1996) - Biotossine algali DSP in molluschi eduli lamellibranchi e fitoplancton del Mare Adriatico. *La Rivista della Scienza dell'Alimentazione*, **1**: 1-10.
- LEE J.S., YANAGI T., KENNA R., YASUMOTO T. (1987) - Fluorometric determination of diarrhetic shellfish toxins by high-performance liquid chromatography. *Agric. Biol. Chem.*, **51**: 1953-1957.
- McNABB P., SELWOOD A.I., HOLLAND P.T. (2005) - Multiresidue method for determination of algal toxins in shellfish: single-laboratory validation and inter-laboratory study. *Journal of AOAC International*, **88** (3): 761-772.
- RHODES L., McNABB P., DE SALAS M., BRIGGS L., BEUZENBERG V., GLADSTONE M. (2006) - Yessotoxin production in *Gonyaulax spinifera*. *Harmful Algae*, **5**: 148-155.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. int. Ver. theor. angew. Limnol.*, **9**: 1-38.
- YASUMOTO T., TAKIZAWA A. (1997) - Fluorimetric Measurements of Yessotoxins in Shellfish by High-pressure Liquid Chromatography. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61** (10): 1775-1777.

A. SFRISO, D. CURIEL¹, A. FALACE², C. FACCA

Dip. di Scienze Ambientali, Univ. di Venezia, Calle Larga S. Marta, 2137 - 30123 Venezia, Italia.
sfrisoad@unive.it

¹SELC Soc. Coop. Via dell'Elettricità, 5/D - 30174 Marghera-Venezia, Italia.

²Dip. di Biologia, Univ. di Trieste, Via L. Giorgieri, 10 - 34127 Trieste, Italia.

MACROFITE, CONDIZIONI TROFICHE E STATO ECOLOGICO DELLA LAGUNA DI GRADO-MARANO

MACROPHYTES, TROPHIC CONDITIONS AND ECOLOGICAL STATUS OF THE GRADO-MARANO LAGOON

Abstract – During summer 2007, macroalgal and seagrass taxa, hydrological variables, nutrients in the water column and in surface sediments were recorded in 19 stations spread in the whole Grado-Marano lagoon in order to assess the trophic level and the ecological status of this basin by applying two ecological indices: The Rapid-Macrophyte Quality Index (R-MaQI) and the Ecological Evaluation Index (EEI).

Key-words: macrophytobenthos, environmental parameters, MaQI, EEI, Grado-Marano lagoon.

Introduzione – Le lagune di Grado e Marano costituiscono un unico complesso lagunare che si estende su di una superficie di ca. 160 km², nella parte settentrionale dell'Adriatico. Le informazioni attualmente disponibili sulle macrofite di queste lagune sono limitate e non recenti. In particolare tra i primi lavori degli anni '70 sulla vegetazione sommersa e il 1992 non sono disponibili dati (Curiel *et al.*, 1998). Non è possibile quindi valutare in modo opportuno le dinamiche e i cambiamenti prodotti nel tempo dalle diverse attività antropiche. Questo lavoro intende confrontare la flora attuale con quella rilevata in passato ed applicare due indici ecologici: l'EEI di Orfanidis *et al.* (2003) e il MaQI di Sfriso *et al.* (2007) per valutare lo stato ecologico di questo ambiente di transizione in accordo con la WFD 2000/60/EC.

Materiali e metodi – I campionamenti sono stati effettuati su di una ventina di stazioni dislocate in diverse tipologie morfologiche lagunari (bassofondali, aree vicino le bocche di porto ed in prossimità delle barene) nel luglio 2007, raccogliendo direttamente in immersione campioni di macroalghe presenti in una superficie di ca. 15-20 m di raggio e stimandone la copertura. Contemporaneamente sono stati misurati alcuni parametri bio-fisico-chimici (temperatura, salinità, ossigeno disciolto, pH, clorofilla *a*, feopigmenti) e sono stati raccolti campioni della colonna d'acqua e di sedimento superficiale (primi 5 cm). I campioni d'acqua sono stati immediatamente filtrati e conservati a -20 °C fino alla determinazione spettrofotometrica di nitrati, nitriti, ammoniaca, fosforo reattivo e silicati. Un campione di sedimento è stato conservato a +4 °C per la determinazione della densità, porosità e della frazione fine (<63 µm). Un altro campione di sedimento è stato congelato e liofilizzato per la determinazione dell'azoto totale e delle frazioni di carbonio e fosforo organico, inorganico e totale. Ai dati quali-quantitativi sono stati applicati due indici di qualità ambientale, messi a punto per valutare lo stato ecologico degli ambienti marini di transizione dell'eco-regione Mediterranea e basati sul rilevamento della copertura e della composizione delle associazioni macrobentoniche e su alcuni parametri ambientali: il Rapid Macrophyte Quality Index (R-MaQI) di Sfriso *et al.* (2007) e l'Ecological Evaluation Index (EEI) di Orfanidis *et al.* (2003).

Risultati – In totale sono stati rinvenuti 60 taxa macroalgali (38 Rhodophyceae, 18 Chlorophyceae, 3 Phaeophyceae, 1 Chrysophyceae) e 3 fanerogame marine [*Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, *Zostera marina* Linnaeus e *Nanozostera noltii* (Hornemann)

Tomlinson *et Posluzny*]. Il numero di taxa è risultato superiore a quello rinvenuto da Curiel *et al.* (1998), nonostante si tratti di un solo campionamento estivo. Le differenze più significative riguardano l'incremento del numero di Rhodophyceae e la riduzione delle Phaeophyceae. Quest'ultima potrebbe esser dovuta al periodo di campionamento quando le specie invernali, tra cui molte Phaeophyceae stagionali, erano ormai scomparse.

Tab. 1 - Confronto tra i taxa rilevati da Curiel *et al.* (1998) e l'attuale campionamento.

Comparison between the number of taxa recorded from Curiel et al. (1998) and this sampling.

Macroalghe		
Taxa	1992-3	2007
Rhodophyceae	18	38
Chlorophyceae	16	18
Phaeophyceae	7	3
Chrysophyceae	1	1
Total	42	60

Tra i taxa macroalgali erano presenti anche specie di qualità elevata come *Chondrophyucus patentirameus* (Montagne) K.W.Nam e *Fucus virsoides* J. Agardh e specie alloctone come *Acrothamnion preissii* (Sonder) E.M. Wollaston, *Boergeseniella fruticulosa* (Wulfen) Kylin ed *Hydrolithon boreale* (Foslie) Y.M. Chamberlain.

Per un quadro più completo della flora lagunare il campionamento sarà completato con una campagna primaverile in modo da raccogliere anche le specie presenti solo nei mesi freddi. I risultati ottenuti dai due indici ecologici (Figg. 1 e 2), seppur con alcune differenze dovute alla diversa struttura degli stessi, evidenziano che nelle lagune sono presenti tutte e 5 le classi di stato ecologico. Condizioni non ottimali sono state rinvenute nella parte più occidentale della laguna di Marano dove sfociano vari corsi d'acqua dolce e nella parte più orientale della laguna di Grado dove, con

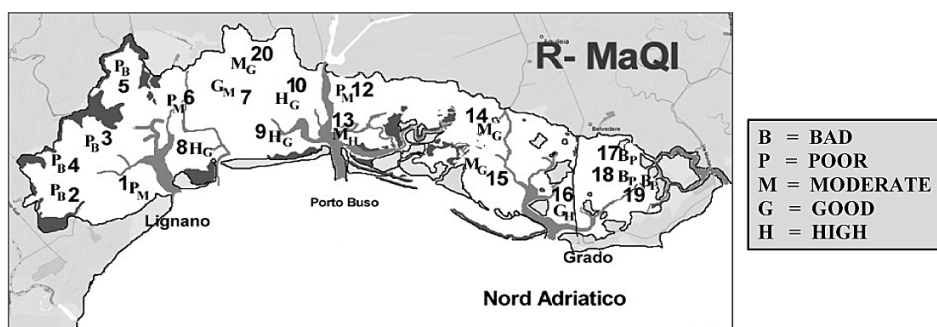


Fig. 1 - Valutazione dello stato ecologico delle lagune di Grado-Marano applicando l'R-MaQI. Ad ogni stazione è applicata una doppia classificazione (Binomio). La principale rappresentata con una lettera maiuscola grande e la secondaria con una lettera maiuscola piccola posta alla base di quella grande. Queste sono le lettere iniziali delle classi di stato ecologico assegnate ad ogni stazione.

Assessment of the Grado and Marano ecological state by applying the R-MaQI. At each station a double environmental assessment is associated (class binomial). The main with a big capital letter and the minor with a small capital letter. Those are the initial letters of the class names assigned to each station.

eccezione di *Vaucheria submarina* (Lyngbye) Berkeley le macrofite erano praticamente assenti. Le condizioni migliori, caratterizzate da estese praterie di fanerogame marine, sono state trovate nella parte centrale della laguna e presso le bocche lagunari.

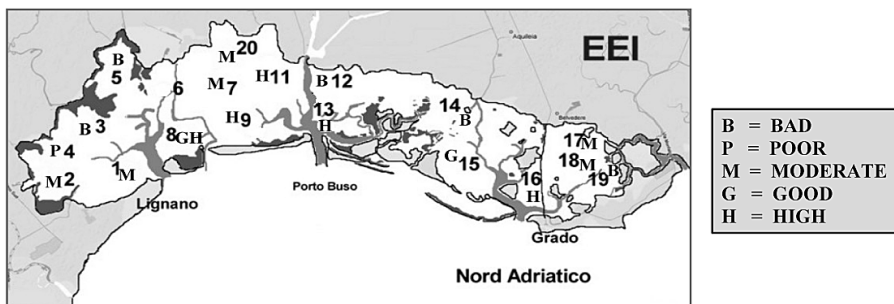


Fig. 2 - Valutazione dello stato ecologico delle lagune di Grado-Marano applicando l'EEI. La classificazione di ogni stazione è data da una lettera maiuscola che è l'iniziale del nome della classe di stato ecologico.

Assessment of Grado and Marano Ecological state by applying the EEI. The station assessment is shown by a capital letter which is the initial letter of the class name.

Dalla matrice di correlazione ottenuta analizzando i soli dati tassonomici (Tab. 2a) si osserva che tra i due indici vi è una correlazione significativa. Inoltre il MaQI è

Tab. 2 - a) Matrice di correlazione tra alcune componenti macroalgali e gli indici di qualità ambientale; b) matrice di correlazione tra alcune componenti macroalgali, gli indici di qualità ambientale ed alcuni parametri dei sedimenti superficiali.

a) *Correlation matrix between some macroalgal parameters and the indices of environmental quality;*
 b) *Correlation matrix between some macroalgal parameters, the indices of environmental quality and some surface sediment characteristics.*

a)		Macroalghe									
		Tot	Rhod	Chlor	Phaeo	Chrys	%Rhod	%Chl	%Phaeo	MaQI	EEI
Macroalghe	Tot	1.00									
	Rhod	0.96	1.00								
	Chlor	0.79	0.60	1.00							
	Phaeo	0.33	0.23	0.26	1.00						
	Chrys	-0.42	-0.51	-0.22	-0.19	1.00					
	%Rhod	0.64	0.72	0.34	0.06	1.00					
	%Chl	-0.41	-0.56	0.06	-0.28	0.42	-0.77	1.00			
	%Phaeo	-0.23	-0.26	-0.25	0.59	0.12	-0.37	-0.15	1.00		
	MaQI	0.83	0.77	0.75	0.44	-0.63	0.61	-0.35	-0.17	1.00	
	EEI	0.54	0.52	0.44	0.24	-0.39	0.18	-0.04	-0.23	0.67	1.00

b)		Sedimento									
		Densità	% <63µm	Porosità	Ctot	Cinorg	Corg	Ntot	Ptot	Pinorg	Porg
Macroalghe	Tot	0.62	-0.66	-0.57	0.22	0.39	-0.45	-0.45	-0.76	-0.75	-0.68
	Rhod	0.58	-0.64	-0.52	0.15	0.33	-0.44	-0.44	-0.67	-0.64	-0.63
	Chlor	0.49	-0.47	-0.49	0.27	0.35	-0.30	-0.30	-0.67	-0.71	-0.54
	Phaeo	0.28	-0.21	-0.26	0.08	0.15	-0.18	-0.18	-0.39	-0.38	-0.36
	Chrys	-0.17	0.14	0.18	0.14	0.08	0.04	0.04	0.19	0.13	0.23
	%Rhod	0.36	-0.46	-0.38	0.13	0.20	-0.21	-0.21	-0.34	-0.25	-0.40
	%Chlor	-0.31	0.37	0.32	-0.13	-0.22	0.24	0.24	0.16	0.05	0.27
	%Phaeo	0.04	0.15	-0.05	0.00	0.03	-0.05	-0.05	0.10	0.11	0.08
	MaQI	0.49	-0.55	-0.45	0.17	0.29	-0.33	-0.33	-0.67	-0.65	-0.61
	EEI	0.50	-0.60	-0.42	0.40	0.51	-0.44	-0.44	-0.69	-0.63	-0.68

P < 0.05 per r > |0.47|

significativamente correlato al numero totale di macroalghe, al numero di Rhodophyceae, di Chlorophyceae e di Chrysophyceae come pure alla percentuale di Rhodophyceae mentre l'EEI mostra una correlazione significativa solo col numero totale di macroalghe e con quello delle Rhodophyceae. Se nella matrice di correlazione consideriamo anche i dati dei sedimenti superficiali (Tab. 2b) si osservano correlazioni significative tra i due indici e la densità (cor. positiva) e percentuale di frazione fine (cor. negativa), nonché tra i due indici e le concentrazioni di Fosforo (cor. negativa). Considerando anche i dati fisico-chimici della colonna d'acqua le correlazioni sono invece meno rilevanti.

Conclusioni – I dati floristici presentati anche se preliminari, permettono di evidenziare un incremento di specie rispetto al passato. L'applicazione dei due indici di stato ecologico mostra una certa omogeneità nelle risposte che appaiono significativamente correlate tra loro. Una buona correlazione si osserva anche tra i risultati dei due indici e tra gli indici, le caratteristiche granulometriche e le concentrazioni di fosforo dei sedimenti superficiali. In generale le stazioni maggiormente eutrofizzate appaiono ben correlate con una bassa qualità ambientale e viceversa.

Bibliografia

- CURIEL D., GRIM F., OREL G., SOLAZZI A. (1998) – Aspetti dei popolamenti fitobentonici delle lagune di Grado e Marano. *Boll. Mus. Civ. St. Nat. Venezia*, **48**: 225-235.
- ORFANIDIS S., PANAYOTIDIS P., STAMATIS N. (2003) - An insight to the ecological evaluation index (EEI). *Ecological Indicators*, **3**: 27-33.
- SFRISO A., FACCA C., GHETTI P.F. (2007) - Rapid Quality Index (R-MaQI), based mainly on macrophytes associations, to assess the ecological status of Mediterranean transitional environments. *Chemistry and Ecology*, **23**: 493-503.

I dati qui presentati sono stati raccolti nell'ambito di attività di monitoraggio dell'ARPA Friuli Venezia-Giulia che hanno messo a disposizione i loro mezzi, personale e la loro sede.

N. UNGARO, A.M. PASTORELLI, M. BLONDA, G. ASSENNATO

ARPA Puglia, Corso Trieste, 27 – 70126 Bari, Italia.
n.ungaro@arpa.puglia.it

IL MONITORAGGIO DI SORVEGLIANZA DELLE FIORITURE DI *OSTREOPSIS OVATA* NEI MARI PUGLIESI: APPROCCIO METODOLOGICO E RISULTATI NELLA STAGIONE ESTIVA 2007

SURVEILLANCE MONITORING OF OSTREOPSIS OVATA BLOOMS IN THE APULIAN SEAS: METHODOLOGICAL APPROACH AND RESULTS FROM THE SUMMER SEASON 2007

Abstract – *The monitoring of Ostreopsis ovata Fukujo blooms have been carried out along the Apulian coast during the 2007 summer season. The sampling protocol was based on simply procedures targeting to n° 18 rocky and bathing/touristic sites. The species was found in most of the monitored sites, but blooms were reported for the coastal area between Bisceglie and Mola di Bari only. The preliminary data analysis highlights an increase of human pathologies according to the O. ovata density exceeding 15.000-20.000 cell/l in the water column.*

Key-words: *harmful algal bloom, monitoring, Ostreopsis ovata, Adriatic Sea.*

Introduzione – La microalga dinoflagellata *Ostreopsis ovata* Fukujo, specie di origine tropicale ad habitus epi-bentonico, negli ultimi anni è sempre più frequentemente segnalata lungo i litorali pugliesi (Di Turi *et al.*, 2003; Ungaro *et al.*, 2005). Le fioriture massive della specie sono tipiche della stagione calda (Ungaro *et al.*, 2005), ed a queste talvolta sono state associate patologie riscontrate in bagnanti, pescatori e residenti nelle zone litorali (rinorrea, faringite, congiuntivite, dermatite, tosse, dispnea, febbre) (Gallitelli *et al.*, 2005); si ipotizza che tali aspetti epidemiologici siano legati alla potenziale tossicità della dinoflagellata, confermata dall'individuazione di palitossine nella cellula algale (Ciminiello *et al.*, 2006). La problematica ha avuto dunque una valenza non solo ambientale, ma anche sanitaria, come anche ribadito dalla redazione di linee guida sull'argomento da parte del Ministero della Salute (2007).

Queste motivazioni hanno indotto l'ARPA Puglia ad organizzare un monitoraggio di sorveglianza, per la prima volta nella stagione estiva 2007, che potesse rispondere in maniera il più possibile pronta ed efficace alle esigenze ambientali e sanitarie del territorio pugliese.

Materiali e metodi – L'approccio metodologico su cui è stata impostata la strategia di monitoraggio si è basato sulle necessità: a) di individuare le aree costiere potenzialmente interessate al fenomeno; b) di velocizzare/semplificare le attività di campionamento; c) di fornire in tempi brevi i responsi analitici e di valutare le eventuali relazioni causa-effetto.

Allo scopo si sono individuati n° 18 siti, distribuiti sull'intero territorio regionale e rappresentativi della tipologia costiera potenzialmente interessata dalle fioriture (costa rocciosa, balneabile; priorità a zone in cui era stato già segnalato il fenomeno in passato) (Fig. 1). In ogni sito si sono effettuati campionamenti dal mese di luglio sino a settembre 2007, con frequenza quindicinale. Nei siti stabiliti si sono prelevati dei campioni in acque basse prossime alla linea di costa (0.5-1 m di profondità), utilizzando una siringa in plastica da 50 cc con puntale tagliato. La siringa aspirava un quantitativo definito di acqua ad immediato contatto con il fondale, ed un altro quantitativo in colonna d'acqua.

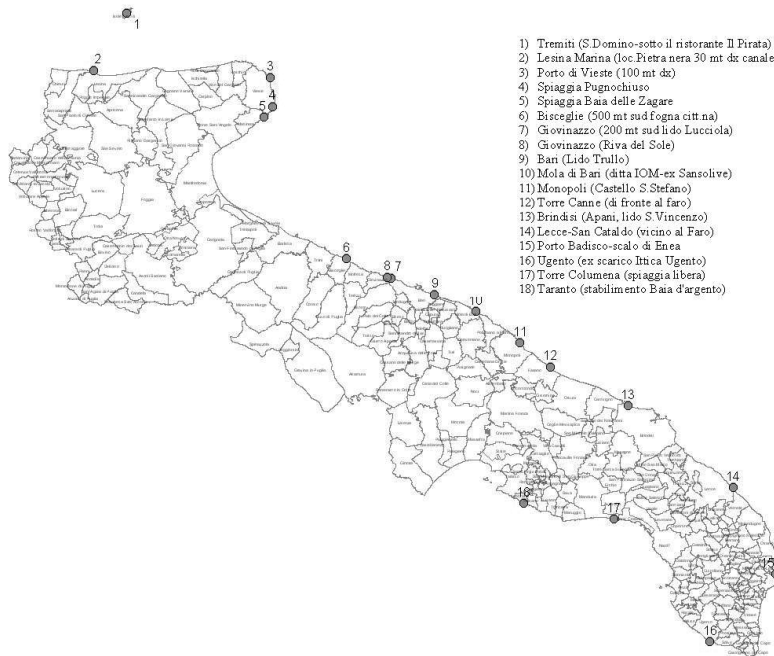


Fig. 1 - Allocazione dei punti di campionamento *Ostreopsis ovata* lungo la costa pugliese.
Sampling points of Ostreopsis ovata along the Apulian coastal area.

La presenza di *Ostreopsis ovata* è stata quindi verificata in laboratorio, secondo la metodologia standard (Zingone *et al.*, 1990). Quando presente la specie, si sono stimate le densità cellulari relative (n° cell/l).

Risultati – La presenza di *Ostreopsis ovata* nelle aree costiere pugliesi è stata accertata durante l'intero periodo monitorato (Luglio-Settembre 2007), seppure con evidenti differenze in termini quantitativi rispetto alle aree campionate. Considerando l'intera costa regionale si sono stimate densità comprese tra 1000 e 1700000 cell/l sul fondo, e tra 800 e 36800 cell/l in colonna d'acqua. In particolare, la zona che ha fatto riscontrare valori decisamente più alti rispetto a tutti gli altri è quella della provincia barese, da Bisceglie a Mola di Bari. Le altre macroaree costiere pugliesi, quella garganica e soprattutto quella salentina (sia Adriatica che Ionica), sono state solo minimamente interessate al fenomeno (Fig. 2).

In alcuni dei tratti di costa in esame si sono verificati, in concomitanza con le fioriture individuate dal monitoraggio, alcuni casi di patologie riconducibili alla presenza di palitossine nell'aereosol marino, ampiamente riportati dai mass-media nonché certificati da informative ufficiali. Mettendo in relazione questi ultimi episodi con le densità cellulari, l'analisi preliminare dei dati evidenzia che l'eventuale impatto sulla salute pubblica si possa verificare quando la concentrazione della microalga superi dei valori soglia, che possono essere stimati in circa 300.000-400.000 cell./l in prossimità del fondo e circa 15.000-20.000 cell./l nella colonna d'acqua (peraltro nei casi in cui le condizioni meteo-marine erano favorevoli alla formazione di aereosol).

L. BENEDETTI-CECCHI

Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
benedetti@biologia.unipi.it

IDENTIFICAZIONE E MISURAZIONE DI IMPATTO ANTROPICO SUI POPOLAMENTI MARINI: GUARDARE OLTRE LE DIFFERENZE TRA I VALORI MEDI DI ABBONDANZA

DETECTING AND MEASURING ENVIRONMENTAL IMPACTS IN MARINE ASSEMBLAGES: LOOKING BEYOND DIFFERENCES IN MEAN ABUNDANCE

Abstract - *The intensification of human activities on land, along the coasts and at sea and global shifts in climate conditions combine to seriously affect marine ecosystems and the services they provide. Understanding these impacts requires a synthesis of approaches. Here, I discuss the problem of pseudoreplication and suggest two possible ways of implementing environmental impact studies: the use of covariates in the analysis of beyond-BACI designs and the need of focusing on the functional consequences of anthropogenic disturbances. I illustrate these issues with a case study on the effects of marinas on assemblages of rocky shores. A main outcome of these analyses is the unexpected role of the covariance effect in increasing the temporal stability of low-diversity assemblages in disturbed conditions.*

Key-words: *BACI, environmental impact, diversity, stability.*

Introduzione - L'intensificarsi delle attività umane in ambienti terrestri, lungo le coste ed in mare ed i cambiamenti globali costituiscono una seria minaccia per i popolamenti marini costieri (Gray, 1997; Lotze *et al.*, 2006; Airoldi e Beck, 2007; Halpern *et al.*, 2008). Sia i programmi di ricerca che le pratiche gestionali relative ai problemi antropici tendono a focalizzarsi su singole perturbazioni, con il risultato che la comprensione degli effetti cumulativi e spesso sinergici tra le molteplici cause di disturbo rimane oscura. La causalità multipla (Boero, 1994) rende difficile separare gli effetti antropici da variazioni naturali che avvengono indipendentemente dalla presenza umana. La ricerca ecologica negli ultimi 20 anni ha sviluppato concetti e metodiche per separare gli effetti antropici da altre cause di variabilità nei popolamenti naturali. Ci sono sostanzialmente due scuole di pensiero a riguardo. La prima si basa su disegni di campionamento che prevedono la replicazione spaziale e temporale delle misurazioni per quantificare la variabilità naturale, e il confronto tra condizioni antropizzate e di riferimento per separare tale variabilità dall'effetto di specifiche sorgenti di disturbo antropico. Si tratta dei disegni di campionamento e dei relativi metodi di analisi statistica noti come procedure BACI (Before-After/Control-Impact) avanzate (Underwood, 1991, 1992). Queste procedure utilizzano siti multipli di riferimento e si differenziano dalla formulazione originale dei disegni BACI che includono un solo sito di riferimento. La seconda scuola si basa invece sull'utilizzo di modelli statistici e di covariate per prevedere i valori che le variabili ecologiche oggetto di studio (es. abbondanza di popolazioni) assumerebbero nell'area disturbata in assenza di disturbo (Stewart-Oaten e Bence, 2001). La valutazione di impatto viene eseguita in questo caso comparando i dati generati dal modello e quelli osservati nell'area di studio. Le due scuole sono anche indicate rispettivamente come approccio 'design-based' e approccio 'model-based'.

Gli approcci 'design-based' e 'model-based' differiscono in modo sostanziale per quanto riguarda la scelta e l'utilizzo dei siti di controllo, su come stimare la variabilità naturale ed in merito al ruolo dell'inferenza statistica nell'informare sulla presenza o meno di impatto. L'esistenza di approcci così diversi indica che non esiste il metodo

perfetto per lo studio degli effetti antropici sui sistemi ecologici. Ciò non giustifica l'utilizzo di procedure alternative, scientificamente non difendibili; diventa bensì necessario esplorare la possibilità di attingere da entrambi gli approcci.

Progredire nella capacità di identificare e quantificare gli impatti antropici sui popolamenti naturali richiede anche una riflessione sulle variabili da misurare. Gli studi in ambiente marino si sono spesso orientati a valutare cambiamenti nell'abbondanza media di specie (o di gruppi morfo-funzionali) in un contesto univariato e nella struttura (composizione ed abbondanza specifica) dei popolamenti in un contesto multivariato. Solo un numero limitato di studi ha considerato cambiamenti nelle varianze spaziali e/o temporali di valori di abbondanza e di indici di similarità (es. Terlizzi *et al.*, 2005).

Nel complesso, sia i valori medi che le varianze si sono rivelati validi indicatori di impatto in ambiente marino. Le analisi di questi parametri, tuttavia, non forniscono un'indicazione diretta delle conseguenze di un impatto sugli aspetti funzionali del sistema indagato, quali produttività e stabilità. Il rinnovato interesse sulle relazioni tra diversità e funzionamento di sistemi marini richiede l'impiego di variabili che possano informare anche sulle conseguenze funzionali di un impatto. In particolare, sarebbe auspicabile sapere se e come l'eventuale riduzione di diversità in conseguenza di un impatto antropico possa tradursi in una perdita di produttività o di stabilità del popolamento.

Di seguito sono discusse in maggiore dettaglio le differenze tra l'approccio 'design-based' e quello 'model-based' e viene fornito un esempio di analisi di impatto antropico su popolamenti ad alghe ed invertebrati di costa rocciosa esaminando le relazioni tra diversità e stabilità.

Approcci 'design-based' e 'model-based' per l'analisi di impatto – I metodi BACI avanzati si basano sui principi di disegno sperimentale e per questo sono definiti come 'design-based'. Tali principi stabiliscono le modalità di scelta ed utilizzo dei siti di riferimento, permettono di ovviare a problemi di pseudoreplicazione (Hurlbert, 1984), di condurre analisi di impatto a scale spaziali e temporali multiple ed inoltre disciplinano l'uso di metodi statistici per la ripartizione della variabilità e per l'analisi di ipotesi. Sebbene una trattazione dettagliata di questi aspetti esuli dallo scopo del presente lavoro (una sintesi è fornita da Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003), il problema della pseudoreplicazione sembra affliggere ancora oggi molti studi di impatto e richiede ulteriore attenzione. Il problema consiste nella mancanza di replicazione alla scala spaziale e/o temporale appropriata per esaminare l'ipotesi di interesse specifico. Un esempio comune di pseudoreplicazione nel contesto di studi di impatto è il confronto tra un sito disturbato ed un singolo sito di riferimento. Anche qualora le variabili di interesse (es. le abbondanze delle specie bentoniche) venissero misurate su più campioni in ciascun sito, il confronto tra il sito disturbato e quello di riferimento non permetterebbe di separare l'effetto antropico da altre sorgenti di variazione che contribuiscono a rendere i due siti diversi. I popolamenti di due siti qualunque, anche se simili per caratteristiche generali (natura del substrato, esposizione al moto ondoso ecc.) possono infatti differire per molteplici fattori (importanza del reclutamento, variazioni nell'intensità delle interazioni biotiche, fattori abiotici non meglio precisati), indipendentemente dall'azione umana. I campioni non sono le vere repliche (sono appunto pseudorepliche) per esaminare l'ipotesi che il disturbo antropico è la causa di impatto. Il livello appropriato di replicazione per valutare tale ipotesi è quello del sito! Lo studio dovrebbe quindi prevedere più siti di riferimento per quantificare la variabilità del sistema indipendentemente dal particolare effetto antropico esaminato, così da controllare possibili sorgenti di confusione spaziale nella valutazione di impatto.

Un esempio di pseudoreplicazione nel tempo consiste nell'analisi della stagionalità

con una sola data di campionamento per stagione. Il livello di replicazione adeguato per valutare l'ipotesi di variazioni stagionali è quello della data (cioè la replicazione temporale interna alle stagioni), non i campioni prelevati in ciascuna data. Solo campionando più date in ciascuna stagione è possibile stimare la variabilità naturale tra date e quindi separare tale variabilità dall'effetto stagione. Con una sola data per stagione ci troviamo di fronte al problema che si confrontano sia date che stagioni diverse, per cui non è possibile separare il contributo delle due sorgenti di variabilità.

L'utilizzo dei principi di disegno sperimentale su cui si appoggiano le procedure BACI avanzate è stato criticato nel contesto della valutazione di impatto da Stewart-Oaten e Bence (2001). In particolare, la teoria sottostante la progettazione di esperimenti e l'analisi di ipotesi classica richiedono che le unità sperimentali siano derivate da popolazioni statistiche di tali unità e siano assegnate ai trattamenti ed ai controlli in modo totalmente casuale. Nel contesto ambientale questo equivale ad una allocazione casuale dei siti di studio alle condizioni disturbata e di riferimento. Ciò è ovviamente impossibile in quanto i siti disturbati non sono mai il risultato di un processo di selezione casuale, bensì di scelte specifiche dettate da considerazioni di natura umana. Stewart-Oaten e Bence (2001) raccomandano l'approccio 'model-based' dove i siti di riferimento sono deliberatamente scelti per essere correlati con il sito disturbato. In questo contesto l'effetto antropico viene generalmente valutato come differenza nelle traiettorie temporali della variabile di risposta fra la condizione di riferimento e quella disturbata, utilizzando le caratteristiche del sito di riferimento (es. variabili abiotiche come esposizione al moto ondoso oppure la posizione geografica) come covariate in un modello di regressione. In questo caso i siti di riferimento sono effettivamente trattati come covariate anziché come unità sperimentali come invece accade nell'approccio 'design-based', e servono per incrementare l'accuratezza e la precisione nella stima dell'effetto antropico.

Dato che la funzione dei siti di riferimento secondo Stewart-Oaten e Bence (2001) non è quella di stimare la naturale variabilità spaziale tra siti, come invece avviene nelle procedure BACI avanzate, l'approccio 'model-based' non richiede la replicazione dei siti di riferimento: un solo sito è sufficiente allo scopo. Stewart-Oaten e Bence (2001), tuttavia, riconoscono che includere più siti di riferimento nell'analisi di impatto è desiderabile in quanto aumenta l'accuratezza e la precisione con cui viene stimato l'effetto delle covariate incluse nel modello di analisi. Nonostante questa precisazione, Stewart-Oaten e Bence (2001) ritengono che con l'approccio 'model-based' sia possibile valutare l'effetto antropico anche in assenza di siti di riferimento. Ciò necessita di una serie temporale di misurazioni della variabile di risposta comprendente sia il periodo antecedente che quello successivo all'insorgenza del disturbo antropico. I dati del periodo antecedente il disturbo sono utilizzati per stimare i parametri di un modello plausibile di variazione temporale della variabile misurata (ad esempio un modello autoregressivo) ed il modello viene utilizzato per prevedere i valori della variabile nel periodo successivo il disturbo. La valutazione di impatto avviene comparando i valori previsti dal modello con quelli osservati.

La critica di Stewart-Oaten e Bence (2001) al criterio 'design-based', secondo cui la selezione dei siti disturbati non è mai casuale e ciò può inficiare le successive considerazioni probabilistiche relative all'ipotesi di impatto, è condivisibile. La soluzione proposta dal criterio 'model-based', tuttavia, non è priva di problemi. In particolare, l'utilizzo di un solo sito di riferimento (o la totale assenza di riferimenti) è discutibile sulla base del fatto che eventuali differenze tra il dato osservato e quello previsto possono riflettere l'influenza di fattori non considerati dal modello postulato. Ad esempio, eventuali differenze tra il sito disturbato e quello di riferimento possono riflettere processi diversi dal disturbo antropico che hanno agito esclusivamente nell'una o nell'altra condizione (es. un massiccio evento di reclutamento che avviene solo nel sito di riferimento). Analogamente, in assenza di siti di riferimento, eventuali differenze

tra la condizione antecedente e quella successiva l'insorgenza del disturbo antropico possono riflettere l'effetto di altri processi che hanno agito in concomitanza con l'intervento umano (es. un improvviso apporto di sostanza organica). Sostanzialmente l'approccio 'model-based' espone la procedura di valutazione di impatto agli stessi problemi di interpretazione sulla natura causale dei fenomeni osservati, già illustrati trattando il problema della pseudoreplicazione. Tali problemi sono ovviati soltanto con un'opportuna replicazione dei siti di riferimento, come praticato nelle procedure BACI avanzate. Risulta chiaro quindi che i siti di riferimento svolgono un ruolo fondamentale diverso nei due approcci; si rimanda a Bulleri (questo volume) per una trattazione più approfondita sul ruolo e sui criteri di scelta dei siti di riferimento nelle applicazioni BACI avanzate.

L'utilizzo di variabili ambientali come covariate per ridurre l'influenza di fattori indesiderati ed aumentare così la precisione e l'accuratezza nelle stime degli effetti antropici è certamente un aspetto importante nella valutazione di impatto. Fortunatamente l'impiego di covariate non è limitato all'approccio 'model-based', ma può essere incorporato nelle applicazioni 'design-based' come le procedure BACI avanzate. Un esempio di tale applicazione è stato proposto da Benedetti-Cecchi e Osio (2007) sulle differenze nei popolamenti ad alghe ed invertebrati di battigia tra scogliere prospicienti Porto Santo Stefano (PS) e Porto Ercole (PE) e scogliere di riferimento lontane dall'influenza di tali porti, lungo il promontorio del Monte Argentario (GR) (Fig. 1).

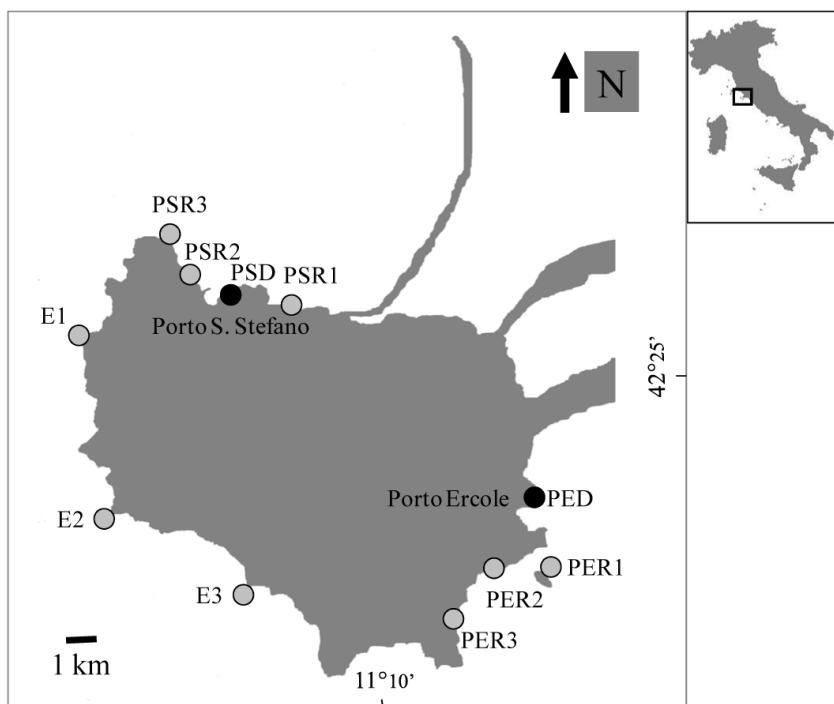


Fig. 1 - Dislocazione delle coste rocciose selezionate per comparare la condizione disturbata (D) a Porto Santo Stefano (PS) e Porto Ercole (PE) con le condizioni di riferimento (R) ed esposta (E) interno al promontorio del Monte Argentario.

Distribution of the rocky shores used to compare the disturbed (D) condition at Porto Santo Stefano (PS) and Porto Ercole (PE) with reference (R) and exposed (E) conditions around the promontory of Monte Argentario.

Lo studio comprendeva tre coste di riferimento per ciascuna costa esposta alle attività portuali (una costa consisteva in un tratto di litorale di circa 50 m). Sul versante di PS le tre coste di riferimento erano opportunamente intersperse intorno alla costa disturbata (cioè quella esposta alle attività portuali), mentre a PE tutte e tre le coste di riferimento erano in condizioni di maggiore esposizione all'idrodinamismo rispetto a quella disturbata (non erano disponibili coste di riferimento sul versante protetto della costa disturbata). Per quantificare eventuali differenze nella struttura dei popolamenti dovute alla posizione geografica sul promontorio, il disegno di campionamento includeva altre tre coste sul versante sud-occidentale del Monte Argentario, quello più esposto all'idrodinamismo. Ciascuna costa è stata visitata in 10 occasioni nel corso di tre anni; in ciascuna occasione sono state stimate le abbondanze di alghe ed invertebrati in modo non distruttivo a ciascuna di due altezze sulla battigia, mediante l'utilizzo di quadrati di 20×20 cm, con 8 repliche per altezza (Benedetti-Cecchi e Osio, 2007). Questo disegno di campionamento ha permesso di valutare oltre a possibili differenze tra coste disturbate e coste di riferimento, eventuali differenze di posizione intorno al promontorio. Per le variabili che mostravano differenze di posizione, verosimilmente legate alla diversa esposizione al moto ondoso, le analisi venivano ripetute utilizzando la posizione geografica delle coste come covariata. In questo modo è stato possibile esaminare eventuali differenze tra coste disturbate e coste di riferimento, controllando per eventuali effetti dovuti alla diversa esposizione e posizione geografica. Questo esempio illustra la possibilità di combinare in una singola analisi sia le proprietà dell'approccio 'design-based', che ripartisce la variabilità naturale (o comunque indesiderata) tra siti disturbati e siti di riferimento, con l'utilizzo di covariate che compensano per la mancata attribuzione casuale dei siti alle due condizioni. Il risultato è un aumento di precisione ed accuratezza nella stima degli effetti antropici e quindi una maggiore capacità di separare tali effetti da altre cause di variazione spaziale e temporale delle variabili di risposta.

Effetti del disturbo antropico sulle relazioni diversità-stabilità – L'idea che i popolamenti maggiormente ricchi di specie siano anche più stabili (cioè meno variabili nel tempo e più resistenti al disturbo e all'invasione), come teorizzato da Odum (1953), McArthur (1955) ed Elton (1958), è uno dei paradigmi classici dell'ecologia. La recente enfasi sulle relazioni tra biodiversità e funzionamento dei sistemi naturali ha anche ravvivato l'interesse sulle relazioni tra diversità e stabilità. Vi è una teoria piuttosto evoluta su tali relazioni per quanto riguarda variabili aggregate, cioè variabili che riassumono le caratteristiche generali di un popolamento, come la produttività e l'abbondanza totale di organismi. Vi sono tre meccanismi fondamentali che sottintendono la relazione diversità-stabilità: il meccanismo probabilistico noto come 'statistical averaging', l'effetto 'overyielding' e l'effetto 'covarianza' (Doak *et al.*, 1998; Tilman *et al.*, 1998; Tilman, 1999; Lehman e Tilman, 2000; Cottingham *et al.*, 2001). Per comprendere lo 'statistical averaging' occorre ricordare che se x è una variabile casuale, allora la varianza $\text{Var}(x/n) = \text{Var}(x)/n^2$. Da questa relazione si evince che se l'abbondanza media di una specie qualunque i , x_i , si riduce di metà, la sua varianza si riduce di un quarto. Assumendo che l'abbondanza totale (o la copertura) di organismi in un popolamento è costante ed indipendente dal numero di specie (assunzione realistica per i sistemi bentonici dove lo spazio è spesso saturato anche nel caso di popolamenti con poche specie), l'abbondanza media della i esima specie x_i deve diminuire all'aumentare della ricchezza specifica (a parità di risorse è legittimo attenderci che con l'aumentare del numero di specie le abbondanze relative diminuiscano). Ne consegue che anche la varianza della i esima specie, σ_i^2 , deve diminuire in modo più che proporzionale all'aumentare della ricchezza specifica. L'effetto globale è che il contributo alla varianza totale dato dalla somma delle varianze delle singole specie

diminuisce con l'aumentare della ricchezza specifica, determinando così una maggiore stabilità (minore varianza) della variabile aggregata. Lo 'statistical averaging' è quindi una conseguenza della relazione esistente tra media e varianza tipica di variabili come le misure di abbondanza e di produttività.

Il termine 'overyielding' è stato introdotto in ecologia dagli ecologi terrestri per indicare l'incremento della biomassa media di una specie (in genere la specie più produttiva) con l'aumentare della ricchezza specifica, in conseguenza di un migliore utilizzo delle risorse disponibili che sarebbe garantito da un'elevata diversità. Nel contesto diversità-stabilità il termine 'overyielding' indica l'effetto positivo della diversità specifica sul valor medio di biomassa totale di un popolamento (calcolata quindi su tutte le specie). Per i dettagli e gli aspetti analitici si rimanda a Tilman (1999).

I due meccanismi sopra descritti assumono che le specie fluttuano nel tempo in modo indipendente. Questa assunzione è chiaramente poco realistica: specie che competono intensamente per le risorse in genere mostrano fluttuazioni asincrone (quando un competitore aumenta in abbondanza l'altro diminuisce), generando una covarianza negativa nei valori di abbondanza; specie che rispondono in modo simile a variazioni ambientali possono invece fluttuare in modo sincrono e quindi generare covarianze positive. L'entità ed il segno positivo o negativo delle covarianze tra specie influenzano la relazione diversità-stabilità. Ciò è spiegabile invocando dalla teoria delle probabilità il principio secondo cui la varianza di una variabile aggregata è uguale alla somma delle varianze delle variabili casuali che la compongono più il doppio della somma delle loro covarianze (Feller, 1950). Quindi, per un popolamento di N specie, l'abbondanza totale ottenuta dalla somma delle abbondanze delle singole specie ($x_1 + x_2 + \dots + x_N$) avrà varianza:

$$\sigma_{agg}^2 = \sum_{i=1}^N \sigma_i^2 + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \text{cov}(i,j) \quad (1)$$

dove σ_{agg}^2 è la varianza della variabile aggregata, σ_i^2 è la varianza della i esima specie e $\text{cov}(i,j)$ è la covarianza tra la specie i e la specie j . La relazione positiva tra diversità e stabilità richiede che le varianze delle singole specie e/o le covarianze diminuiscano con l'aumentare del numero di specie in un popolamento. La riduzione della varianza delle singole specie all'aumentare della diversità è, come abbiamo già visto, una aspettativa legittima come conseguenza dello 'statistical averaging'. L'entità ed il segno delle covarianze, invece, dipende dalle caratteristiche delle specie, come esse rispondono alle fluttuazioni ambientali e come interagiscono tra loro, e quindi non è prevedibile a priori.

In che modo i diversi termini che appaiono in Eq. (1) influenzano la relazione diversità-stabilità? Vasseur e Gaedke (2007) hanno notato che se le specie fluttuano indipendentemente (covarianza nulla), il rapporto tra la varianza della variabile aggregata e la somma delle varianze delle singole specie, $\sigma_{agg}^2 = \sum_{i=1}^N \sigma_i^2$, è una misura dello 'statistical averaging'. Se si assume una relazione esponenziale della distribuzione rango-abbondanza delle specie, della forma $x_i = x_1 \exp[-a(i-1)]$, dove x_1 indica la specie più abbondante ed a è il coefficiente che determina il tasso con cui i valori di abbondanza diminuiscono all'aumentare del rango, è possibile ottenere una stima indipendente dello 'statistical averaging' come:

$$\text{EVRt} = \left[\frac{(1-e^{-a})(1+e^{-aN})}{(1+e^{-a})(1-e^{-aN})} \right]^{1/2}, \quad (2)$$

dove EVRt è l'abbreviazione di 'Explained Variance Ratio threshold' (Vasseur e Gaedke, 2007). EVRt misura l'effetto delle varianze assumendo che le specie siano indipendenti (covarianza nulla) e rappresenta la soglia che demarca le fluttuazioni sincrone (covarianze positive) da quelle asincrone (covarianze negative). In contrapposiz-

ione, il rapporto $\sigma^2_{\text{agg}}/\sum_{i=1}^N \sigma^2_i$ stimato dall'Eq. (1), denominato 'Explained Variance Ratio' (abbreviato come EVR) da Vasseur e Gaedke (2007), include sia il contributo delle varianze che quello delle covarianze dovute alle fluttuazioni in abbondanza delle singole specie. La differenza $\Delta\text{EVR}=\text{EVR}-\text{EVR}_t$ indica se la covarianza contribuisce ad incrementare (ΔEVR positivo) o a diminuire (ΔEVR negativo) la variabilità nella variabile aggregata. ΔEVR è quindi una misura dell'effetto 'covarianza'. È importante notare che per comparare le variazioni temporali di taxa con valori di abbondanza molto diversi, le varianze e le covarianze sono stimate esprimendo il dato di partenza

su scala logaritmica. In questo modo il rapporto $\sigma^2_{\text{agg}}/\sum_{i=1}^N \sigma^2_i$ derivato dalla Eq. (1) misura effettivamente l'effetto 'covarianza'.

Eventi di disturbo antropico che influenzano la ricchezza specifica, hanno la potenzialità di alterare anche la variabilità di misure aggregate come l'abbondanza totale o la produttività, agendo su uno o più meccanismi che sottintendono la relazione diversità-stabilità. A scopo illustrativo si riportano di seguito i risultati di un'analisi basata sui dati dell'esempio precedente relativo all'effetto dei porti turistici sul monte Argentario (Benedetti-Cecchi e Osio, 2007). Dato che il campionamento si è protratto per tre anni, i dati si prestano ad un'analisi temporale della variabilità nelle misure di abbondanza di ciascuno dei taxa rilevati dal campionamento e la variabilità nella misura aggregata rappresentata dalla copertura totale (la somma dei ricoprimenti dei singoli taxa). Anche se le coperture sono espresse in percentuale, i valori totali possono eccedere il 100% nel caso di popolamenti disposti su più strati. Le Eq. (1) e (2) sono state utilizzate per stimare EVR, EVR_t e ΔEVR separatamente per ciascuna costa. Le varianze temporali sono state stimate utilizzando un modello lineare generalizzato. Non è stato possibile trasformare il dato di partenza su scala logaritmica per la presenza di zeri. L'alternativa di trasformare i dati aggiungendo una costante [es. $x'=\log(x+1)$] non è appropriata in questo contesto, in quanto si può determinare una distorsione della relazione tra abbondanze. Il vantaggio di utilizzare modelli di analisi generalizzati è quello di poter specificare varie distribuzioni dei termini residui per esprimere il dato su una scala desiderata, senza doverlo trasformare in partenza. La distribuzione di 'poisson', ad esempio, permette di stimare le varianze e covarianze su scala logaritmica. Nel nostro caso è stata scelta una distribuzione 'quasipoisson' per i termini residui, per cui la varianza non deve essere necessariamente uguale alla media (come invece accade con la distribuzione di 'poisson'). La distribuzione 'quasipoisson' è appropriata per dati in cui la varianza è maggiore della media, come nel nostro caso. L'esame della distribuzione dei termini residui successiva alle analisi indicava che l'assunzione era ragionevole, nonostante i dati di partenza fossero espressi come coperture percentuali anziché come conteggi (il tipo di dato generalmente distribuito secondo 'poisson').

I risultati delle analisi (Fig. 2) rivelano che le coste disturbate di PS e PE hanno un numero medio di taxa per quadrato inferiore rispetto alle coste di riferimento. Tuttavia, nonostante il ridotto numero, i taxa delle coste disturbate mostrano un'elevata asincronia nelle fluttuazioni temporali che generano covarianze negative e bassi valori di ΔEVR . Tali valori sono decisamente inferiori rispetto a quelli osservati sulle altre coste, indicando che l'effetto 'covarianza' svolge un ruolo fondamentale nello stabilizzare la copertura totale dei popolamenti sulle coste disturbate. Utilizzando una procedura di 'bootstrap' (con 4999 ripetizioni), la differenza tra il ΔEVR medio delle coste disturbate e quello delle altre coste è -0.172, con un intervallo di confidenza corretto di -0.2822, -0.0894. L'intervallo di confidenza non include lo zero, indicando che la differenza tra il ΔEVR delle coste disturbate è significativamente inferiore a quello

delle altre coste. Da notare, infine, che il ruolo della covarianza nello stabilizzare i popolamenti è simile per le coste di riferimento (ad eccezione di una costa a PS) e quelle esposte, anche se quest'ultime supportano un maggior numero di taxa.

Conclusioni - Sebbene siano passati oltre 20 anni dalla pubblicazione del lavoro di Hurlbert (1984), sembra che il problema della pseudoreplicazione non sia stato ancora ben compreso dalla comunità ecologica e certamente non ha rilevanza nella definizione delle normative giuridiche che disciplinano i piani di campionamento per le valutazioni di impatto ecologico. È auspicabile che gli ecologi in generale - e gli ecologi marini in particolare - prendano posizione per far recepire al legislatore i principi logici basilari del disegno di campionamento ed includerli tra i requisiti necessari per gli studi di valutazione di impatto. La correttezza nella progettazione di

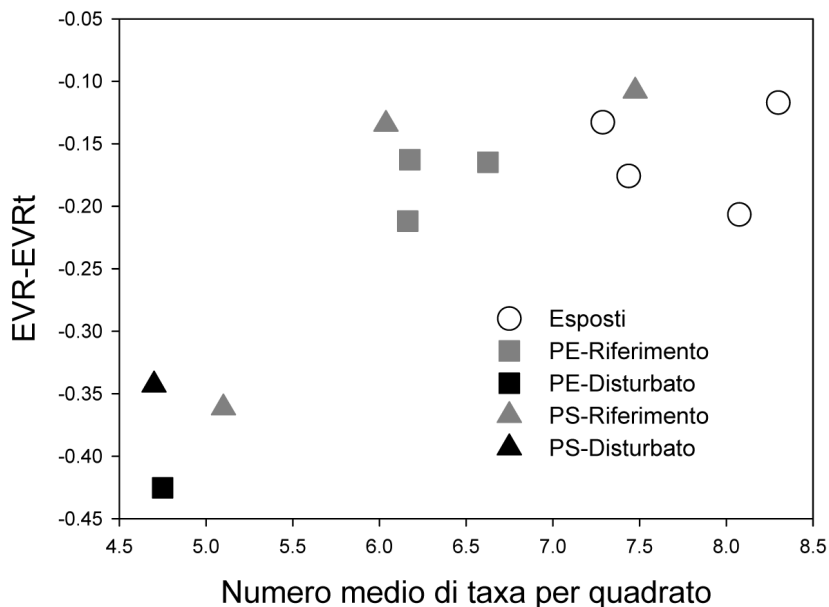


Fig. 2 - Andamento dei valori di ΔEVR per le coste intorno al promontorio del Monte Argentario.
Patterns in ΔEVR values for the rocky shores around the promontory of Monte Argentario.

un disegno di campionamento, cioè la dovuta attenzione ai problemi di confusione spaziale e temporale nell'analisi di ipotesi, è di fondamentale importanza per il progresso conoscitivo nelle discipline ecologiche. È solo attraverso il corretto utilizzo degli strumenti logici ed analitici che sottintendono le procedure 'design-based' e 'model-based' che è possibile generare una conoscenza solida e scientificamente

relativamente agli effetti antropici sui popolamenti naturali. È questo a mio avviso il modo migliore con cui gli ecologi marini possono contribuire al perseguimento degli obiettivi definiti dalle varie direttive Europee per la tutela dell'ambiente marino (Water framework directive, EU Marine Strategy Directive, Action Plan to Halting the Loss of Biodiversity by 2010, European Maritime Policy, ecc.). Se il campionamento è adeguato per gli obiettivi prefissati, è possibile a posteriori lavorare sui dati per cercare di identificare gli indicatori di impatto più appropriati sulla base di criteri chiari, quali la sensibilità, l'efficienza e la consistenza. Se il campionamento non è adeguato, non

ci sarà sofisticazione statistica né frenesia da genesi di indicatori che potrà risolvere il problema.

In questo lavoro sono state descritte brevemente alcune delle problematiche che intervengono nell'analisi di impatto antropico. Abbiamo visto che non esiste il metodo perfetto, ma che ci sono procedure perfettibili. Entro certi limiti è possibile attingere dai principi delle diverse scuole di pensiero per addivenire a procedure di valutazione di impatto più accurate e precise. Se il disegno di campionamento svolge un ruolo fondamentale nel separare l'influenza antropica da altre sorgenti di variazione, l'impiego di covariate nella fase di analisi dei dati aumenta l'accuratezza e la precisione con cui i parametri sottostanti al modello di analisi sono stimati e quindi nella conclusione in merito all'esistenza o meno di un impatto.

Oltre alla qualità del disegno di campionamento, la valutazione degli effetti antropici sui sistemi ecologici dipende anche dalla natura delle variabili di risposta misurate. Tradizionalmente, le variabili di risposta considerate negli studi di impatto sono rappresentate dai valori medi di abbondanza di organismi o, più raramente, da misure di variazione spaziale e/o temporale. In questo lavoro è stata puntualizzata la necessità di associare a tali variabili anche misurazioni in grado di descrivere in modo più puntuale le conseguenze funzionali di un impatto, come la produttività o la stabilità del sistema indagato. A tale scopo sono stati riepilogati brevemente i principi teorici alla base del paradigma secondo cui i popolamenti più diversificati sono anche più stabili. Inoltre è stato fornito un esempio dell'applicazione di tali principi ad un caso reale di studio di impatto antropico. I risultati mostrano che anche in condizioni disturbate, in cui la diversità biotica è ridotta rispetto ai riferimenti, la copertura totale dei popolamenti può rimanere stabile grazie alle fluttuazioni asincrone dei taxa presenti, cioè all'effetto 'covarianza'. Quindi, oltre a mostrare differenze tra coste disturbate e coste di riferimento, supportando l'ipotesi di impatto, le analisi rivelano che il paradigma secondo cui una maggiore diversità implicherebbe anche maggiore stabilità può essere smentito dall'effetto 'covarianza'. La crescente pressione esercitata dalle varie attività antropiche sui sistemi ecologici marini e terrestri necessita di una maggiore attenzione alle conseguenze funzionali di tali attività. Ciò richiede lo sforzo di guardare oltre le differenze tra i valori medi di abbondanza di specie negli studi di impatto.

Bibliografia

- AIROLDI L., BECK M.B. (2007) - Loss, status, and trends for coastal marine habitats of Europe. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **45**: 347-407.
- BENEDETTI-CECCHI L., OSIO G.C. (2007) - Replication and mitigation of effects of confounding variables in environmental impact assessment: effects of marinas on rocky-shore assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **334**: 21-35.
- BENEDETTI-CECCHI L., AIROLDI L., FRASCHETTI S., TERLIZZI A. (2003) - Metodi sperimentali per la valutazione di influenze antropiche sui popolamenti marini costieri. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl.): 485-508.
- BOERO F. (1994) - Fluctuations and variations in coastal marine environments. *P.S.Z.N.I: Mar. Ecol.*, **15**: 3-25.
- COTTINGHAM K.L., BROWN B.L., LENNON J.T. (2001) - Biodiversity may regulate the temporal variability of ecological systems. *Ecol. Lett.*, **4**: 72-85.
- DOAK D.F., BIGGER D., HARDING E.K., MARVIER M.A., O'MALLEY R.E., THOMSON D. (1998) - The statistical inevitability of stability-diversity relationships in community ecology. *Am. Nat.*, **151**: 264-276.
- FELLER W. (1950) - *An introduction to probability theory and its applications*. 3rd Edition. Wiley & Sons Inc., New York, USA: 509 pp.
- ELTON C.S. (1958) - *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Wiley, London, U.K.: 196 pp.
- GRAY J.S. (1997) - Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs. *Biodiversity and Conservation*, **6**: 153-175.

- HARPER B.S., WALBRIDGE S., SELKOE A.K., KAPPEL C.V., MICHELI F. *et al.* (2008) - A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, **319**: 948-952.
- LOTZE H.K., LENIHAN H.S., BOURQUE B.J., BRADBURY R.H., COOKE R.G. *et al.* (2006) - Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*, **312**: 1806-1809.
- MCARTHUR R.H. (1955) - Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology*, **36**: 533-536.
- LEHMAN C., TILMAN D. (2000) - Biodiversity, stability and productivity in competitive communities. *Am. Nat.*, **156**: 534-552.
- ODUM E.P. (1953) - *Fundamentals of Ecology*. Saunders, Philadelphia: 384 pp.
- TILMAN D. (1999) - The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. *Ecology*, **80**: 1455-1474.
- TILMAN D., LEHMAN C.L., BRISTOW E. (1998) - Diversity-stability relationships: statistical inevitability or ecological consequence? *Am. Nat.*, **151**: 277-282.
- STEWART-OATEN A., BENICE J.R. (2001) - Temporal and spatial variation in environmental impact assessment. *Ecol. Monogr.*, **71**: 305-339.
- TERLIZZI, A., BENEDETTI-CECCHI, L., BEVILIACQUA S., FRASCHETTI, S., GUIDETTI, P., ANDERSON M.J. (2005) - Multivariate and univariate asymmetrical analyses in environmental impact assessment: a case study of Mediterranean subtidal sessile assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **289**: 27-42.
- UNDERWOOD A.J. (1991) - Beyond BACI: experimental designs for detecting human impacts on temporal variations in natural populations. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.*, **42**: 569-587.
- UNDERWOOD, A.J. (1992) - Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *J. Exp. Mar. Biol.Ecol.*, **161**: 145-178.
- UNDERWOOD A.J. (1993) - The mechanism of spatially replicated sampling programmes.
- VASSEUR D.A., GAEDKE U. (2007) - Spectral analysis unmasks synchronous and compensatory dynamics in plankton communities. *Ecology*, **88**: 2058-2071.

L. AIROLDI, D. BALATA, M.W. BECK*

Lab. di Ecologia Sperimentale, Dip. di Biologia Evoluzionistica Sperimentale e Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali in Ravenna, Università di Bologna
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.

laura.airoldi@unibo.it

*The Nature Conservancy and Institute of Marine Sciences, 100 Shaffer Road-LML, Univ. of California, Santa Cruz, California 95060, USA.

QUANTIFYING THE EFFECTS OF HABITAT LOSS ON MARINE DIVERSITY

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DELLA PERDITA DI HABITAT SULLA DIVERSITÀ MARINA

Abstract - We explore the multiple ways habitat loss affects marine species diversity, and propose a conceptual model that identifies the main interactions and feedbacks between these processes. The loss of habitat structure generally leads to lower abundances (biomasses) and often to declines in species richness. There is often also a suite of colonizing species that prosper from these transitions. These sets of expanding species can amplify the changes to the system, cause variable effects on species richness and other components of diversity, feed back to affect the various components of habitat loss (e.g. maintain new environmental conditions) and prevent the recovery of the system. Less well studied are the effects on between-habitat diversity and functional diversity. We argue that we need to understand these latter changes to better manage and conserve the structure and function of ecosystems and the diverse services that humans continue to expect from them.

Key-words: habitat loss, species diversity, marine systems, conservation.

Introduction - Structurally complex habitats are becoming rarer across temperate marine environments at local, regional and global scales. In Europe, it is estimated that for each day between 1960 and 1995, a kilometre of coastline was developed, causing losses of coastal wetlands and seagrasses exceeding 50% of original area with peaks above 80% for many regions (Airoldi & Beck 2007). Conspicuous declines, sometimes to virtual local extinction of kelps and other complex macroalgae have been observed in several countries around the world (Benedetti-Cecchi *et al.*, 2001). Biogenic temperate reefs are probably among the most threatened habitats globally (Roberts & Hirshfield, 2004; Airoldi & Beck, 2007), and much of the continental shelf and some deeper ocean seafloors have been homogenized by bottom trawling and dredging (Thrush & Dayton, 2002). Habitat loss, however, is not as much a focus of marine science and conservation as in terrestrial environments. We argue this is due to the fact that the consequences of habitat loss in the marine realm are not fully explored. We explore the multiple ways habitat loss affects marine diversity based on available information from the scientific literature, and propose a conceptual model that identifies the main interactions and feedbacks between these processes. We also discuss how this work can focus efforts in research, conservation and management.

Definitions - Here 'habitat' indicates a focus on the predominant features that create structural complexity in the environment, such as plants (e.g., seagrass meadows, kelp forests), or animals (e.g. oyster reefs, burrowing fauna in sandflats), and 'loss' indicates a focus on a measurable reduction in habitat abundance and distribution (Airoldi & Beck, 2007). Frequently, the loss also initiates a transition from a more complex to a less complex habitat, e.g., shellfish reefs or seagrasses are dredged and mud or sandflats are created, or perennial macroalgal canopies are lost leaving space to turf-forming algae. The most common usage of species 'diversity' refers to the number of species in a given area of habitat (species richness) and on their rela-

tive abundances. There are other fundamental but often overlooked components of diversity (Gray, 1997), related to species composition (i.e. species are not equivalent from a conservation point of view), between-habitat diversity (where the focus is on boundaries between habitats) and functional diversity (where the focus is on the range of functional traits of organisms).

Relationships between habitat loss and species diversity - Based on available information from the literature, we propose an hypothetical model that synthesizes the complex direct and indirect effects of habitat loss and replacement on the components of species diversity at a community level. In this model we identify:

1) The major components of habitat loss. Studies generally identify three major components of habitat loss, that are: (a) the loss of resident species. Communities consist of species that differ greatly in their ecology and how they respond to habitat loss. The major threats are reported for species that have narrow distributions up to being exclusive to certain habitats (Thrush *et al.*, 2006); (b) the loss of food resources. Seagrass meadows, kelp forests and other biogenic habitats are known to be highly productive compared to structurally simpler habitats such as sandy flats. They export vast quantities of carbon, nitrogen and phosphorus to coastal food webs either through direct transfer of animal biomass (i.e. predation, movements of individuals) or outwelling of dissolved and particulate organic matter. There is evidence that the loss of these food resources can affect negatively the productivity of individual species or groups of species, with effects that are likely to propagate along food chains (Jackson *et al.*, 2001; Graham, 2004; Dobson *et al.*, 2006); (c) the loss of ecosystem functions and properties related to the influence of the habitat on the environment. Structurally complex habitats strongly shape the physical environment, e.g. by modifying light conditions, hydrodynamism, sedimentation, providing shelter and refuges, and buffering the effects of disturbances. When these habitats are lost, many of these functions are also lost (Dobson *et al.*, 2006) but direct research to quantify these effects and the underlying mechanisms is surprisingly scarce.

2) The consequences of these losses on species diversity. The main reported effects of marine habitat loss are reductions in overall abundance and biomass often associated with declines in species richness although these latter effects are much less studied. Frequently, the biological and environmental changes determined by the loss of native habitats promotes the colonization or expansion of sets of species that seem to do well in the new disturbed conditions. One example is the expansion of turf-forming, filamentous or other ephemeral seaweeds following the regression of algal canopies in many regions worldwide. Colonizing species sometimes also include aliens (Galil, 2007), that tend to invade disturbed environments more easily than undisturbed environments (Britton-Simmons, 2006). These sets of expanding species can amplify the changes to the system, cause variable effects on species richness and other components of diversity, feed back to affect the various components of habitat loss (e.g. maintain new environmental conditions) and prevent the recovery of the system, but these effects are largely overlooked.

3) The resulting large-scale homogenization of marine systems. At large spatial scales the loss of habitat can be rendered as a biotic homogenization. Biotic homogenization occurs as a reduction in overall structural complexity, native biota, functional traits and the expansion of few widespread and less complex broadly tolerant biota (McKinney & Lockwood, 1999). The biotic homogenization amplifies and at the same time is amplified by the homogenization of environmental conditions which is occurring globally via direct and indirect anthropogenic effects, such as replacing wetlands with aquaculture ponds or through largescale increases of turbidity and nutrients. Lotze *et al.*, 2006) illustrate the consequences of these feedback among anthropogenic activities, habitat loss and biotic-environmental homogenization in a dozen estuaries globally.

Conclusions - Habitat loss leads to many significant changes in composition, species richness and abundance. While these effects are being increasingly recognised and studied, the declines in between-habitat and functional diversity have been overlooked. Current research on habitat loss also tends to overlook the possible synergic problems caused by the parallel local, regional and global expansion of small and previously less abundant species, with a clear trend towards generalistic, opportunistic and/or invading traits. The ultimate effects and feedbacks of the overall simplification and homogenization of marine seafloors on ecosystems functions are largely unexplored in marine systems. These ecosystem functions are critical and closely tied to the delivery of ecosystem services to humans. The conservation of coastal and marine habitats has been driven in part by the effects of habitat loss on declines in species richness, which has been one of the major focus of recent research (Wolff, 2000). However, looking at the effects of habitat loss just on species richness is not sufficient. For example, estuaries are characterized by relatively low richness but are extremely productive and unique systems and they provide some of the most substantial services to human through their ecosystem functions (e.g., Gray, 1997; Costanza *et al.*, 2003). Recently developed models also suggest that the loss of ecological functions that occurs as habitats are lost can be disproportionately greater than what would be predicted from a decline in species richness (Dobson *et al.*, 2006; Thrush *et al.*, 2006). This is because the species that are most lost are not randomly distributed among ecological and functional categories, but include large, specialist species that often affect disproportionately the biological and physical environment. While the general appreciation of ecosystem functions and services can help bolster the impetus for action, we need better science on effects of habitat loss on species diversity and functions to inform decisions. With this understanding we can begin to better prioritize and manage coastal habitats based on the functions and services they provide.

References

- AIROLDI L., BECK W.M. (2007) - Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **45**: 345-405.
- BENEDETTI-CECCHI L., PANNACCIULLI F., BULLERI F., MOSCHELLA P.S., AIROLDI L., RELINI G., CINELLI F. (2001) - Predicting the consequences of anthropogenic disturbance: large-scale effects of loss of canopy algae on rocky shores. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **214**: 137-150.
- BRITTON-SIMMONS K.H. (2006) - Functional group diversity, resource preemption and the genesis of invasion resistance in a community of marine algae. *Oikos*, **113**: 395-401.
- DOBSON A., LODGE D., ALDER J., CUMMING G.S., KEYMER J., MCGLADE J., MOONEY H., RUSAK J.A., SALA O., WOLTERS V., WALL D., WINFREE R., XENOPOULOS M.A. (2006) - Habitat loss, trophic collapse, and the decline of ecosystem services. *Ecology*, **87**: 1915-1924.
- GALIL B.S. (2007) - Loss or gain? Invasive aliens and biodiversity in the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **55**: 314-322.
- GRAY J.S. (1997) - Marine biodiversity: Patterns, threats and conservation needs. *Biodivers. Conserv.*, **6**: 153-175.
- LOTZE H.K., LENIHAN H.S., BOURQUE B.J., BRADBURY R.H., COOKE R.G., KAY M.C., KIDWELL S.M., KIRBY M.X., PETERSON C.H., JACKSON J.B.C. (2006) - Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*, **312**: 1806-1809.
- MCKINNEY M.L., LOCKWOOD J.L. (1999) - Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends Ecol. Evol.*, **14**: 450-453.
- ROBERTS S., HIRSHFIELD M. (2004) - Deep-sea corals: out of sight, but no longer out of mind. *Front. Ecol. Environ.*, **2**: 123-130.
- THRUSH S.F., DAYTON P.K. (2002) - Disturbance to marine benthic habitats by trawling and dredging: Implications for marine biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **33**: 449-473.
- THRUSH S.F., GRAY J.S., HEWITT J.E., UGLAND K.I. (2006) - Predicting the effects of habitat homogenization on marine biodiversity. *Ecol. Appl.*, **16**: 1636-1642.
- WOLFF W.J. (2000) - Causes of extirpations in the Wadden Sea, an estuarine area in the Netherlands. *Conserv. Biol.*, **14**: 876-885.

F. BRAMBILLA, A. PAIS*, A. FORCHINO, S. SERRA*,
M. ANTONINI, G. TEROVA, M. SAROGLIA

Unità di Biotecnologie Animali ed Acquacoltura, Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari,
Università degli Studi dell'Insubria, Via H.J. Dunant 2 – 21100 Varese, Italia.
fabio.brambilla@uninsubria.it

*Sezione di Acquacoltura ed Ecologia Marina, Dipartimento di Scienze zootecniche, Università di Sassari
Via E. De Nicola 9 – 07100 Sassari, Italia.

IMPATTO DELL'ATTIVITÀ DI MARICOLTURA *OFF-SHORE* SULL'ECOSISTEMA BENTONICO: CASO STUDIO IN CORSO PRESSO UN'AZIENDA ITTICA SARDA (RADA DI ALGHERO)

IMPACT OF OFF-SHORE MARICULTURE ACTIVITIES ON THE BENTHIC ECOSYSTEM: A CASE STUDY IN PROGRESS AT A SARDINIAN FISH FARM (ALGHERO BAY)

Abstract - *Intensive cage aquaculture generates considerable quantities of waste, including both particulate uneaten feed, fish faeces and soluble excretory products. These wastes can have undesirable impacts on the local environment, depending on the amounts released, the time-scale over which the releases take place, and the assimilation capacity and flushing ability of the local recipient water body. The aim of this study, therefore, was to assess the effects of mariculture activities located in the Alghero Bay (western Mediterranean) on the benthic ecosystem. The analysis of organic fraction, carbonate, inorganic residue and macrofauna abundance (species/m², individuals/m², Shannon-Wiener diversity index, Simpson's Index and evenness) in sediment samples (inside and outside of the mariculture area) show a local effect on the benthic ecosystem under the cages position. Therefore, two control samples, positioned towards the major current direction, are similar to all samples located under the fish farm, a sign of wider effect of the aquaculture activity.*

Key-words: *off-shore mariculture, particle wastes, marine sediments, benthic macrofauna.*

Introduzione – I rifiuti provenienti dall'attività di acquacoltura *off-shore* sono costituiti principalmente da mangime non ingerito, feci e prodotti di escrezione rilasciati dai pesci in allevamento. Questi rifiuti possono determinare conseguenze dirette e indirette sull'ecosistema marino circostante, in funzione delle capacità assimilative dell'ambiente stesso (Karakassis *et al.*, 2000; Carroll *et al.*, 2003). La dispersione e la conseguente deposizione di materiale organico sul fondale marino può determinare cambiamenti delle caratteristiche chimiche e fisiche dello stesso, ed alterazioni delle popolazioni bentoniche presenti. La principale conseguenza di tali deposizioni organiche è l'incremento del consumo di ossigeno in seguito a processi di metabolici di ossidazione e l'aumento di nutrienti nel sedimento stesso (Porrello *et al.*, 2005). Il tasso di sedimentazione di particolato e la sua eventuale risospensione, sono direttamente relazionati alla velocità e direzione delle correnti marine; velocità consistenti riducono l'accumulo di sostanza organica ed aumentano l'apporto di ossigeno che favorisce la decomposizione aerobica di particolato deposto mentre correnti trascurabili determinano un maggiore e localizzato accumulo sul fondale sottostante al sito di allevamento, potendo generare in casi estremi e con elevato rilascio, condizioni di anossia (Yokoyama, 2003). Oltre alle caratteristiche del sito (correnti, topografia) l'estensione di tali deposizioni risulta essere in funzione al tasso di deposizione di materiale rilasciato, dipendente a sua volta dalla galleggiabilità e dalla dimensione, oltre che dal protocollo gestionale (Brook e Mahnken, 2003).

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare le conseguenze dell'attività circa decennale di maricoltura *off-shore* nella baia di Alghero (Sardegna Nord Occidentale) al disotto delle installazioni, sulle caratteristiche chimiche e fisiche del sedimento e sulla comunità bentonica presente.

Materiali e metodi – Lo studio è stato condotto presso l’azienda ittica “La Maricoltura Alghero S.r.l.” situata nella omonima baia (Lat. 40°33.6892 N, Long 8°16.1788’ E); attualmente l’azienda occupa una superficie di circa 2.5 ha, in cui sono posizionate 5 gabbie (REFA®) di volume pari a 800 m³ e 4 gabbie (REFA®) di volume pari a 2,500 m³. In tali gabbie sono allevati esemplari di branzino (*Dicentrarchus labrax*) e orata (*Sparus aurata*) con densità comprese tra 0.4-40 kg/m³. Per una valutazione dell’impatto dell’attività di maricoltura in studio sull’ambiente ricevente sono stati prelevati, mediante benna (mod. Van Veen), campioni di sedimento posizionati al di sotto delle gabbie ($n=4$) (I1, I2, I3 e I4) e in quattro punti dislocati a 500 m di distanza dalla stessa in direzione dei quattro punti cardinali (O1, O2, O3 e O4) (Fig. 1); per ciascun sito sono state effettuate 3 repliche per un totale complessivo di 24 campioni raccolti. Di questi è stata analizzata la composizione granulometrica, la sostanza organica presente, la frazione di carbonati, i residui inorganici esclusi i carbonati, quindi sono state effettuate analisi sulla componente biologica (macrofauna) determinando il numero di specie e di individui per metro quadro, l’indice di biodiversità di Shannon-Wiener (H'), l’indice di Simpson (D) e la distribuzione della frequenza delle specie (*evenness*, Indice di Pielou). Inoltre nei vertici della concessione (A, B, C e D) (Fig. 1) mediante correntometro Sensor Data Current Meter (Model SD 2000), stati rilevati dati di correntometria comprendenti la velocità media e la direzione della correnti marine (Luglio-Ottobre 2006) a tre 3 differenti profondità nella colonna d’acqua: rispettivamente 33, 23 e 13 m dal fondo ($n=15$ per ogni posizione). In base ai risultati ottenuti sono state effettuate analisi della varianza (*ANOVA*) ed analisi multivariate della varianza (*MANOVA*) (Statistica 98®), inoltre è stata effettuata un’analisi nelle componenti principali (PCA; XLStat 2008) dei dati ottenuti nell’analisi chimica e fisica del sedimento.

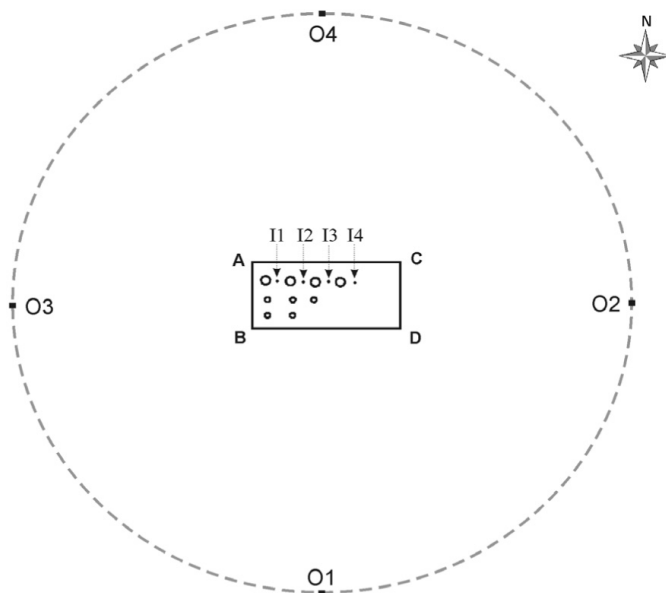


Fig. 1 - Schema illustrante la disposizione delle gabbie all’interno dell’area di concessione dell’azienda ittica in studio (vertici A, B, C e D) ed i siti di campionamento interni (I1, I2, I3, e I4) ed esterni (O1, O2, O3 e O4).

Schematic diagram of the cage positions in the fish farm area (A,B,C and D), and inside (I1, I2, I3, e I4) and outside (O1, O2, O3 e O4) sampling points.

Risultati – Le medie delle concentrazioni di frazione organica, carbonati e residuo inorganico registrate nei siti interni all'area di concessione dell'azienda in studio, risultano pari a 0.026 ± 0.003 (2.5%), 0.367 ± 0.007 (36.5%) e 0.607 ± 0.009 (60%) g/g (p.s.) rispettivamente, mentre nei siti esterni le medie delle concentrazioni di tali frazioni risulta pari a 0.025 ± 0.008 (2.5%), 0.398 ± 0.052 (39.8%) e 0.576 ± 0.058 (57.5%) g/g (p.s.). Dall'analisi statistica emergono differenze significative ($p < 0.05$) tra tutti i siti interni e tutti quelli esterni, inoltre emergono differenze significative tra i diversi siti studiati. Nello specifico il sito O1, O2 e O4 sono risultati differenti a tutti i siti interni, mentre per il sito O3 non si evidenziano tali differenze. Inoltre, per le frazioni di sedimento studiate, l'analisi delle componenti principali (PCA) conferma una similitudine tra i siti O3 e O4 con tutti i siti interni e divergenze con quelli esterni. Per quanto riguarda la composizione granulometrica, dalle curve ottenute si osserva una composizione simile tra i siti interni ed i siti O3 e O4, evidenziando una composizione predominante di particolato di diametro superiore a 0.1 mm ed inferiore a 1 mm. I siti O1 e O2 invece risultano di composizione differente con predominanza di particolato con dimensioni superiori a 1 mm ed inferiori a 10 mm.

Per quanto riguarda la componente biologica del sedimento, le medie del numero di specie ed individui al metro quadro registrate all'interno dell'area di concessione risultano pari a 195.07 ± 62.57 S/m² e 769.57 ± 391.95 ind./m², mentre esternamente risultano pari a 387.62 ± 130.05 S/m² e $1,517.04 \pm 356.39$ ind./m² rispettivamente. Il valore dell'indice di biodiversità di Shannon-Wiener (H') all'interno dell'area di concessione mostra valori compresi tra 1.63-3.13 mentre nei siti esterni tra 1.64-3.73; l'indice di biodiversità di Simpson (D) invece assume valori compresi tra 0.06-0.35 e 0.03-0.377 nell'area interna ed esterna alla concessione. Infine l'indice di distribuzione della frequenza di specie (*evenness*, Indice di Pielou) mostra valori simili tra i siti interni ed esterni con valore medio pari a 0.80 ± 0.11 . Dall'analisi statistica di tutti i parametri biologici emergono differenze significative ($p < 0.05$) tra tutti i siti interni e tutti quelli esterni, mentre dall'analisi di ogni singolo parametro si riscontrano differenze significative solo per quanto riguarda il numero di specie al metro quadro dove ciascun sito interno risulta differente con quelli esterni escluso il sito O4; per tutti gli altri parametri non si riscontrano differenze significative tra i singoli siti. Tali risultati sono confermati dall'analisi nelle componenti principali (PCA) dei dati ottenuti dallo studio della componente biologica del sedimento.

Dall'osservazione dei dati di direzione di corrente registrati nei vertici dell'area di concessione, è possibile valutare una predominanza di direzione verso Nord-Ovest (da 270 a 360 gradi magnetici), e sovrapponendo la posizione dei siti di campionamento scelti è possibile osservare che il sito O3 ed in parte il sito O4 sono posizionati nella direzione di tali correnti.

Conclusioni – Dall'analisi dei risultati ottenuti emerge un'incidenza limitata dell'attività di maricoltura sulle caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche del sedimento localizzabile nell'area rigorosamente sottostante all'impianto di allevamento. Nonostante il valore di concentrazione della sostanza organica sia simile nei siti interni ed esterni (1,386.8 g sost.org./m², p.s.), i valori di ricchezza specifica, abbondanza, indici di biodiversità risultano inferiori nell'area sottostante l'allevamento ittico. Inoltre, tale considerazione è supportata dall'elaborazione statistica dei dati che evidenzia per tutti i parametri studiati, una differenza significativa tra tutti i siti interni con quelli esterni. Tuttavia, per alcuni parametri, esistono similitudini tra due siti esterni con i siti al disotto dell'area di concessione dell'azienda ittica in studio. Tali siti risultano posizionati nella direzione predominante delle correnti registrate a differenti altezze nella colonna d'acqua, dimostrando una possibile influenza anche a distanze maggiori. Considerando che l'attività di allevamento è iniziata da circa dieci anni, si può conclu-

dere che l'impatto sia stato molto contenuto e comunque localizzato. Il proseguimento dello studio oltre a prendere in considerazione anche altri parametri ed un modello previsionale di impatto (Meramod®), prenderà in considerazione anche un transetto coassiale dalla perpendicolare delle gabbie verso l'esterno nella direzione delle correnti predominanti.

Bibliografia

- BROOKS K.M., MAHNKEN C.V.W., (2003) - Interaction of Atlantic salmon in the Pacific north-west environmental: II. Organic wastes, *Fish. Res.*, **62** (3): 255-293.
- CARROLL M.L., COCHRANE S., FIELER R., VELVIN R., WHITE P. (2003) - Organic enrichment of sediments from salmon farming in Norway: environmental factors, management practices, and monitoring techniques. *Aquaculture*, **226** (1-4): 165-180.
- KARAKASSIS I., TSAPAKIS M., HATZIYANNI E., PAPADOPOULU K.N. (2000) - Impact of cage farming of fish on the seabed of three Mediterranean coastal areas. *ICES J. Mar. Sci.*, **57** (5): 1462-1471.
- PORRELLO S., TOMASSETTI P., MANZUETO L., FINOIA M.G., PERSIA E., MERCATALI I., STIPA P. (2005) - The influence of marine cages on the sediment chemistry in the Western Mediterranean Sea. *Aquaculture*, **249** (1-4): 145-158.
- YOKOYAMA H. (2003) - Environmental quality criteria for fish farms in Japan. *Aquaculture*, **226** (1-4): 45-56.

D. BRIGOLIN¹, F. RAMPAZZO^{1,2}, M. GIANI², D. BERTO², O. GIOVANARDI², R. PASTRES¹

¹Dip. di Chimica Fisica, Università Ca' Foscari di Venezia, Calle larga S. Marta,
2137 - 30123 Venezia, Italia.
brigo@unive.it

²ICRAM, Loc. Brondolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.

IL PROGETTO EUROPEO ECASA: INDICATORI E MODELLI PER LA VALUTAZIONE DELL'IMPATTO AMBIENTALE DELLE MITILICOLTURE IN SOSPENSIONE

ECASA EU PROJECT: INDICATORS AND MODELS FOR THE ENVIRONMENTAL IMPACT ASSESSMENT OF LONGLINE MUSSEL CULTURE

Abstract – The research described in this work was carried out in the framework of the three years project ECASA, n° 006540, funded by EU-FP6 (<http://www.ecasa.org.uk>). The activity focused on the measurement of a set of geochemical impact indicators and the identification and subsequent application of a set of numerical models for mariculture environmental impact assessment and management. The site studied is a mussel farm located off-shore the city of Chioggia (Venice). The integration of model predictions with the monitoring of impact indicators could represent a notable step towards the sustainable management of mussel farming, following an approach which is routinely applied for fish farming in Norway with the MOM system.

Key-words: *Mytilus galloprovincialis*, Adriatic Sea, mathematical model, impact indicator, mariculture, ecological carrying capacity.

Introduzione - La produzione media Italiana di *Mytilus galloprovincialis*, 63×10^6 kg tra il 2000 e il 2005 (FAO, 2007), proveniente principalmente da mitilicoltura di tipo *long-line* (Prioli, 2006), rappresenta circa il 12% della produzione totale europea di mitili. Il fatto che la mitilicoltura utilizzi risorse di cibo disponibili in natura può rappresentare un limite significativo al potenziale produttivo delle zone nelle quali questa attività viene praticata e, per questa ragione, diventa essenziale determinare la densità di allevamento alla quale è possibile massimizzare la produzione, minimizzando nel contempo gli impatti negativi sull'ambiente, la cosiddetta *ecological carrying capacity* (Inglis *et al.*, 2000). I modelli matematici possono rappresentare un valido aiuto in questo processo, consentendo di simulare le risposte dell'ambiente a vari scenari di pressione rappresentati da diverse densità di allevamento (McKindsey *et al.*, 2006). Inoltre, l'integrazione delle previsioni modellistiche con il monitoraggio di alcuni indicatori di impatto della mitilicoltura, approccio già da tempo utilizzato in Norvegia con il sistema MOM (Ervik *et al.*, 1997), può rappresentare un notevole passo avanti verso la gestione sostenibile di questa attività. La ricerca descritta in questo contributo è stata condotta nel corso del progetto ECASA n° 006540, finanziato dall'Unione Europea (<http://www.ecasa.org.uk>), della durata di tre anni. Questa attività è stata focalizzata principalmente sulla misura sperimentale di un insieme di indicatori chimici d'impatto e sull'identificazione ed applicazione di modelli matematici presso una mitilicoltura localizzata al largo di Chioggia (VE).

Materiali e metodi - Un insieme di indicatori chimici di impatto della mitilicoltura sui sedimenti, precedentemente identificati nell'ambito dello stesso progetto (ECASA - deliverable 7, 2008), sono stati misurati presso una mitilicoltura del tipo *long-line* situata al largo di Chioggia (VE). L'impianto studiato, attivo dal 1991, ha una superficie di 3×10^6 m² ed una produzione media di 600×10^3 kg anno⁻¹ di *M. galloprovincialis*. Il ciclo di allevamento dura tra i 10 ed i 12 mesi, con un picco di produzione durante i mesi di Giugno e Luglio. Una campagna sperimentale è stata effettuata a Luglio 2006:

le metodiche seguite sono riportate per esteso in (ECASA - deliverable 9, 2008). Successivamente, 3 diversi modelli numerici sono stati applicati presso il sito di studio:

a) un modello individuale di crescita di *M. galloprovincialis* (Brigolin, 2007) è stato identificato e validato, utilizzando un insieme di dati biometrici e di qualità dell'acqua raccolti appositamente presso lo stesso impianto di mitilicoltura tra Luglio 2006 e Maggio 2007;

b) un modello di trasporto-reazione, in grado di simulare le principali interazioni dei mitili coltivati con i processi biogeochimici in ambiente pelagico (Brigolin, 2007), è stato utilizzato per studiare il potenziale di crescita dei mitili associato a diversi scenari di densità degli impianti nell'area costiera studiata;

c) il modello di *particle tracking* DEPOMOD (Cromey *et al.*, 2002), per la simulazione dell'accumulo dei biodepositi sul sedimento, è stato adattato alla simulazione degli impatti della mitilicoltura (Brigolin, 2007) e successivamente applicato nel sito di studio integrandolo con il modello di crescita descritto al punto precedente.

Risultati – I dati relativi agli indicatori chimici di impatto della mitilicoltura sui sedimenti, sono stati rilevati nelle tre stazioni B (riferimento), D e G (stazioni potenzialmente soggette ad impatto). In ciascun sito, sono state prelevate carote di sedimento per le quali è stato determinato il profilo verticale degli indicatori chimici. I dati relativi a questi strati risultavano piuttosto omogenei, e potevano essere aggregati ai fini dell'analisi statistica: sono quindi stati raggruppati per gli strati compresi tra 1.5 e 4.5 cm, al fine di valutare eventuali differenze tra i siti. I risultati ottenuti, vedi Tab. 1, evidenziano un lieve impatto sul sedimento presso la stazione D, localizzata all'in-

Tab. 1 - Valori della statistica *t* relativi alle differenze tra la stazione di riferimento, B, e quelle potenzialmente soggette ad impatto, D e G, (prima riga) e probabilità α di commettere un errore rifiutando l'ipotesi nulla (seconda riga).

Values of the t statistic for the differences between reference and potentially impacted sites (first row) and the probability α of committing an error by rejecting the null hypothesis (second row).

	% ACQUA	SILT	E _H	OC	TN	TP	C/N	P _{ORG}	P _{IN}	LOI 450	LOI 250
(D-B)_{1.5-4.5}	4.741	5.361	0.849	1.646	-0.042	1.661	2.166	2.547	-2.913	2.615	-3.232
	<10 ⁻³	<10 ⁻³	0.405	0.114	0.967	0.111	0.041	0.018	0.008	0.016	0.004
(G-B)_{1.5-4.5}	1.278	-2.125	0.391	-3.819	-5.327	-0.708	0.618	1.181	-3.929	0.249	-1.359
	0.272	0.045	0.699	0.001	<10 ⁻³	0.486	0.543	0.250	0.001	0.805	0.188

terno dell'impianto. Rispetto al sito B, il sito D presenta contenuti significativamente più elevati ($p < 0.05$) d'acqua, di silt e di fosforo Organico. Maggiori risultano anche i valori della sostanza organica misurata come perdita in peso per combustione a 450 °C (LOI450) e del rapporto molare C/N. Anche il Carbonio Organico ed il Fosforo Totale presentano valori più elevati presso la stazione D, seppure le differenze con le altre due stazioni non possano essere considerate statisticamente significative. In generale, le differenze sopra descritte sono consistenti con l'ipotesi secondo la quale l'accumulo di biodepositi provenienti dall'impianto causerebbe un locale arricchimento organico nel sedimento ed in accordo con i risultati del modello di deposizione DEPO-MOD. Questo modello è stato applicato al sito di studio per predire la distribuzione spaziale del tasso di sedimentazione di carbonio organico per unità di superficie direttamente collegato alla presenza della mitilicoltura. L'ordine di grandezza dei flussi e l'estensione dell'area interessata dalla biodeposizione sono consistenti con diverse stime riportate in letteratura e presentate in dettaglio in ECASA deliverable 15 (2008). Al contrario, le differenze negli indicatori tra le stazioni G e B non possono essere ascritte univocamente alla presenza dell'impianto ma, più ragionevolmente, alla diversa

tessitura del sedimento delle carote campionate. Infatti, la percentuale di silt alla stazione G è significativamente minore rispetto a quella della stazione B, la quale, di conseguenza, presenta una percentuale di sabbie più elevata. Questi impatti sulla geo-chimica del sedimento non sembrano comunque alterare lo sviluppo della comunità macro e meio-bentonica: dati raccolti nel corso del progetto ECASA e non riportati in questo lavoro (ECASA deliverable 15, 2008) confermano l'assenza di differenze significative in abbondanza e struttura delle due comunità tra le tre stazioni studiate.

Il modello di crescita di *M. galloprovincialis*, sviluppato nel corso del progetto, è stato applicato alla simulazione della crescita di una coorte di individui, seminati a luglio del 2006. L'evoluzione delle forzanti del modello, interpolate dai dati mensili di T, POC e CHL, è riportata in Fig. 1a. Il confronto tra dati osservati e simulati, presentato in Fig. 1b, evidenzia che il modello consente di prevedere accuratamente il peso finale. I picchi nelle concentrazioni di CHL e POC, osservati a Settembre, provocano un aumento del tasso di crescita simulato e, quindi, una leggera sovrastima dei dati di peso secco al principio dell'inverno.

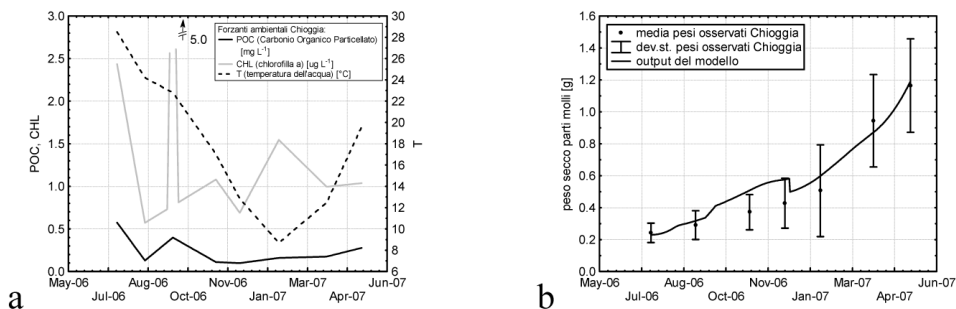


Fig. 1 - Modello di crescita di *M. galloprovincialis*: input (a) ed output (b) del modello. *M. galloprovincialis* growth model: model input (a) and output (b).

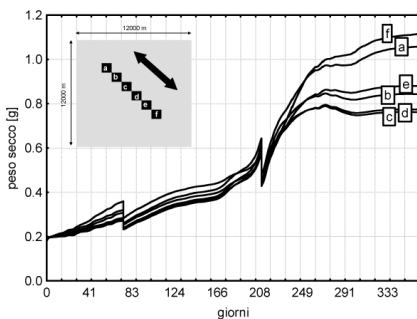


Fig. 2 - Risultati del modello di trasporto-razione: peso medio di coorti di mitili, coltivate in diversi impianti ravvicinati (in alto a sinistra è rappresentato lo scenario di disposizione considerato). *Reaction-transport model results: mean dry weight of mussel cohorts, reared at different farms (the layout of the cluster of farms considered in this scenario is represented in the top-left corner of the figure).*

Il modello pelagico di trasporto-reazione, sviluppato in questo lavoro, può essere utilizzato come strumento per la selezione dei siti da destinare alla mitilicoltura. Come esempio illustrativo, è stato studiato uno scenario di distribuzione caratteristico di alcune aree del Nord-Adriatico, ad esempio il golfo di Trieste e parte della costa

dell'Emilia-Romagna e delle Marche (Hydrores, 2004; Meconi, 2007). Questo scenario è caratterizzato da una successione di impianti disposti lungo costa, orientati parallelamente alla direzione preferenziale della corrente (vedi Fig. 2). Il peso medio di ciascuna coorte, simulato dal modello, è riportato in Fig. 2. Il peso medio raggiunto dai mitili nei diversi impianti presenta differenze notevoli, che raggiungono il 20%. Gli impianti maggiormente esposti, situati ai due estremi del transetto, hanno un potenziale maggiore per la crescita dei mitili. Per un impianto come quello studiato, con una produzione media annua di $600 \cdot 10^3$ kg, questa differenza corrisponde a circa $120 \cdot 10^3$ kg di prodotto.

Conclusioni - I risultati sperimentali ottenuti nel corso del progetto triennale ECASA indicano come l'attività di miticoltura, nella zona studiata al largo di Chioggia, abbia impatti da considerarsi minimi sull'ambiente. Questo significa che il sito in questione ha una notevole "capacità di assimilazione", in grado di mitigare potenziali effetti negativi indotti dall'impianto di allevamento. Il modello di crescita individuale sviluppato rappresenta un passo fondamentale verso la messa a punto di un modello integrato di gestione della miticoltura in Adriatico, visto che la descrizione dei flussi di massa ed energia attraverso l'organismo costituiscono la base della successiva rappresentazione delle interazioni tra impianto ed ecosistema. Inoltre, utilizzando il modello di crescita, congiuntamente ad alcune informazioni sulle caratteristiche tecniche dell'impianto di miticoltura, si sono potuti stimare i flussi di N associati all'allevamento dei mitili. Per un ciclo di allevamento di 11 mesi sono stati stimati $1.0 \cdot 10^7$ kg di N ingerito, $4.0 \cdot 10^6$ kg di N rilasciato sotto forma di feci e $4.0 \cdot 10^2$ kg di N escreto in forma di NH_4^+ . Ai risultati di questo budget va aggiunta una rimozione netta, dovuta alla raccolta dei mitili, di approssimativamente $3.6 \cdot 10^3$ kg di azoto. Le applicazioni di questo modello in combinazione con il DEPOMOD e con il modello biogeochimico pelagico, brevemente introdotte in questo lavoro, e l'integrazione delle previsioni modellistiche con il monitoraggio di alcuni indicatori di impatto della miticoltura possono rappresentare un notevole passo avanti verso lo sviluppo di sistemi di gestione del tipo MOM, già da tempo utilizzati in Nord Europa.

Bibliografia

- BRIGOLIN D. (2007) - *Development of integrated numerical models for the sustainable management of marine aquaculture*. Tesi di dottorato in Scienze Ambientali, Univ. Ca' Foscari di Venezia: 153 pp.
- CROMEY C.J., NICKELL T.D., BLACK K.D. (2002) - DEPOMOD - modelling the deposition and biological effects of waste solids from marine cage farms. *Aquaculture*, **214**: 211-239.
- ECASA - deliverable 15 (2008). ECASA study site report. <http://www.ecasatoolbox.org.uk>.
- ECASA - deliverable 7 (2008). ECASA list of indicators. <http://www.ecasatoolbox.org.uk>.
- ECASA - deliverable 9 (2008). ECASA book of protocols. <http://www.ecasatoolbox.org.uk>.
- ERVIK A., HANSEN P.K., AURE J., STIGEBRANDT A., JOHANNESSEN P., JAHNSEN T. (1997) - Regulating the local environmental impact of intensive marine fish farming I. The concept of the MOM system (Modelling-Ongrowing fish farms- Monitoring). *Aquaculture*, **158**: 85-94.
- FAO (2007) - Fishstat+ v2.3 (Release date: March 2007). <http://www.fao.org/fishery/topic/16073>.
- <http://www.ecasa.org.uk>. An Ecosystem Approach for Sustainable Aquaculture.
- HYDRORES (2004) - Presentazione del progetto di riorganizzazione delle miticolture della costiera triestina nell'ambito del piano di sviluppo integrato della fascia costiera del golfo di Trieste. *Hydrores*, **21-26**: 53-58.
- INGLIS G.J., HAYDEN B.J., ROSS A.H. (2000) - An Overview of Factors Affecting the Carrying Capacity of Coastal Embayments for Mussel Culture. NIWA. Cl. Rep. CHC00/69: 31 pp.
- MCKINDSEY C.W., THETMAYER H., LANDRY T., SILVERT W. (2006) - Review of recent carrying capacity models for bivalve culture and recommendations for research and management. *Aquaculture*, **261**: 451-462.
- MECONI U. (2007) - Piano e criteri regionali per la gestione delle concessioni demaniali marittime per attività di acquacoltura e ricerca. Regione Marche (in Italian): 63 pp.
- PRIOLI G. (2006) - Perspectives and problems in Italian shellfish farming. AQUA2006 International Conference, Florence 9-13 2006.

F. BULLERI

Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
fbulleri@biologia.unipi.it

THE EVALUATION OF ECOLOGICAL IMPACTS IN COASTAL HABITATS: CRITERIA FOR THE SELECTION OF REFERENCE SITES

LA VALUTAZIONE DI IMPATTI ECOLOGICI IN AMBIENTE COSTIERO: CRITERI PER LA SCELTA DEI SITI DI RIFERIMENTO

Abstract - Both model- and design-based assessments involve the use of reference sites, but with a different purpose, with implications for the criteria used for their selection. In design-based assessments, conditions at reference sites provide estimates of response variables against which the direction and magnitude of impacts is evaluated and therefore correct selection is a key step of the inferential process

Key-words: environmental impact assessment, reference conditions, BACI design, coastal habitats, asymmetrical analysis.

Background - Model-based and design-based analyses represent two contrasting approaches for the assessment of ecological impacts (Underwood 1991, 1992; Stewart-Oaten and Bence 2001). These are characterized by intrinsic philosophical differences with important implications for the use and selection of reference sites. In model-based analyses impacts, also referred to as Intervention Analysis, the “counterfactual” (the situation that would have occurred if there was no disturbance) is estimated from information on the “impacted” site before the disturbance takes place. It then compares Before and After time series, that is estimates of their long-term mean abundances and requires models of the underlying processes (Stewart-Oaten and Bence, 2001). Here, reference sites are not therefore used for estimating a reference conditions, but rather as covariates to reduce unaccounted variation from sources which are unknown or difficult to estimate. In contrast, in design-based analyses, an impact is conceived as a different temporal change in the perturbed area compared with what would happen if there was no perturbation. In fact, impacts are here envisioned as spatio-temporal interactions, that is differences between the “impacted” and reference sites that vary from Before to After the occurrence of the disturbance. There is the widely-documented fact that ecological variables in different places change differently through time (i.e. interact). Consequently, in the absence of any impact there will generally be space-time interactions. In this case, reference sites are key to estimate reference conditions, against which the changes caused by the disturbance under investigation are assessed. In the remainder of this presentation, I will address some focal points concerning the criteria for adequate selection of reference sites in design-based analysis, stressing the implications of the general degree of naturalness in the phase of interpreting the magnitude of an impact.

Selection of reference sites in ecological studies - Selection of sites to be allocated to experimental treatments is rather straightforward; it implies the identification of a number of units of area of a given size which are characterized by similar physical and chemical conditions and the allocation of some of these to either experimental treatment/s or controls, by means of randomly generated numbers. Of course, the size of each area and the distance among them are set by the models and hypotheses tested. What is important here, is that these units of area must be randomly chosen from the same “population” of sites. The same procedure applies to descriptive stud-

ies or mensurative experiments, in which a number of spatial units are identified by means of a random procedure, ensuring representative estimates of mean of any given biological or ecological variable of interest at such spatial (or temporal) scales.

Selection of reference sites in impact assessment - In general, the allocation of the “impacted” site is not under the direct control of the researcher and cannot be chosen according to the procedures commonly adopted in experimental or descriptive studies (i.e. random choice). Rather, its allocation can be accidental or be dependent upon a variety of attributes that developers, being these an oil company or a local council, identify as necessary for achieving the aims for which the intervention is planned. Under these circumstances, it is not possible to identify a number of sites from a larger number available through random procedures and then select which of these will be influenced by a specific human perturbation. It is however possible to use the same criteria used by developers to identify the “disturbed” site to choose a number of reference sites, ensuring that all of these belong to the same “population” of sites (i.e. the means of the variable chosen to quantify the effects of the disturbance across the sites have an underlying random distribution; Bulleri et al. in press).

Likely, this process will involve the use of variables that have not much to deal with the biological variables that will be subsequently taken into account to assess the response of assemblages of organisms to the perturbation under scrutiny (e.g. number, relative abundance, evenness of species). Reference sites does not have to be identical, but will have to be subjected to the same local and regional conditions (e.g. type of substratum, topography, wave-exposure currents). Of course, obtaining a representative estimate of the variables taken into account, at the relevant spatial scale, requires the inclusion of multiple reference sites.

A case study: modifications to hard-coastal defence structures - The power and reliability of impact assessment analyses is greatly enhanced when estimates of pre-disturbance conditions are available. Generally, this does not depend on the will of ecologists, but rather on the timing at which they are involved in the planning of the intervention. Major maintenance works (creation of a cobble beach) were carried out on some breakwaters deployed at Marina di Pisa, along the coast of Tuscany (Fig. 1). Unfortunately, it was not possible to start sampling on breakwaters early enough to achieve a Before-After series of data. Indeed, only one sampling event could be carried out before the start of the works, preventing estimation of natural temporal variation in assemblages. A modified ACI (After Control-Impacted) design had therefore to be used. Here, two breakwaters were selected closer to the area affected by the intervention, while another pair was selected at a greater distance, so to be not supposedly influenced by the specific disturbance under investigation (Fig. 1). Importantly, reference sites were not chosen along a trait of coast known to be relatively “pristine” or less influenced by human activities. Because of the dislocation of areas affected by the intervention, disturbed and control breakwaters were not interspersed, but there was some spatial segregation (Fig. 1). However, due to the relatively small spatial scale, disturbed and control breakwaters can be reasonably viewed as under the influence of similar environmental conditions (e.g. same distance from the shore, inputs of freshwater, sediments and pollutant from the Arno River; similar access to fishermen). On each breakwater, low-shore assemblages were sampled at four different times over a period of about one year. For each breakwater, five 20×20 cm quadrats were sampled in each of two sites that were 10s of m apart, in order to quantify variation at different scales (10s of m and 10 s of cm) within breakwaters. In this case, having replicate breakwaters for each of the disturbed and reference conditions, it was possible to include the factor “Condition” (fixed; 2 levels, disturbed vs control) into the analysis.

Data were analysed by means of multivariate and univariate techniques; these have shown small differences in the structure of low-shore assemblages or in the relative abundance of most common taxa, suggesting that works executed to modify coastal defence structures had a negligible ecological impact. Assemblages upper on the shore or in the subtidal may however responded in a different way to this perturbation.

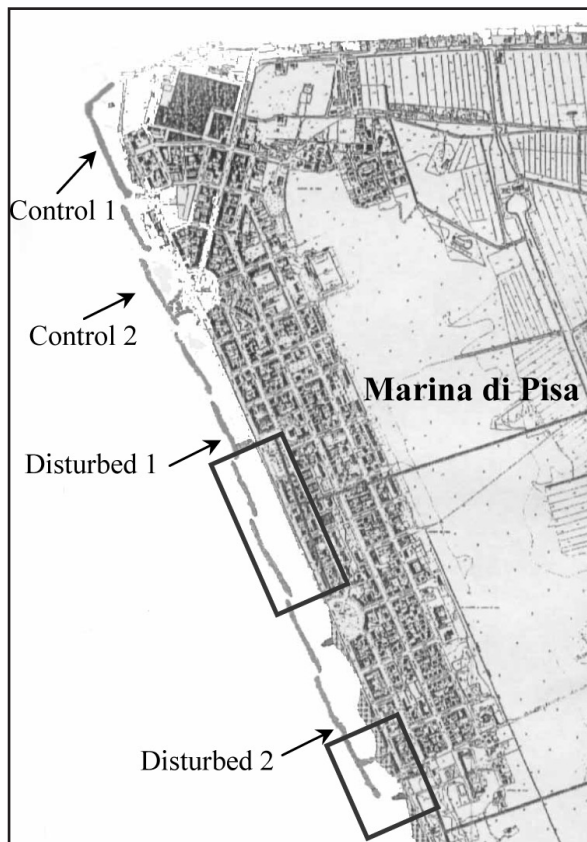


Fig. 1 - Map of the coastline at Marina di Pisa; shown are areas affected by the intervention, disturbed and control breakwaters.

Mapa della costa presso Marina di Pisa; sono indicate le aree interessate dai lavori di modificazione delle strutture di difesa costiera, i moli disturbati e quelli di controllo.

Implications of the background level of “naturalness” - The evaluation of the impact is in terms of relative changes in the response variables that have been identified as appropriate for the specific type of perturbation under investigation. Under these circumstances, whether the area (be this a patch, a site or a region) in which the impact occurs is relatively pristine or, in contrast, heavily affected by human activities, does not influence its assessment (Bulleri et al. 2007). Only, when it comes to decide whether demonstrated alterations can be tolerated or not, the degree of naturalness becomes important. Therefore, knowledge of historical conditions (intended as those preceding widespread disruption of ecosystems due to human activities) does

not enhance our ability to assess ecological impacts or their interpretation. Finally, impacts, being unplanned changes to extant conditions, should be judged as negative in first instance. This does not imply that these alterations may be not tolerated or even interpreted as positive, but would ensure that a case is actually made. A different case is when changes are planned in advance and do not represent a by-product of the intervention, but rather the final objective, such as in rehabilitation of restoration practices.

Conclusions - The selection of reference sites represents a key step of the assessment of impacts by means of BACI or Beyond BACI designs. Failing at doing so, would result in poor reliability of the results thereby generated, lessening our ability to estimate alterations and, ultimately, to preserve what is left of natural habitats.

References

- BULLERI F., UNDERWOOD A.J., BENEDETTI-CECCHI L. (2007) - The assessment and interpretation of ecological impacts in human-dominated environments. *Environ. Conserv.*, **34**: 181-182.
- BULLERI F., UNDERWOOD A.J., BENEDETTI-CECCHI L. (2008) - The analysis of ecological impacts in human-dominated environments: reply to Stewart-Oaten (2008). *Environ. Conserv.*, in press.
- STEWART-OATEN A., BENCE J.R. (2001) - Temporal and spatial variation in environmental impact assessment. *Ecol. Monogr.*, **71**: 305-339.
- UNDERWOOD A.J. (1991) - Beyond BACI: experimental designs for detecting human impacts on temporal variations in natural populations. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.*, **42**: 569-587.
- UNDERWOOD A.J. (1992) - Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **161**: 145-178.

G. CECCHERELLI, S. PINNA, N. SECHI

Dipartimento di Botanica ed Ecologia vegetale, Università di Sassari,
Via F. Muroni, 25 – 07100 Sassari, Italia.
cecche@uniss.it

DOES ACCESSIBILITY OF LOCATIONS INTERACT WITH PROTECTION EFFECT ON SHALLOW ROCKY HABITATS?

LA PROTEZIONE SU HABITAT ROCCIOSI SUPERFICIALI HA UN EFFETTO INTERATTIVO CON QUELLO DELL'ACCESSIBILITÀ DEI SITI?

Abstract – *The effect of protection has been evaluated at two MPAs in Sardinia. Benthic assemblages have been sampled at locations at different protection level: intertidal and shallow subtidal samples were taken at Tavolara - Punta Coda Cavallo MPA and Penisola del Sinis – Isola di Mal di Ventre MPA, respectively. Results highlighted that assemblages in both MPAs have been significantly influenced by the geographical location rather than protection.*

Key-words: *protection, Sardinia, geographical location, accessibility, islands.*

Introduction - Protection effectiveness of marine reserves can be judged in terms of producing higher densities and diversity of organisms. Unfortunately, two difficulties often need to be faced: (1) quantitative investigations before reserve establishment are often lacking; (2) finding experimental controls to reserve areas is not always easy and sometimes impossible: reserve areas are often unique for geographical location and/or topographical features relative to areas nearby. The biological impact of marine reserves has been reviewed by examining studies where data ‘before’ vs. ‘after’ establishment of the reserve and ‘inside’ vs. ‘outside’ the reserve were available (Fraschetti *et al.*, 2002; Halpern, 2003). Results are encouraging and reserves of any size appear to support the predictions of many fisheries models thus producing higher densities, sizes and diversity of organisms. Also, subtidal and intertidal benthic species distribution can be affected, aside from the direct influence of protection, from a wide range of indirect effects, including trophic cascades (*e.g.* Sala *et al.*, 1998; Edgar & Barrett, 1999; Castilla, 1998; Shears & Babcock, 2003). Also, humans intrude upon intertidal and shallow subtidal habitats by chronic removal of predatory gastropods, grazers and algae to support commercial activities (Lasiak, 1998; Castilla, 1999; Lasiak, 1999), harvesting bait species by recreational fishermen (Kingsford *et al.*, 1991), by collecting shells for aesthetic purposes (Underwood, 1993) and trampling (Brosnan & Crumrine, 1994; Keough & Quinn, 1998; Milazzo *et al.*, 2002). Furthermore, there is evidence that top predators can promote major changes in patterns of distribution and dominance of organisms on the shore (Castilla, 1999).

In this study, we compare benthic assemblages from intertidal and shallow subtidal rocky habitat at two MPAs in Sardinia: Tavolara - Punta Coda Cavallo and Penisola del Sinis – Isola di Mal di Ventre, hereafter TAV and SNS respectively. If protection has been effective one would expect large differences among assemblages occurring at different levels of protection. The different accessibility of sites sampled at each MPA, due to the geographic location, was also investigated as a further source of variation. Specifically, we expect large differences among assemblages occurring at different levels of accessibility. The hypothesis tested was that protection effect interacts with the accessibility of locations as humans happen to harvest predators, such as fishes and sea urchins in the subtidal, and invertebrates, mostly *Patella* spp. at the intertidal, irrespectively of restrictions.

Materials and methods – TAV and SNS MPAs are located in North-East and Central-West Sardinia, Italy (Fig. 1). They both were established in 1997 and include a surface area of about 15400 ha and 24800 ha, respectively. At TAV MPA intertidal rocky habitat was sampled in June 2006 at 9 locations: 4 sited in B zones, 4 in C zones and 1 in A zone (Fig. 1). At each location three areas were randomly chosen and in each area 10 replicates were randomly taken. Data were taken in situ using 25×25 cm quadrats and consisted of the number and size of individuals per quadrat of mobile animals (*Patella ferruginea*, *Monodonta turbinata*, *Patella rustica* and *Patella ulyssiponensis*) which are commonly harvested by humans. At SNS MPA subtidal rocky habitat was sampled in June-July 2007 at 12 locations: 2 sited in B zones, 4 in C zones, 2 in A zone and 4 out of the MPA (Fig. 1). At each location two areas were randomly chosen and in each area 10 replicates were randomly taken. Replicates consisted of digital photographs of 50×50 cm rocky surfaces quadrats at about 5 m deep. The structure of benthic assemblages was estimated by analysing images visually.

Non-metric multidimensional scaling (nMDS) was used for both data set to produce two-dimensional ordinations (Anderson & Underwood, 1997) using the Bray–Curtis similarity coefficient on untransformed data (Bray & Curtis, 1957). Multivariate (PERMANOVA and ANOSIM) as well as univariate techniques of data analyses were used to detect differences among levels of protection and geographical location.

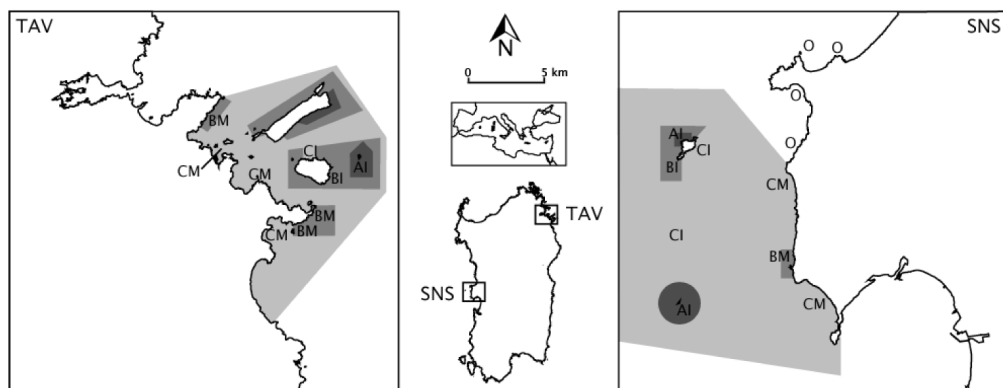


Fig. 1 - Study areas TAV and SNS MPAs showing sampled locations. I=island, M=mainland, A=A zone, B=B zone, C=C zone and O=out of the MPA.

Area Marina Protetta di TAV e SNS e siti campionati: I=isola, M=costa, A=zona A, B=zona B, C=zona C e O=fuori dell'AMP.

Results – At TAV MPA a large variability among locations was found in the structure of assemblages considered (Fig. 2a). Large dissimilarities have been found between mainland and island locations. Specifically, besides the A zone which is the location with the highest density of molluscs, a significantly higher number of individuals of *Patella ferruginea* and *Patella ulyssiponensis* was found at the island locations. Also, for the former species, no individuals were found at protection level C, both at island and mainland locations.

At SNS MPA the large variability found in the structure of subtidal assemblages was not significantly influenced by protection level. Similarities among samples were

actually significantly affected by the interaction between geographical location and protection, independently of the level (Fig. 2b). Encrusting calcified Rhodophytes and bare rock were among the most contributing variables to dissimilarities.

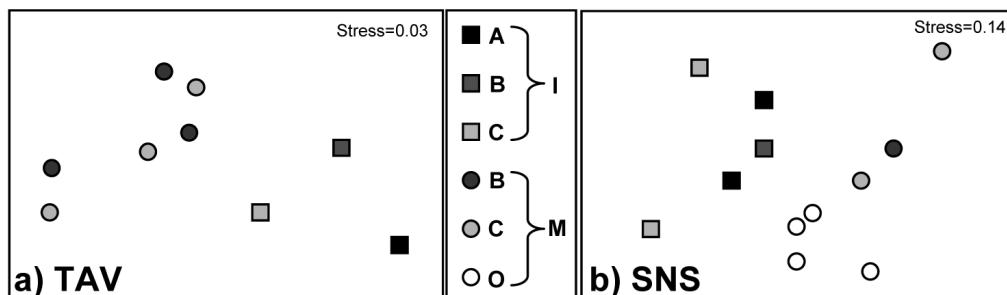


Fig. 2 - nMDS plots. Centroids of locations at a) TAV and b) SNS MPAs. I=island, M=mainland, A=A zone, B=B zone, C=C zone and O=out of the MPA.

Ordinamenti nMDS. Centroidi dei siti campionati all'AMP di a) TAV e b) SNS. I=isola, M=costa, A=zona A, B=zona B, C=zona C e O=fuori dell'AMP.

Conclusions – The results did not indicate significant differences in structure of intertidal and subtidal assemblages among locations under different levels of protection. However, protection was found to be an evident source of variation if in combination with low accessibility of locations. Overall, the contribution of protection to the variability was lower than that due to the geographical location, as dissimilarities among island and mainland locations are evident at both MPAs, disregarding the level of protection.

References

- ANDERSON M.J., UNDERWOOD A.J. (1997) - Effects of gastropod grazers on recruitment and succession of an estuarine assemblage: a multivariate and univariate approach. *Oecologia*, **109**: 442-453.
- BRAY J.R., CURTIS J.T. (1957) - An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monog.*, **27**: 325-349.
- BROSNAN D.M., CRUMRINE L.L. (1994) - Effects of human trampling on marine rocky shore communities. *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.*, **177**: 79-97.
- CASTILLA J.C. (1998) - Human Exclusion from rocky intertidal of Las Cruces, central Chile: effects on *Durvillaea antarctica* (Phaeophyta, Durvilliales). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **50**: 203-214.
- CASTILLA J.C. (1999) - Coastal marine communities: trends and perspectives from human-exclusion experiments. *Trends Ecol. Evol.*, **14**: 280-283.
- EDGAR G.J., BARRETT N.S. (1999) - Effects of declaration of marine reserves on Tasmanian reef fishes, invertebrates and plants. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **242**: 107-144.
- FRASCHETTI S., TERLIZZI A., MICHELI F., BENEDETTI-CECCHI L., BOERO F. (2002) - Marine protected areas in the Mediterranean Sea: objectives, effectiveness and monitoring. *PSZN: Mar. Ecol.*, **23**: 190-200.
- HALPERN B.J. (2003) - The impact of marine reserves: do reserves work and does reserve size matter? *Ecol. Appl.*, **13**: S117-S137.
- KEOUGH M.J., QUINN G.P. (1998) - Effects of periodic disturbances from trampling on rocky intertidal algal beds. *Ecol. Appl.*, **8**: 141-161.
- KINGSFORD M.J., UNDERWOOD A.J., KENNELLY S.J. (1991) - Humans as predators on rocky reefs in New South Wales, Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **72**: 1-14.

- LASIAK T. (1998) - Multivariate comparisons on rocky intertidal macrofaunal assemblages from replicate exploited and non-exploited localities on the Transkei coast of South Africa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **167**: 15-23.
- LASIAK T. (1999) - The putative impact of exploitation on rocky infratidal macrofaunal assemblages: a multi-area comparison. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, **79**: 23-34.
- MILAZZO M., CHEMELLO R., BADALAMENTI F., RIGGIO, S. (2002) - Short-term effect of human trampling on the upper infralittoral macroalgae of Ustica Island MPA (western Mediterranean, Italy). *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, **8**: 745-748.
- SALA E., BOUDOURESQUE C.F., HARMELIN-VIVIEN M. (1998) - Fishing, trophic cascades, and the structure of algal assemblages: evaluation of an old but untested paradigm. *Oikos*, **82**, 425-439.
- SHEARS N.T., BABCOCK R.C. (2003) - Continuing trophic cascade effects after 25 years of no-take marine reserve protection. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **246**: 1-16.
- UNDERWOOD A.J. (1993) - Exploitation of species on the rocky coast of New South Wales (Australia) and options for its management. *Ocean. Coastal Manag.*, **20**: 41-62.

D. CURIEL, C. MIOTTI, M. MARZOCCHI*

SELC, Via dell'Elettricità, 3/d - 30175 Venezia-Marghera, Italia.

curiel@selc.it

*Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Trieste, 75 - 35121 Padova, Italia.

DISTRIBUZIONE QUALI-QUANTITATIVA DELLE MACROALGHE DEI MOLI FORANEI DELLA LAGUNA DI VENEZIA

BENTHIC MARINE ALGAE DISTRIBUTION OF THE INLETS OF THE LAGOON OF VENICE

Abstract – *A study of the benthic algal vegetation in the low middlittoral and infralittoral zones was carried out on the stones of the inlets of the Lagoon of Venice (Northern Adriatic Sea). 69 Rhodophyta (52%), 29 Ochrophyta (22%) and 35 Chlorophyta (26%) were found in the eighteen stations. Taxa number, total covering and both ratios Rhodophyta/Phaeophyta and photophilous/sciophilous species are not balanced. A reduction of species with high quality status has been observed in comparison to the works since the 1960.*

Key-words: *Phytobenthos, Lagoon of Venice, artificial reefs.*

Introduzione - I moli foranei delle tre bocche di porto della Laguna di Venezia sono stati realizzati a partire dall'ottocento per contrastare l'interramento dei canali e permettere il passaggio di navi di maggiori dimensioni. Le macroalghe dei moli foranei sono state investigate floristicamente da Pignatti (1962) nelle tre bocche di porto e da Sfriso (1987) nelle bocche di Lido e Malamocco. A differenza dei precedenti lavori è stato fatto uso per la prima volta di una metodica di campionamento che ha impiegato attrezzatura ARA e superfici standard di prelievo. I dati presentati costituiscono uno stato *ante aperam* delle variazioni antropiche dovute sia ai primi lavori di consolidamento del 1995, sia agli interventi tuttora in corso per la realizzazione delle opere mobili alle bocche. Con i dati è stato eseguito un confronto tra le tre bocche di porto, tra il lato interno e quello esterno dei moli, tra le profondità di campionamento e sono state esaminate le variazioni delle specie rispetto ai precedenti lavori.

Materiali e metodi - In ogni bocca di porto sono state campionate 6 stazioni, distribuite 4 sul lato interno dei moli e 2 su quello esterno. I prelievi sono avvenuti su massi in pietra d'Istria in sito da oltre 10-20 anni. I rilievi sono stati effettuati nell'estate del 1995 tra il limite inferiore del mediolitorale (0,5 m) e l'infralitorale (8,0 m), impiegando operatori in immersione con attrezzatura ARA. I campioni sono stati raccolti su superfici standard di 50×50 cm, mediante raschiamento e sorbona ad aria. Per ogni stazione sono stati calcolati il numero di taxa, il ricoprimento (Boudouresque, 1971), il rapporto Rhodophyta/Phaeophyta (R/P), la biomassa, gli indici di diversità di Shannon e Weaver ed ES(50) (Tabb. 1-3). Il rapporto R/P è qui usato in senso sinecologico, quale valore medio delle stazioni e non come rapporto della lista floristica (Cormaci *et al.*, 1985). Le analisi MDS ed ANOSIM sono state applicate ai valori del ricoprimento specifico. Per l'analisi delle profondità le stazioni di campionamento sono state raggruppate in tre livelli: superficiale (0,5-2,0 m), intermedio (2,0-5,0 m) e profondo (5,0-8,0 m).

Risultati - Nelle 18 stazioni sono state rilevate 133 macroalghe, 69 Rhodophyta (52%), 29 Ochrophyta (22%) e 35 Chlorophyta (26%), suddivise in 115 specie, 9 varietà, 1 sottospecie e 8 taxa determinati a livello di genere. Il numero di specie medio per stazione è 41, con valori maggiori verso la superficie (44) e minori in profondità (33). Il ricoprimento totale medio è pari a 176%, variando sensibilmente tra le stazioni

di superficie e le stazioni più profonde; sino a 3-4 m è ancora superiore al 100% (107-238%) mentre in profondità si riduce di circa 1/3-1/4 (64%). Il rapporto R/P medio è pari a 6,1 e si caratterizza per un'elevata variabilità, soprattutto lungo il profilo verticale. Gli indici di diversità di Shannon e Weaver ed ES(50) non evidenziano evidenti tra le bocche, tra i lati interno ed esterno e tra le profondità.

L'analisi dei parametri strutturali non indica differenze rilevanti tra le tre bocche. Solamente la biomassa nella bocca di Malamocco denota una diminuzione del 40-50%, poiché qui il popolamento è costituito essenzialmente da sole tre specie (*Dictyota* spp., *Ulva laetevirens* e *Bryopsis plumosa*) rispetto alle numerose di Lido (*Dictyopteris polypodioides*, *Chondrachantus acicularis*, *Gracilariopsis longissima*, *Chondria dasyphylla*, *Ulva intestinalis*, *Rhodomenia ardissonaei*) e di Chioggia (*Sargassum muticum*, *Antithamnion cruciatum*, *Rhodomenia ardissonaei*, *Corallina officinalis* e *Gastrioclonium reflexum*). La maggiore biodiversità si rileva nelle stazioni poste nel lato marino dei moli foranei, sia complessivamente (38 taxa vs 47 taxa), sia per singole bocche; al contrario, il ricoprimento e la biomassa risultano inferiori sul lato marino, probabilmente per la minore profondità e l'esposizione ai venti di bora o di scirocco.

L'analisi per piani vegetazionali e gruppi strutturali non denota differenze rilevanti tra le tre bocche o tra il lato interno ed esterno dei moli. Sono molto scarse le *encrusting forming* rispetto alle *erect forming* e alle *turf forming*. Per i gruppi strutturali va segnalata, inoltre, la maggiore abbondanza delle *foliose algae* rispetto alle *filamentous* e alle *corticate-terete algae*; le *laethery algae* sono scarsamente diffuse ad eccezione di *Sargassum muticum*, una alien species rilevata in Laguna a partire dai primi anni '90. In profondità le *erect forming* e le *foliose algae*, rispetto ai livelli superficiali, riducono il ricoprimento del 50% nel livello intermedio (2,0-5,0 m) e di un ulteriore 25% circa in quello profondo. Rispetto alla superficie, il ricoprimento delle specie fotofile si riduce ad 1/3 nel livello intermedio ad 1/5 nel livello più profondo, mentre quello delle specie sciafile rimane stabile. Il rapporto Rhodophyta/Phaeophyta, mediamente bilanciato in tutte le tre bocche (R/P=5,0-7,6) e nei due lati dei moli (R/P=4,3-7,0), ha invece, in profondità, valori molto elevati (R/P=13,2).

La profondità di campionamento e i parametri strutturali sono correlati negativamente ($p < 0,05$, g.l.=16) con il numero di taxa ($R = -0,5$) e con il ricoprimento ($R = -0,63$).

L'analisi ANOSIM indica una scarsa o nulla diversità tra le tre bocche di porto ($R = 0,051$) e tra le profondità ($R = 0,11$), mentre denota una moderata differenza tra il lato interno ed esterno dei moli ($R = 0,563$). L'analisi MDS (figura non riportata) conferma la suddivisione tra lato esterno e quello interno; questi ultimi si differenziano ulteriormente in base alla profondità.

Il numero di taxa rilevato in questo studio (133) è superiore sia a quello del lavoro eseguito alla fine degli anni '80 (106; Sfriso, 1987), sia a quello degli anni '60 (108; Pignatti, 1962). Tale incremento è giustificabile da un miglioramento non tanto della qualità delle acque rispetto ai due precedenti lavori, quanto della metodologia di campionamento che, rispetto a prelievi floristici in apnea, ha fatto uso di attrezzatura ARA e di superfici standard di campionamento.

Rispetto a Pignatti (1962) non sono più stati rilevati 53 taxa, con una marcata riduzione di Rhodophyta (37) e di Ochrophyta (11), indicatrici di buona qualità delle acque (es. *Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Fucus virsoides*, *Sargassum hornschurchii*, *Taonia atomaria*, *Bonnemaisonia asparagoides*, *Nemalion helminthoides* e *Wrangelia penicillata*) e si è riscontrato un significativo incremento di Chlorophyta (7 specie del genere *Cladophora* e 2 del genere *Blidingia*) indicatrici di condizioni eutrofiche. Le Ochrophyta scomparse, in prevalenza *erect algae* e *laethery algae*, sono state sostituite da specie appartenenti alle *turf algae* e *filamentous algae* (*Ectocarpus* spp., *Hinksia* spp., *Feldmania* spp.).

Rispetto a Sfriso (1987) non sono più stati rinvenuti 44 taxa, in gran parte appartenenti alle Rhodophyta (24) e alle Chlorophyta (14), mentre ne sono stati rilevati 71 nuovi (40 Rhodophyta, 19 Ochrophyta e 12 Chlorophyta). In questa variazione si segnala soprattutto la perdita di ulteriori Rhodophyta di pregio ecologico (*Dohrnella neapolitana*, *Grateloupia cosentinii*, *Phyllophora sicula*, *Hildenbrandia rubra*). Tra le nuove specie rilevate sono da segnalare le numerose alien species: *Antithamnion nipponicum*, *Bonnemaisonia hamifera*, *Grateloupia turuturu*, *Neosiphonia harveyi*, *Sargassum muticum*, *Scytosiphon dotyi* e *Codium fragile* subsp. *tomentosoides*.

Conclusioni - Lo studio ha evidenziato una flora macroalgale che, per composizione floristica, risulta relativamente simile tra le tre bocche di porto. Considerando il ricoprimento, solamente tra il lato interno ed il lato esterno, si evidenzia una diversità statisticamente significativa tra le comunità algali. I parametri strutturali hanno evidenziato differenze statisticamente significative solamente in relazione alla profondità, per quanto riguarda il numero di specie, il ricoprimento e la biomassa. Differenze riguardano anche il rapporto R/P che aumenta con la profondità e le specie fotofile che riducono il loro ricoprimento. Sempre in profondità si rileva una riduzione delle *erect forming* e delle *foliose algae* a favore delle *filamentose algae* o delle *turf algae*, più semplici strutturalmente e più competitive in presenza di fattori di stress. Rispetto ai precedenti lavori sono scomparse diverse specie di elevato valore ecologico, sostituite da Chlorophyta o Ochrophyta eurivalenti o di carattere eutrofico che segnalano, invece, una perdita di funzionalità ecologica.

Tab. 1 - Parametri strutturali medi dei moli foranei delle tre bocche di porto.

Mean values of structural indicators of the stations in the inlets.

	Totale stazioni	Lido	Malamocco	Chioggia
Profondità (m)	0,5-8,0	0,5-5,0	0,5-8,0	0,5-7,0
N. taxa	41	41	44	38
Ricoprimento totale (%)	176	175	157	186
Biomassa totale (g p.s/m ²)	160	180	106	194
Rhodophyta/Phaeophyta	6,1	5,7	5	7,6
Indice Shannon	2,7	2,7	2,8	2,7
ES(50)	9,1	9,2	8,9	9,3

Tab. 2 - Parametri strutturali medi delle stazioni interne ed esterne ai moli foranei.

Mean values of structural indicators of the stations placed in the lagoon side and the marine side of the inlets.

	Stazioni interne	Stazioni esterne
Profondità (m)	0,5-8,0	1,0-3,5
N. taxa	38	47
Ricoprimento totale (%)	192	134
Biomassa totale (g p.s/m ²)	223,3	33,2
Rhodophyta/Phaeophyta	7,0	4,3
Indice Shannon	3,0	2,3
ES(50)	10,5	6,5

Tab. 3 – Parametri strutturali dei tre livelli di profondità dei moli foranei.

Mean values of structural indicators of the stations placed with different depth in the inlets.

	Stazioni superficiali (0,5-2,0 m)	Stazioni intermedie (2,0-5,0 m)	Stazioni profonde (5,0-8,0 m)
Profondità (m)	0,5-2,0	3,0-4,0	5,5-8,0
N. taxa	44	39	33
Ricoprimento totale (%)	238	107	64
Biomassa totale (g p.s/m ²)	212	124	46
Rhodophyta/Phaeophyta	4,1	5,9	13,2
Indice Shannon	2,9	2,3	3,1
ES(50)	10,0	7,0	10,0

Bibliografia

- BOUDOURESQUE C.F. (1971) - Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Téthys*, **3** (1): 79-104.
- CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G., COLONNA M., MANNINO A.M. (1985) - Metodo sinecologico per la valutazione degli apporti inquinanti nella rada di Augusta (Siracusa). *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **18**: 829-850.
- PIGNATTI S. (1962) - Associazioni di alghe marine sulla costa Veneziana. *Mem. Ist. Veneto Sci. Lett. Arti, Cl. Sci. Mat. Nat.*, **32**: 1-134.
- SFRISO A. (1987) - Flora and vertical distribution of macroalgae in the Lagoon of Venice: a comparison with previous studies. *Giorn. Bot. Ital.*, **121**: 69-85.

G. FABI, S. MANOUKIAN, E. PUNZO, A. SPAGNOLO

CNR – Istituto di Scienze Marine (ISMAR) Sede di Ancona, Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.
a.spagnolo@ismar.cnr.it

IMPATTO DELLO SCARICO DI FANGHI PORTUALI SULLE COMUNITÀ BENTONICHE DI FONDO MOBILE (NORD ADRIATICO)

IMPACT OF HARBOUR SLUDGE DISCHARGE ON SOFT-BOTTOM BENTHIC COMMUNITIES (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Abstract - The potential impact on benthic community was investigated before, during and at the end of the disposal of 200.000 m³ of Ancona Harbour sludge in an open-sea discharge area. A slow stress seemed to affect the benthic organisms living within the area, although it was difficult to separate dumping effects from natural variations in a dynamic coastal area.

Key-words: harbour sludge disposal, discharge area, benthic communities, Northern Adriatic Sea.

Introduzione - Gli effetti indotti sulle comunità bentoniche di fondo mobile dallo sversamento di fanghi in aree di mare aperto sono stati investigati da vari Autori (Wildish e Thomas, 1985; Essink *et al.*, 1992). I conseguenti cambiamenti fisici e chimici del sedimento e della colonna d'acqua rappresentano le maggiori fonti di stress per i macroinvertebrati (Witt *et al.*, 2004). L'impatto può essere più o meno consistente e il dinamismo tipico delle comunità bentoniche costiere rende difficoltoso differenziare tra gli effetti dovuti alla variabilità naturale e quelli indotti dall'attività antropica. Nel presente lavoro vengono descritti gli effetti sul popolamento bentonico determinati dallo sversamento di 200.000 m³ di materiale proveniente dal Porto di Ancona in un sito di scarico in mare aperto.

Materiali e metodi - L'area di scarico dei fanghi portuali di Ancona (4,3×2,8 km) è situata a 7 km dalla costa su un fondale silt-argilloso (profondità: 23-32 m; Fig. 1) ed è in grado di ricevere in totale circa 590.000 m³ di materiale con una copertura di 5 cm.

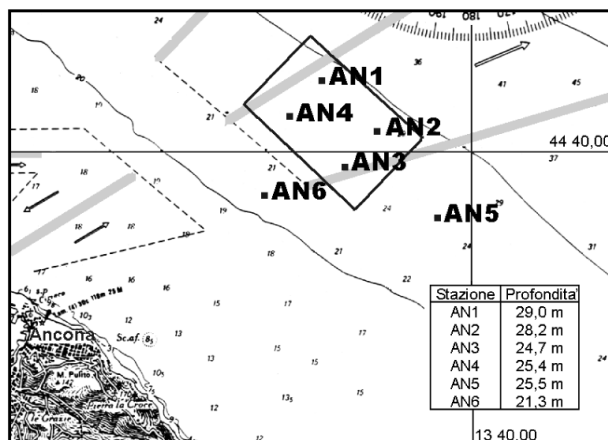


Fig. 1 - Localizzazione dell'area di discarica dei fanghi portuali di Ancona e stazioni di campionamento (AN1-AN6) con relative profondità.

Location of the Ancona Harbour discharge area and sampling sites (AN1-AN6) with corresponding depths.

In previsione dello sversamento di 200.000 m³ di sedimenti, sono stati condotti tre monitoraggi, prima dell'inizio dei lavori (ottobre 2004; pre-survey; PS), a metà (maggio 2005; MS) e a fine scarico (luglio 2005; FS). I prelievi sono stati effettuati su 6 siti di cui 4 (AN1-AN4) situati all'interno dell'area stessa e 2 (AN5 e AN6) all'esterno di essa (controlli), posti a distanze tali da non esserne influenzati. In ogni sito sono stati prelevati 4 campioni con benna Van Veen (capacità: 13 l; apertura: 0,105 m²). Dopo il sorting, sono stati calcolati i seguenti indici medi: densità (n. ind/0,105 m²; N), biomassa (gr/0,105 m²; P), ricchezza specifica (S_m) e diversità specifica (H'). Per valutare lo stress dell'area è stato applicato l'indice \bar{W} di Clarke (Warwick e Clarke, 1994), mentre per determinare le eventuali differenze fra i siti monitorati nei tre survey è stato applicato il Multi-Dimensional Scaling (MDS), basato sui dati di densità delle singole specie previa trasformazione in $\sqrt{}$, calcolando una matrice di similarità basata sul coefficiente di Bray-Curtis.

Risultati - Nell'area di scarico sono stati censiti 26 taxa durante il PS, 31 nel MS e 32 nel FS. Presso i controlli sono stati rilevati 24 taxa (PS), 22 (MS) e 18 (FS). I policheti sono sempre risultati il gruppo che ha incluso il maggior numero di specie, seguiti da molluschi e/o crostacei e dai gruppi minori. Nell'ambito di ciascun sito è stato riscontrato un notevole ricambio di specie da un survey all'altro. Ad esempio, nel MS non sono più stati rinvenuti alcuni taxa come *Trachythione elongata* (ovunque) e *Nephtys hystricis* (all'interno della discarica), quest'ultimo presente di nuovo nel FS, mentre ne sono comparsi altri come *Cirratulus filiformis*.

La ricchezza specifica media (Fig. 2), compresa tra $6,8 \pm 0,5$ (AN1) e $9,5 \pm 0,7$ (AN6) nel PS, nel MS non ha presentato particolari variazioni in tutti i siti tranne AN3, dove si è ridotta da $8,8 \pm 1,4$ a $5,8 \pm 1,0$. Nel FS S_m è aumentata in questo sito ($9,5 \pm 1,4$), è diminuita in AN4 e AN6 (da $8,5 \pm 1,5$ a $6,3 \pm 0,6$ e da $10,5 \pm 1,0$ a $7,8 \pm 1,3$ rispettivamente), mentre è rimasta simile altrove.

La densità è risultata piuttosto omogenea ad ogni survey (Fig. 2). Nel MS si è verificato un incremento ad eccezione di AN3, e tale aumento è proseguito in alcuni siti sino a FS. *Sternaspis scutata* è sempre risultata la specie più abbondante ovunque, mostrando un incremento fino a FS. Nel PS sono risultate importanti anche *Corbula gibba*, *Mysella bidentata* e *Labidoplax digitata*. La prima, rinvenuta nel MS solo in AN1, nel FS è scomparsa anche in quel sito; *M. bidentata*, dopo un generale aumento nel MS, si è ridotta nel FS, mentre *L. digitata* ha sempre rappresentato la seconda specie in termini di importanza.

A differenza di N, i valori di biomassa relativi alle varie stazioni sono risultati più eterogenei durante ogni monitoraggio (Fig. 2), mentre nell'ambito di uno stesso sito le variazioni da un survey all'altro sono apparse modeste, considerando l'elevata variabilità tra i campioni. Da sottolineare la riduzione registrata in AN4 nel FS.

In generale, H' ha indicato la presenza di una comunità poco diversificata, sia all'interno che all'esterno dell'area (Fig. 2). Nel MS è stato registrato un lieve peggioramento rispetto al PS, più accentuato in AN3 (da $0,72 \pm 0,08$ a $0,51 \pm 0,07$) per la forte dominanza di *S. scutata* (67%). La generale riduzione è proseguita in quasi tutti i siti anche nel FS, in particolare in AN4 e AN6.

L'indice di Clarke (Tab. 1) non ha evidenziato particolari situazioni di stress in tutto il periodo, tranne in AN2 nel PS. Nel tempo, \bar{W} è aumentato in AN1 e si è ridotto in AN6. In AN2 e AN5, dopo un incremento nel MS, l'indice si è abbassato, senza però raggiungere i valori iniziali; in AN3 ha presentato una riduzione nel MS e un aumento nel FS. In AN4, infine, è stato evidenziato un decremento nell'ultimo survey.

L'MDS (Fig. 3) conferma quanto descritto precedentemente, ovvero la discreta omogeneità, evidenziata dai cluster basati su una similarità del 60%, tra tutti i siti

nell'ambito di ogni monitoraggio e le variazioni temporali. Fanno eccezione AN6, caratterizzata da quantitativi inferiori di *S. scutata* rispetto alle altre stazioni nel PS, e AN1, unica stazione in cui, nel MS, è stata rinvenuta *C. gibba*.

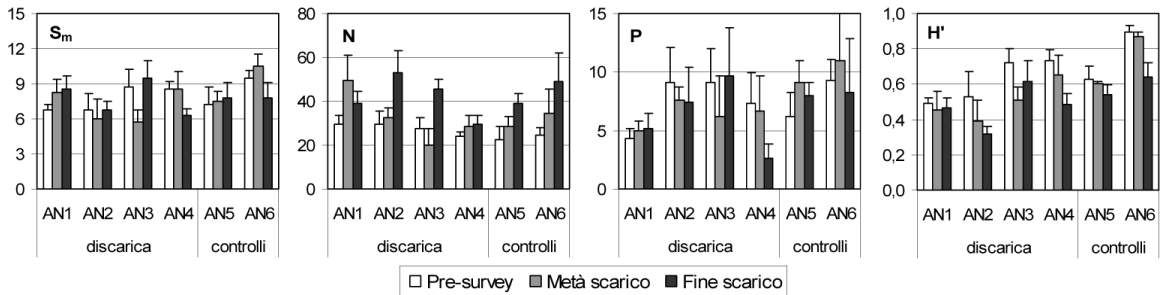


Fig. 2 - Valori medi (\pm e.s.) di ricchezza specifica (S_m), densità (N ; n. ind/0,105m²), biomassa (P ; gr/0,105 m²), e diversità specifica (H') ottenuti nei tre monitoraggi.

Mean values (\pm s.e.) of species richness (S_m), density (N ; n. ind/0.105m²), biomass (P ; gr/0.105 m²) and diversity index (H') recorded during the three surveys.

Tab. 1 - Valori dell'indice di Clarke (W) ricavati dal metodo ABC nei tre monitoraggi.

Values of Clarke index (W) from ABC method during the three surveys.

	Stazione	Pre-survey	Metà scarico	Fine scarico
Discarica	AN1	0,032	0,050	0,069
	AN2	-0,039	0,061	0,026
	AN3	0,204	0,178	0,201
	AN4	0,248	0,246	0,082
Controlli	AN5	0,139	0,180	0,169
	AN6	0,358	0,284	0,110

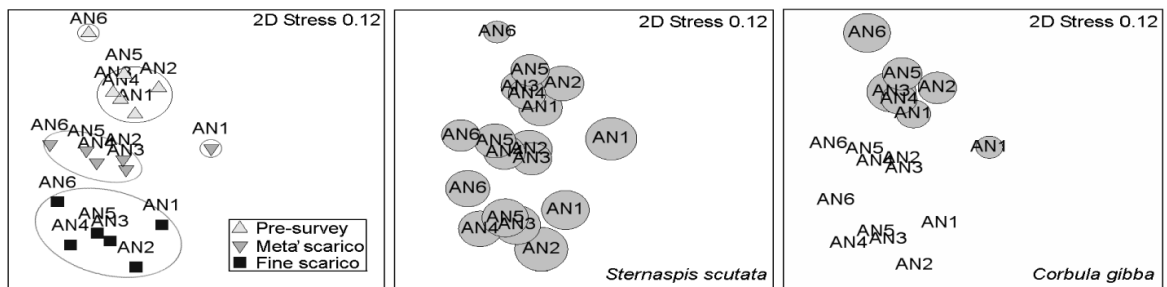


Fig. 3 - Rappresentazione bidimensionale dei siti monitorati nei tre survey mediante il metodo dell'MDS. I cerchi grigi rappresentano le densità di *Sternaspis scutata* e *Corbula gibba* registrate in ogni sito nei tre monitoraggi. AN1-AN4: siti all'interno della discarica; AN5-AN6: controlli.

Bidimensional representation of the sampling sites through MDS method. Grey bubbles represent the density of *Sternaspis scutata* e *Corbula gibba* obtained at the sampling sites during the three surveys. AN1-AN4: sampling sites within the discharge area; AN5-AN6: control stations.

Conclusioni - Nell'intero periodo di indagine si è riscontrata una sostanziale omogeneità ovunque, come già osservato da Bonvicini Pagliai *et al.* (2000) nell'area di scarico dei fanghi portuali di Ravenna. Le comunità rinvenute sono apparse sempre

dominate da specie della Biocenosi dei fanghi terrigeni costieri (*S. scutata*, *L. digitata* e *M. bidentata*), tipica della zona. Già nel MS è stato registrato un notevole ricambio di taxa rispetto al PS. Un esempio è il mancato rinvenimento di *T. elongata* e *N. hystricis*, che in presenza di un disturbo fisico, rappresentato in questo caso dallo sversamento dei fanghi portuali, tendono a sparire (Lindeboom e Groot, 1998), e la comparsa di *C. filiformis*, che ben si adatta ad alti quantitativi di sostanza organica, aumentata ovunque nel MS. Nel FS è continuato il ricambio di specie ed è stato di nuovo rinvenuto *N. hystricis* tranne in AN4, posta nella porzione della discarica più utilizzata per lo sversamento dei fanghi in quel periodo, come evidenziato dai rilievi Multibeam Echosounder e Side Scan Sonar effettuati in contemporanea ai prelievi di benthos (Fabi *et al.*, 2005). Anomala è invece risultata la scomparsa nel MS di *C. gibba*, un organismo piuttosto resistente a varie forme di stress (Hyscock *et al.*, 2004). È da rilevare che la zona in cui è posta la discarica costituisce un ambiente “dinamico” dal punto di vista fisico, chimico e biologico, presentando profondità poco elevate, essendo esposta a tutte le condizioni meteo-marine e localizzata lungo la rotta di uscita delle navi dal Porto. Le comunità bentoniche tipiche di tali aree possono sopportare cambiamenti climatici e fenomeni di stress anche intensi. Rimane pertanto difficoltoso discriminare, tra le variazioni osservate, quelle derivate da attività antropiche e quelle correlate a fenomeni naturali, come riscontrato anche da altri Autori (Wildish e Thomas, 1985; Witt *et al.*, 2004). L'indice di Clarke non ha evidenziato particolari situazioni di stress in tutti i tre survey, ma ha mostrato alcune variazioni nel tempo un po' ovunque, suggerendo un lieve disturbo generalizzato. Tale disturbo potrebbe essere in parte attribuito al traffico marittimo, come suggerito dal basso valore in AN2 nel PS, ma è verosimile che le operazioni di scarico abbiano anch'esse contribuito, in particolare in AN3 (MS) e AN4 (FS). Questi siti sono posti nella parte più costiera dell'area e ciò indica un maggiore sfruttamento della porzione più rapidamente raggiungibile, prassi già rilevata presso altri siti di scarico di fanghi portuali (Bonvicini Pagliai *et al.*, 2000).

Bibliografia

- BONVICINI PAGLIAI A.M., FRASCARI F., BERGAMINI M.C., CREMA R., MATTEUCCI G., VALENTINI A. (2000) - Effetti biotici ed abiotici dello scarico di materiali di dragaggio portuale sui fondali marini: un caso di studio in Adriatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **7** (1): 752-757.
- ESSINK K., STEYFARTH F.H.I.M., MULDER H.P.J., DE JONGE V.N., VAN HEUVEL T., VAN DEN BERGS J. (1992) - Effects of dredging activities in the Ems estuary and Dutch Wadden Sea. *Neth. J. Sea Res.*, **20**: 243-246.
- FABI G., DE RANIERI S., MANOUKIAN S., SPAGNOLO A., TEDESCHI R. (2005) - Monitoraggio ambientale dell'area di discarica dei sedimenti provenienti dal dragaggio del porto di Ancona. Risultati dopo la fine della fase di scarico del sedimento (~200.000 m³) proveniente dai lavori di escavo del bacino Cantieri Navali Minori. Rapporto del CNR-ISMAR di Ancona per l'Autorità Portuale di Ancona: 60 pp.
- HISCOCK K., LANGMEAD O., WARWICK R. (2004) - Identification of seabed indicator species from time-series and other studies to support implementation of the EU habitats and water framework directives. Report to the Joint Nature Conservation Committee and the Environment Agency from the Marine Biological Association. Plymouth: Marine Biological Association. JNCC Contract F90-01-705: 109 pp.
- LINDEBOOM H.J., GROOT S.J. (1998) - The effects of different types of fisheries on the North Sea and Irish Sea benthic ecosystems. NIOZ-Rapport: 404 pp.
- WARWICK R.M., CLARKE K.R. (1994) - Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities. *Mar. Biol.*, **118**: 739-744.
- WILDISH D.J., THOMAS M.L.H. (1985) - Effects of dredging and dumping on benthos of Saint John Harbour, Canada. *Mar. Environ. Res.*, **15**: 45-57.
- WITT J., SCHROEDER A., KNUST R., ARNTZ W.E. (2004) - The impact of harbour sludge disposal on benthic macrofauna communities in the Weser estuary. *Helgol. Mar. Res.*, **58**: 117-128.

G. FONTANA¹, K.I. UGLAND³, J.S. GRAY³, R. PASSARO¹,
S. SANTIN^{1,2}, C. BORSINI¹, S. TISELLI¹, C. CASELLI¹, M. CECCARELLI¹,
S. BACCHI¹, J. VAN ETTEN¹, G. BRIASCO¹, T.J. WILLIS¹, M.J. ANDERSON⁴, L. AIROLDI^{1,2},
M. FERRARO⁵, C. ALBERTI DI CATENAJA⁵, M. ABBIATI^{1,2}

¹Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali (C.I.R.S.A.), Università di Bologna
Via S. Alberto, 163 – 48100 Ravenna, Italia.

g.fontana@unibo.it

²Dip. di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna, Italia.

³Dep. of Biology, University of Oslo, Norway.

⁴Dep. Os Statistics, University of Auckland.

⁵ENI E & P, San Donato Milanese, Italia.

BIODIVADR - STUDIO A SCALA REGIONALE DELL'IMPATTO DELL'ATTIVITÀ ESTRATTIVA OFF SHORE SULLA BIODIVERSITÀ DEI POPOLAMENTI MACROBENTONICI DELL'ALTO ADRIATICO

BIODIVADR - REGIONAL SCALE ASSESSMENT OF THE IMPACT OF OFF SHORE GAS FIELD ON THE STRUCTURE OF THE MACROBENTHIC ASSEMBLAGE IN THE NORTHERN ADRIATIC SEA

Abstract – *The effect of the off shore gas platforms on biodiversity of macrobenthic assemblages was studied in a large area of the North Adriatic sea. Results show that any effect of the structures is less than natural variability or other human-induced sources of variation in the study area. The depth and the latitudinal gradients drive patterns of distribution of the benthic assemblages.*

Key-words: *Adriatic Sea, macrobenthos, impact assessment, BIODIVADR, off-shore gas.*

Introduzione – Molte indagini hanno dimostrato che l'attività estrattiva off-shore può alterare i pattern di distribuzione degli organismi bentonici che colonizzano i sedimenti costieri (Olsgard e Gray, 1995). In nord Adriatico la maggior parte degli studi sull'impatto delle strutture off-shore sono stati condotti a piccola scala (singole piattaforme, Crema *et al.*, 2001). Il limitato livello di replicazione spaziale rendeva difficile discriminare le alterazioni indotte dalla presenza di una specifica sorgente di impatto rispetto alla variabilità naturale del sistema (Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003). Scopo del presente studio è testare a livello regionale mediante un disegno di campionamento multiscala l'esistenza di un effetto delle strutture off-shore sui pattern di diversità spaziale del macrobenthos di fondo molle nell'Alto Adriatico.

Materiali e metodi – Al fine di caratterizzare correttamente la variabilità a diverse scale spaziali, l'area di studio è stata suddivisa in 7 settori. All'interno di ciascun settore sono state scelte in maniera casuale tre piattaforme (Fig. 1). 4 campioni di sedimento sono stati prelevati mediante benna Van Veen da 0.1 m² a tre diverse distanze da ciascuna piattaforma: <500 m, 500-1000 m e >3000 m; definite rispettivamente proximity 1, 2 e 3. Complessivamente i campioni di sedimento sono stati prelevati ad una profondità compresa tra i 10 e i 30 m (Fig. 1). Oltre al riconoscimento degli organismi prelevati in ciascun campione, sono state effettuate analisi sulla granulometria del sedimento e sul suo contenuto di sostanza organica. Al fine di valutare la consistenza temporale nei pattern spaziali osservati, il disegno di campionamento è stato replicato in due anni (2003 e 2005). In totale sono stati raccolti 576 campioni. L'analisi sulla diversità ha riguardato misure di variabilità compositiva (indice di Bray Curtis su dati trasformati mediante radice quarta), di ricchezza di specie, abbondanza di individui e di dominanza (calcolata come 1-indice di Pielou). I dati ottenuti sono stati analizzati con il software Primer e Permanova +.

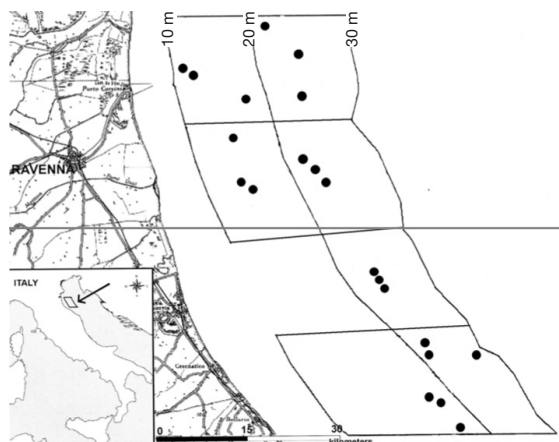


Fig. 1 - Area di campionamento.
Sampling area.

Risultati – Complessivamente nel 2003 sono stati raccolti più individui rispetto al 2005 (125 506 organismi per 210 taxa rispetto a 113 067 per 207 taxa). Nel 2005 si è rilevato un più elevato numero di specie con bassa frequenza (numero di campioni in cui ogni specie è presente). A grande scala i popolamenti bentonici sono caratterizzati da una elevata variabilità spaziale e temporale. L'ordinamento non vincolato (MDS) tra i centroidi delle proximity per ciascuna piattaforma (Fig. 2), evidenzia una grande

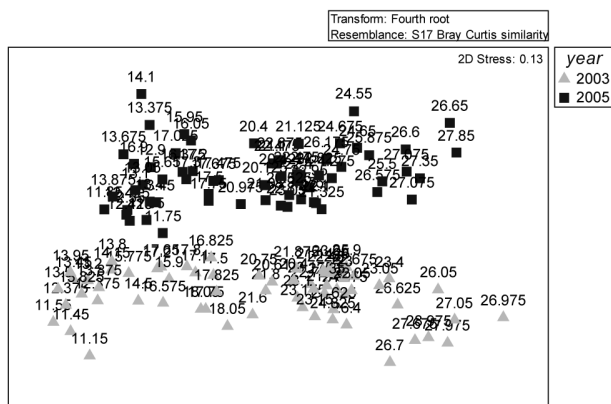


Fig. 2 - MDS dei centroidi calcolati per ogni distanza di ciascuna piattaforma per entrambe le date di campionamento. I valori numerici indicati rappresentano la profondità media di ciascuna distanza.

MDS of centroids for each proximity of each platform in both the sampling dates. Numerical values are the average depths for each proximity.

variabilità nella struttura dei popolamenti bentonici tra le due date di campionamento. In entrambi gli anni i pattern spaziali sono in gran parte spiegati dalla profondità dei campioni (secondo un gradiente batimetrico crescente in Fig. 2 da sinistra verso destra). Questo dato è confermato anche per i singoli campioni dalle regressioni multi-

ple tra le variabili ambientali misurate (profondità dei campioni, latitudine, contenuto percentuale di silt/argille nel sedimento, contenuto percentuale di materia organica totale nel sedimento e peso di conchiglie e detrito nel sedimento) e la matrice di similarità di Bray Curtis dei dati biotici. Dall'analisi emerge come la profondità spieghi, in entrambe le date di campionamento, la maggior parte della variabilità nella struttura dei popolamenti (circa il 30% nel 2003 e il 20% nel 2005) mentre le altre variabili contribuiscono solo in misura minore (la latitudine, seconda per importanza dopo la profondità nello spiegare la variabilità biologica, contribuisce per circa il 2% nel 2003 e il 4% nel 2005). La profondità riveste un ruolo importante anche nello spiegare i pattern spaziali degli indici di biodiversità: variabilità nella ricchezza di specie (73% nel 2003 e 22% nel 2005), nell'abbondanza di individui (70% nel 2003 e 36% nel 2005) e nella dominanza (31% nel 2003 e 7% nel 2005), mentre la latitudine spiega principalmente i pattern di dominanza del 2005 (31% rispetto al 2% del 2003). Utilizzando la profondità come covariabile per testare variazioni della biodiversità tra siti vicini e siti lontani dalle piattaforme (analisi della varianza) in ciascuna data di campionamento, si sono evidenziate solo nel 2003 differenze composizionali significative a grande scala imputabili alla presenza delle strutture (significatività nel fattore proximity, $p < 0.05$). Un simile pattern non è risultato infatti consistente a livello temporale (il fattore pro-

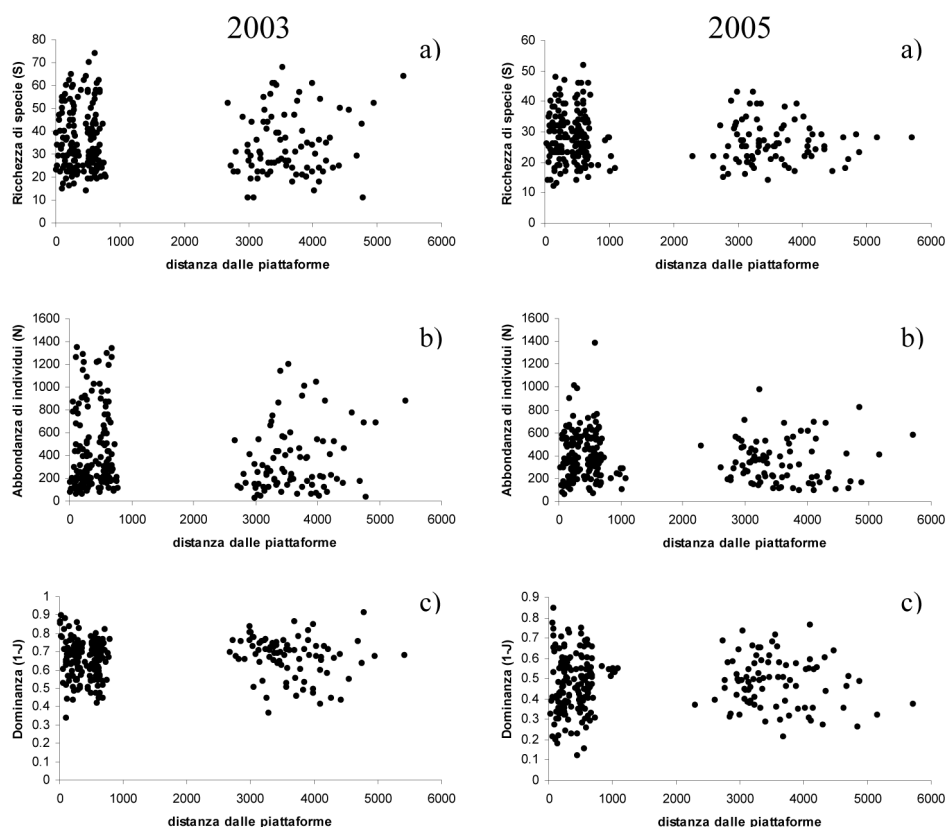


Fig. 3 - Relazione tra (asse y) i valori di (a) ricchezza di specie, (b) numero totale di individui, (c) dominanza e (asse x) la distanza dalle piattaforme per (destra) 2003 e (sinistra) 2005.

Correlation between (a) species richness, (b) total abundance, (c) dominance, and distances from the platforms for (left) 2003 and (right) 2005.

ximity non risulta significativo nel 2005, $p=0.12$). L'analisi dell'effetto delle piattaforme a scala inferiore (tra proximity all'interno di ciascun settore) ha evidenziato differenze marginali in un solo settore nel campionamento effettuato nel 2005. L'analisi multivariata di regressione tra la matrice di Bray Curtis e la distanza lineare dalle piattaforme, utilizzando la profondità come covariabile, ha mostrato che l'effetto della vicinanza alle strutture spiega solamente l'1% della variabilità nella matrice dei dati biotici. Regressioni univariate lineari tra le misure di biodiversità e la distanza dai singoli campioni dalle piattaforme non hanno mostrato correlazioni rilevanti: la variabilità associata alla distanza dalle strutture off-shore è risultata essere inferiore all'1% in entrambe le date di campionamento. (in Fig 3 è riportata la relazione tra i valori di biodiversità e la distanza dei campioni dalle piattaforme per entrambe le date di campionamento). Risultati analoghi si sono ottenuti studiando la correlazione tra le caratteristiche del sedimento e la distanza dalle strutture off-shore (la percentuale di variabilità spiegata è risultata inferiore all'1%).

Conclusioni – L'effetto delle piattaforme off-shore sulla biodiversità del macrobenthos e sulle caratteristiche del sedimento è risultato trascurabile rispetto ai livelli di variabilità (spaziale e temporale) dell'area, attribuibili a processi naturali ed all'influenza di varie tipologie di attività antropiche (es. pesca, apporti fluviali, sedimentazione, input inquinanti di origine terrestre, etc.). Fra i parametri analizzati la profondità è quello che maggiormente influenza la biodiversità dei popolamenti bentonici in entrambe le date di campionamento. Le differenze osservate nei popolamenti di benthos prelevati vicino e lontano dalle piattaforme sono risultate inferiori a quelle causate da variazioni della profondità, anche di un solo metro. I risultati ottenuti evidenziano come l'attività estrattiva di gas in Alto Adriatico abbia conseguenze molto diverse da quelle dell'estrazione di petrolio sul macrobenthos del Mare del Nord (Olsgard e Gray, 1995). Le piattaforme per l'estrazione di gas non rilasciano inquinanti in quantità o con caratteristiche comparabili a quelli rilasciati nell'esercizio dell'estrazione del petrolio (e.g. perdite occasionali di idrocarburi associate alle attività di perforazione), pertanto il loro impatto sul benthos è limitato.

Bibliografia

- BENEDETTI-CECCHI L., AIROLDI L., FRASCHETTI S., TERLIZZI A. (2003) - Metodi sperimentali per la valutazione di influenze antropiche su popolamenti ed ambienti marini costieri. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10**: 485-508.
- CREMA R., PREVEDELLI D., CASTELLI A. (2001) - Effect of submerged structures on the diversity of macrozoobenthos in the Northern Adriatic Sea. In: *Mediterranean ecosystems: structures and processes*. Springer Ed.: 367-374.
- OLSGARD F., GRAY J.S. (1995) – A comprehensive analysis of the effects of the off-shore oil and gas exploration on the benthic communities of the Norwegian continental shelf. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **122**: 277-305.

S. FRANZELLITTI, F. DONNINI, E. FABBRI

Centro interdipartimentale di ricerca per le scienze ambientali (CIRSA), Università di Bologna,
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.
elena.fabbri@unibo.it

PROFILI DI ESPRESSIONE DI GENI SENSIBILI
ALLE ALTERAZIONI AMBIENTALI
COME INDICATORI DELL'ESPOSIZIONE
A FATTORI DI STRESS IN AMBIENTI MARINI COSTIERI

*GENE EXPRESSION PROFILES AS INDICATORS OF STRESS
EXPOSURE IN COASTAL MARINE ENVIRONMENTS*

Abstract – *Mussels were transplanted for 30 days in a contaminated channel within the coastal lagoon Pialassa Baiona (RA). Samples were collected after 2, 5, 7, 14 and 28 days and analysed for the classical biomarkers and for the expression of metallothionein (MT10 and MT20) and heat shock proteins (HSP70 and HSC70) genes. Gene expression increased with time consistently with the stress syndrome development.*

Key-words: *Mytilus galloprovincialis, metallothionein, Hsp70, mercury, gene expression.*

Introduzione – Gli ambienti marini costieri sono soggetti all'impatto di numerose attività antropiche, quali un'intensa urbanizzazione, l'agricoltura, e le attività industriali. Gli organismi che vivono in tali ambienti sono pertanto esposti a molteplici fattori di stress, che inducono evidenti alterazioni di specifici parametri biochimico/fisiologici o genetici. Molti di questi sono misurabili in modo relativamente semplice e ripetibile, e definiti *biomarker*. Al fine di valutare la relazione tra biomarker consolidati e l'espressione genica, abbiamo analizzato le risposte di alcuni biomarker e i profili di espressione di geni sensibili alle alterazioni ambientali nel mitilo *Mytilus galloprovincialis*, largamente utilizzato come sentinella ambientale nei programmi di biomonitoraggio di ambienti marini costieri (Viarengo *et al.*, 2007)

Materiali e metodi – In esperimenti in condizioni controllate abbiamo esposto i mitili a noti fattori di stress in acquario (stress termico: 35 °C, 1 ora; metalli pesanti: Hg²⁺ o CH₃Hg⁺ 0.75 µM, da 8 ore a 6 giorni). A ogni gruppo di esperimenti è stato associato un gruppo di organismi di controllo, mantenuto nelle stesse condizioni di alimentazione, temperatura (eccetto per gli esperimenti di stress termico, in cui il gruppo di organismi di controllo è stato mantenuto a 16 °C nel corso dell'esperimento), e ossigenazione degli organismi sottoposti al trattamento.

Gruppi di 60 mitili sono stati trapiantati per diversi periodi (da 2 fino a 30 giorni) nel Canale Magni della Pialassa Baiona, una zona lagunare situata a nord-est di Ravenna, noto per gli alti livelli di inquinamento ambientale, in particolare da mercurio. In questo caso, il controllo sperimentale è rappresentato da un gruppo di 60 mitili sacrificati e dissezionati nello stesso giorno in cui è avvenuto il posizionamento in Pialassa (tempo zero). Sia per i mitili campionati al tempo zero che per quelli trapiantati in Pialassa, i tessuti sono stati opportunamente prelevati, congelati immediatamente in azoto liquidi e conservati a -80 °C fino al momento del loro utilizzo.

Sono state valutate le risposte di due *biomarkers*, la stabilità delle membrane lisosomiali e i livelli di metallothioneine (MT). Inoltre, dopo estrazione dell'RNA totale dai tessuti di mitilo, è stata valutata l'espressione dei geni per le proteine HSP70. Per il sequenziamento dei tratti genici ed i primers utilizzati si fa riferimento a Franzellitti e Fabbri (2005) per *MgHSP70* e *MgHSC70*; Dondero *et al.* (2005) per *MT10* e *MT20*, e Franzellitti e Fabbri (2006) per il trasportatore *Pgp*.

Risultati – Gli esperimenti condotti in laboratorio hanno dimostrato che l'espressione dei prodotti genici *HSP70* è diversamente regolata dall'esposizione allo stress termico e ai metalli pesanti analizzati (Tab. 1). L'andamento temporale della risposta ad Hg^{2+} e a CH_3Hg^+ indica che mentre *MgHSP70* è indotto in modo transiente come risposta immediata, *MgHSC70* rappresenta la risposta citoprotettiva a lungo termine. I prodotti genici *MT10* e *MT20* di mitilo, codificanti per due isoforme proteiche di MT, sono entrambi sovra-espressi nei mitili esposti ad Hg^{2+} . Il prodotto genico codificante per il trasportatore Pgp è anch'esso differenzialmente regolato da Hg^{2+} e CH_3Hg^+ , indicando una funzione della forma chimica del metallo nell'indurre la risposta citoprotettiva.

Tab. 1 - Variazione dei profili di espressione genica in mitili esposti a stimoli stressori in condizioni di laboratorio. I dati rappresentano la media \pm errore standard della percentuale di variazione dei livelli di espressione nei campioni trattati rispetto ai mitili di controllo. * $p < 0.05$ vs controllo, 1-way ANOVA seguito da Mann-Whitney *post hoc* test.

*Gene expression profiles of mussels exposed to model stress stimuli under laboratory conditions. Data represent the mean \pm SEM of the percentage of variation in treated samples with respect to control values. * $p < 0.05$ vs control, 1-way ANOVA followed by the Mann-Whitney *post hoc* test.*

	temperatura (35°C, 1 ora)	[Hg ²⁺] = 0.75 μ M			[CH ₃ Hg ⁺] = 0.75 μ M	
		8 ore	3 giorni	6 giorni	8 ore	6 giorni
Espressione gene <i>MgHSP70</i>	250 \pm 20*	150 \pm 0.8*	200 \pm 2*	102.4 \pm 0.6	40 \pm 3*	20.0 \pm 3.5*
Espressione gene <i>MgHSC70</i>	108 \pm 8	95 \pm 1*	102 \pm 3	280 \pm 5*	220 \pm 4*	235 \pm 7*
Espressione gene <i>MT10</i>			2000 \pm 20*	1800 \pm 16*		
Espressione gene <i>MT20</i>			2500 \pm 30*	4000 \pm 20*		
Espressione gene <i>MgPgp</i>		180 \pm 5*	16.4 \pm 0.7*	15.6 \pm 0.9*	550 \pm 10*	530 \pm 15*

Tab. 2 - Variazione dello stato di salute e dei profili di espressione genica in mitili trapiantati per diversi periodi in Canale Magni (Pialassa Baiona, Ravenna, Italia). I dati rappresentano la media \pm errore standard della percentuale di variazione ai vari tempi di campionamento rispetto ai livelli rilevati nei mitili al tempo zero (controllo). * $p < 0.05$ vs controllo, 1-way ANOVA seguito da Mann-Whitney *post hoc* test.

*Gene expression profiles and health status of mussels transplanted for different exposure periods within the Magni Channel (Pialassa Baiona, Ravenna, Italy). Data represent the mean \pm SEM of the percentage of variation in transplanted mussels at the different time points with respect to control values. * $p < 0.05$ vs control, 1-way ANOVA followed by the Mann-Whitney *post hoc* test.*

	Tempo zero (controllo)	2 giorni	7 giorni	30 giorni
Stabilità delle membrane lisosomiali	100	99.0 \pm 1.5	95 \pm 2	60 \pm 2*
Espressione metallotioneine	100	101 \pm 5	150 \pm 5*	217 \pm 8*
Espressione gene <i>MT10</i>	100	260 \pm 10*	418 \pm 13*	200 \pm 15*
Espressione gene <i>MT20</i>	100	60 \pm 15*	100 \pm 8	40 \pm 12*
Espressione gene <i>MgHSP70</i>	100	600 \pm 30*	445 \pm 10*	320 \pm 12*
Espressione gene <i>MgHSC70</i>	100	506 \pm 7*	495 \pm 12*	450 \pm 20*
Espressione gene <i>MgPgp</i>	100	380 \pm 15*	439 \pm 8*	400 \pm 18*

I biomarker valutati nei mitili posizionati nel Canale Magni sono alterati rispetto a quelli di organismi di controllo (tempo zero), e indicano il progressivo sviluppo di una grave sindrome da stress (Tab. 2). I livelli di espressione genica e proteica delle MT sono univoci nel confermare la contaminazione da metalli pesanti nel sito in esame. Infatti, mentre il gene *MT10* è significativamente sovra-espresso già dopo 2 giorni, l'aumento della relativa espressione proteica è significativo solo dopo una settimana e continua ad aumentare, indicando che l'analisi dell'espressione genica è un metodo di rilevazione più precoce. La rapida sovra-espressione del gene inducibile *MgHSP70* è un fenomeno atteso nei mitili esposti a diversi fattori di stress ambientale. Nei mitili in Canale Magni la sua sovra-espressione è mantenuta per tutta la durata dell'esperimento indicando una perdurante situazione di stress (Tab. 2). Sebbene lo stress prototipo per la induzione delle HSP inducibili sia quello termico, che è presente nell'ambiente in esame come già segnalato in passato (Donnini, 2004), la risposta è indotta anche da altri fattori, quali i metalli pesanti. Gli esperimenti di laboratorio dimostrano che il gene *MgHSC70* non è influenzato dallo shock termico, mentre è attivato dalla prolungata esposizione a metalli pesanti. La significativa sovra-espressione di *MgHSC70* nei mitili trapiantati nel Canale Magni indica quindi una esposizione a stress prolungati e intensi, quali lo stress termico e composti xenobiotici di varia natura. Questo dato è confermato anche dalla sovra-espressione di *Pgp*, un trasportatore di membrana attivato in presenza di xenobiotici.

Conclusioni – Sia i fattori di stress analizzati in laboratorio che l'esposizione dei mitili ad un ambiente contaminato hanno indotto evidenti alterazioni dei profili di espressione genica riconducibili a una sindrome da stress contratta dai mitili. I prodotti genici analizzati sono indici estremamente precoci dei fenomeni di tossicità in atto, in accordo con i dati reperibili in bibliografia sull'utilizzo di marcatori molecolari per lo studio della risposta allo stress ambientale (Viarengo *et al.*, 2007).

Bibliografia

- DONDERO F., PIACENTINI L., BANNI M., REBELO M., BURLANDO B., VIARENGO A. (2005) – Quantitative PCR analysis of two molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation. *Gene*, **345**: 259-270.
- DONNINI F. (2004) - Utilizzo di Biomarker e indagini geochimiche integrate per la valutazione della qualità ambientale di una laguna costiera, la Piallassa Baiona. *Tesi di Laurea Università di Bologna*.
- FRANZELLITTI S., FABBRI E. (2005) - Differential HSP70 gene expression in the Mediterranean mussel exposed to various stressors. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **336**: 1157-1163.
- FRANZELLITTI S., FABBRI E. (2006) - Cytoprotective responses in the mediterranean mussel exposed to Hg²⁺ and CH₃Hg⁺. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **351**: 719-725.
- VIARENGO A., LOWE D., BOLOGNESI C., FABBRI E., KOEHLER A. (2007) - The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **146**: 281-300.

G.M. LUNA, C. GILI*, R. DANOVARO

Dipartimento di Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche,
Via Breccie Bianche – 60131 Ancona, Italia.
r.danovaro@univpm.it

*Acquario di Genova, Area Porto Antico, Ponte Spinola - 16128 Genova, Italia.

IDENTIFICAZIONE DEI BATTERI ASSOCIATI A NECROSI IN CORALLI DURI TROPICALI

IDENTIFICATION OF BACTERIA ASSOCIATED WITH THE TISSUE NECROSIS IN TROPICAL STONY CORALS

Abstract – We investigated bacterial assemblages associated with the Rapid Tissue Necrosis (RTN) of stony corals, which belongs to a group of syndromes (“white syndromes”) which are devastating Scleractinian corals in wide sectors of tropical coastal ecosystems. We found that many of RTN events can have a microbial origin and can be related to the presence of high abundance of *Vibrio* spp. Further inoculation experiments on healthy corals were carried out to test the “Koch’s Postulate” for the species *Vibrio harveyi*, which was found to be associated with several diseased colonies and has never been reported as a pathogen of stony corals. The results of these investigations are discussed on the light of possible treatment strategies for the preservation of these fragile and important ecosystems.

Key-words: stony corals, disease, *Vibrio harveyi*.

Introduzione - I coralli duri appartenenti all’ordine *Scleractinia* sono componenti chiave degli ecosistemi costieri tropicali, in virtù del loro ruolo di biocostruttori (Hughes *et al.*, 2003), e contribuiscono in maniera significativa al funzionamento di uno degli ecosistemi a maggiore biodiversità del Globo. Negli ultimi anni, patologie e sindromi a carico dei coralli duri si sono diffuse in maniera considerevole, causando fenomeni di mortalità in ampie porzioni di aree costiere. Si ritiene che patologie di natura infettiva siano tra le principali cause dei fenomeni di mortalità in coralli duri (Weil *et al.*, 2006) e che diversi stress di origine antropica, agenti su scala sia locale che globale, rappresentino fattori chiave nel proliferare delle suddette patologie (Harvell *et al.*, 1999). Sebbene alcune di esse siano state descritte in dettaglio ed i loro agenti eziologici identificati (Weil *et al.*, 2006), si riscontrano diverse sindromi e condizioni patologiche aventi natura ed agenti causativi ancora ignoti. Tra queste, un gruppo di manifestazioni patologiche, note collettivamente come “white syndromes” e causa di parziale o completa mortalità delle colonie affette (Bythell *et al.*, 2004), si è diffuso con particolare frequenza in diverse aree geografiche. Patologie con caratteristiche assimilabili alle “white syndromes” si osservano frequentemente anche in coralli duri allevati *ex-situ*, mantenuti in ambiente controllato all’interno di acquari con scopi espositivi, didattici, scientifici o di *restoration*. La Necrosi Rapida Tissutale (RTN), i cui sintomi ricadono all’interno delle caratteristiche delle “white syndromes”, è particolarmente diffusa in acquario e mostra analogie con quelle osservate nei reef naturali (Luna *et al.*, 2007). Una migliore comprensione dell’eziologia di questo fenomeno può dunque avere delle importanti ripercussioni per identificare rimedi alle patologie osservate in natura e contribuire alla preservazione di questi fragili ecosistemi. In questo studio, sono state condotte i) indagini microbiologiche volte alla descrizione delle comunità batteriche associate a coralli duri affetti da RTN ed ii) esperimenti di laboratorio volti alla individuazione di agenti responsabili della sua comparsa.

Materiali e metodi - Campioni di corallo mostranti sintomi di Necrosi Rapida Tissutale e campioni di corallo sani (utilizzati come controllo) sono stati ottenuti da diversi acquari pubblici d’Europa: “Oceanopolis” e “Nausicaa” (Francia), “Oceanario”

(Portogallo) ed “Acquario di Genova” (Italia). Al fine di descrivere con la massima accuratezza possibile i consorzi batterici associati alle lesioni dei coralli, i campioni sono stati analizzati utilizzando una combinazione di tecniche microbiologiche di tipo tradizionale (i.e. analisi colturali) e di tecniche bio-molecolari. Queste ultime includevano analisi di *molecular fingerprinting* (la T-RFLP applicata al gene 16S rRNA) per la descrizione della biodiversità e struttura di comunità delle comunità batteriche associate al corallo, ed analisi di ibridazione fluorescente *in situ* (FISH) per la ricerca di specifici generi e/o specie batteriche potenzialmente patogene (*Vibrio* spp., *Vibrio corallilyticus* e *Vibrio harveyi*). Le analisi colturali consistevano nella coltivazione di batteri associati ai coralli sui terreni MA2216 e TCBS e la successiva identificazione, su base filogenetica degli isolati attraverso il sequenziamento del gene 16S rRNA. Su alcuni campioni, sono state effettuate indagini al microscopio elettronico a scansione (SEM) per visualizzare i microrganismi sui tessuti dei coralli.

Una seconda fase dello studio ha previsto esperimenti di inoculo, su coralli non mostranti sintomi, volti alla dimostrazione della patogenicità del batterio *Vibrio harveyi* (test del “Postulato di Koch”). Gli esperimenti sono stati condotti in vasche allestite presso l’Acquario di Genova, su un totale di 24 colonie del corallo *Pocillopora damicornis*. L’esperimento ha avuto la durata di un mese, durante il quale i coralli sono stati monitorati per valutare la comparsa dei sintomi. Al termine dell’esperimento, sono stati effettuate analisi microbiologiche volte a confermare la presenza del batterio *Vibrio harveyi* sulle colonie eventualmente mostranti i sintomi.

Risultati – Tutti i coralli analizzati mostravano chiare manifestazioni della Necrosi Rapida Tissutale, ovvero un’area (o più aree) mostrante morte tissutale, con una linea distinta di demarcazione tra la parte ancora integra e lo scheletro aragonitico denudato di tessuto. Tuttavia, le analisi microbiologiche mostravano, su coralli mostranti sintomi identici, diverse caratteristiche microbiologiche. Sulle lesioni di alcuni coralli malati era possibile rilevare abbondanze totali procariotiche e abbondanze di *Vibrio* spp. statisticamente maggiori rispetto a quelle riscontrate sui tessuti sani (ANOVA, $p < 0.01$). Al contrario, su alcuni dei coralli affetti, non si riscontravano differenze significative in termini di abbondanza batterica rispetto ai coralli sani (ANOVA, ns). Le analisi colturali hanno portato all’isolamento e l’identificazione di oltre 80 colonie, di cui una buona frazione era costituita da specie batteriche tipicamente associate ai coralli. Al contrario, su alcuni coralli malati, si riscontravano specie di *Vibrio* spp. potenzialmente patogene. In particolare, un isolato batterico estremamente abbondante sulle lesioni di *Pocillopora damicornis* ed *Acropora cervicornis* possedeva il 99% di similarità del gene 16S rRNA con la specie *Vibrio harveyi*. Questo isolato batterico è stato successivamente utilizzato per condurre esperimenti di inoculo, i quali hanno confermato la reale patogenicità di *Vibrio harveyi*. Questa specie, già nota come un patogeno opportunista di pesci (Bertone *et al.*, 1996) ed altri organismi marini (Austin e Zang, 2001), non era mai stata identificata in precedenti studi come patogeno di coralli duri.

Conclusioni - I risultati di questa indagine dimostrano che la Necrosi Rapida Tissutale (RTN) non può essere considerata come un’unica patologia, ma piuttosto un gruppo di differenti patologie che mostrano sintomi simili. In alcuni casi, essa può essere causata da un’infezione batterica, in particolare dalla specie *Vibrio harveyi*, per il quale il Postulato di Koch è stato dimostrato. Ulteriori esperimenti sono tuttavia necessari per definire possibili relazioni tra la carica batterica e lo sviluppo dell’infezione, e per descrivere i meccanismi di patogenicità. Al contrario, in altri casi, l’assenza di chiare evidenze di popolazioni batteriche significative e/o di patogeni associati alle lesioni suggerisce che la necrosi non abbia natura batterica, ma piuttosto derivi

da eventi di altra natura (ad esempio da processi autodegenerativi del corallo in risposta a stress ambientali; Ainsworth *et al.*, 2006). Ciò spiegherebbe l'assenza di batteri patogeni osservata in alcuni dei coralli malati. Alla luce di queste evidenze, l'analisi microbiologica dei campioni, da effettuarsi nell'immediata comparsa dei sintomi, assume notevole importanza, al fine di identificare con certezza la natura dell'evento. In quest'ottica, lo sviluppo di test rapidi di diagnosi per una facile rilevazione di specifici batteri patogeni (ad esempio *Vibrio harveyi*) rappresenta una possibilità di sviluppo alle molteplici indagini necessarie per comprendere i processi che affliggono le barriere coralline, nell'ottica di garantirne la protezione e la salvaguardia.

Bibliografia

- AINSWORTH T.D., KRAMASKY-WINTER E., LOYA Y., HOEGH-GULDBERG O., FINE M. (2007) - Coral disease diagnostics: what's between a plague and a band? *Applied Environmental Microbiology*, **73**: 981-992.
- AUSTIN B., ZHANG X.-H. (2006) - *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Letters in Applied Microbiology*, **43**: 119-124.
- BERTONE S., GILI C., MOIZO A., CALEGARI L. (1996) - *Vibrio carchariae* associated with a chronic skin ulcer on a shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Journal of Fish diseases*, **19**: 429-434.
- BYTHELL J.C., PANTOS O., RICHARDSON L.L. (2004) - White plague and other "white" diseases. In: Rosenberg E., Loya Y. (eds), *Coral health and disease*. Springer-Verlag, New York: 351-366.
- HARVELL C.D., MITCHELL C.E., WARD J.S., ALTIZER S., DOBSON A.P., OSTFELD R.S., SAMUEL M.D. (2002) - Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*, **296**: 2157-2162.
- HUGHES T.P., BAIRD A.H., BELLWOOD D.R., CARD M., CONNOLLY S.R., FOLKE C., GROSBERG R., HOEGH-GULDBERG O., JACKSON J.B.C., KLEYPAS J., LOUGH J.M., MARSHALL P., NYSTRÖM M., PALUMBI S.R., PANDOLFI J.M., ROSEN B., ROUGH-GARDEN J. (2003) - Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, **5635**: 929-933.
- LUNA G.M., BIAVASCO F., DANOVARO R. (2007) - Bacteria associated with the Rapid Tissue Necrosis (RTN) of stony corals. *Environmental Microbiology*, **9**: 1851-1857.
- WEIL E., SMITH G., GIL-AGUDELO D.L. (2006) - Status and progress in coral reef disease research. *Diseases Aquatic Organisms*, **69**: 1-7.

L. MANGIALAJO, M. CHIANTORE, R. CATTANEO-VIETTI

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
luisama@dipteris.unige.it

CHANGES IN MARINE MACROALGAL ASSEMBLAGES DUE TO HUMAN IMPACTS: GENERAL TRENDS AND APPLICATIONS IN COASTAL MANAGEMENT

L'URBANIZZAZIONE DELLA FASCIA COSTIERA COME CAUSA DI CAMBIAMENTI NELLE COMUNITÀ MACROALGALI MARINE: APPLICAZIONE NELLA GESTIONE DELLA FASCIA COSTIERA

Abstract - Coastal zone is subject to an increasing urban pressure worldwide, considered a major cause of habitat modification. Marine macroalgal assemblages are strongly modified. Most species of Fucales are quickly lost in urban areas and are replaced by stress tolerant (Corallinales turfs) and opportunistic species (Ulvaes). The structure of assemblages and associated diversity tend to decrease. Such changes are similar in different areas of the Mediterranean Sea, allowing the implementation of coastal management strategies based on communities assessment.

Key-words: urbanization, Fucales, Corallinales, coastal management.

Background - Coastal zone is subject to an increasing urban pressure worldwide, considered a major cause of habitat modification (Airoldi and Beck, 2007). Urbanisation of coastline implies coastal habitat destruction (construction of infrastructures), urban waste waters discharge and changes in sedimentation rate. Observational studies on Mediterranean macroalgal assemblages in presence of such disturbances show that long-living sensitive species (Fucales) tend to disappear being replaced by stress tolerant algal turfs (e.g. Corallinales) or, in case of strong perturbation, opportunistic species (e.g. Ulvaes). For a short review of this studies see Pinedo *et al.* (2007).

In the Mediterranean Sea, Fucales are mainly represented by *Cystoseira* species, whose regression in the low shore has been shown in a large number of studies (for a short review see Thibaut *et al.*, 2005). *Cystoseira* species seem to be sensitive to a variety of environmental stressors; however, the ecological consequences of the loss of *Cystoseira* understory species and the species-specific effects of the loss of a given *Cystoseira* species are still little known.

Only appropriate experimental designs, concerning the analyses of crossed effects of disturbance and of dominance of a given *Cystoseira* species, thus avoiding a possible confounding habitat effect (see Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003), would clarify ecological species-specific consequences of *Cystoseira* loss.

A case study: effects of a gradient of water quality near Genova - In the impossibility of choosing appropriate reference sites in the East and West zone (for the presence of other interacting disturbance sources, as the Genoa harbour, in the western side), we decided to quantify urbanisation-driven changes in macroalgal assemblages along a urbanization gradient, confirmed by different ecological and water quality indexes (Mangialajo *et al.*, 2007).

In order to avoid a confounding habitat effect (see Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003), we planned a stratified sampling in two different species of fucoids dominated habitat patches and in the algal assemblages lacking fucoids.

Sampling was performed by visual estimates of percentage cover of organisms in

interspersed 400 cm² standard surfaces. In order to assess consistency of urban impact in time, sampling was repeated in spring and in autumn 2004.

The full model was composed by two orthogonal main factors (urbanisation and habitat) and a nested factor (site), in order to take into account spatial variability at the medium scale (hundreds of meters).

The results of this study highlighted that *Cystoseira amentacea* var. *stricta* tends to disappear in the urban area, while *C. compressa* doesn't seem to be affected by a moderate urbanisation gradient. The species that mostly drives changes in assemblages is *Corallina elongata*, a species able to form auto-maintaining turfs, proposed as alternate state to the Fucales structured assemblages.

The factor most affecting assemblage structure and composition is the habitat factor: changes due to urbanisation are visible in the three habitats (*Cystoseira amentacea* and *C. compressa* dominated habitat patches; assemblages lacking fucoids), but that wouldn't probably be so evident in a random based approach.

Also diversity is affected by the urbanisation of coastline in the three habitats. Nevertheless, *C. amentacea* habitat patches are largely the more diversified assemblages both in the scarcely and in the highly urbanised zones and the conservation of biodiversity at the wider scale has to consider firstly the conservation of this key species.

Present results strongly indicate that it is important to differentiate among different species of *Cystoseira* in ecological studies, but particularly in management procedure, because not only their responses to anthropogenic impacts could be different, but also because they seem to have different "engineering" effects on understory species, being *C. amentacea* var. *stricta* a key species in maintaining habitat complexity and species diversity in Mediterranean low shores.

Future perspectives - Changes in composition and structure of assemblages recorded in this study reflect the same results obtained in the observational studies and are in agreement with the results of another study realised along another gradient at a smaller scale, but in the vicinity of a sewage outfall (Arévalo *et al.*, 2007). The study of changes on macroalgal assemblages along gradients seems to be therefore a good solution when ACI design are not properly applicable.

The regression of *Cystoseira* structured assemblages, the substitution of *Corallina elongata* turfs and the dominance of Ulvales assemblages in extreme cases of disturbance can therefore be considered general trends in the Mediterranean infralittoral fringe. The same taxonomic and functional groups have been proposed for intertidal and subtidal environment worldwide in temperate areas: long-living structuring brown algae (Fucales and Laminariales) are regressing worldwide (Airoldi and Beck, 2007), more often they are in a first phase replaced by stress-tolerant algal turfs (as articulated corallinales turfs, *e.g.*: Connel 2005) and in extreme disturbance pressure, by opportunistic species as green algae (mostly Ulvales, *e.g.*: Morand and Briand, 1996). The presence of such a general trend allows to look for applications in coastal management.

A cartography based methodology consisting on rapid assessment at the community level is therefore proposed as a management tool at the landscape scale (CARLIT; Ballesteros *et al.*, 2007; Mangialajo *et al.*, 2007).

This methodology is considered very useful in a first wide scale survey, as requested by Water Framework Directive 2000/60/EU, although:

it doesn't allow to find any cause-effect relationship,

the presence of stress tolerant communities alone gives not enough information to highlight/exclude the presence of anthropogenic impacts, being, instead, the presence of sensitive species a good indicator of high environmental quality.

The ecological status quantification following CARLIT (Mangialajo *et al.*, 2007) showed a very good fit with other widely used indices, strengthening the validity of this methodology in marine coastal management.

References

- ARÉVALO R., PINEDO S., BALLESTEROS E. (2007) - Changes in the composition and structure of Mediterranean rocky-shore communities following a gradient of nutrient enrichment: descriptive study and test of proposed methods to assess water quality regarding macroalgae. *Marine Pollution Bulletin*, **55**: 104-113.
- AIROLDI L., BECK M.W. (2007) - Loss, status and trends for coastal marine habitats in Europe. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, **45**: 347-407.
- BALLESTEROS E., TORRAS X., PINEDO S., GARCÍA M., MANGIALAJO L., TORRES DE M. (2007) - A new methodology based on littoral community cartography for the implementation of the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, **55**: 172-180.
- BENEDETTI-CECCHI L., BERTOCCI I., MICHELI F., MAGGI E., FOSELLA T., VASELLI S. (2003) - Implications of spatial heterogeneity for management of marine protected areas (MPAs): examples from assemblages of rocky coasts in the northwest Mediterranean. *Marine Environmental Research*, **55**: 429-458.
- CONNELL S.D. (2005) - Assembly and maintenance of subtidal habitat heterogeneity: synergistic effects of light penetration and sedimentation. *Marine Ecology-Progress Series*, **289**: 53-61.
- DAYTON P.K. (2003) - The importance of the natural sciences to conservation. *American Naturalist*, **162**: 1-13.
- DAYTON P.K., SALA E. (2001) Natural History: the sense of wonder, creativity and progress in ecology. *Scientia Marina*, **65**: 199-206.
- MANGIALAJO L., CHIANTORE C., CATTANEO-VIETTI R. (in press) - Loss of furoid algae along a gradient of urbanisation and relationships with the structure of benthic assemblages. *Marine Ecology-Progress Series*
- MANGIALAJO L., RUGGIERI N., ASNAGHI V., CHIANTORE M.C., POVERO P., CATTANEO-VIETTI R. (2007) - Ecological status in the Ligurian Sea: The effect of coastline urbanisation and the importance of proper reference sites. *Marine Pollution Bulletin*, **55**: 30-41.
- MORAND P., BRIAND X. (1996) - Excessive growth of macroalgae: a symptom of environmental disturbance. *Botanica Marina*, **39**: 491-516.
- PINEDO S., GARCIA M., SATTÀ M.P., TORRES DE M., BALLESTEROS E. (2007) - Rocky-shore communities as indicators of water quality: a case study in the Northwestern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, **55**: 126-135.
- THIBAUT T., PINEDO S., TORRAS X., BALLESTEROS E. (2005) - Long-term decline of the populations of Fucales (*Cystoseira* spp. and *Sargassum* spp.) in the Alberes coast (France, Northwestern Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, **50**: 1472-1489.

P. MARTINI, G. CASTELLARI*, C.R. FERRARI

ARPA Emilia-Romagna, Struttura Oceanografica Daphne, Viale Vespucci, 2 - 47042 Cesenatico (FC), Italia.
pmartini@sod.arpa.emr.it

*ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia-Romagna, Sezione Provinciale Ravenna, Italia.

ANALISI COMPARATIVA DEL BIOACCUMULO DI INQUINANTI IN ALCUNI LIVELLI DELLA RETE TROFICA MARINA

COMPARATIVE ANALYSIS OF BIOACCUMULATION OF POLLUTANTS IN SOME LEVELS OF MARINE TROPHIC WEB

Abstract - This study aims at considering the presence of inorganic and organic pollutants in some components of both pelagic and benthic trophic webs in the Northern Adriatic Sea. Samples of phytoplankton, zooplankton, *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Scomber scombrus*, *Euthynnus alletteratus*, *Chamelea gallina*, *Mytilus galloprovincialis* and *Gobius paganellus* were taken in two times (spring and autumn) in 2003. The work bases on the analysis of micropollutants such as mercury, lead, cadmium, PAH, PCB, and PCDD-PCDF on freeze-dried samples. No evidence on bioaccumulation of cadmium and lead was observed. Increasing mercury concentration was observed from the plankton samples to the pelagic fish. Cadmium tended to accumulate mainly in the entrails, lead concentration was higher in the gills and entrails, whereas mercury concentration didn't differ among the analysed tissues. The total levels of contamination by PCDD and PCDF given in WHO-TEQ were in the order of pg/g fresh weight. As regards individual congeners only 2,3,7,8 TCDF and 2,3,4,7,8 PCDF showed a positive gradient along the different levels of the trophic web. Contamination by PCB was the most important compared to the other organic micropollutants for both levels of concentration and bioaccumulation along the trophic web as suggested by the total PCBs referred to fat. No evidence of bioaccumulation by PAHs could be observed in the trophic web, due to the pollutants concentration which were very close to the detection limits.

Key-words: Mercury, Lead, Cadmium, PAH, PCB, PCDD-PCDF, Northern Adriatic Sea, trophic web.

Introduzione – Il Nord Adriatico è esposto a tanti possibili apporti di inquinanti sia organici che inorganici trasportati dai corsi d'acqua che attraversano zone industriali o aree interessate da attività agricole e zootecniche intensive. Lo sviluppo industriale litoraneo di siti come Porto Marghera e Ravenna è all'origine di un possibile inquinamento delle acque costiere limitrofe. L'attività industriale contribuisce alla contaminazione delle acque marine anche attraverso le emissioni atmosferiche delle grandi concentrazioni produttive del Nord Italia e dell'Europa centrale nonché attraverso lo scarico diretto al largo effettuato da imbarcazioni commerciali e navi cisterna (Cubadda *et. al.*, 1998). A questi apporti vanno aggiunti anche quelli derivanti dagli scarichi degli insediamenti urbani.

Lo scopo di questo lavoro è quello di stimare l'entità dell'eventuale presenza di alcuni inquinanti inorganici (Cadmio, Piombo e Mercurio) e organici (PCDD-PCDF, PCB e IPA) partendo da fitoplancton e zooplancton seguendo una linea pelagica e una linea bentonica. Per la linea pelagica sono stati analizzati *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Scomber scombrus* e *Euthynnus alletteratus* mentre per quella bentonica *Chamelea gallina*, *Mytilus galloprovincialis* e *Gobius paganellus*.

Materiali e metodi - I campioni sono stati raccolti in maggio-giugno (Tempo 1) e ottobre-novembre (Tempo 2) dell'anno 2003. I pesci e le vongole sono stati acquistati dai pescherecci che hanno garantito la provenienza locale, ovvero del tratto di mare di fronte a Cesenatico e i mitili provengono da un allevamento posto a 8 Km dalla costa. I prelievi di zooplancton e fitoplancton sono stati eseguiti con il Battello Oceanografico Daphne II e raccolti (NOVA THALASSIA, 1990) i primi con una rete WP-2 (Ø 57 cm lunghezza totale 260 cm) con vuoto di maglia di 200 µm e munito di flussometro, ed i secondi con un retino con maglie da 20 µm. Il campione di zoo-

plancton raccolto è stato centrifugato a bassa velocità e dopo eliminazione dell'acqua surnatante, asciugato su carta da filtro assorbente, pesato, congelato a -20°C e quindi liofilizzato; quello del fitoplancton è stato trattato allo stesso modo dell'altro tranne che per il passaggio su carta assorbente non possibile per la scarsità del materiale.

In entrambi i tempi per l'analisi dei metalli pesanti, sono stati scelti 10 individui in modo casuale per ogni campione di pesce e molluschi. Sono stati annotati lunghezza e peso di ogni esemplare per poter eventualmente fare considerazioni sulla taglia. Nel caso di *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* sono stati analizzate le parti molli. Per i pesci sono stati separati i singoli tessuti: gonadi, muscolo, scheletro, organi interni e branchie e di seguito liofilizzati. Prima e dopo tale processo sono state effettuate le relative pesate per la determinazione di peso fresco e peso secco.

L'analisi dei microinquinanti organici è stata eseguita su un pool di muscolo rappresentativo della parte edibile di ogni pesce e mollusco a disposizione. Per le determinazioni su zooplancton e fitoplancton si sono raggruppati diversi prelievi per la necessità di raggiungere una quantità sufficiente da analizzare. I campioni pesati con bilancia analitica sono stati poi congelati a -20°C e liofilizzati.

Per l'analisi dei microinquinanti inorganici (Cd, Pb e Hg) tutti i campioni sono stati mineralizzati per via umida tramite sistema a microonde. Cadmio e Piombo sono stati determinati con spettrofotometro ad assorbimento atomico-fornetto di grafite mentre il Mercurio con spettrofotometro a vapori freddi (D.M. 31/07/1995; D.M. 14/12/1971).

Per la determinazione dei microinquinanti organici, nel caso di PCDD-PCDF e PCB è stato applicato il metodo EPA 8280 (1996, rev B 1998) e le Linee guida ISS-XEN-99-3. Per quanto riguarda gli IPA sono stati applicati il metodo interno del Dipartimento Tecnico ARPA Sez. Provinciale di Ravenna e le indicazioni ricondotte al metodo "Determinazione Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle matrici alimentari e ambientali" Boll. Chim. Igien. (1994).

Risultati - Le concentrazioni di cadmio nei taxa analizzati sono estremamente variabili. Il cadmio presenta valori che vanno dal limite di rilevabilità dello strumento analitico (0,004 mg/Kg) a 2,18 mg/Kg peso secco, valore riscontrato nei mitili al tempo 1. La specie con i più bassi livelli di contaminazione è *Gobius paganellus* (0,04 mg/Kg s.s. per gli organi interni mentre per tutti gli altri tessuti analizzati le concentrazioni sono prossime al limite di rilevabilità).

Dal confronto fra i diversi tessuti emerge che il cadmio tende ad accumularsi principalmente negli organi interni.

L'ordine di grandezza delle concentrazioni rilevate sono confrontabili con quelle disponibili in letteratura (Cubadda, 1998; Ghidini *et al.*, 2000; di Domenico *et al.*, 1997), dall'analisi dei dati si evidenzia che generalmente al Tempo 1 le concentrazioni nelle diverse specie sono più elevate che al Tempo 2. Dal confronto fra i diversi livelli trofici non si evidenziano processi di magnificazione biologica.

La concentrazione di Piombo rilevata nei diversi taxa è risultata superiore al Tempo 1 rispetto al Tempo 2. In particolare si è verificata una variazione di rilievo nel caso di fitoplancton (15,81 mg/Kg al Tempo 1 e 1,62 mg/Kg al Tempo 2). Questa differenza coincide con una variazione nell'abbondanza di individui di *Noctiluca scintillans*, specie dominante nei campioni di fitoplancton prelevati al tempo 1.

In *Gobius paganellus*, specie con abitudini bentoniche, il piombo tende ad accumularsi principalmente negli organi interni (5,4 mg/Kg peso secco) mentre nelle specie pelagiche, quali *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber scombrus*, le massime concentrazioni si osservano nelle branchie.

Come per il cadmio non si osserva aumento della concentrazione di piombo fra i diversi anelli della catena trofica esaminati. I valori di concentrazione rilevati per

tutte le specie analizzate sono concordi con quelli osservati in letteratura (Green *et al.*, 2003).

In generale i valori di concentrazione del mercurio variano da un minimo (0,03 mg/kg) pari al limite di rilevabilità analitico, ad un valore massimo di 0,47 mg/Kg relativi al peso secco per gli organi interni di *Engraulis encrasicolus* (tempo 1).

Per *Engraulis encrasicolus* e per *Sardina pilchardus* i tessuti più contaminati sono gli organi interni mentre per *Gobius paganellus* e per *Scomber scombrus* le concentrazioni più elevate si riscontrano nel tessuto muscolare.

Nell'unico esemplare di tonno analizzato è stato riscontrato il valore più elevato di mercurio sul tessuto muscolare (6,2 mg/Kg relativi al peso fresco).

In generale le concentrazioni di mercurio rilevate nelle specie ittiche e nei macroinvertebrati analizzati si presentano più elevate al tempo 1 rispetto al tempo 2. Fra i diversi tessuti analizzati le massime concentrazioni sono state misurate negli organi interni e nel muscolo, tuttavia tali differenze non sono rilevanti e pertanto non si possono individuare precisi organi target.

Dal confronto fra gli organismi appartenenti ai diversi anelli della rete trofica si osserva un incremento della concentrazione di questo metallo andando verso i livelli trofici superiori. In particolare dal confronto fra plancton (valori relativi al peso fresco pari al limite di rilevabilità 0,03 mg/Kg) e specie ittiche pelagiche emerge un marcato aumento delle concentrazioni.

Nel complesso, i livelli di contaminazione di PCDD e PCDF sono dell'ordine del pg/g (1000 volte inferiore ai PCBs), con una prevalenza di PCDF rispetto a PCDD se si esclude la OCDD.

Per i due tempi di indagine, il valore ottenuto dalla somma delle concentrazioni dei 17 congeneri ricercati, è risultato più alto per *Chamelea gallina* (4,44 pg/g relativi al peso fresco) e più basso per il fitoplancton (0,27 pg/g) al tempo 2. Comunque per i due tempi considerati, i valori riscontrati sono confrontabili per tutti i taxa; ad eccezione del fitoplancton che al tempo 1 (2,17 pg/g) presenta una concentrazione 8 volte più elevata.

I livelli di contaminazione complessivi espressi in WHO-TEQ (toxic equivalent concentration) (Van den Berg *et al.*, 1998) di diossine e furani riscontrati sono nell'ordine del pg/g (concentrazione relativa al peso fresco). Prendendo in esame i singoli congeneri si osserva che solo 2,3,7,8 TCDF e 2,3,4,7,8 PCDF presentano gradiente positivo risalendo la catena trofica.

La specie a più elevato rischio tossicologico è risultata il tonnetto con 1.46 pg-WHO-TEQ/g (concentrazione relativa al peso fresco).

La contaminazione da PCB è risultata la più indicativa rispetto agli altri microinquinanti sia per livelli di concentrazione che per bioaccumulo.

I livelli di concentrazione sono compresi fra 134,88 e 8001,70 ng/g (concentrazione relativa al grasso) e con una sovrapponibile distribuzione di congeneri a conferma della stessa probabile origine di contaminazione. Per quanto riguarda il bioaccumulo la concentrazione (relativa al grasso) dei PCB totali, mostra un incremento evidente risalendo la rete trofica: zooplancton (220,40ng/g) / alice (2617,89 ng/g), sardina (3080,64 ng/g) / sgombro (5039,49 ng/g) / tonno (8001,70 ng/g); zooplancton (220,40 ng/g) / mitili (1041,98 ng/g), vongole (373,10 ng/g), paganelli (4867,40 ng/g).

Come per le diossine, anche per i PCB, per ciò che concerne l'aspetto sanitario, ci si riferisce al peso fresco. Per tutte le specie esaminate i valori di concentrazione risultano compresi fra 3.11 ng/g e 197.72 ng/g a Tempo 1 e 1.55 ng/g e 387.28 ng/g a Tempo 2. In entrambi i due tempi di indagine i valori più elevati sono riferiti a *Scomber scombrus*.

Relativamente al tempo 1, *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* sono le due specie a più elevato tenore di IPA totali; le due concentrazioni sono rispettivamente

4,20 e 3,74 ng/g. peso fresco. Al Tempo 2 i molluschi bivalvi sono sempre i più contaminati con 6,53 ng/g per *Chamelea gallina* e 4,37 ng/g per *Mytilus galloprovincialis*.

In generale le basse concentrazioni di IPA riscontrate nei vari esemplari analizzati non mettono in evidenza fenomeni di bioaccumulo lungo la rete trofica esaminata in questo lavoro. La distribuzione dei singoli idrocarburi policiclici aromatici risulta sovrapponibile per tutte le specie (i più rappresentativi sono Pyrene, Phenanthrene e Fluoranthene). Per il tonnetto invece, oltre ai sopra citati IPA si riscontra la presenza di composti più pesanti (Chrysene, Benzo[bjk]fluoranthene, Benzo[ea]pyrene e Benzo[ghi]perylene) ed un rapporto FA/PY >1 che presumibilmente denota una diversa fonte di contaminazione (origine pirogenica).

Conclusioni – Relativamente ai microinquinanti inorganici per Cadmio e Piombo non sono stati osservati incrementi di concentrazione fra i diversi livelli trofici. I tessuti bersaglio sono risultati organi interni per entrambi i metalli e branchie per il Piombo. Per quanto riguarda il Mercurio invece si è osservato un incremento della concentrazione fra i diversi livelli della struttura trofica e non è stata rilevata una tendenza all'accumulo in tessuti specifici.

In generale per i microinquinanti organici si è osservato un gradiente positivo fra i diversi livelli trofici per due congeneri appartenenti al gruppo dei policlorodibenzofurani 2,3,7,8 TCDF e 2,3,4,7,8 PCDF. I policlorobifenili analizzati hanno presentato i valori di contaminazione più elevati anche in relazione ai livelli trofici mentre per gli Idrocarburi policiclici aromatici non si osserva gradiente positivo lungo la catena alimentare.

Bibliografia

- AA.VV. (1990) - *Nova Thalassia*, **2**: 265-284.
- AA.VV. (1994) - Determinazione Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle matrici alimentari e ambientali. *Boll. Chim. Igien.*, **45**: 605.
- CUBADDA F., STACCHINI P., BALDINI M. (1998) - Microinquinanti organici e inorganici in specie marine eduli del Mare Adriatico: livelli di presenza e stima dell'assunzione potenziale da parte dell'uomo. *ISTISAN* 98/11.
- D.M. (31/07/1995) - G.U. n. 279 del 29/11/1995.
- D.M. (14/12/1971) - G.U. n. 328 del 28/12/1971.
- DI DOMENICO A., BALDASSARRI L.T., ZIEMACKI G., DE FILIP E., FERRI F., IACOVELLA N., LA ROCCA C., RIDRIGUEZ F., VOLPI F., D'AGOSTINO O., SANSONO R. (1997) - Selected carcinogenic organic microcontaminants and heavy metals in the Venice Lagoon. Contamination levels of biota samples. 17th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds. Indianapolis, Indiana, USA, August 25-29, 1997. *Organohalogen Compounds*, **34**.
- GHIDINI S., DELBONO G., CAMPANINI G. (2000) - *Levels and evolution of cadmium, mercury and arsenic in fish of Northern Adriatic Sea*. Università di Parma. Facoltà di Medicina Veterinaria. Istituto di Scienza e tecnologia degli alimenti. *Annali* 2000.
- GREEN N., BJERKENG B., HYLLAND K., RUUS A., RYGG B., KUNITZER A. (2003) - Hazardous substances in the European marine environment: trends in metals and persistent organic pollutants. *European Environment Agency*. Report 2/2003.
- ISS-XEN-99-3 - Linee guida per interventi analitici mirati al rilevamento di PCB, PCDD e PCDF in prodotti alimentari.
- Metodo EPA 8280/1996 (rev B 1998).
- VAN DEN BERG ET AL. (1998) - Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. *Environmental Health Perspectives*, **106** (12): 775.

C. MUNARI, M. MISTRI, E. MANINI¹, A. PUSCEDDU², R. DANOVARO²

Dipartimento di Biologia ed Evoluzione (DBE), Università di Ferrara, Via L. Borsari, 46 - 44100 Ferrara, Italia.
cristina.munari@unife.it

¹Istituto di Scienze Marine, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Largo Fiera della Pesca - 60131 Ancona, Italia.

²Dipartimento Scienze del Mare (DiSMar), Università Politecnica delle Marche,
Via Breccia Bianche - 60125 Ancona, Italia.

VALIDAZIONE DELL'INDICE MACROBENTONICO BITS IN DUE LAGUNE ADRIATICHE: GORO E LESINA

VALIDATION OF THE MACROBENTHIC INDEX BITS IN TWO ADRIATIC LAGOONS: GORO AND LESINA

Abstract – The *BITS* index, a benthic index based on taxonomic sufficiency, was calculated at 4 sites in the Sacca di Goro and in the Lesina Lagoon (Adriatic Sea) and compared with sediment and water parameters. A significant positive correlation was found between *BITS* values and water dissolved oxygen, while significant negative correlations were detected between *BITS* and ammonia and phosphorous in the water, and sulfides in the sediments. Although not significant, negative correlations were observed with all the other sedimentary parameters measured.

Key-words: macrobenthos, sediment, Water Framework Directive, Adriatic Sea.

Introduzione – L'implementazione della Direttiva Quadro sulle Acque (European Water Framework Directive, 2000/60/EC) ha provocato uno stimolante dibattito riguardo l'utilizzo degli indici bentonici per determinare lo stato di qualità delle acque marino-costiere e di transizione europee (Borja, 2006; Dauvin, 2007). Numerosi nuovi indici macrobentonici, i più conosciuti dei quali sono AMBI (Borja *et al.*, 2000), BENTIX (Simboura e Zenetos, 2002) e BQI (Rosenberg *et al.*, 2004), sono stati appositamente elaborati per l'implementazione della WFD. Questi indici si basano sulla identificazione degli organismi raccolti fino al livello tassonomico della specie. Un ulteriore indice recentemente proposto (BOPA; Dauvin e Ruellet, 2007), basato sul rapporto tra policheti opportunisti ed anfipodi, ha introdotto i principi della sufficienza tassonomica (*sensu* Ferraro e Cole, 1990) nell'implementazione della WFD. Tuttavia, essendo stati appositamente elaborati per definire la qualità dell'ambiente marino-costiero, l'utilizzo di tali indici in ambienti di transizione può perdere efficacia (Ponti *et al.*, 2007). Infatti, il confronto dei risultati ottenuti applicando tali indici alle comunità macrobentoniche di diversi ambienti di transizione ha fornito risultati quantomai discordanti (Munari e Mistri, 2008a) e, conseguentemente, di difficile utilizzo per un potenziale end-user. Inoltre, la carenza di esperti di tassonomia bentonica presso le Agenzie Regionali pone quesiti sulla effettiva capacità operativa di queste ultime una volta che i piani di monitoraggio per gli elementi di qualità biotica delle acque entreranno in vigore. Errori di classificazione tassonomica potrebbero tradursi in gravi e costosi errori nella valutazione della qualità ambientale di un corpo idrico. Per ovviare a tali inconvenienti, è stato recentemente proposto un ulteriore nuovo indice bentonico, BITS (Mistri e Munari, 2008), il quale si basa anch'esso sulla sufficienza tassonomica ma è stato specificamente sviluppato per le lagune atidali italiane. Per l'applicazione di BITS è richiesto il riconoscimento tassonomico della macrofauna bentonica fino al livello della famiglia. In questa nota viene valutata la risposta di BITS, ai fini della sua validazione, alle variabili fisico-chimiche delle acque e dei sedimenti presso due lagune italiane, Goro e Lesina.

Materiali e metodi - Campioni di fauna bentonica e sedimento sono stati prelevati, nella primavera e nell'estate 2004, presso 4 stazioni nella Sacca di Goro e nella

Laguna di Lesina. Le stazioni presso ciascuna laguna sono state scelte lungo un gradiente potenziale di confinamento/eutrofizzazione. Salinità e ossigeno disciolto in acqua sono stati misurati *in situ* mediante sonda multiparametrica, mentre azoto ammoniacale e fosforo ortofosfato sono stati determinati mediante analisi colorimetrica. Nei sedimenti sono state misurate le concentrazioni di clorofilla-a, proteine, carboidrati, lipidi, carbonio biopolimerico, carbonio biodisponibile e solfuri. Le metodiche analitiche sono dettagliate altrove (Pusceddu *et al.*, 2007). L'analisi della macrofauna (3 repliche per ciascuna stazione) è stata effettuata dopo setacciatura su maglia di 0.5 mm. L'indice BITS è calcolato come:

$$\log [(6fI + fII)/(fIII + 1) + 1] + \log [nI / (nII+1) + nI / (nIII+1) + 0.5nIII/(nIII+1) + 1]$$

dove *fI*, *fII* ed *fIII* rappresentano il rapporto tra il numero di individui appartenenti a famiglie sensibili (*fI*), tolleranti (*fII*) ed opportuniste (*fIII*) sul totale degli individui raccolti nel campione, mentre *nI*, *nII* e *nIII* rappresentano il numero di famiglie, sensibili (*nI*), tolleranti (*nII*) ed opportuniste (*nIII*), presenti nel campione. La lista delle famiglie sensibili, tolleranti ed opportuniste è riportata in Mistri e Munari (2008). Il valore di BITS è nullo quando nel campione non sono presenti famiglie sensibili e tolleranti, situazione indicativa di elevato contenuto di sostanza organica nel sedimento e, negli ambienti lagunari, di scarsa circolazione idrica. Il valore massimo di BITS (5.2) è funzione del pool faunistico regionale. BITS pari a 5.2 significa che tutte le 127 famiglie classificate sensibili sono presenti a quel sito ma, per cause biogeografiche e latitudinali (Munari e Mistri, 2008b), è un valore solo teorico. Quindi, per due differenti tipologie di substrato (sabbioso o fangoso), ed in accordo la WFD, il valore più elevato di BITS viene preso come valore di riferimento "HIGH", e conseguentemente vengono calcolati i limiti delle 5 classi di qualità ecologica (EcoQ) richieste dalla Direttiva. A seconda della tipologia di substrato, quindi, BITS ha due scale di EcoQ, i cui intervalli sono riportati in Tab. 1.

Tab. 1 - Valori di BITS per differenti classi di qualità ecologica per substrati sabbiosi e fangosi.
BITS classes associated with the different EcoQ status for sandy and muddy habitats.

EcoQ	Sabbia	Fango
HIGH	2,20<BITS≤2,75	1,84<BITS≤2,30
GOOD	1,65ZBITS≤2,20	1,38<BITS≤1,84
MODERATE	1,01<BITS≤1,65	0,92<BITS≤1,38
POOR	0,55<BITS≤1,01	0,46<BITS≤0,92
BAD	0<BITS≤0,55	0<BITS≤0,46

La relazione tra i valori di BITS e le variabili fisico-chimiche di acqua e sedimenti è stata studiata tramite analisi delle regressioni, la cui significatività statistica è stata verificata mediante analisi della varianza (ANOVA) delle regressioni.

Risultati – Il set di dati ambientali ha mostrato un'ampia variabilità spaziale in entrambe le lagune. La salinità è risultata compresa tra 4.5 e 33.0 PSU, l'ossigeno disciolto tra 4.9 e 12.0 mg L⁻¹, lo ione ammonio tra 17 e 251 µg L⁻¹, mentre l'ortofosfato tra 1.0 e 7.4 µg L⁻¹. Le concentrazioni di sostanza organica nei sedimenti, espresse come contenuto in carbonio biopolimerico, sono risultate comprese fra 1.2 e 28.8 mgCg⁻¹, mentre le concentrazioni espresse come contenuto in carbonio biodi-

sponibile tra 0.16 e 4.31 mgCg⁻¹. Ampie variazioni hanno riguardato anche la componente proteica (1.6–44.6 mg g⁻¹), glucidica (0.4–27.6 mg g⁻¹) e lipidica (0.3–5.8 mg g⁻¹) dei sedimenti. La clorofilla microfitobentonica è risultata compresa tra 1.9 e 62.3 µg g⁻¹, mentre la concentrazione dei solfuri tra 8.0 e 199.0 µgSg⁻¹. Le 4 stazioni a Lesina erano di substrato fangoso, mentre delle 4 di Goro solo una era di substrato sabbioso. La EcoQ è risultata compresa tra POOR e GOOD. La correlazione tra i valori di BITS ed i parametri della colonna d'acqua è risultata significativamente positiva per l'ossigeno disciolto (p<001), l'ammonio (p<0.05) e l'ortofosfato (p<0.05). I parametri del sedimento hanno tutti mostrato una correlazione negativa, pur se non significativa, con BITS. L'ANOVA della regressione ha evidenziato una significatività statistica per la concentrazione di solfuri (p<0.05). La Tab. 2 riporta i valori dei coefficienti di regressione calcolati e la loro significatività.

Conclusioni – La risposta di BITS alla variazione dei valori dei parametri fisico-chimici della colonna d'acqua e dei sedimenti è risultata evidente. Il valore dell'indice, basato sulla presenza e abbondanza delle famiglie della macrofauna bentonica, è risultato più elevato (cioè presunta migliore qualità ambientale) laddove la concentrazione dell'ossigeno disciolto nella colonna d'acqua era più elevata, e le concentrazioni di azoto ammoniacale e fosforo erano minori. Le variazioni della concentrazione delle componenti nutrizionali del sedimento, seppur non in maniera statisticamente significativa, hanno mostrato la tendenza dell'indice ad assumere valori progressivamente più bassi (indicativi di un presunto peggioramento della qualità ambientale) all'aumentare della concentrazione di materia organica nel sedimento. L'incremento delle concentrazioni di solfuri, indicativi di processi di decomposizione anaerobica, è risultata correlata significativamente alla diminuzione dei valori di BITS.

Sebbene l'analisi sia limitata per numero di osservazioni e siti, i risultati di questo studio suggeriscono che un livello di analisi della composizione del macrobenthos a livello di famiglie risponda in maniera simile a quanto osservato a livello di specie. Considerato il minore tasso di errore nell'identificazione tassonomica a livello di famiglia e tenendo conto che il costo per l'identificazione a tale livello è pari al 45% di quello per l'identificazione al livello di specie, i risultati di questo studio preliminare stimolano ulteriori applicazioni ed validazioni dell'indice BITS in altri contesti e su scale spaziali e temporali differenti.

Tab. 2 - Coefficienti di regressione e significatività tramite ANOVA tra i valori di BITS e i parametri chimici.

Regression coefficients and ANOVA significancy between BITS scores and values of chemical parameters.

Sedimento	R	p	Acqua	R	p
Chl-a	-0,23	0,3*	Salinità	0,47	0,06
Proteine	-0,21	0,42	Ossigeno	0,63	0,01
Carboidrati	-0,23	0,38	Ammonio	-0,61	0,01
Lipidi	-0,46	0,06	Ortofosfato	-0,52	0,04
C-biopolim	-0,32	0,23			
C-biodisp	-0,35	0,18			
Solfuri	-0,52	0,03			

Bibliografia

- BORJA A. (2006) - The new European Marine Strategy Directive: Difficulties, opportunities, and challenges. *Mar. Poll. Bull.*, **52**: 239-242.
- BORJA A., FRANCO J., PÉREZ V. (2000) - A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar. Poll. Bull.*, **40**: 1100-1114.
- DAUVIN J.C. (2005) - Expertise in coastal zone environmental impact assessment. *Mar. Poll. Bull.*, **50**: 107-110.
- DAUVIN J.C., RUELLET T. (2007) - Polychaete/amphipod ratio revisited. *Mar. Poll. Bull.*, **55**: 215-224.
- FERRARO S.P., COLE F.A. (1990) - Taxonomic level and sample size sufficient for assessing pollution impacts on the Southern California Bight macrobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **67**: 251-262.
- MISTRI M., MUNARI C. (2008) - BITS: a SMART indicator for soft-bottom, non-tidal lagoons. *Mar. Poll. Bull.* (in stampa).
- MUNARI C., MISTRI M. (2008a) - The performance of benthic indicators of ecological change in Adriatic coastal lagoons: throwing the baby with the water? *Mar. Poll. Bull.*, **56**: 95-105.
- MUNARI C., MISTRI M. (2008b) - Biodiversity of soft-sediment benthic communities from Italian transitional waters. *J. Biogeogr.* (in stampa).
- PONTI M., PINNA M., TRAYANOVA A., BASSET A., ABBIATI M. (2007) - Taxonomic benthic biotic indices in transitional waters: study cases from northern Adriatic and Black Sea. *Transit. Waters Bull.*, **3**: 29-32.
- PUSCEDDU A., GAMBI C., MANINI E., DANOVARO R. (2007) - Trophic state, ecosystem efficiency and biodiversity of transitional aquatic ecosystems: analysis of environmental quality based on different benthic indicators. *Chem. Ecol.*, **23**: 505-515.
- ROSENBERG R., BLOMQUIST M., NILSSON H.C., CEDERWALL H., DIMMING A. (2004) - Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distribution: a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Mar. Poll. Bull.*, **49**: 728-739.
- SIMBOURA N., ZENETOS A. (2002) - Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Medit. Mar. Sci.*, **3**: 77-111.

M. PONTI, G. VASI, A. PASTERIS, R. GUERRA, M. ABBIATI

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali (C.I.R.S.A.), Università di Bologna
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.
massimo.ponti@unibo.it

IMPACT OF DREDGING ON MACROBENTHIC ASSEMBLAGES IN A NORTHERN ADRIATIC COASTAL LAGOON

IMPATTO DEL DRAGAGGIO SUI POPOLAMENTI MACROBENTONICI IN UNA LAGUNA COSTIERA NORD ADRIATICA

Abstract - The effects of channel dredging on the invertebrate assemblages were investigated in the coastal lagoon Pialassa Baiona (northern Adriatic Sea). Despite the extent of the intervention, no clear effects on the assemblages and sediment properties were detected neither in the channels nor in the ponds. This could be due to the high spatial/temporal heterogeneity that can hide the direct/indirect effects of the dredging.

Key-words: benthos, lagoons, dredging, ecosystem disturbance, northern Adriatic Sea.

Introduction - Coastal lagoons are ephemeral habitats, whose conservation requires direct human interventions. To prevent siltation and to maintain the hydrodynamics features of the lagoonal system, often the inner channels must be dredged. Dredging activities have three principal effects on benthic assemblages: i) reduction of species and abundances due to the removal of individuals with the sediment, ii) alteration of the sediment properties, iii) resuspension of fine sediment and the associated nutrients, organic matter and pollutants, which can lead to eutrophication, hypoxic events and increasing toxicity even in the adjacent areas (Quigley and Hall, 1999 and references therein). The aims of the present study is to assess the effects of channel dredging performed in the period October 2004 - August 2005 on the invertebrate macrobenthic assemblages in both channels and ponds in a northern Adriatic coastal lagoon (Guerra *et al.*, 2007).

Materials and methods - This study was carried out in the coastal lagoon Pialassa Baiona, a northern Adriatic eutrophic intertidal lagoon (Ponti *et al.*, 2005). Artificial embankments divide the lagoon into several semi-enclosed shallow water ponds interconnected by channels. The lagoon is affected by chemical and thermal pollution coming from urban and industrial treatment plants and two thermo-electric power plants located along the southern edge. Sediments are contaminated by heavy metals, mainly mercury (Trombini *et al.*, 2003), and polycyclic aromatic hydrocarbon (Fabbri *et al.*, 2003). The sampling design was selected according to a before-after control-impact (BACI; Underwood, 1994) approach (Fig. 1). Three impacted sites were located in the dredged channel (labelled BAC 1, BAC 3 and BAC 5) and three in the adjacent ponds (POL 1, POL 3 and VEN 5); three non-impacted sites were located in a channel (TBF 1, TBF 3 and TBF 4) and in a pond (RIS 1, RIS 2, RIS 3) not influenced by dredging operations. Three replicated samples of the benthic assemblages were collected with a Wildco® box corer at each site before (September, 2004) and after (September, 2005) the dredging operations. Differences in species abundances and species diversity indices were analysed by ANOVA, while assemblage multivariate pattern were tested by PERMANOVA after square root transformation and using Bray-Cutis similarity, in accordance to the experimental design: Impact (Im, 2 levels I/C fixed), Time (Ti, 2 level B/A fixed), Habitat (Ha, 2 levels Ch/Po fixed), and Site (Si, 3 levels, nested in ImXHa).

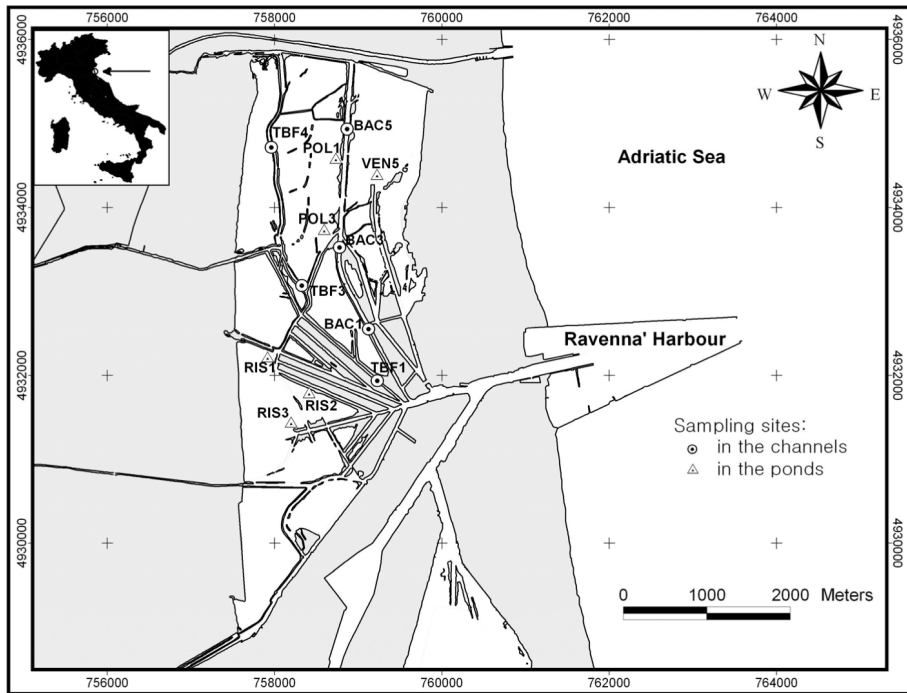


Fig. 1 - Map of Pialassa Baiona lagoon, showing sampling sites located in channels (circles), and ponds (triangles) (geographic grid UTM 32T, ED50).

Mapa della laguna Pialassa Baiona in cui sono riportati i siti di campionamento nei canali (cerchi) e nei chiari (triangoli) (reticolo geografico UTM 32T, RD50).

Results - A total of 96 taxa of macrobenthic invertebrates were recorded. Overall, the most abundant taxa were the polychaetes *Streblospio shrubsolii* and *Capitella capitata*, the larvae of the midge *Chironomus salinarius*, the amphipod *Corophium insidiosum*, the oligochaetes Tubificidae and the gastropod *Hydrobia ventrosa*. Invertebrate assemblage multivariate patterns showed high variability both in space and time (TiXSi(ImXHa) $p < 0.001$). Although this high heterogeneity, assemblages clearly differed among habitats (channel and pond). Some temporal trends could be also recognized both in impacted and control channels and ponds (Fig. 2). However, no significant difference undoubtedly related to the dredging operations was found (ImX-TiXHa and ImXTi $p > 0.05$).

The most abundant taxa showed high heterogeneity in space and time (TiXSi(ImXHa) $p < 0.01$) but even if some general trends could be recognised, no significant difference definitely related to the dredging operations was found (ImXTiXHa and ImXTi $p > 0.05$). In particular *Capitella capitata* was initially significantly more abundant in the ponds but after the dredging its density was reduced reaching values similar to those found in the channels, both close and far from the dredged area. In contrast the abundance of *Corophium insidiosum* increased after the dredging in several sites located in the ponds, both close and far from the dredged channel. On average abundance of *Hydrobia ventrosa*, which is practically absent in the channels, decreased in the control pond, while abundance of *Streblospio shrubsolii* increased in the impacted channel and decreased in the control one after the dredging. However,

these differences were not statistically significant. Similar results were obtained for the species diversity indices, as well as for some sediment features such as the organic carbon content (loss on ignition) and mud (grain size $<63 \mu\text{m}$).

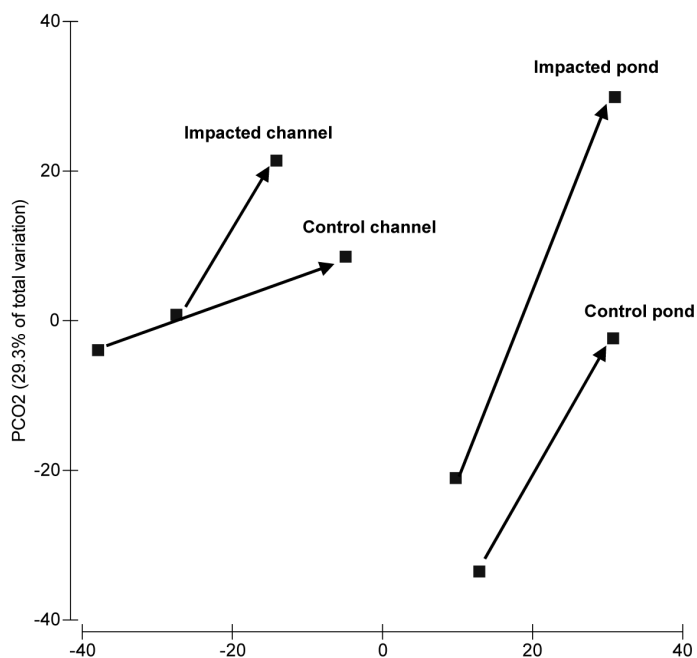


Fig. 2 - Principal coordinate analysis (PCO) showing different temporal paths (before and after) in impacted and control channels and ponds. Each point represented the centroid of the observed similarities.

Analisi delle coordinate principali (PCO) riportante i differenti percorsi temporali (prima e dopo) nei canali e nei chiari di impatto e controllo. Ciascun punto rappresenta il centroide delle similarità osservate.

Conclusions - Invertebrate benthic community living in the study lagoon are affected by several disturbances, including summertime dystrophic events that have significant effects on the assemblages structure and dynamics (Ponti and Abbiati, 2004). Channels dredging operations could drastically reduce both species richness and biomass with direct effect also on the secondary production (Ponti *et al.*, 2007). The effects of the dredging operation could be extended to the surrounding areas for hundreds of meters (Quigley and Hall, 1999).

The dredging operations monitored in this study affected most of the main channel of the lagoon and lasted nearly one year. Despite the extent of the intervention, no clear effects on the benthic assemblages and in the sediment properties were detected neither in the channels nor in the ponds. This could be due to the high spatial heterogeneity and temporal variation that characterise the studied environment and can hide the effects directly and/or indirectly related to the dredging. Moreover, since the dredging operation lasted long time with frequent suspension, the physical disturbance could have affected the impacted sites in different times. In this case, the disturbance could be not considered a single and univocal event; therefore each site should be considered individually.

References

- FABBRI D., VASSURA I., SUN C.-G., SNAPE C.E., MCRAE C., FALLICK A.E. (2003) - Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in a coastal lagoon by molecular and isotopic characterisation. *Marine Chemistry*, **84**: 123-135.
- GUERRA R., PASTERIS A., PONTI M., FABBRI D., BRUZZI L. (2007) - Impact of dredging in a shallow coastal lagoon: Microtox (R) Basic Solid-Phase Test, trace metals and Corophium bioassay. *Environment International*, **33**: 469-473.
- PONTI M., ABBIATI M. (2004) - Quality assessment of transitional waters using a benthic biotic index: the case study of the Pialassa Baiona (Northern Adriatic Sea). *Aquat. Conserv.*, **14**: S31-S41.
- PONTI M., COLANGELO M.A., CECCHERELLI V.U. (2007) - Composition, biomass and secondary production of the macrobenthic invertebrate assemblages in a coastal lagoon exploited for extensive aquaculture: Valle Smaracca (northern Adriatic Sea): Biodiversity and Ecosystem Functioning in Coastal and Transitional Waters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **75**: 79-89.
- PONTI M., GIAQUINTA S., ABBIATI M. (2005) - Pialassa Baiona Lagoon, Ravenna. In: Giordani G., Viaroli P., Swaney D.P., Murray C.N., Zaldivar J.M., Marshall Crossland J.I. (Eds.), *Nutrient fluxes in transitional zones of the Italian coast*. LOICZ, Texel, The Netherlands: 41-48.
- QUIGLEY M.P., HALL J.A. (1999) - Recovery of macrobenthic communities after maintenance dredging in the Blyth Estuary, north-east England. *Aquat. Conserv.*, **9**: 63-73.
- TROMBINI C., FABBRI D., LOMBARDO M., VASSURA I., ZAVOLI E., HORVAT M. (2003) - Mercury and methylmercury contamination in surficial sediments and clams of a coastal lagoon (Pialassa Baiona, Ravenna, Italy). *Continental Shelf Research*, **23**: 1821-1831.
- UNDERWOOD A.J. (1994) - On Beyond BACI - Sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. *Ecological Applications*, **4**: 3-15.

A. RISMONDO, D. MION

SELC Soc. Coop., Via dell'Elettricità, 3d - 30175 Marghera-Venezia, Italia.
rismondo@selc.it

VARIABILITÀ DEI POPOLAMENTI A FANEROGAME MARINE IN LAGUNA DI VENEZIA: DINAMISMI NATURALI O MODIFICAZIONI INDOTTE?

VARIABILITY IN VENICE LAGOON MARINE SEAGRASSES POPULATIONS: NATURAL DYNAMICS OR INDUCED MODIFICATIONS?

Abstract – *Short, medium and long term dynamics of Venice Lagoon seagrasses have been analysed in order to highlight possible causes related to major climatic events, anthropic impacts or fish pressure. Short term dynamics are often as wide as the long term one, pointing out a strong variability of lagoonal populations and different response for each species to impacts.*

Key-words: *seagrasses, dynamics, impact, Venice Lagoon.*

Introduzione – Il ruolo delle fanerogame marine, in particolare nei bacini lagunari e costieri, ben ribadito a livello nazionale ed internazionale, è noto sia per le ricadute in termini strettamente biologici sia dal punto di vista morfologico. In Laguna di Venezia, le funzioni di queste macrofite, dall'effetto di area protettiva per la comunità bentonica ed ittica, alle capacità di consolidamento e di protezione dei fondali dall'erosione e dalla risospensione, permettono di qualificare senza dubbio le aree colonizzate come aree di pregio, anche se questo concetto non deve automaticamente dequalificare quelle storicamente non colonizzate. La normativa in vigore relativa agli ecosistemi di transizione e, da ultima, la WFD (CE2000/60) conferiscono a queste componenti del fitobenthos la massima importanza come elementi indicatori di livello integrato e riassuntivo delle condizioni biologiche. Anche le recenti specifiche delibere regionali attuative ed interpretative della Direttiva Europea Habitat accentuano il ruolo indicativo e valutativo che le fanerogame possono rappresentare, come elementi di pregio dell'habitat "Lagune costiere", per l'analisi del risentimento ambientale conseguente a piani di intervento, progetti e alla fruizione delle risorse in genere.

Le informazioni esistenti sulla distribuzione delle fanerogame marine in Laguna di Venezia trovano nella mappatura del 1990 il primo dato scientifico di confronto esistente (Caniglia *et al.*, 1992). Il successivo rilievo, comprendente una serie di mappature annuali ripetute tra il 2002 e il 2004, ha permesso l'analisi delle dinamiche a lungo, medio e breve termine dei popolamenti lagunari. Tali aspetti sono stati già presentati e discussi, almeno parzialmente (Rismondo *et al.*, 2005, 2006), ma sul collegamento esistente tra queste variazioni e i fattori causali diretti che possono spiegarle non esistono informazioni ed analisi specifiche. L'elevata pressione di pesca - per lo più dei bivalvi - condotta nel bacino e la contemporanea coesistenza di necessità protettive e conservative da un lato e impatti derivanti dall'alta antropizzazione e dall'elevato sfruttamento della Laguna dall'altro rende indispensabile quantificare e analizzare, dove possibile, le peculiari modificazioni della distribuzione delle fanerogame marine qui occorse.

Materiali e metodi – I dati di distribuzione considerati si riferiscono alla mappatura del 1990 e ai più recenti rilievi annuali, ripetuti nel periodo 2002-2004. Tali mappaggi condotti con tecnologia DGPS su supporto GIS, hanno incluso tutti i bassifondi e le piane di marea per un totale di 310 km² su un totale di 550 km² di superficie

lagunare. I dati relativi ai diversi gradi di copertura rilevata sono stati opportunamente normalizzati per poter essere confrontabili. Le modificazioni rilevate sono state oggetto di valutazione allo scopo di quantificare i dinamismi spazio-temporali a lungo, medio e breve termine e collegarli causalmente alle principali forzanti del sistema: andamento climatico, pressione di pesca dei bivalvi, specifici interventi antropici.

Risultati – Le coperture di *Zostera marina* L., *Nanozostera noltii* Hornem. e *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascher. rilevate tra il 1990 e il 2004 indicano a livello complessivo una continua regressione dei popolamenti, anche se informazioni intermedie relative al periodo compreso tra il 1990 e il 2002 riferiscono di alcune situazioni contrastanti (Scarton *et al.*, 1995). In questo lasso di tempo, la regressione di *N. noltii* costituisce il fenomeno più eclatante, responsabile della cospicua diminuzione delle praterie lagunari, nonostante i pur ampi fenomeni colonizzativi relativi all'espansione di *Z. marina*.

Nel triennio 2002-2004 è possibile infatti apprezzare l'azione di forti dinamiche a medio termine, dal momento che accanto alla continua, pur se rallentata, regressione di *N. noltii* si verifica una drastica inversione di tendenza per *Z. marina*, protagonista in varie aree lagunari di un forte trend colonizzativo tra il 1990 e il 2002 (Rismondo *et al.*, 2003), ora invece in inversione di tendenza. Tale fenomeno interessa in uguale misura le praterie monospecifiche e miste (-301 ha su 913 ha).

Tab. 1 - Confronti tra le coperture dei taxa negli anni 1990 e 2002-2003-2004.
Seagrass coverage comparison in 1990 and 2002-2003-2004.

Specie	1990 (ha)	2002 (ha)	2003 (ha)	2004 (ha)
Pop. puri a <i>Zonstera marina</i>	265	1594	1021	754
Pop. puri a <i>Nanozostera noltii</i>	1436	42	42	14
Pop. puri a <i>Cymodocea nodosa</i>	392	1481	1544	1391
Pop. misti a <i>N. noltii</i> e <i>Z. marina</i>	2157	145	143	63
Pop. misti a <i>Z. marina</i> e <i>C. nodosa</i>	692	615	615	441
Pop. misti a <i>Z. noltii</i> e <i>C. nodosa</i>	23	103	103	106
Pop. misti a <i>N. noltii</i> - <i>Z. marina</i> - <i>C. nodosa</i>	528	152	165	106
tot.	5493	4135	3637	2833

L'analisi comparativa dei dataset batimetrici relativi agli anni 1970 e 2002 evidenzia che i dinamismi delle fanerogame possono essere spiegati, con un buon livello di confidenza, dai processi erosivi che hanno determinato un approfondimento generale dei fondali.

C. nodosa risulta la specie maggiormente euriecia, che meglio si è adeguata alle mutate condizioni; *N. noltii* appare la specie più stenoecia e che ha sofferto maggiormente dell'approfondimento dei fondali, venendole a mancare lo spazio ecologico ottimale per il suo sviluppo, cioè la velma (*tidal flat*). *Z. marina* appare invece avvantaggiata dalle modifiche avvenute, non tanto per la sua valenza ecologica più ampia rispetto a *N. noltii*, quanto per un aumento degli spazi ecologici a lei ottimali. L'approfondimento dei fondali in Laguna centrale ha causato infatti un aumento di aree a media profondità, caratterizzate da condizioni di buon idrodinamismo, trasparenza delle acque e granulometria fine (in media 80% di silt), requisiti ottimali per questa specie. Questo ampliamento di areale trova spiegazione anche nella fine dei fenomeni proliferativi macroalgali che hanno caratterizzato i fondali lagunari, specie nel bacino

centrale, fino ai primi anni '90, fatto che ha lasciato spazio alla colonizzazione di *Z. marina* su fondi medio-fini, più compatti e non più così asfittici come al tempo dei blooms macroalgali.

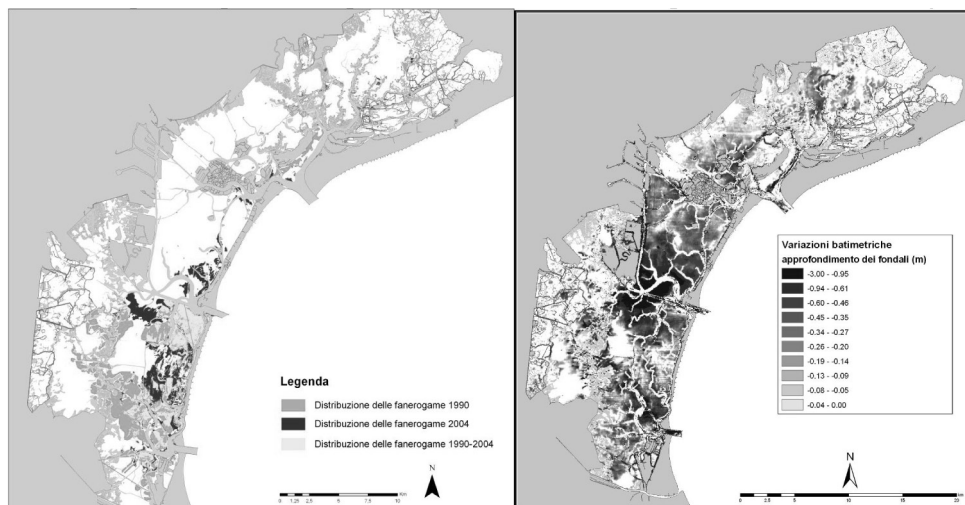


Fig. 1 - Distribuzione delle fanerogame marine (1990-2004) e variazioni batimetriche verificatesi tra il 1970 ed il 2002.

Seagrass distribution in Venice Lagoon (1990–2004) and depth variations occurred between 1970 and 2002.

Per quanto riguarda le variazioni a breve e medio termine, relative al 2002–2004, la forte contrazione di *Z. marina* registrata nel 2003 potrebbe essere giustificata dal forte stress ambientale conseguente alle alte temperature dell'acqua che hanno caratterizzato questa estate. *N. noltii*, a differenza di *Z. marina*, non sembra risentire dell'aumento di temperatura che caratterizza il 2003–2004 e la sua forte e continuata regressione va collegata ad una serie di fattori di difficile quantificazione, quali lunghe esposizioni in bassa marea con forte soleggiamento, incrementati valori di torbidità generale delle acque (Sfriso *et al.*, 2005), aumentata energia idrodinamica e fenomeni erosivi.

Cymodocea nodosa, nel corso dei tre anni di rilevamento, non ha subito modifiche di rilievo nella sua distribuzione e nei valori di copertura ed è quindi ipotizzabile che, essendo specie di origine sub-tropicale, a forte stagionalità, meno risenta dei notevoli rialzi termici estivi occorsi nel battente. Ne consegue che *Z. marina* risulta essere la fanerogama marina che più delle altre ha modificato la propria distribuzione e copertura, subendo impatti conseguenti alle elevate temperature del corpo idrico che hanno sfiorato, per periodi prolungati, i 30 °C nella primavera-estate del 2002 e del 2003, rispetto agli anni immediatamente precedenti e successivi. Parte degli areali abbandonati da questa specie sono stati colonizzati dalla più resistente – sotto il profilo della temperatura – *C. nodosa* e parte sono stati recuperati dalla stessa *Z. marina* a partire dalla primavera successiva seguendo una sorta di processo di colonizzazione/ decolonizzazione pulsate.

I fenomeni di torbidità conseguenti alle pratiche di allevamento del *Tapes* nelle aree in concessione – esercitate in Laguna su più di 3.500 ha - non hanno prodotto, sui popolamenti a fanerogame circostanti, effetti visibili (Pessa e Sfriso, 2002; Rismondo *et al.*, 2006). Una situazione di particolare gravità corrisponde invece all'eliminazione di forti estensioni di fanerogame marine – per lo più *C. nodosa* - dalle aree prossime

alla bocca di porto di Chioggia, ad opera dei coltivatori che la eradicano per liberare le parcelle di allevamento. Tale fenomeno è stato quantificato, per l'intera Laguna, in 425 ha nel triennio in esame, ma supera i 500 ha se rapportato al dato del 1990. I tratti di prateria non asportata che fungono da corridoi tra le parcelle di allevamento, svolgono l'importante funzione di "buffer zones". Proprio a partire da queste aree, in caso di inattività di pesca, *C. nodosa* è apparsa in grado di riconquistare rapidamente gli spazi perduti, visto il suo apparato rizomiale molto produttivo.

Conclusioni – Non emerge una distribuzione "tipo" delle fanerogame marine in Laguna di Venezia, cioè un assetto fisso ed immutabile delle coperture quale riferimento cui rapportarsi per trovare nel futuro evidenze di decadimento della qualità ambientale. Le coperture hanno evidenziato dinamismi notevoli e quelli rilevati a medio-breve periodo (2002-2004) sono spesso paragonabili per ampiezza a quelli intercorsi tra il 1990 ed il 2002. *Zostera marina* si è dimostrata un buon indicatore di stress legato ad elevate temperature, a condizioni di anossia estiva del piano sedimentario o di aumentata torbidità indotta da traffico, scavi, ecc. (Sfriso *et al.*, 2005). La pratica di pesca del *Tapes* è responsabile della scomparsa di oltre 500 ha di prateria di *C. nodosa*, che si conferma peraltro in grado di assorbire le variazioni del sistema con una strategia di colonizzazione basata su un'elevata produzione ipogea e sulla riproduzione sessuata (Rismondo *et al.*, 2006).

Bibliografia

- CANIGLIA G., BORELLA S., CURIEL D., NASCIMBENI P., PALOSCHI A. F., RISMONDO A., SCARTON F., TAGLIAPIETRA D., ZANELLA L. (1992) - Distribuzione delle fanerogame marine (*Zostera marina* L., *Zostera noltii* Hornem., *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch.) in Laguna di Venezia. *Lavor. Soc. Ven. Sc. Nat.*, **17**: 137-150.
- PESSA G., SFRISO A. (2002) - Monitoraggio degli effetti della pesca di *Tapes philippinarum* sui flussi di sedimentazione, sui processi di erosione/sedimentazione e sulla distribuzione di macroalghe e fanerogame marine in aree bersaglio e prossime alle zone date in concessione per la pesca e l'allevamento di questi molluschi. Provincia di Venezia. Rapporto non pubblicato.
- RISMONDO A., CURIEL D., SCARTON F., MION D., CANIGLIA G. (2003) - A New Seagrass Map for the Venice Lagoon. In: E. Özhan (ed), *Proceedings of the Sixth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment - MEDCOAST 2003*, **2**: 843-852.
- RISMONDO A., CURIEL D., SCARTON F., MION D., PIERINI A., CANIGLIA G. (2005) - Distribution of *Zostera noltii*, *Zostera marina* and *Cymodocea nodosa* in Venice Lagoon. *Flooding and Environmental Challenges for Venice and its Lagoon: State of Knowledge*. Cambridge University Press: 567-572.
- RISMONDO A., CURIEL D., MION D., CANIGLIA G. (2006) - Dinamismi spazio-temporali a breve termine delle fanerogame marine in Laguna di Venezia. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 98-99.
- SCARTON F., CURIEL D., RISMONDO A. (1995) - Aspetti della dinamica temporale di praterie a fanerogame marine in Laguna di Venezia. *Lav. Soc. Ven. Sc. Nat.*, **20**: 95-102.
- SFRISO A., FACCA C. MARCOMINI A. (2005) - Sedimentation rates and erosion processes in the Lagoon of Venice. *Environment International*, **31**: 983-992.

I dati analizzati provengono da pubblicazioni e presentazioni autorizzate, relative ad interventi del Ministero dei Trasporti – Magistrato alle Acque tramite il concessionario Consorzio Venezia Nuova.

R. SIMONINI, A. ANSALONI, V. GRANDI, G. MASSAMBA N'SIALA, M. IOTTI, M. MAURI,
G. MONTANARI*, M. PRETI*, N. DE NIGRIS*, D. PREVEDELLI

Dip. di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia, Via Campi, 213/D - 41100 Modena, Italia.
roberto.simonini@unimore.it

*ARPA Emilia Romagna, Italia.

EFFETTI DELL'ESTRAZIONE DI SABBIE E DELLO SVERSAMENTO DI DRAGAGGI PORTUALI SUL MACROZOOBENTHOS DI FONDI MOLLI: DUE CASI DI STUDIO IN ADRIATICO SETTENTRIONALE

EFFECTS OF SAND EXTRACTION AND DUMPING OF HARBOUR-DREDGED SEDIMENTS ON SOFT-BOTTOM MACROZOOBENTHOS: TWO CASE STUDIES FROM THE NORTHERN ADRIATIC SEA

Abstract - *The main findings of two recent monitoring projects on the effects of dumping of harbour-dredged sediment and sand extraction on the macrozoobenthic communities of the Emilia-Romagna coastal area are discussed. In the first case, no significant effects were observed; in the second case, the recovery of benthic communities after defaunation was achieved 30 months after the operations. Biotic and abiotic environmental characteristics and precautionary measures contributed to reduce the medium-long term effects of dumping of dredged sediments and sand extraction on benthic ecosystems.*

Key-words: *macrobenthos, dredging, dumping, Adriatic Sea.*

Introduzione – Lo sfruttamento dei giacimenti sabbiosi sottomarini per il ripascimento delle spiagge, e lo sversamento di sedimenti fini provenienti dal dragaggio dei porti in siti di scarico al largo sono pratiche ampiamente adottate in Nord America ed in Europa. Queste operazioni dovrebbero essere gestite in modo sostenibile, sia dal punto di vista economico che ambientale (Harvey *et al.*, 1998; Boyd *et al.*, 2003). Nonostante i numerosi studi (citati in Simonini *et al.*, 2005a,b, 2007), l'elevato numero di variabili che giocano un ruolo importante nel determinare gli effetti di queste attività sugli ecosistemi bentonici rende difficile derivare modelli generali, quindi le valutazioni di impatto ambientale devono essere effettuate caso per caso. In questo lavoro vengono illustrati i principali risultati di due recenti programmi di monitoraggio degli effetti dello sversamento di sedimenti fini dragati da porti (*mud dumping*) e dell'estrazione di sabbie marine (*sand extraction*) sulle comunità macrozoobentoniche di alcune aree localizzate in Adriatico Settentrionale, al largo delle coste romagnole. Gli obiettivi sono a) valutare la sostenibilità di queste attività; b) fornire informazioni utili a delineare un quadro di riferimento per il monitoraggio degli interventi futuri per quanto riguarda l'Adriatico Nord-Occidentale.

Materiali e metodi – In entrambi i casi, gli interventi di movimentazione dei fondali hanno rispettato le direttive definite *a priori* riguardanti p.e. i volumi e le caratteristiche dei sedimenti, finalizzate alla mitigazione dell'impatto ambientale (ICRAM, 2001; Pellegrini *et al.*, 2002; Simonini *et al.*, 2005a,b, 2007; <http://www.arpa.emr.it/ingamb/marebis.htm>).

1) *Mud dumping* (Simonini *et al.*, 2005b). I materiali dragati da diversi porti lungo la costa emiliano-romagnola sono stati sversati in quattro aree di scarico caratterizzate da fondali fangosi-argillosi. Il materiale dragato era costituito prevalentemente da fanghi ed argille con bassi livelli di contaminanti, ed è stato sversato il più gradualmente ed omogeneamente possibile: il volume massimo di materiale scaricabile in ogni

area è stato fissato a 12000 m³. Gli effetti sul macrozoobenthos sono stati analizzati a) in un sito di controllo ed uno impattato per ogni area; b) prima e dopo 6 mesi, 8 mesi, 2 anni e 4 anni dallo sversamento, a seconda delle aree. Il campionamento è stato effettuato tramite Box-Corer con superficie di presa di 200 cm² (sei repliche).

2) *Sand extraction* (Simonini *et al.*, 2005a, 2007). Nella primavera 2002, 800000 m³ di sabbia sono stati estratti da un deposito sottomarino di sabbie relitte, che inizialmente si presentava come una duna sottomarina che si innalzava di qualche metro rispetto ai fondali circostanti, prevalentemente fangosi. Le campagne di monitoraggio sono state effettuate prima, durante e dopo 1, 6, 12, 18, 24 e 30 mesi dall'intervento, in tre stazioni all'interno dell'area dragata (impattate) e in sette stazioni di controllo. I campionamenti sono stati effettuati tramite benna di van Veen con volume di presa di 24 dm³ (tre repliche).

In entrambi i programmi di monitoraggio: a) sono state effettuate analisi granulometriche e del contenuto in sostanza organica (% TOC); b) i campioni sono stati vagliati attraverso setacci con maglie di 0,5 mm; c) di norma gli organismi sono stati identificati a livello di specie; d) sono state effettuate analisi univariate e multivariate dei data-sets, confrontando le comunità presenti nelle stazioni impattate e di controllo prima e dopo gli interventi (Simonini *et al.*, 2005a,b, 2007).

Risultati - 1) *Dumping*. Lo sversamento dei sedimenti dragati non ha modificato la granulometria e %TOC dei fondali, e non sono state osservate alterazioni significative nella struttura delle comunità macrozoobentoniche nelle quattro aree esaminate. Le dissimilarità tra stazioni impattate e di controllo nella campagna di caratterizzazione e di monitoraggio sono rimaste le stesse. La maggior parte delle differenze sono state riscontrate confrontando le due campagne. Le comunità macrozoobentoniche erano caratterizzate da dense popolazioni di specie opportuniste e tolleranti come *Corbula gibba* e *Lumbrineris latreillii*. In generale, si trattava di comunità ben adattate ad ambienti instabili, caratterizzati da elevati tassi di sedimentazione e ri-sospensione, specialmente nel periodo autunnale ed invernale, quando i fondali sono continuamente rimaneggiati. In queste condizioni, gli organismi mostrano buone capacità di scavo e altri adattamenti per evitare il seppellimento, e queste caratteristiche li renderebbero capaci di tollerare un moderato incremento dei tassi di sedimentazione dovuto allo sversamento.

2) *Sand extraction*. L'estrazione delle sabbie non ha influenzato le caratteristiche fisiche dei sedimenti, ma ha causato la quasi completa defaunazione delle stazioni all'interno dell'area dragata, in cui sono stati creati solchi profondi più di due metri. L'impatto è stato limitato all'area di scavo. Prima dell'intervento, le biocenosi delle sabbie relitte erano caratterizzate da un'elevata biodiversità, sia in termini di numero di specie che di diversità di Shannon: la maggior parte delle specie era ascrivibile alle biocenosi del Dettrico Costiero (DC) e delle Sabbie Fini Ben Calibrate (SFBC). Le analisi univariate e multivariate hanno evidenziato che le risposte delle comunità macrozoobentoniche potevano essere suddivise in due fasi: 1) una rapida fase di ricolonizzazione a carico delle specie dominanti presenti prima del dragaggio, che è durata fino a 12 mesi dall'estrazione delle sabbie; 2) una fase di recupero più lenta, che è terminata dopo 30 mesi dalle operazioni di scavo, quando la composizione e struttura delle comunità tornarono simili nelle stazioni impattate e di controllo, e paragonabili a quelle presenti prima dell'intervento. Questo pattern di ricolonizzazione-recupero è tipico dei casi in cui le caratteristiche fisico-chimiche del substrato non subiscono marcate alterazioni in seguito all'estrazione delle sabbie. Anche in questo caso è stata osservata un'elevata eterogeneità temporale nei popolamenti macrozoobentonici, legata all'elevata stagionalità dell'Adriatico settentrionale e alle temperature particolarmente basse registrate a livello dei fondali nell'inverno 2002-2003.

Conclusioni – Nel caso dello sversamento dei dragaggi portuali, la mancanza di un significativo impatto è da ricondurre alle caratteristiche dell'ambiente ricevente ed alle misure precauzionali adottate per minimizzare gli effetti dell'intervento. Infatti, a) le comunità delle aree di sversamento sembravano pre-adattate ad ambienti instabili, e b) i sedimenti sono stati sversati in modo graduale ed omogeneo su un superficie relativamente grande, riducendo lo spessore del materiale neo-depositato. Altri fattori che hanno contribuito a ridurre l'impatto sono le basse concentrazioni di contaminanti nei materiali dragati e la somiglianza delle caratteristiche fisiche dei sedimenti delle zone dragate e delle aree di scarico. Tenendo conto di queste considerazioni, lo scarico in mare sembra essere una opzione sufficientemente sostenibile per la gestione di sedimenti fini dragati dai porti dell'Adriatico Settentrionale, quando i sedimenti mostrano concentrazioni di contaminanti basse o paragonabili a quelle delle aree di sversamento e non possono essere utilizzati per altri scopi.

Nel caso dell'estrazione delle sabbie, il completo recupero delle comunità dopo la defaunazione può essere attribuito all'insediamento precoce di specie tipiche delle sabbie relitte. Infatti, a differenza di altri interventi analoghi, non si è registrato l'insediamento di specie opportuniste nelle stazioni impattate (Boyd *et al.*, 2003). Ciò è probabilmente dovuto allo scarso impatto delle operazioni sulle caratteristiche fisiche del substrato ed alle caratteristiche idrologiche e sedimentologiche dell'area. Infatti, il regime sedimentologico prevalentemente erosivo dei fondali non ha permesso l'accumulo di apprezzabili quantità di materiali fini negli avallamenti creati dalle draghe, ostacolando l'insediamento di specie opportuniste prettamente limicole e favorendo il progressivo livellamento dei solchi. Anche la quota di scavo, che non ha raggiunto il limite tra le sabbie ed i depositi sottostanti, ha contribuito a lasciare sostanzialmente inalterata la natura sabbiosa dei fondali. Tuttavia, la sostenibilità di queste operazioni deve necessariamente tenere conto del fatto che questa tipologia di giacimenti di sabbie relitte rappresenta una risorsa finita: si tratta infatti di "isole" prevalentemente sabbiose, circondate da fondali con una elevata componente pelitica. Per evitare un irreversibile degrado di questi ecosistemi bentonici ad elevata diversità, occorre adottare piani di gestione che salvaguardino la natura sabbiosa del fondale. A tal proposito, recentemente è stata considerata anche la possibilità di sfruttare giacimenti sabbiosi attualmente sepolti al di sotto di una modesta copertura fangosa. Questo approccio è stato adottato nell'ambito dell'ultimo intervento di ripascimento realizzato dalla regione Emilia-Romagna su indicazione di ARPA-Ingegneria Ambientale: nella primavera 2007, più di 100000 m³ di sabbia sono stati prelevati da un corpo sabbioso ricoperto da 30 cm di fango, con un impatto limitato nello spazio e nel tempo (progetto Beachmed-e http://www.arpa.emr.it/ingamb/resamme_1.htm).

In entrambi i casi considerati, sembra che il rispetto delle procedure operative definite *a priori* abbia permesso una sostanziale mitigazione dell'impatto a medio-lungo termine sull'ecosistema bentonico. Tuttavia, la spiccata variabilità temporale dei popolamenti bentonici, associata alla notevole variabilità interannuale e stagionale delle caratteristiche idrologiche dell'Adriatico settentrionale e del Po, si è rivelata un notevole ostacolo nelle valutazioni di impatto sul macrozoobenthos. Una migliore pianificazione dei monitoraggi a medio-lungo termine, analoga a quella adottata nelle fasi operative degli interventi di movimentazione dei fondali, sarebbe necessaria per adeguare il disegno sperimentale dei monitoraggi stessi ai più rigorosi modelli BACI evoluti, nell'ottica di garantire una maggiore robustezza delle conclusioni ottenute.

Ringraziamenti – Gli autori desiderano ringraziare i ricercatori di ICRAM e ISMAR-CNR Ancona coinvolti nell'ambito dei due progetti di valutazione di impatto ambientale. Un particolare ringraziamento a Marco Paperini e Dino Pagan, della m/n "Daphne II", Struttura Oceanografica Daphne, ARPA Emilia-Romagna, con la quale sono state svolte le attività di campionamento.

Bibliografia

- BOYD S.E., LIMPENNY D.S., REES H.L., COOPER K.M., CAMPBELL S. (2003) - Preliminary observations of the effects of dredging intensity on the re-colonization of dredged sediments off the south-east coast of England (Area 222). *Estuar. coast. shelf sci.*, **57**: 209-223.
- HARVEY M., GAUTHIER D., MUNRO J. (1998) - Temporal changes in the composition and abundance of macro-benthic invertebrate communities at dredged material disposal sites in the Anse à Beaufils, Baie de Chaleurs, Eastern Canada. *Mar. Poll. Bull.*, **36**: 41-55.
- ICRAM (2001) - Intervento di messa in sicurezza dei tratti critici del litorale emiliano romagnolo mediante ripascimento con sabbie sottomarine, caratterizzazione dell'area di prelievo in mare. Relazione preliminare. ICRAM, Roma: 85 pp.
- PELLEGRINI D., ONORATI F., VIRNO LAMBERTI C., MERICO G., GABELLINO M., AUSILI A. (2002) - Aspetti tecnico-scientifici per la salvaguardia ambientale nelle attività di movimentazione dei fondali marini: dragaggi portuali. Quaderno ICRAM n°1. ICRAM, Roma: 201 pp.
- SIMONINI R., ANSALONI I., BONVICINI PAGLIAI A.M., CAVALLINI F., IOTTI M., MAURI M., MONTANARI G., PRETI M., RINALDI A., PREVEDELLI D. (2005a) - The effects of sand extraction on the macrobenthos of a relict sands area (northern Adriatic Sea): results 12 months post-extraction. *Mar. Poll. Bull.*, **50**: 768-777.
- SIMONINI R., ANSALONI I., CAVALLINI F., GRAZIOSI F., IOTTI M., MASSAMBA N'SIALA G., MAURI M., MONTANARI G., PRETI M., PREVEDELLI D. (2005b) - Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). *Mar. Poll. Bull.*, **50**: 1595-1605.
- SIMONINI R., ANSALONI I., BONINI P., GRANDI V., GRAZIOSI F., IOTTI M., MASSAMBA N'SIALA G., MAURI M., MONTANARI G., PRETI M., DE NIGRIS N., PREVEDELLI D. (2007) - Recolonization and recovery dynamics of the macrozoobenthos after sand extraction in relict sand bottoms of the Northern Adriatic Sea, *Mar. Envir. Res.*, **64**: 574-589.

Lo studio è stato finanziato dalla Regione Emilia-Romagna.

A. TERLIZZI

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

THE PERCEPTION OF BIODIVERSITY AND ITS IMPLICATION IN THE QUANTIFICATION OF HUMAN IMPACTS ON MARINE SYSTEMS

LA PERCEZIONE DELLA BIODIVERSITÀ E LE SUE IMPLICAZIONI NELLA QUANTIFICAZIONE DI IMPATTI ANTROPICI SUI SISTEMI MARINI

Abstract - *Well-planned experimental designs and new advancements in statistical tools represent a chance for analysing much more efficiently the effects of human disturbances on natural assemblages. Key to this issue is the understanding of how the perception of impact on biodiversity is influenced by the way biodiversity is defined, described and quantified. These topics are here briefly reviewed, through the analyses of recent case studies.*

Key-words: *environmental impact assessment, experimental monitoring, beyond-BACI designs, biodiversity indices, taxonomic sufficiency.*

Identifying unambiguously the effects of anthropogenic impact on single response variables (e.g., total number of species or individuals, index of diversity, biomass or abundance of a single species) requires a comparison of the magnitude of change in a putatively impacted location to natural changes in multiple locations not affected by the source of disturbance under examination. Beyond-BACI designs (Underwood, 1994), based on analysis of variance, provide a framework to address these issues and are currently among the most powerful tools available in environmental impact assessment (Benedetti-Cecchi, 2001). An important feature of beyond-BACI designs is that they can be modified and used to measure differences between a purportedly impacted location and multiple controls when no data have been obtained before the human intervention and thus only 'after' data are available (Glasby, 1997). Such designs, though limited in establishing cause-effect relationships, have been widely used in environmental impact studies.

It is generally acknowledged that whole assemblages are more sensitive to environmental changes than individual indicator species variables or other univariate indices and that measures of assemblage patterns can provide the most useful information for interpreting the consequences of human disturbances onto ecological systems (Underwood and Peterson, 1988). Several multivariate procedures have been widely used over the past decades and have contributed to the advance of current scientific environmental impact assessment. A limitation of many of these methods, however, is that they do not allow tests of interactions, which may pose problems for the analysis of complex experimental designs, particularly those where interaction terms (such as in BACI designs) are of particular interest.

In recent years, new statistical tools have been developed for the analysis of multispecies responses in structured ecological experiments (Anderson, 2001). These methods allow tests of all terms, including interactions, in structured multifactorial designs. The adoption of such procedures for the analysis of multivariate data in response to beyond-BACI designs have been accomplished recently (Terlizzi *et al.*, 2005a,b; Benedetti-Cecchi and Osio, 2007), providing a promising framework for future impact studies and experimental monitoring.

Describing assemblages at fine levels of taxonomic resolution is logistically difficult, requiring the counting of all organisms and their taxonomic identification. Accurate taxonomic analysis is often unachievable due to costs in processing samples and, above all, lack of taxonomic expertise.

Thus, paradoxically, tests of hypotheses about the effects of human disturbance on multivariate assemblages are continuously advanced by the development of innovative statistical procedures, but the widespread demise of taxonomy often prevents an adequate taxonomic definition of the considered variables.

Clearly, the level of taxonomic accuracy at which assemblages are described depends on the objective of the study. For many groups of benthic organisms, it has been demonstrated that an environmental impact can be detected even when the analysis is based on a taxonomic level higher than species. In such contexts, the use of taxonomic surrogates can reduce costs associated with detailed taxonomic analyses. This can potentially increase the power of the analysis, by allowing more resources to be allocated to spatial and temporal replication of experiments (Terlizzi *et al.*, 2003). The decision to use coarse taxonomic resolution should not, however, be made *a priori*. A close relationship between results of analyses based on coarse levels of resolution with those based on species-level analyses to quantitatively describe patterns of changes in assemblages under disturbance regimes must be demonstrated before coarse taxonomic resolution can be proposed for routine monitoring. The level and accuracy of taxonomic identification can also contribute to clarify the response of univariate measures of biodiversity to stress. The detection of changes in biodiversity in relation to environmental impacts has some major drawbacks when biological diversity is expressed simply as the total number of species. Most of these problems also apply to other diversity indices that variously emphasize the equitability components of diversity. Measures of taxonomic relatedness among species (e.g. *taxonomic distinctness*) address some of these problems and might have a greater sensitivity than that seen for species richness or other indices of evenness.

Here, through the analyses of recent case studies, I highlight the potential of newly developed analytical tools in the assessment of the effects of human disturbance on patterns of assemblage diversity. An emphasis is given on how the use of a suite of univariate and multivariate measures, including diversity indices, detailed information on taxonomic structure and analyses of variability at different spatial scales, provided useful insights into the effects of environmental impacts on diverse assemblages. The importance of analysing measures of variance as well as mean in considering effects of stress in natural communities is also acknowledged.

References

- ANDERSON M.J. (2001) - A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust. Ecol.*, **26**: 32-46.
- BENEDETTI-CECCHI L. (2001) - Beyond BACI: optimization of environmental sampling design through monitoring and simulation. *Ecol. Appl.*, **11**: 783-799.
- BENEDETTI-CECCHI L., OSIO G.C. (2001) - Replication and mitigation of effects of confounding variables in environmental impact assessment: effect of marinas on rocky-shore assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **334**: 21-35.
- GLASBY T.M. (1997) - Analysing data from post-impact studies using asymmetrical analyses of variance: a case study of epibiota on marinas. *Aust. J. Ecol.*, **22**: 448-459.
- TERLIZZI A., BENEDETTI-CECCHI L., BEVILACQUA S., FRASCHETTI S., GUIDETTI P., ANDERSON M.J. (2005A) - Multivariate and univariate asymmetrical analyses in environmental impact assessment: a case study of Mediterranean subtidal sessile assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **289**: 27-42.
- TERLIZZI, A., SCUDERI, D., FRASCHETTI, S., ANDERSON M.J. (2005b) - Quantifying effects of pollution on biodiversity: a case study of highly-diverse molluscan assemblages in the Mediterranean. *Mar. Biol.*, **148**: 293-305.

- TERLIZZI A., BEVILACQUA S., FRASCHETTI S., BOERO F. (2003) - Taxonomic sufficiency and the increasing insufficiency of taxonomic expertise. *Mar. Poll. Bull.*, **46**: 556-561.
- UNDERWOOD A.J. (1994) - On beyond-BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. *Ecol. Appl.*, **4**: 3-15.
- UNDERWOOD A.J., PETERSON C.H. (1988) - Towards an ecological framework for investigating pollution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **46**: 227-234.

B. TRABUCCO, T. BACCI, V. MARUSSO, S. LOMIRI, D. VANI, S. MARZIALETTI
A.M. CICERO, R. DI MENTO, A.M. DE BIASI, M. GABELLINI, C. VIRNO LAMBERTI

I.C.R.A.M. Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti, 300 -00166 Roma, Italia.
b.trabucco@icram.org

STUDIO DELLA MACROFAUNA ATTORNO ALLE PIATTAFORME *OFF-SHORE* IN ADRIATICO CENTRALE

STUDY OF THE MACROFAUNA SURROUNDING OFF-SHORE PLATFORMS IN THE CENTRAL ADRIATIC SEA

Abstract – *Soft-bottom benthic communities structure has been investigating by ICAM around different off-shore platforms in the Adriatic Sea for more than six years, in order to evaluate its spatial-temporal variability and to recognize possible typical benthic structural pattern, as a result of the presence of the installations. The benthic communities close to the platforms presented some particular characteristics.*

Key-words: *macrobenthos, off-shore structures, community composition, Adriatic Sea.*

Introduzione – Nell’ambito di diversi piani di monitoraggio l’ICRAM (Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare), con il suo Gruppo di studio sull’ecologia del benthos, conduce da tempo indagini sistematiche sull’abbondanza e diversità delle comunità macrozoobentoniche associate al sedimento nell’intorno di piattaforme *off-shore* situate in Adriatico. Ciò al fine di individuare se vi siano *pattern* strutturali peculiari determinati dalla presenza delle installazioni stesse e quindi rilevare l’impatto antropico sull’ecosistema marino (Trabucco *et al.*, 2006a,b; Kingston, 1992).

Materiali e metodi – Le campagne di campionamento nell’intorno di tre piattaforme (denominate *A*, *B*, e *C*) in Adriatico centrale ed una (denominata *D*) in Adriatico settentrionale, sono state effettuate tra il 2003 e il 2008. Campioni di sedimento sono stati prelevati con benna Van Veen (0.1 m²/25 L), su fondi fangosi (*A*, *B* e *C*) e su fondi sabbiosi (*D*). Per quanto riguarda le prime 3 piattaforme le osservazioni sono state disposte a distanze crescenti dalle installazioni, lungo due transetti ortogonali tra loro, aventi come punto di intersezione la struttura stessa, al fine di evidenziare eventuali perturbazioni ambientali in presenza di una nota “sorgente” di disturbo puntiforme (OSPARCOM, 1999; Cicero *et al.*, 2004). Nell’intorno di *D* (installata a fine 2007 e il cui monitoraggio è iniziato a febbraio 2008) si è proceduto invece con un disegno che prevede una griglia di 50 punti di prelievo, al fine di valutare l’estensione spaziale del disturbo lungo il gradiente della corrente principale (Josefson e Hansen, 2004), ed effettuare così anche un confronto con la griglia utilizzata per le altre piattaforme. Sui dati relativi ad *A*, *B* e *C* sono state effettuate analisi statistiche univariate (abbondanza, ricchezza specifica totale e indice di diversità di Shannon) e multivariate (nMDS/similarità *Bray-Curtis*), sull’insieme dei dati di abbondanza. Le analisi sui primi campioni raccolti nell’intorno della piattaforma *D* sono ancora in corso.

Risultati – Durante le campagne svolte dal 2003 al 2006 su *A* sono stati raccolti e determinati 11609 individui (256 taxa); nelle campagne svolte nel 2004 per *B* e *C* sono stati raccolti e determinati rispettivamente 1387 individui (129 taxa) e 4823 individui (108 taxa). In generale il taxon dei Policheti è sempre il più rappresentato (50%÷88%), seguono Crostacei (5%÷40%), Molluschi (3%÷13%) ed Echinodermi (1%÷6%). Le maggiori ricchezze specifiche si riscontrano, in ordine decrescente, tra i Policheti (120 *A*; 60 *B*; 47 *C*), i Crostacei (52 *A*; 29 *B*; 22 *C*), i Molluschi (42 *A*; 22 *C*; 12 *B*), gli Echino-

dermi (14 *A*; 10 *B*; 8 *C*). Per quanto riguarda l'andamento degli indici strutturali della comunità, mediamente si evidenziano valori più alti in corrispondenza delle stazioni più vicine alle installazioni.

L'analisi *nMDS* relativa ad *A* permette di apprezzare una nube di punti stazione, con un andamento circolare "ciclico" a partire dai dati del 2003 fino a quelli del 2006, in cui è possibile inoltre discriminare nel tempo le stazioni poste nelle immediate vicinanze della struttura (A6, A5, A7), dalle restanti stazioni, poste a distanze maggiori (Fig. 1).

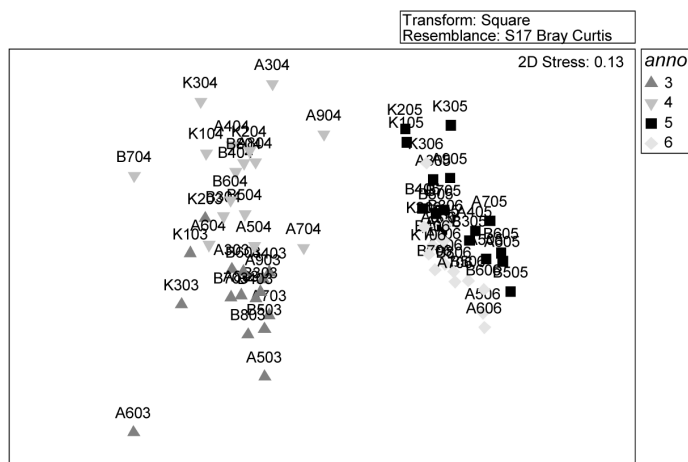


Fig. 1 - Ordinamento *nMDS* relativo ad *A* dal 2003 al 2006, con il fattore discriminante "anno" (triangolo grigio scuro 2003, triangolo grigio chiaro 2004, quadrato nero 2005, rombo grigio chiaro 2006).

nMDS ordination on *A* data from 2003 to 2006, with the "year" discriminant factor (dark grey triangle 2003, light grey triangle 2004, black square 2005, light grey rhombus 2006).

Lo stesso si osserva anche per l'ordinamento relativo a *B* (GI0, GI1, GI2, GI3, GI4 stazioni vicine) (Fig. 2). Le stazioni più vicine alle strutture *off-shore* *A* e *B* sono

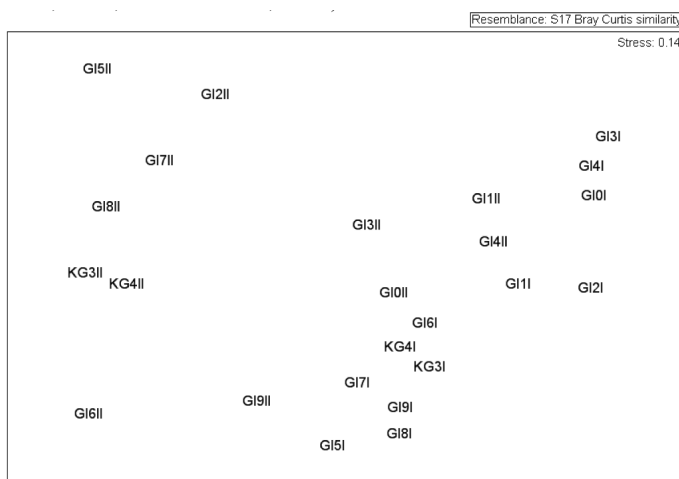


Fig. 2 - Ordinamento *nMDS* relativo a *B* dati 2004 (I prima campagna – II seconda campagna).

nMDS ordination on *B* data (2004) (I first campaign – II second campaign).

caratterizzate, infatti, da specie tipiche di fondi mobili a sedimento molto grossolano, di fondi detritici o duri, come ad esempio il decapode *Pilumnus hirtellus*, i bivalvi *Hiatella artica* e *H. rugosa* ed il polichete *Polydora ciliata*, normalmente assenti sul fondo originario, andando ad arricchire un popolamento tipico di fondi mobili fangosi (ENEA, 1993; Peres e Picard, 1964). Nelle stazioni più lontane dalla piattaforma il popolamento è costituito dalle sole specie di fondo silt-argilloso originario e simile a quello presente nelle stazioni di controllo, quali ad esempio i policheti *Monticellina dorsobranchialis*, *Marphysa bellii*, *Caulleriella caputesocis*, il bivalve *Nucula sulcata* e il decapode *Callinassa subterranea*. Nell'intorno di *C* si è visto un popolamento bentonico con struttura e distribuzione delle specie analoghe a quelle descritte per popolamenti di fondi mobili normalmente insediati in medio Adriatico (Gamulin-Brida, 1967; Peres e Picard, 1964).

Conclusioni – Dallo studio dei popolamenti bentonici nell'intorno di *A* e *B* è stato possibile verificare un *pattern* strutturale determinato dalla presenza delle installazioni stesse. Si è osservato una differenza strutturale dei popolamenti macrozoobentonici insediati nell'area immediatamente adiacente alle piattaforme, che determina un arricchimento della comunità (Trabucco *et al.*, 2006a; Spagnolo *et al.*, 2002). I dati ottenuti nella zona di *C* nel complesso non hanno evidenziato una diretta influenza della struttura metanifera sull'ambiente circostante. Il lavoro sull'analisi quali-quantitativa di tali popolamenti sta proseguendo. Attraverso le nuove indagini su *D*, l'obiettivo è, inoltre, quello di affinare la strategia di campionamento, per cercare di indagare ulteriormente i *trend* spazio-temporali osservati.

Bibliografia

- CICERO A.M., GABELLINI M., MAGGI C., NONNIS O., TRABUCCO B., VIRNO LAMBERTI C. (2004) – Methodological criteria for environmental monitoring of an offshore platform and Central Adriatic Sea. *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, **37**: 507.
- ENEA (1993) – *Arcipelago Toscano. Studio oceanografico, sedimentologico, geochimico e biologico*. Ed. Serie Studi Ambientali: 400 pp.
- GAMULIN-BRIDA H. (1967) - The benthic fauna of the Adriatic Sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **5**: 535-568.
- JOSEFSON A.B., HANSEN J.L.S. (2004) – Specie richness of benthic macrofauna in Danish estuaries and coastal areas. *Global Ecol. Biogeogr.*, **13**: 273-288.
- KINGSTON P.F. (1992) - Impact of offshore oil production installations on the benthos of the North Sea. *ICES Journal of Marine Science*, **49**: 45-53.
- OSPAR COMMISSION (1999) - Guidelines for Monitoring the Environmental Impact of Offshore Oil and Gas Activities, Adopted at ASMO 2001, *OSPAR Commission Agreement*: 1-10.
- PERES J.M., PICARD J. (1964) - Nouveau manuelle de bionomie benthique de la Mer Mediteranee. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **31** (47): 5-137.
- SPAGNOLO A., PANFILI M., GIAMPIERI A., SPEGNE R., TROVARELLI L. (2002) - Cambiamenti indotti sulla comunità bentonica di fondo mobile da una piattaforma estrattiva off-shore (Adriatico settentrionale). *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 191-198.
- TRABUCCO B., CICERO A.M., GABELLINI M., VIRNO LAMBERTI C., DI MENTO R., BACCI T., MOLTEDO G., TOMASSETTI P., PANFILI M., MARUSSO V., CORNELLO M. (2006a) - Studio del popolamento macrozoobentonico di fondo mobile in prossimità di una piattaforma off-shore (Adriatico Centrale). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 659-662.
- TRABUCCO B., MAGGI C., VIRNO LAMBERTI C., BACCI T., MARUSSO V., VANI D., GABELLINI M., CICERO A.M. (2006b) - Marine benthic assemblages around a gas platform (Central Adriatic Sea). *Coastal Innovations and Initiatives - Proceedings Littoral*: 39-46.

R. BOSCOLO, F. CACCIATORE, O. GIOVANARDI

Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare,
Località Brondolo - 30015 Chioggia (VE), Italia.
f.cacciatore@icram.org

INDICE PCDDF/PC E ANALISI FATTORIALE
PER LA VALUTAZIONE QUANTITATIVA E QUALITATIVA
DELLA DECONTAMINAZIONE DA PCDD E PCDF
IN *TAPES PHILIPPINARUM*

*PCDDF/SW INDEX AND FACTOR ANALYSIS
FOR THE QUANTITATIVE AND QUALITATIVE EVALUATION OF
PCDD AND PCDF DECONTAMINATION IN TAPES PHILIPPINARUM*

Abstract – PCDD and PCDF decontamination in clams *Tapes philippinarum* gathered from a polluted area and transplanted in two rearing areas of the Lagoon of Venice was studied. PCA was performed to elucidate bioaccumulation and depuration pattern and input sources. To propose results not affected by seasonal changes in flesh weight of clams, the approach based on the calculation of PCDDF/SW index was applied.

Key-words: PCDD, PCDF, *Tapes philippinarum*, PCDDF/shell weight index, Lagoon of Venice.

Introduzione – Le policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD) e i policlorodibenzofurani (PCDF) sono composti lipofilici, difficilmente degradabili, sottoprodotti indesiderati di una serie di processi chimici e di combustione, la cui distribuzione dei congeneri rilevati nelle analisi di organismi bioindicatori fornisce un'impronta digitale, che può far risalire al tipo di processo che ha portato alla loro formazione (Guerzoni e Racanelli, 2003). La specie *Tapes philippinarum* è usata comunemente come bioindicatore della biodisponibilità di inquinanti in ambiente (Hopkin, 1993). La presenza ambientale di un contaminante e la sua concentrazione nei tessuti corporei può, però, essere alterata da diversi fattori, primo fra tutti la variazione stagionale delle parti molli degli organismi. In questo studio è stata valutata la decontaminazione da PCDD/F, in *T. philippinarum* trapiantate da un sito contaminato a due relativamente puliti e applicata l'analisi fattoriale, al fine di valutare il pattern di distribuzione dei congeneri durante la decontaminazione. È stato inoltre applicato l'indice PCDDF/PC allo scopo di ottenere una valutazione della biodisponibilità di PCDD e PCDF non affetta da influenze dovute alla variazione stagionale delle parti molli dei molluschi.

Materiali e metodi - Le vongole *T. philippinarum* sono state prelevate in prossimità della zona industriale di Porto Marghera e seminate in due allevamenti della Laguna sud di Venezia, uno di fronte alla bocca di porto di Chioggia (sito AD), l'altro più interno e vicino alla SS Romea (sito AZ). PCDD e PCDF sono stati analizzati nelle vongole, al momento del prelievo e dopo 30, 60, 180 e 365 giorni dalla semina. Per ogni campione di vongole su 40 individui sono state misurate le variabili corporee: peso secco delle carni (PS, g) e peso della conchiglia (PC, g) per valutare l'indice di condizione secondo il metodo descritto in Boscolo *et al.* (2003). L'analisi fattoriale è stata applicata per le concentrazioni dei 17 congeneri PCDD/F determinate nei campioni. È stato applicato l'indice PCDDF/PC calcolato come concentrazione di PCDD e PCDF \times PS/PC.

Risultati - Le concentrazioni di PCDD/F (pg/g p.s.) determinate nelle vongole mostrano valori iniziali di 56,5 pg/g in PM, per poi scendere già dopo 30 giorni a valori pari a 13,7 e 10,2 pg/g (rispettivamente AZ30g e AD30g). Dopo 60 giorni i valori risultati sono stati, rispettivamente, di 10,5 pg/g in AZ60g e 8,1 pg/g in AD60g.

Dopo 180 giorni si è verificato, invece, un aumento delle concentrazioni di contaminante soprattutto nelle vongole di AZ (67,8 pg/g), ma anche in quelle di AD (14,1 pg/g). Dopo 365 giorni dal trapianto si è ritornati, però, a valori pari a 10,1 pg/g per AZ e 12,1 pg/g per AD. Con l'analisi fattoriale è stato possibile studiare il pattern di distribuzione dei 17 congeneri analizzati. In base ai punteggi fattoriali ottenuti si è identificato un gruppo di casi da cui si sono separati nettamente i campioni PM e AZ180g. Il campione PM ha presentato un pattern di congeneri prevalentemente caratterizzato da alti valori di 1,2,3,4,7,8,9HpCDF, mentre gli organismi di AZ 180g sono risultati contenere concentrazioni più elevate di OCDD e 1,2,3,4,6,7,8HpCDD. Le miscele di PCDD/F derivanti dalle emissioni di impianti da combustione presentano un eccesso di PCDD rispetto ai PCDF, così come i materiali fecali e i reflui civili. I PCDF sono invece preponderanti in altre attività industriali, quali ad esempio, le produzioni in cui è coinvolto il cloro (Guerzoni e Racanelli, 2003). In tutti gli altri campioni di vongole, anche se con livelli di PCDD/F inferiori, il congenere rilevato a maggiori concentrazioni è stato OCDD. Gli indici di condizione hanno mostrato i valori più elevati al momento del trapianto (PM 0,084), hanno subito un abbassamento dopo 30 e 60 giorni in entrambi gli allevamenti (AZ30g 0,071; AD30g 0,068; AZ60g 0,065 e AD60g 0,072) e hanno raggiunto i livelli minimi registrati in questo studio nel mese di novembre (AZ 0,38 e AD 0,58). Dopo un anno dal trapianto, però, i rapporti PS/PC sono ritornati alla condizione iniziale (AZ365g 0,082 e AD365g 0,089). Il calo dell'indice di condizione PS/PC, già a partire dal mese di giugno e luglio, può essere interpretato come una risposta fisiologica allo stress del trapianto. Da novembre, invece, i valori sono maggiori in AD rispetto che in AZ e sono confrontabili con quanto riportato per *T. philippinarum* in Laguna sud di Venezia (Boscolo *et al.*, 2006). Dopo aver verificato che le concentrazioni dei contaminanti non correlavano significativamente (R di Spearman non significativo per $p > 0,05$) con l'indice di condizione, è stato calcolato l'indice PCDDF/PC. L'indice PCDDF/PC ha mostrato che i valori di PM sono risultati maggiori rispetto a quelli di tutti gli altri campioni mentre a novembre è stato registrato un aumento dell'indice nel campione di AZ con valori maggiori rispetto agli altri campioni, ma a differenza dei risultati ottenuti senza l'elaborazione dell'indice, non si è evidenziato un accumulo di contaminanti maggiore rispetto a quelli di PM.

Conclusioni – Alla luce dei risultati ottenuti si evidenzia che una valutazione corretta della biodisponibilità di PCDD e PCDF attraverso l'utilizzo di un bioindicatore come *T. philippinarum* deve tener conto delle variazioni corporee delle parti molli degli organismi. L'indice PCDDF/PC si è dimostrato un approccio efficace in tal senso permettendo una valutazione quantitativa di contaminante non affetta dalle fluttuazioni stagionali della parte edule dei bivalvi. Per quanto riguarda, invece, la valutazione qualitativa della contaminazione ambientale da PCDD e PCDF, l'analisi fattoriale si conferma un utile strumento per indagare il tipo di fonte antropica che ha causato l'inquinamento in ambiente.

Bibliografia

- BOSCOLO R., CORNELLO M., GIOVANARDI O. (2003) - Condition index and air survival time to compare three kinds of Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) farming systems. *Aquaculture International*, **11** (3): 243-254.
- BOSCOLO R., OSELLADORE F., CACCIATORE F., MARIN M.G. (2006) - Condition indices in clams (*Tapes philippinarum*) reared in the Lagoon of Venice. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13**: 20-31.
- GUERZONI S., RACANELLI S. (2003) – *La laguna ferita, uno sguardo alla diossina e agli altri inquinanti organici persistenti (POP) a Venezia*. Libreria Editrice Cafoscarina, Venezia.
- HOPKIN S.P. (1993) - In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystem. In: P. Calow (ed), *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Sci. Publ. London, Edinburgh, Boston: 397-427.

M. CAMMARATA, M.G. PARISI, G. BENENATI, R. MARTORANA, N. PARRINELLO

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo,
Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.
nicpar@unipa.it

EFFETTI TOSSICI DEL METILMERCURIO SULLE RISPOSTE IMMUNITARIE DELL'ASCIDIA *STYELA PLICATA*

TOXIC EFFECTS OF METHYLMERCURY ON STYELA PLICATA IMMUNITARY RESPONSES

Abstract - *S. plicata* hemocytes exposed to methylmercury presented a significantly enhanced phenoloxidase activity. Hemocyte cytotoxic and phagocytic activities were significantly decreased in the presence of sublethal xenobiotic concentrations. Both the responses need cell-target contacts that could be affected by methylmercury which causes changes in hemocyte shape and spreading capacity as revealed by a microplate method that could be an additional immunotoxicology test. Similar results on the cells were obtained by assaying polluted sea water from different Sicilian coastal sites.

Key-words: ascidian, hemocytes, methylmercury, phagocytosis, cytotoxicity.

Introduzione – Le Ascidie sono filtratori che accumulano sostanze tossiche nei tessuti, inclusi metalli pesanti, e sono considerati buoni indicatori della qualità dell'acqua (Monniot *et al.*, 1994). La presenza nell'ambiente acquatico della forma organica del mercurio può essere responsabile di cambiamenti delle funzioni immunitarie (Zelikoff *et al.*, 1994; Lalancette *et al.*, 2003; Cammarata *et al.*, 2007). Nel presente lavoro sono state studiate risposte immunitarie degli emociti di *Styela plicata* ed è stato valutato il loro potenziale utilizzo come biomarkers sensibili all'azione di concentrazioni subletali di metilmercurio. *S. plicata* presenta un'osmolarità dell'emolinfa conforme a quella dell'acqua di mare. Tale caratteristica consente di ottenere risposte cellulari in laboratorio simili a quelle delle condizioni naturali.

Materiali e metodi – Sono stati eseguiti saggi *in vitro* sugli emociti ottenuti dall'emolinfa ed incubati con il metilmercurio alle concentrazioni comprese tra 10^{-4} M e 10^{-8} M. È stato valutato l'effetto del metallo sulla mortalità (trypan blue) e sulla vitalità cellulare (rosso neutro), sull'attività fenolossidasi, citotossica e fagocitica degli emociti verso lieviti (*Saccharomyces cerevisiae*). L'attività di fagocitosi degli emociti di *S. plicata* è stata osservata incubando le cellule ($2,5 \times 10^6$ ml⁻¹) con lieviti per 60 min at 20 °C. Sono state studiate inoltre le risposte cellulari a differenti concentrazioni di metallo organico osservando gli effetti sulla morfologia e sulla capacità di adesione delle cellule. La modificazione della morfologia e di adesione degli emociti è stata valutata incubando 5×10^6 cellule ml⁻¹ per un'ora in pozzetti di piastre per emoagglutinazione contenenti differenti concentrazioni di soluzioni di metilmercurio. Infine sono state prese in esame le risposte degli emociti di *S. plicata* dopo esposizione diretta a campioni di acqua di mare prelevate in 18 aree delle coste siciliane.

Risultati – I risultati del test del trypan blue, confermati dai test di vitalità del rosso neutro, indicano che il trattamento a concentrazioni superiori a 10^{-4} M dell'organometallo per un'ora riduce significativamente la vitalità degli emociti. L'enzima proPO presente nei supernatanti degli omogenati di emociti viene attivato dall'organometallo in maniera dose dipendente. Una significativa attivazione (65,9U \pm 1,3) è stata registrata alla concentrazione di 10^{-6} M, valore che aumenta alle concentrazioni di 10^{-5} M (72,4U \pm 1,1) e 10^{-4} M (79,3U \pm 1,3).

Anche l'attività citotossica degli emociti verso eritrociti di coniglio ($7,5 \times 10^6$ cells ml⁻¹

-effettore/target ratio: 1:5) diminuisce in maniera dose dipendente. Il valore di citotossicità più basso è stato registrato utilizzando alla concentrazione di 10^{-4} M ($p < 0.001$; 19%). L' inibizione della attività citotossica ha presentato invece un valore meno significativo ($p < 0,05$; 21,8%) utilizzando la più bassa concentrazione dello xenobiotico (10^{-8} M).

Dopo un'ora di incubazione degli emociti con il metilmercurio alle concentrazioni di 10^{-8} e 10^{-7} M è stato registrato un significativo decremento dell'attività fagocitica. Valori ancor più bassi sono stati osservati utilizzando lo xenobiotico alle concentrazioni di 10^{-6} M e 10^{-5} M ($p < 0,001$).

In assenza di metilmercurio, gli emociti aderiscono al substrato e presentano morfologia irregolare. Dopo trattamento con l'organometallo alla concentrazione di (10^{-4}) gli emociti presentano una forma tondeggiante.

La mortalità e la morfologia degli emociti variavano ($P < 0,05$) come effetto di acqua di mare prelevata in varie località della costa siciliana. In particolare, la variazione di morfologia è risultata più significativa negli esperimenti condotti con campioni di acqua di mare prelevati a Manfria (Gela), Torretta (Mazara) e Cala (Pa). La mortalità è risultata maggiormente alterata quando gli emociti venivano incubati con acqua di mare proveniente da San Giuliano (Tp), Nobia (Tp) e Cala (Pa).

Conclusioni - Il lavoro dimostra che la forma organica del mercurio presente in mare a concentrazioni subletali risulta un inquinante attivo in grado di modulare le attività degli immunociti di *S. plicata* ed in particolare, le attività di fagocitosi e di citotossicità. Il cambiamento di morfologia, la mortalità e l'attività fenolossidasi degli emociti di *S. plicata* in presenza del metilmercurio possono essere utilizzati come test immunotossicologici. Sebbene non sia stata definita la specificità di questi test e sia stato esaminato il meccanismo di azione, gli esperimenti *in vitro* con acqua di mare proveniente da siti di campionamento inquinati indicano la potenzialità del test nella valutazione ambientale .

Bibliografia

- CAMMARATA M., PARISI M.G., BENENATI G., ARIZZA V., CILLARI T., PIAZZESE D., GIANGUZZA A., VAZZANA M., VIZZINI A., PARRINELLO N. (2007) - In vitro effects of methylmercury on ascidian (*Styela plicata*) immunocyte responses. *Applied Organometallic Chemistry*, **21**: 1022-1028.
- LALANCETTE A., MORIN Y., MEASURES L., FOURNIER M. (2003) - Contrasting changes of sensitivity by lymphocytes and neutrophils to mercury in developing grey seals. *Developmental and Comparative Immunology*, **27**: 735-747.
- MONNIOT F., MARTOJA R., MONNIOT C. (1994) - Cellular states of iron and nickel accumulation in ascidians related to the naturally and anthropic enriched New Caledonian environment. *Ann. Inst. Océanogr.*, **70**: 205-216.
- ZELIKOFF (1994) - Immunological alterations as indicators of environmental metal exposure. *Modulators of Fish Immune responses*, **1**: 101-110.

C. CERRANO, F. FAVA*, A. SCINTO, M. PONTI*

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
cerrano@dipteris.unige.it

*Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali (C.I.R.S.A.), Università di Bologna
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.

EPIBENTHIC ASSEMBLAGES AND CORAL RUBBLES: POSSIBLE EFFECTS OF HUMAN IMPACTS ON CORAL REEFS

POPOLAMENTI EPIBENTONICI E DETRITO CORALLINO: POSSIBILI EFFETTI DELL'IMPATTO ANTROPICO SULLE BARRIERE CORALLINE

Abstract - Coral reefs assessment can be performed with different methodologies, focusing on target aspects of their ecology. We present the use of coral rubble covering to evaluate differences between control and impacted sites in the Marine Park of Bunaken (North Sulawesi, Indonesia), at different depths. In the impacted sites the amount of coral rubbles and the fine fraction are higher than in control.

Key-words: benthos, coral reefs, grain size, man-induced effects, Indonesia.

Introduction – Coral reefs have a high ecological value with its most diverse marine habitat and species but also a social and economic ones with million of people depending on it for their supplies (Costanza *et al.*, 1997; Berg *et al.*, 1998). Unfortunately reefs are affected by human disturbances and the degree of degradation is increasing with time worldwide. The major anthropogenic physical disturbances that directly affect coral reefs are due to anchorages, destructive fishing practise as blast fishing and diving tourism (Chabanet *et al.*, 2005). The aim of the present study is to use the features and extend of coral rubbles to evaluate the human impact on the structure of epibenthic assemblages in the Bunaken Marine National Park (1°37'N 124°45'E, North Sulawesi, Indonesia).

Materials and methods – Impacted and control locations within the Bunaken Marine Park were defined considering the physical disturbance due to the increasing tourism close to the villages, according to the technical report of de Vantier and Turak (2004). Four study sites were randomly chosen in both impacted and control locations. The coral rubbles percentage cover was estimated measuring the size of rubble patches along 6 belt transects (10×1 m) at two depths (6-12 m) in each site. Grain size of the rubbles and the living coral fraction was evaluated collecting three replicate samples at three depths (6-12-18 m) in each site. Corals rubbles were divided into 5 size classes using a nested series of sieves (meshes 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 cm) and weighted, while living corals fraction was estimated as relative percentage. Epibenthic assemblages were analysed in term of morphological categories, using a photographic sampling considering eight sites (5 impacts and 3 controls) at 6, 12, 18 metres depth.

Results – Coral rubbles percent cover was significantly higher in the impacted sites (ANOVA $p < 0.05$). The average percentage of living corals among fragments was significantly higher in the control vs. impacted sites (ANOVA $p < 0.05$). Moreover the relative quantity of living coral fragments appeared strongly dependent from depth (ANOVA $p < 0.01$) in both controls and impacts, SNK test pointed out a higher amount at 6 m compared to 12 and 18 m in depth. Coral rubbles fine fraction (0.1-0.5 cm) was more abundant in impacted sites (ANOVA $p < 0.05$), coarse fraction (4-8 cm) prevailed

at the controls (ANOVA $p < 0.05$), while intermediate fractions didn't show differences between controls and impacts. Coarse fraction also showed differences between sites within controls (ANOVA $p < 0.001$), which appeared more heterogeneous compared to the impacted sites. Data from epibenthic assemblages evidenced significant differences among study sites in relation to the anthropic presence (PERMANOVA: $p < 0.05$). In impacted sites diversity and erect organisms decreased while encrusting sponges and encrusting hard corals increase. These results are strongly independent from depth. Branching hard corals were more abundant in the control sites.

Conclusions – In coral reefs monitoring, the use of indicators as tools to evaluate the health state of the ecosystems or/and the effectiveness of strategies in achieving sustainability, are essential (Chabanet *et al.*, 2005). Such indicators have to be based on scientific, social and economic research. The most common proposed indicators are the hard coral percentage cover (de Vantier, 1986), the broken corals percentage (BC) (Jameson *et al.*, 1999), the Reef Quality Index (RQI) (Jameson, 1998) and the Coral Damage Index (CDI) (Jameson *et al.*, 1999). In this study we used coral rubbles cover (Jameson *et al.*, 1999; de Vantier and Turak, 2004) and grain size fractions as possible indicator of human physical impact. In the impacted sites the amount of coral rubbles and the fine fraction are higher in comparison with control, probably due to the physical disturbances that led to a major destruction and erosion rate of hard corals. Instead living coral fraction within coral rubbles could be related to recent physical damage. The epibenthic assemblages shift their features from control to impacted sites with a loss of three-dimensional structural complexity with increasing physical disturbances (Arosón and Swanson, 1997). In the studied area the impact seems mainly due to boats striking and anchoring, which destroy lagoon corals and cause continuous coral rubbles rain towards the slope. In this way, the impact is directly performed on the flat and reef edge but its effect is transported also along the reef wall, transferring the negative effect of anthropic activities in the deep.

References

- AROSÓN R.B., SWANSON D.W. (1997) - Evolutionary paleoecology of Caribbean reef coral. In: Allmon W.D. and Bottjer D.J. (eds), *Evolutionary paleoecology: the ecological context of macroevolutionary change*. Columbia University Press, New York: 171-233.
- BERG H., OHMAN M.C., TROENG S., LINDEN O. (1998) - Environmental economics of coral reef destruction in Sri Lanka. *Ambio*, **27**: 627-634.
- CHABANET P., ADJEROUD M., ANDREFOUET S., BOZEC Y.M., FERRARIS J., GARCIA-CHARTON J.A., SCHRIMM M. (2005) - Human-induced physical disturbances and their indicators on coral reef habitats: a multi-scale approach. *Aquat. Living Resour.*, **18**: 215-230.
- COSTANZA R., DARGE R., DEGROOT R., FARBER S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., ONEILL R.V., PARUELO J., RASKIN R.G., SUTTON P., VANDENBELT M. (1997) - The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, **387**: 253-260.
- DE VANTIER L.M. (1986) - Studies in the assessment of coral reef ecosystems. In: Brown B.E. (ed), *Human induced damage to coral reefs*. Unesco Rep. Marine Science: 99-111.
- DE VANTIER L., TURAK E. (2004) - *Managing marine tourism in Bunaken National Park and adjacent waters, North Sulawesi, Indonesia*. NRM III, Jakarta, Indonesia.
- JAMESON S.C. (1998) - Twelve reefs at risk: red Sea Riviera. In: Bryant D., Burke L., Mc Manus J., Spalding M. (eds), *Reefs at risk: a map based indicator of potential threats of the world's coral reefs*. World Resources Institute, Washington DC.
- JAMESON S.C., AMMAR M.S.A., SAADALLA E., MOSTAFA H.M., RIEGL B. (1999) - A coral damage index and its application to diving sites in the Egyptian Red Sea. *Coral Reefs*, **18**: 333-339.

R. D'ADAMO, L. ROSELLI, C. SANTAMARIA, A. FABBROCINI

Istituto di Scienze Marine (ISMAR) – CNR - Sede Lesina,
Via Pola, 4 – 71010 Lesina (FG), Italia.
raffaele.dadamo@fg.ismar.cnr.it

NUTRIENTI QUALI INDICATORI DELL'IMPATTO DI ATTIVITÀ DI MARICOLTURA SULL'AMBIENTE MARINO: STUDIO PRELIMINARE

NUTRIENT LEVELS AS INDICATORS OF MARICULTURE IMPACT ON THE MARINE ENVIRONMENT: PRELIMINARY STUDY

Abstract – The aim of this study was to evaluate the impact of coastal fish farms by monitoring the nutrient concentrations. High values at the cage stations provide evidence of the mariculture impact over the marine environment. The obtained results encourage the use of nutrient concentrations as a tool for the sustainable management of mariculture activities.

Key-words: mariculture, nutrients, southern Adriatic Sea, fish.

Introduzione – L'impatto della maricoltura si traduce in una serie di potenziali effetti sulla qualità delle acque (Katavič *et al.*, 1999), dei sedimenti (Sarà *et al.*, 2004) e sulle attività ricreative legate all'area costiera. L'arricchimento di nutrienti può provocare disturbo ambientale (Wu *et al.*, 1994) che, in alcuni casi, determina alterazioni dell'ecosistema. In questo lavoro sono presentate le concentrazioni dei nutrienti inorganici rilevate in un impianto di maricoltura sito lungo la costa meridionale del Gargano, e confrontate con quelle del Golfo di Manfredonia e delle Isole Tremiti.

Materiali e metodi – Nell'autunno 2007 per 30 giorni ogni 12 ore sono stati eseguiti campionamenti. L'impianto (48 gabbie) dista 1 km dalla costa. Sono state individuate 4 stazioni, sottocosta (stz 4), al centro (stz 2), e a 500 m ad ovest ed est (stz 3 e 1). I nutrienti (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , SRP, SRSi) sono stati analizzati con autoanalyzer QuAAtro Bran+Luebbe. L'ANOVA ad una via è stata utilizzata per valutare le differenze tra le stazioni. Le stazioni con alto impatto sono state confrontate con quelle del controllo, monitorate nello stesso periodo in altre attività di ricerca.

Risultati – Le concentrazioni medie in μM , (M) mattino e (S) sera, sono in Tab. 1. Le concentrazioni dell'azoto inorganico disciolto all'alba, presentavano differenza significativa tra le stazioni (NH_4^+ $p<0,001$; NO_2^- $p<0,0001$; NO_3^- $p<0,05$); stz 2 e 3 mostrano valori maggiori ($\text{M2}>\text{M3}>\text{M1}\sim\text{M4}$). SRP non ha presentato differenze significative. I silicati riscontrati nella stz 4 sono risultati alti ($p<0,0001$).

Tab. 1 - Concentrazioni medie dei nutrienti in μM ($\pm\text{DS}$) riscontrate nei siti di campionamento.
Mean concentration ($\pm\text{DS}$) of inorganic nutrients in the 4 sampling stations.

	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	SiO_2^-
M1	0,89 \pm 0,53	0,61 \pm 0,68	1,81 \pm 1,05	0,06 \pm 0,09	1,47 \pm 0,33
M2	1,62 \pm 0,64	1,86 \pm 1,10	3,02 \pm 1,88	0,05 \pm 0,04	1,11 \pm 0,21
M3	1,63 \pm 1,25	1,84 \pm 0,97	2,88 \pm 1,49	0,04 \pm 0,02	1,01 \pm 0,18
M4	0,94 \pm 0,42	0,35 \pm 0,10	1,88 \pm 1,06	0,03 \pm 0,02	1,49 \pm 0,38
S1	0,82 \pm 0,28	0,33 \pm 0,08	2,29 \pm 1,01	0,02 \pm 0,02	1,59 \pm 0,52
S2	1,42 \pm 0,79	2,28 \pm 0,95	3,28 \pm 1,66	0,04 \pm 0,02	1,11 \pm 0,20
S3	1,62 \pm 1,56	1,39 \pm 1,17	3,08 \pm 1,41	0,04 \pm 0,02	1,09 \pm 0,21
S4	0,99 \pm 0,35	0,33 \pm 0,0	2,09 \pm 1,04	0,03 \pm 0,02	1,78 \pm 0,35

Anche nei campionamenti serali, NH_4^+ ($p < 0,01$), NO_2^- ($p < 0,0001$) e NO_3^- ($p < 0,05$) mostrano concentrazioni più elevate nelle stazioni 3 e 2 ($\text{S}_3 > \text{S}_2 > \text{S}_1 \sim \text{S}_4$).

Dal confronto dei risultati, non si evidenziano differenze significative tra i due campionamenti.

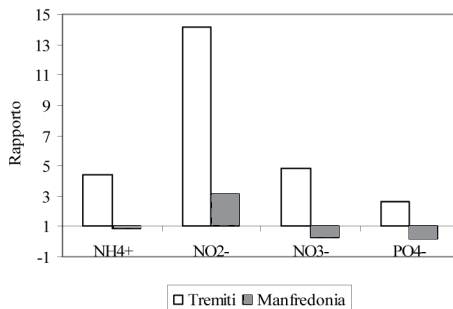


Fig. 1 - Rapporto tra le concentrazioni medie dei nutrienti disciolti riscontrati nelle stazioni 2 e 3 e quelle di controllo: Isole Tremiti e Golfo di Manfredonia.

Ratio between inorganic dissolved nutrients concentration at the 2 and 3 stations and in control stations (Tremiti Islands and Gulf of Manfredonia).

Le concentrazioni dei nutrienti del golfo di Manfredonia sono state: NH_4^+ $1,91 \pm 2,28$; NO_2^- $0,59 \pm 0,74$; NO_3^- $11,47 \pm 8,98$; SRP $0,27 \pm 0,03$ mentre quelle riscontrate nell'AMP "Isole Tremiti" sono state: NH_4^+ $0,37 \pm 0,01$; NO_2^- $0,13 \pm 0,09$; NO_3^- $0,62 \pm 0,43$; SRP $0,02 \pm 0,01$. Il rapporto tra la media delle concentrazioni dei nutrienti riscontrati nelle stazioni 2 e 3 e quelle delle Tremiti e Manfredonia è stato 4,40 e 0,85 per NH_4^+ , 14,15 e 3,12 per NO_2^- , 4,83 e 0,26 per NO_3^- , e, 2,61 e 0,17 per SRP. Nella Fig. 1, si evidenzia che le concentrazioni riscontrate sono da 3 a 5 volte maggiori di quelle di un' AMP e solo i nitriti sono risultati 3 volte maggiori rispetto ai livelli del golfo di Manfredonia.

Conclusioni - La maricoltura fa aumentare il carico di nutrienti nell'area; le concentrazioni più elevate riscontrate nella stazione al centro e in quella ad Ovest potrebbero indicare un possibile effetto di diluizione dovuto alla circolazione superficiale principalmente indotta dal vento (Artegianni *et al.*, 1998). L'area risulta essere a moderato impatto e si colloca in una posizione intermedia rispetto alle due aree di confronto, una soggetta ad elevata attività antropica e l'altra scarsamente impattata. Questi risultati incoraggiano l'utilizzo del monitoraggio dei nutrienti quale strumento per la tutela ambientale e la gestione sostenibile della maricoltura.

Bibliografia

- ARTERGIANNI A., BREGANT D., PASCHINI E., PINARDI N., RAICICH F., RUSSO A. (1998) – The Adriatic Sea General Circulation. Part II: Baroclinic Circulation Structure. *Journal of Physical Oceanography*, **27**: 1515-1532.
- KATAVIC' I., ANTOLIC' B. (1999) – On the impact of a sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) cage farm on water quality and macrobenthic communities. *Acta Adriatica*, **40** (2): 19-32.
- SARÀ G., SCILIPOTI D., MAZZOLA A., MODICA A. (2004) – Effect of fish farming waste to sedimentary and particulate organic matter in a southern Mediterranean area (Gulf of Castellammare, Sicily): a multiple stable isotope study ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). *Aquaculture*, **234**: 199-213.
- WU R.S.S., LAM K.S., MACKAY D.W., LAU T.C., YAM V. (1994) – Impact of marine fish farming on water quality and bottom sediment: a case of study in the sub-tropical environment. *Marine Environmental Research*, **38**: 115-145.

A.M. DE BIASI, L. PACCIARDI

Centro interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata 'G. Bacci',
Viale N. Sauro, 4 – 57128 Livorno, Italia.
a.debiasi@cibm.it

MONITORAGGIO DEGLI EFFETTI DELLA VASCA DI COLMATA DEL PORTO DI LIVORNO SULLE COMUNITÀ BENTONICHE

ENVIRONMENTAL MONITORING OF THE EFFECTS OF A CDF (CONFINED DISPOSAL FACILITIES) ON THE SURROUNDING MACROFAUNA ASSEMBLAGES

Abstract – *The effects on the macrobenthic fauna of a confined disposal facilities (CDF) were investigated from 2001 to 2004 in the proximity of Livorno harbour. Signs of impact were detected in the macrobenthic assemblage neighbouring the CDF. However the numerous sources of impact present in the area prevent us from attributing them unambiguously to the disposal facility.*

Key-words: *macrobenthos, confined disposal facilities, environmental impact, multiple-controls, Ligurian Sea.*

Introduzione – Come noto i popolamenti bentonici sono un valido strumento nei programmi di monitoraggio finalizzati alla valutazione delle alterazioni dell'ambiente marino derivanti dall'attività antropica (Hartley, 1982). Quantificare gli effetti di tali attività richiede l'uso di disegni di campionamento ad hoc che tengano conto della naturale variabilità dei popolamenti e che consentano di distinguerla dai cambiamenti indotti dall'uomo. In particolare comparare due aree, una potenzialmente impattata ed una di controllo impedisce di attribuire univocamente l'impatto all'attività antropica distinguendola dalla variabilità naturale della zona (pseudoreplicazione). Tale limite può essere superato adottando più controlli (Underwood, 1994), concetto che attualmente viene tenuto in scarsa considerazione negli studi applicativi. In questo lavoro, si riporta un esempio di tale approccio, usato al fine di valutare le alterazioni indotte dallo sversamento di sedimenti all'interno della vasca di contenimento costruita a nord del porto di Livorno, sul popolamento bentonico.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati effettuati nel maggio 2001 (prima che la vasca entrasse in funzione) e nei tre anni successivi. Dal 2002 al 2004 le indagini sono state svolte nei mesi di luglio ed agosto. Sono state scelte tre aree di indagine alla profondità di 7 metri: due controlli, uno antistante la foce dello Scolmatore (a nord della vasca) ed uno antistante la diga Curvilinea del porto di Livorno (a sud della vasca), ed un'area di impatto, adiacente alla vasca di colmata. All'interno di ogni area sono stati scelti su base random due siti, e per ognuno sono state effettuate tre repliche. I campioni raccolti tramite benna Van-Veen (0,18 m²) sono stati setacciati ad 1 mm, fissati in aldeide formica all'8% e classificati in laboratorio fino al livello di specie. La matrice specie-stazioni è stata elaborata tramite non-MetricMultidimensional Scaling dopo aver trasformato i dati secondo la doppia radice quadrata. La matrice di similarità è stata ottenuta attraverso l'indice di Bray-Curtis. I contributi percentuali delle singole specie alla dissimilarità tra raggruppamenti identificati nel piano di ordinamento sono stati determinati tramite la procedura Simper. Per ciascuna specie sono state ricercate in letteratura le preferenze ecologiche e/o le biocenosi di appartenenza.

Risultati e conclusioni – Sono stati classificati 16300 individui appartenenti a 225 specie o taxa. L'analisi multivariata rivela che nel 2002 non ci sono sostanziali cambiamenti rispetto alla fase che precede la messa in funzione della vasca. Nel 2002, infatti,

gli sversamenti sono stati modesti (100.000 m³). Le variazioni significative iniziano dal 2003, con l'aumento delle attività di sversamento. In questo anno la dissimilarità tra l'area antistante la vasca ed il controllo a nord cala bruscamente. Tuttavia, i cambiamenti sono avvenuti più nel controllo antistante le dighe Curvilinea (a sud) che nell'area antistante la vasca. Infatti le variazioni nella dissimilarità tra l'area adiacente alla vasca ed il controllo a nord sono più modeste rispetto a quelle tra i due controlli. Parimenti i cambiamenti spaziali e temporali delle specie dominanti non sono interpretabili unicamente come conseguenza della vasca di colmata. Ad esempio, *Owenia fusiformis*, tipico rappresentante delle Sabbie Fini Ben Calibrate, tende a diminuire nel tempo fino a scomparire in tutte le aree, similmente al polichete *Paradoneis armata*. Al contrario le abbondanze di specie come *Glycera tridactyla* o *Nothria conchylega* mostrano un andamento contrario, ma anch'esso comune a tutte le aree. Alcune variazioni nel quadro bionomico, tuttavia, sono probabilmente relazionabili alla presenza della vasca di colmata. In particolare nell'area antistante la struttura si verifica una riduzione della biocenosi delle Sabbie Fini Ben Calibrate (SFBC) a vantaggio di indicatori di Materia Organica (MO). La denaturazione della Biocenosi delle Sabbie Fini Ben classate a vantaggio di elementi con maggiore affinità per i substrati limosi è un indice di infangamento come la massiccia comparsa di *Capitella capitata* e l'incremento di policheti Spionidi osservati nel luglio 2004 unicamente nell'area intorno alla vasca. Va comunque sottolineato che un processo di denaturazione della SFBC nonché l'incremento di indicatori è stato osservato anche nel controllo a nord, nell'ultimo campionamento (agosto 2004). L'aver utilizzato un secondo controllo consente di affermare che i cambiamenti osservati nell'area limitrofa alla vasca non sono attribuibili unicamente alla vasca stessa, ma possono risentire anche di variazioni più ampie che interessano il litorale. Infatti, la zona investigata, è sottoposta a molteplici sorgenti di impatto come il porto industriale, il canale Scolmatore ed il fiume Arno, condizione che comporta il sovrapporsi di effetti di diversa origine che creano una situazione ambientale estremamente complessa.

Occorre tuttavia sottolineare che l'area prospiciente la vasca di colmata è sottoposta ad un impatto cronico conseguente alla permanenza della vasca stessa e pertanto non si può escludere che gli effetti minimi attualmente osservati non possano nel tempo comportare modificazioni più eclatanti. Questo significa che ad una fase cosiddetta di "inerzia", in cui l'ambiente tende a conservare il proprio stato, può seguire una fase di modifiche. E' in questa ottica che si rendono necessari gli studi a lungo termine, i soli che consentano di evidenziare gli effetti degli impatti cronici in maniera esaustiva.

Ringraziamenti - Si ringrazia l'Autorità Portuale di Livorno ed in particolare l'Ing. G. Motta per aver concesso la pubblicazione dei dati.

Bibliografia

- HARTLEY J.P. (1982) - Methods for monitoring offshore macrobenthos. *Mar. Poll. Bull.*, **13**: 150-154.
UNDERWOOD A.J. (1994) - On beyond BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. *Ecol. Appl.*, **4** (1): 3-15.

F. DEL PRETE^{1,2}, F. D'ASCOLI², P. MASULLO^{1,2}, V. VITIELLO^{1,2}, G. SANSONE^{1,2}

Università degli Studi di Napoli "Federico II"

¹CRIAcq (centro interdipartimentale di ricerche per la gestione delle risorse idrobiologiche e per l'acquacoltura),
Via Università, 100 – 80055 Portici (NA), Italia.

²Dip. delle Scienze Biologiche, Sez. di Fisiologia ed Igiene, Via Mezzocannone, 16 – 80134 Napoli, Italia.
fdelprete78@libero.it

EFFETTI DI SOSTANZE XENOBIOTICHE (PESTICIDI) SINGOLE ED IN MISCELA SULLA SOPRAVVIVENZA DI EMBRIONI DI *SPARUS AURATA*

EFFECT OF SINGLE AND MIXED XENOBIOTIC SUBSTANCES (PESTICIDES) ON SPARUS AURATA EMBRYOS

Abstract - The aim of this study was to evaluate the effects of exposure to pesticides on seabream embryos. Therefore seabream embryos at early developed stage (24 hours post fertilization) were acutely exposed (48 hours) to azinphos-metyl, chlorpyrifos and pentachlorophenol. Results shown the significative effect at low pesticide concentrations. Mixture of three pesticides at NOEL concentration did not shown significative difference vs control.

Key-words: pesticides, fish embryos, acute exposition, Sparus aurata, ecotoxicological tests.

Introduzione - Fra gli organismi marini, alcune specie ittiche eurialine sono state prese in considerazione per un loro possibile utilizzo nei saggi di tossicità a breve e lungo termine (U.S. Environmental Protection Agency, 1993; Klemm, 1994). Tra i contaminanti degli ecosistemi costieri i pesticidi sono considerati tossici in quanto mediante il dilavamento dei suoli possono raggiungere gli ambienti acquatici, ed entrare in contatto con gli organismi in esso viventi. Possono attraversare le membrane biologiche, grazie alla loro elevata liposolubilità, ed accumularsi negli organismi causando danni morfologici e funzionali. La maggior parte dei lavori sperimentali ha valutato gli effetti di elevate concentrazioni dei singoli contaminanti, mentre sono pochi gli studi effettuati a concentrazioni definite "ambientali", anche in miscela, per evidenziare eventuali interazioni tra più sostanze che singolarmente avrebbero effetto scarso o nullo. Lo scopo del lavoro è stato la valutazione della tossicità, identificando i valori NOEL (No Observed Effect Level), LOEL (Low Observed Effect Level) ed LD₅₀ (Lethal Dose₅₀), di Azinfos metile, Clorpirifos e Pentaclorofenolo sia singoli che in miscela, su embrioni di orata.

Materiali e metodi - Embrioni di *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) ad un precoce stadio di sviluppo (24 ore post fecondazione) sono stati esposti per 48 ore (esposizione acuta) a concentrazioni crescenti dei pesticidi utilizzati ed alla loro miscela costituita dalla sommatoria delle concentrazioni dei valori NOEL. Le condizioni sperimentali adottate per l'esposizione sono state: salinità 36-38‰, pH 7,5-8,5, ossigeno disciolto 6-8 ppm, densità 250 embrioni/l. Poiché alcuni dei pesticidi utilizzati hanno scarsa solubilità in acqua come loro solvente è stato utilizzato il metanolo. Ciò ha indotto la costituzione di due gruppi di controllo: uno esposto alla sola acqua di mare artificiale (ASTM) e l'altro alla massima concentrazione di metanolo utilizzata, per solubilizzare i pesticidi, nelle soluzioni test (10 µg/ml). La percentuale di sopravvivenza è stata valutata al termine dell'esposizione (48 h) ed a 96 ore. Gli embrioni non sopravvissuti durante il periodo di sviluppo venivano rimossi. Ogni singola esposizione è stata effettuata in triplicato per un minimo di 3 volte (n≥9). I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante il test *T-Student*, accettando come significativi valori di probabilità (p)<0.02 e valori di probabilità (p) compresi tra 0.02 e 0.05 sono stati considerati al limite della significatività.

Risultati - I due gruppi di controllo non hanno mai mostrato differenze significative, pertanto, nelle comparazioni statistiche i due gruppi sono stati mediati.

I valori NOEL, LOEL e di LD₅₀ rinvenuti sono riportati in Tab. 1.

Tab. 1 - Valori Noel, Loel ed LD₅₀ determinati in embrioni di *S. aurata* dopo esposizione ai pesticidi.
Noel, Loel and LD₅₀ on Sparus aurata embryos after exposure at pesticides.

PESTICIDI	NOEL (µg/l)	LOEL (µg/l)	LD ₅₀ (µg/l)
Azinfos-metile	0.015	0.15	1
Clorpirifos	0.122	0.25	3
Pentaclorofenolo	0.03	0.067	7.5
Mix = Σ valori NOEL	0.167		

Dai risultati ottenuti si evince che il sistema biologico studiato, alle nostre condizioni sperimentali, presenta una buona sensibilità ai tre diversi pesticidi. I pesticidi utilizzati mostrano la seguente scala di tossicità secondo i valori di LD₅₀: Pentaclorofenolo < Clorpirifos < Azinfos metile; scala che non viene confermata se vengono considerati i valori NOEL: Azinfos metile = Clorpirifos < Pentaclorofenolo. Approfondimenti istologici ed apoptotici, sembrano confermare questa seconda scala di tossicità.

Nella valutazione degli effetti della miscela (Fig. 1), non si evincono differenze significative rispetto ai singoli valori NOEL, escludendo quindi qualsiasi interazione additiva e/o sinergica tra i tre pesticidi presi in considerazione.

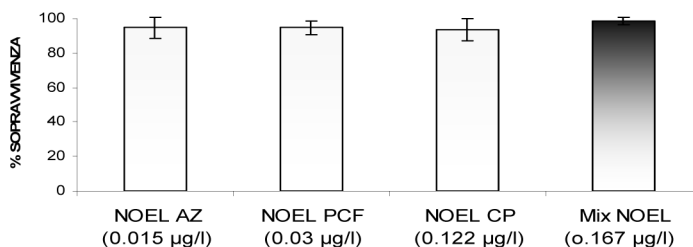


Fig. 1 - Confronto tra valori NOEL dei pesticidi singoli ed in miscela.
Comparison between NOEL values of single and in mixture.

Conclusioni - Dallo studio da noi condotto sull'effetto dei pesticidi sugli embrioni di *Sparus aurata*, si evidenzia come, anche a basse concentrazioni (µg/l) degli xenobiotici considerati, si sono avuti effetti significativi in termini di variazioni di % di sopravvivenza. Ciò permette di proporre, in considerazione della buona sensibilità dimostrata, tale sistema biologico per un utilizzo esteso nei test ecotossicologici.

Bibliografia

- KLEMM D.J., MORRISON G.E., NORBERG-RING J.J., PELTIER W.H., HEBER M.A. (1994) - Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. EPA-600/4-91/003, *Environmental Protection Agency*, Cincinnati, Ohio.
- U.S. Environmental Protection Agency (1993) - Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA/600/4-90/027F, *Environmental Protection Agency*, Cincinnati, Ohio: 71-91.

F. FAVA, M. PONTI, M. ABBIATI

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali (C.I.R.S.A.), Università di Bologna
Via S. Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.
massimo.ponti@unibo.it

POSSIBLE EFFECTS OF DIFFERENT PROTECTION LEVELS ON THE EPIBENTHIC ASSEMBLAGES: THE TEGNÙE OF CHIOGGIA

POSSIBILI EFFETTI DI DIFFERENTI LIVELLI DI PROTEZIONE SUI POPOLAMENTI EPIBENTONICI: LE TEGNÙE DI CHIOGGIA

Abstract – The effects of 3 protection levels (no fishing, no fishing+no dive, no protection) on the epibenthic assemblages of the northern Adriatic outcrops were investigated for 4 years after the establishment of a no-take zone. Any effects were detected. That could be due to the short time elapsed, the low effectiveness of fishing protection, and to the mooring systems which prevent anchoring damages.

Key-words: outcrops, protection, sessile species, marine parks, northern Adriatic Sea.

Introduction – Marine protected areas (MPA) and no-take zones (NTZ) are considered the main tool for achieving marine resources conservation and protection (Frascchetti *et al.*, 2002), a nature-base tourism and a sustainable management of fishery (Halpern and Warner, 2002). The aim of the study is to evaluate the possible effects of different protection levels on the epibenthic assemblages living on the subtidal rocky outcrops in the northern Adriatic Sea, locally known as “Tegnùe”, inside and outside a NTZ.

Materials and methods – Tegnùe are coralligenous subtidal rocky outcrops that occur in northern Adriatic Sea bed between 10 and 40 m in depth, which range in size from few to several hundreds square meters and from 1 to 4 m in height (Gabriele *et al.*, 1999). A NTZ, permanently closed to fishing in order to protect fish stocks and natural habitats, was established offshore of Chioggia in 2002 including the most extended outcrops. Inside the NTZ mooring buoys were placed close to some outcrops to facilitate diving tourism. Since within the NTZ dives are allowed only close to the buoys, the tegnùe can be divided into 3 possible protection levels: close to fishing and dive (NFND), close to fishing but dive facilitated (NF), and outside the NTZ where there are no protection or dive facilities (NP). Four study sites were randomly chosen for each protection level. Epibenthic assemblages were annually investigated in each site in August from 2003 to 2006 using photographic sampling (Meese and Tomich, 1992). Differences in assemblage structure and species distribution between protection levels (Pr, fixed), time (Ti, fixed) and sites (Si, random, nested in Pr) were analysed by PERMANOVA and ANOVA (Anderson, 2001).

Results – Outcrops appeared mainly colonised by red encrusting algae, predominantly *Lithophyllum stictaeforme*, *Lithothamnion minervae* and *Peyssonnelia polymorpha*. On outcrops near the coast, algal turfs were particularly abundant. Invertebrate species mainly included filter feeders. The most abundant species were the sponges *Dictyonella incisa*, *Antho inconstans*, *Cliona viridis* and *Tedania anhelans*, the zoantharian *Epizoanthus* spp., and the ascidians *Polycitor adriaticus*.

The analyses of the epibenthic assemblages didn't show significant differences between the three levels of protection during the four study years (PERMANOVA PrXTi $p > 0.05$) considering both sessile and vagile organisms, the first evaluated as percentage of covering and second as number of individuals. On the contraries, dif-

ferences in the epibenthic assemblages structure have been found among sites within each protection year by year (PERMANOVA TiXSi(Pr) $p < 0.01$), highlighting a high heterogeneity of the assemblages.

Several epibenthic taxa (e.g. algal turf, *Lithophyllum stictaeforme*, *Epizoanthus* spp., *Gastrochaena dubia*) showed different abundance in the interaction between time and sites (ANOVA TiXSi(Pr) $p < 0.01$). Some other species differed among sites but appeared steady in time (e.g. *Lithothamnion minervae*, *Dysidea avara*, *Cereus pedunculatus*, *Polycitor adriaticus*; ANOVA TiXSi(Pr) $p > 0.05$, Si(Pr) $p < 0.01$, Ti $p > 0.05$). None of the analysed taxa showed differences with the interaction between protection and time or between the different levels of protection. Even species richness (S) and diversity (H') changed in space and time (ANOVA TiXSi(Pr) $p < 0.01$) but not in the interaction between protection and time.

Conclusions – The reduction of fishing efforts should mainly increase the size and abundance of fishes (Gell and Roberts, 2003) but can also limit the damage on the epibenthic assemblages due to trawling methods. Instead the increasing diving tourism can directly affect the epibenthic species, especially fragile and erected organisms (Sala *et al.*, 1996).

Epibenthic assemblages living on the northern Adriatic subtidal outcrops showed high variability both in space and in time. The distribution patterns of the assemblages appeared correlated to the geographical location, distance from the shore, depth and size of the outcrops (Ponti *et al.*, 2006).

In the first four years following the establishment of the NTZ any clear effects of the protection were detected on these assemblages. The high natural heterogeneity of these assemblages could mask the positive effects of no fishing or the negative ones due to the increasing diving tourism. The lack of detectable effects could be also due to the short time elapsed since the establishment of the NTZ, where the control over the fishing activities was not yet very strict. Moreover, the mooring systems, adopted here, prevent anchoring damages, which could be relevant in diver sites.

References

- ANDERSON M.J. (2001) - A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.*, **26**: 32-46.
- FRASCHETTI S., TERLIZZI A., MICHELI F., BENEDETTI-CECCHI L., BOERO F. (2002) - Marine protected areas in the Mediterranean Sea: objectives, effectiveness and monitoring. *Mar. Ecol. - P. S. Z. N. I.*, **23**: 190-200.
- GABRIELE M., BELLOT A., GALLOTTI D., BRUNETTI R. (1999) - Sublittoral hard substrate communities of the northern Adriatic Sea. *Cah. Biol. Mar.*, **40**: 65-76.
- GELL F.R., ROBERTS C.M. (2003) - Benefits beyond boundaries: the fishery effects of marine reserves. *Trends Ecol. Evol.*, **18**: 448-455.
- HALPERN B.S., WARNER R.R. (2002) - Marine reserves have rapid and lasting effects. *Ecol. Lett.*, **5**: 361-366.
- MEESE R.J., TOMICH P.A. (1992) - Dots on the rocks: a comparison of percent cover estimation methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **165**: 59-73.
- PONTI M., TUMEDEI M., COLOSIO F., ABBIATI M. (2006) - Distribuzione dei popolamenti epibentonici sui fondali rocciosi (Tegrùe) al largo di Chioggia (Venezia). *Biol. Mar. Medit.*, **13**: 625-628.
- SALA E., GARRABOU J., ZABALA M. (1996) - Effects of diver frequentation on Mediterranean sublittoral populations of the bryozoan *Pentapora fascialis*. *Mar. Biol.*, **126**: 451-459.

J. FOSCHI, M. MONARI, M.G. MARIN*, P. CORTESI, G.P. SERRAZANETTI

Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Università di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
jurgen.foschi@unibo.it

*Dip. di Biologia, Università di Padova, Via Ugo Bassi, 58/B - 35131 Padova, Italia.

HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN *CHAMELEA GALLINA* ESPOSTA A DIFFERENTI STRESS FISICI E CHIMICI

HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN CHAMELEA GALLINA *EXPOSED TO DIFFERENT PHYSICAL AND CHEMICAL STRESSES*

Abstract – Environmental stresses are responsible of HSPs induction, that guarantee tolerance of otherwise lethal conditions. This study was performed to evaluate HSP70 expression in *Chamelea gallina* (*Bivalvia*) digestive gland in response to oxygen, temperature, salinity changes and B[a]P exposure. The results obtained confirm general induction of HSP70 in all the stress conditions tested.

Key-words: B[a]P, *Chamelea gallina*, digestive gland, HSP70, environmental stresses.

Introduzione - I composti organici sono responsabili dell'induzione delle Heat Shock Protein (HSP) (Snyder *et al.*, 2001). Tali proteine fungono da chaperonine molecolari essenziali nella stabilizzazione di alcuni recettori intracellulari, fondamentali per il corretto folding di proteine chiave. Alcuni sottogruppi delle HSP hanno un importante ruolo nei processi immunologici (Snyder *et al.*, 2001) e in condizioni di stress riparano o proteggono le proteine nucleari inibendone l'aggregazione. La sintesi delle HSP è influenzata da un'ampia gamma di stress fisici (anossia, variazione di temperatura, stress ossidativo, ect.) e chimici (policlorobifenili (PCB), metalli pesanti, etc.) (Pruski e Dixon, 2007). Al fine di valutare l'induzione delle HSP70 (isoforma di 70 kDa), esemplari di *Chamelea gallina* sono stati esposti a benzo[a]pyrene (B[a]P), ad anossia, cambiamenti di temperatura e salinità, analizzandone l'espressione a livello della ghiandola digestiva, organo coinvolto fra l'altro nei processi di disintossicazione da xenobiotici e nei meccanismi antiossidanti.

Materiali e metodi - Un primo gruppo di animali (3 pool di 20 esemplari per ogni condizione) è stato posto per 48 ore in anossia seguite da 24 ore di riossigenazione (controllo in condizioni normossiche); un secondo per 7 giorni a temperature di 20 (controllo), 25 e 30 °C; un terzo per 7 giorni a salinità di 28, 34 (controllo) e 40‰; un quarto per 24 ore, 7 e 12 giorni a 0,5 mg/L di B[a]P disciolto in 120 µg/L di acetone (ACE); il controllo era rappresentato sia dalla presenza che dall'assenza di ACE.

Al termine di ogni periodo di esposizione sono stati prelevati campioni di ghiandola digestiva. L'espressione delle HSP70 è stata rilevata attraverso tecniche di immunoblotting dopo elettroforesi SDS PAGE. I valori di espressione sono stati quantificati attraverso il Software Quantity One (BioRad).

Risultati - Una unica banda di 70 kDa è stata identificata impiegando un anticorpo primario policlonale sviluppato contro HSP70 in esseri umani. La proteina risulta più espressa durante la fase di anossia e successiva riossigenazione rispetto alla condizione normossica ($p < 0,05$); l'espressione aumenta progressivamente nei campioni esposti a 30 °C se confrontati con quelli a 20 °C, mentre l'effetto della salinità è evidente con un aumento delle HSP a 28 e a 40‰ rispetto a 34‰. Dopo esposizione a B[a]P la proteina risulta più espressa rispetto al controllo (con e senza ACE) aumentando progressivamente dalle 24 h ai 7 gg ($p < 0,05$) con valori costanti dopo 12 gg. La sovraespressione delle HSP70 è associata ad una generale condizione di stress

ossidativo legato ad esempio a disordini connessi alla temperatura o ad altri eventi in grado di danneggiare le proteine (Ciocca e Calderwood, 2005). Relativamente alla risposta osservata a diverse temperature, l'aumento dell'espressione è legato alla necessità di proteggere proteine chiave sensibili a variazioni termiche, a vari livelli nei processi cellulari (Hamdoun *et al.*, 2003). Durante episodi di modificazioni della temperatura le proteine cellulari sono sottoposte a svolgimenti sincroni causati dagli effetti del calore con conseguente aggregazione proteica e danni cellulari (Clader Wood Pecker *et al.*, 2006) contrastati grazie all'induzione delle HSP70, in grado di legarsi alle proteine denaturate (Hut *et al.*, 2005). In aggiunta alla temperatura, recenti studi evidenziano un ruolo importante della salinità sulla regolazione di alcuni gruppi di HSP, tra cui le HSP40 e HSP70 (Lyons *et al.*, 2003). Le maggiori risposte a shock acuti, sia fisici che chimici, determinano negli organismi cambiamenti a livello genico a carico delle HSP (Snyder *et al.*, 2001). Nello specifico i membri delle famiglie HSP70 e HSP90 agiscono come chaperonine molecolari, coinvolte nella stabilizzazione di differenti recettori intracellulari, fra i quali i recettori per gli aril idrocarburi (AHR), direttamente responsabili della regolazione dell'espressione di alcune isoforme del citocromo P450 (CYP, principalmente CYP1A), di enzimi e di trasportatori coinvolti nella risposta agli xenobiotici ambientali (Hahn, 2002).

Conclusioni – Si è osservato un aumento dell'espressione in condizioni anossiche, ad alte temperature e a valori estremi di salinità. Tali risultati suggeriscono che l'induzione delle HSP70 può essere considerata un meccanismo di adattamento associato a cambiamenti stagionali dei parametri ambientali e alla presenza di xenobiotici (Lyons *et al.*, 2003). Dal momento che un complesso network di sistemi biochimici è coinvolto in condizioni di stress con l'induzione delle HSP70, sono necessarie ulteriori ricerche volte a chiarirne maggiormente i meccanismi.

Bibliografia

- CIOCCA D.R., CALDERWOOD S.K. (2005) – Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment applications. *Cell Stress Chaperon.*, **10** (2): 86-103.
- HAHN M.E. (2002) - Aryl hydrocarbon receptors: diversity and evolution. *Chem-Biol Inter.*, **141**: 131-160.
- HAMDOUN A., CHENEY D.P., CHERR G.N. (2003) - Phenotypic plasticity of HSP70 and HSP70 gene expression in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): implications for thermal limits and induction of thermal tolerance. *Biol. Bull.*, **205**: 160-169.
- HUT H.M., KAMPINGA H.H., SIBON O.C.M. (2005) – Hsp70 protects mitotic cell against heat-induced centrosome damage and division abnormalities. *Mol. Bio. Cell.*, **16**: 3776-3785.
- LYONS C., DOWLING V., TEDENGREN M., GARDESTRÖM J., HARTL M.G.J., O'BRIEN N., VAN PELT F.N.A.M., O'HALLORAN J., SHEEHAN D. (2003) – Variability of heat shock proteins and glutathione S-transferase in gill and digestive gland of blue mussel, *Mytilus edulis*. *Mar. Environ. Res.*, **56**: 585-597.
- PRUSKI A.M., DIXON D.R. (2007) – Heat shock protein expression pattern (HSP70) in the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Mar. Environ. Res.*, **64**: 209-224.
- SNYDER M.J., GIRVETZ E., MULDER E.P. (2001). - Induction of marine mollusc stress proteins by chemical or physical stress. *Arch. Environ. Con. Tox.*, **41**: 22-29.

La ricerca è stata eseguita con il contributo della Fondazione della Cassa di Risparmio di Cesena e con fondi ex 60% del prof. Gian Paolo Serrazanetti.

A.L. LANGELLOTTI^{1,2}, A. BAGNOLI¹, R. D'ADAMO¹, F. DEL PRETE², A. FABBROCINI¹,
P. MASULLO², G. SORRENTI¹, V. VITIELLO^{1,2}, G. SANSONE²

¹CNR Istituto di Scienze Marine – Sede di Lesina, Via Pola, 4 - 71010 Lesina (FG), Italia.

²Dip. Scienze Biologiche & CRIAcq - Università "Federico II", Napoli, Italia.
langello@unina.it

STUDIO PRELIMINARE DI UTILIZZO DI SEME CRIOPRESERVATO DI *SPARUS AURATA* (LINNEO, 1758) IN SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

PRELIMINARY STUDY OF SPARUS AURATA CRYOPRESERVED SPERM USE IN ECOTOXICOLOGICAL ASSAYS

Abstract – Feasibility to use cryopreserved *Sparus aurata* sperm, in ecotoxicological tests was evaluated. The reference toxicant was Cadmium, and evaluation parameters considered were spermatozoa motility at activation and after 5 min. The EC50 level ranged from 42,1 to 4,1 ppm in relation to different incubation times (30 min – 1 h – 2 h) and time from activation considered.

Key-words: sperm, cryopreservation, ecotoxicology, *Sparus aurata*, cadmium.

Introduzione - Gameti ed embrioni di organismi acquatici rappresentano uno stadio vitale fondamentale al livello del quale effettuare saggi ecotossicologici, grazie alla loro elevata sensibilità ed alla relativa semplicità di effettuazione dei tests.

Il presente lavoro si inquadra nell'ambito di una ricerca il cui obiettivo è la messa a punto di protocolli per la conduzione di saggi ecotossicologici su sistemi biologici criopreservati, la cui disponibilità è indipendente dalla stagione riproduttiva. Quale sistema biologico test è stato utilizzato seme criopreservato di *S. aurata*, specie comunemente allevata, il cui seme si presta a semplici ed efficaci metodiche per la criopreservazione (Fabbrocini *et al.*, 2000).

Materiali e metodi - Il seme prelevato per spremitura addominale da animali di allevamento è stato criopreservato come descritto in Fabbrocini *et al.*, 2000.

Il seme scongelato, da un pool di seme criopreservato di 3 animali, era diluito 1:6 in soluzioni di NaCl 1% (inibitore della motilità) ed incubato con CdCl₂ alle concentrazioni finali di Cd comprese tra 0 (Controllo) e 100 ppm a +4 °C per 30 min, 1 h e 2 h.

Al termine di ciascun tempo di incubazione il seme veniva attivato mediante diluizione finale 1:100 con acqua di mare filtrata (36‰, pH 8,02, 18 °C). Quali parametri di valutazione sono stati considerati la motilità all'attivazione (t_0) e dopo 5 min da tre operatori addestrati indipendenti su una scala di classi da 0 a 5 in base alla percentuale di spermatozoi mobili. I dati espressi sono la media di quattro esperimenti, ciascuno condotto in triplicato. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando per le EC50 il test Trimmed Spearman-Kärber e per il calcolo dei primi effetti significativi rispetto al controllo il test One-Way Anova con Post Test di Dunnett.

Risultati – Nella Fig. 1 gli asterischi indicano il primo effetto significativo sulla motilità degli spermatozoi dopo incubazione in Cd rispetto al controllo ($p < 0,01$).

Gli intervalli di confidenza al 95% delle EC50 riscontrati dopo 30 min, 1 h e 2 h di incubazione in cadmio sono rappresentati in Tab. 1.

Confrontando le EC50 a t_0 , differenze significative si osservano solo tra 1 e 2 ore di incubazione mentre per il parametro di motilità a 5 min l'incubazione causa una diminuzione progressiva della EC50 a tutti i tempi di incubazione. L'EC50 del parametro motilità 5 min dall'attivazione risulta significativamente minore di quella a t_0 a

30 min e 1 ora. L'EC50 a 5 min non presenta differenza rispetto all'EC50 all'attivazione t_0 per l'incubazione a 2 ore, comunque a questo tempo di incubazione gli spz risultano maggiormente sensibili al tossico.

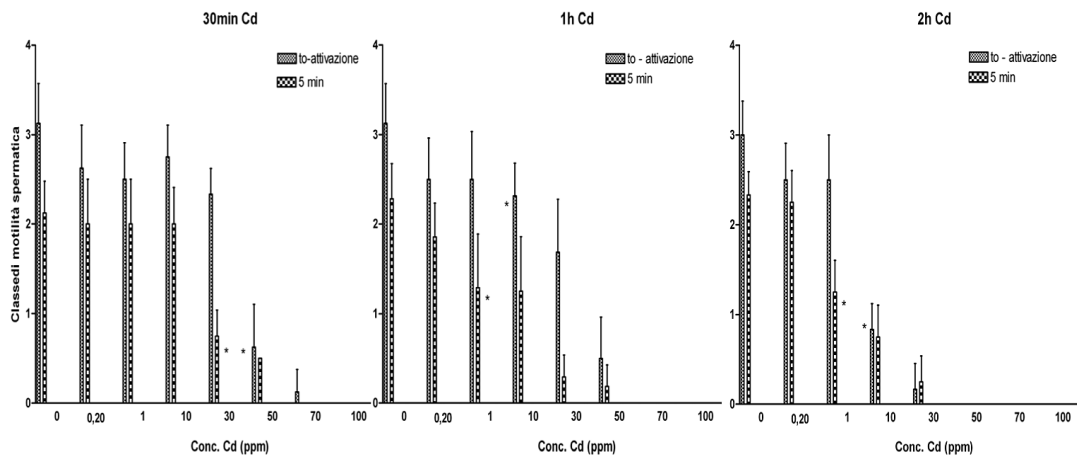


Fig. 1 - Effetti dell'incubazione a 30', 1 h e 2 h in Cadmio sulla motilità spermatica.
Effect of Cadmium incubation at 30', 1 h and 2 h on sperm motility.

Tab. 1 - Valori di EC50 all'attivazione (t_0) e dopo 5'.
EC50 values at activation time (t_0) and after 5'.

	EC50 (pm)	
	t_0 (attiv.)	5 min
30 min.	36.9 - 47.3	20.5 - 34.2
1 h	32.1 - 40.4	10.5 - 26.3
2 h	4.6 - 11.11	0.1 - 8.1

Conclusioni – I livelli di EC50 riscontrati all'attivazione dopo 30-60 min di incubazione in $CdCl_2$ sono simili a quelli riscontrati sul seme fresco di pesce gatto *C. gariepinus* (Kime *et al.*, 1996). Il significativo effetto riscontrato per entrambi i parametri di motilità alla concentrazione di 1 ppm Cd dopo 1 e 2 ore di incubazione, evidenzia una buona sensibilità degli spermatozoi criopreservati al tossico di riferimento. Pertanto con il sistema biologico sperimentato come bioindicatore di contaminazione chimica degli ecosistemi acquatici, viene offerta una reale possibilità di un test ecotossicologico, non limitato dalla reperibilità di materiale biologico, pratico, semplice, affidabile e sensibile per il biomonitoraggio di particolari matrici/ambienti acquatici quali ad esempio i sedimenti.

Bibliografia

FABBROCINI A., LUBRANO LAVADERA S., RISPOLI S., SANSONE G. (2000) – Cryopreservation of sea bream *Sparus aurata* spermatozoa. *Cryobiology*, **40** (1): 46-53.
 KIME D.E., HEBRAIMI M., NYSTEN K., ROELANTS I., RURANGWA E., MORE H.D.M., OLLEVIER F. (1996) – Use of computer assisted sperm analysis for monitoring the effect of pollution on sperm quality of fish; application to the effects of heavy metal. *Aquatic Toxicology*, **36**: 223-237.

F.D. LEDDA, R. MANCONI*, R. PRONZATO

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 - 16132 Genova, Italia.
fabio.ledda@dipteris.unige.it

*Dip. di Zoologia e Genetica Evoluzionistica, Univ. di Sassari, Via Muroni, 25 - 07100 Sassari, Italia.

TASSI DI RITENZIONE DEL CARICO BATTERICO E ORGANICO DI *IRCINIA VARIABILIS* (DEMOSPONGIAE, DICTYOCERATIDA) IN SPONGICOLTURA SPERIMENTALE PER LA BIORIMEDIAZIONE

RETENTION RATES ON BACTERIA AND ORGANIC MATTER BY IRCINIA VARIABILIS (DEMOSPONGIAE, DICTYOCERATIDA) IN EXPERIMENTAL SPONGE FARMING FOR BIOREMEDIATION

Abstract - In order to evaluate the efficiency of sponges as bioremediators, experimental spongeculture have been carried out in a harbour area. In vitro clearance rate test performed on reared explants of *Ircinia variabilis* revealed notable effect in retention mainly on medium size bacteria and carbohydrates suggesting its suitability to improve water quality in impacted areas.

Key-words: *Ircinia variabilis*, rearing, retention rate, bacteria, organic matter.

Introduzione - La spongicoltura *in situ* rappresenta uno strumento razionale e sostenibile per la gestione delle risorse marine costiere e dai molteplici aspetti applicativi (Manconi *et al.*, 1999; Manconi e Pronzato, 2004; Ferretti *et al.*, 2007). Grazie all'elevata capacità di filtrazione i poriferi possono funzionare, in allevamento intensivo, come sistema di biorimediazione in aree degradate (Manconi *et al.*, 1999; Milanesi *et al.*, 2003). In questo lavoro vengono presentati i risultati di uno studio preliminare sull'efficienza di ritenzione del carico organico e batterico di *Ircinia variabilis* (Schmidt, 1862) allevata in un porto turistico.

Materiali e metodi - In un impianto pilota modulare SAFEAQUAPLAN® (Manconi e Pronzato, 2004) installato nel Porto Turistico di Rapallo sono stati seminati 72 frammenti di *I. variabilis* raccolti a Paraggi (Portofino). Nel maggio 2007, dopo quattro mesi di allevamento, è stato eseguito un test di *clearance rate* per verificare la capacità di rimozione della carica batterica e organica su 6 espianti del volume medio di 35.75 ± 1.59 ds cc prelevati dall'impianto. Alla temperatura di 18-19 °C, in camera termostata, sono stati preparati 15 contenitori con 1,5 l di acqua prelevata dal sito di allevamento, 6 contenenti gli espianti di *I. variabilis*, 6 come controlli e 3 per le analisi iniziali. Al tempo 0 (t_0) e dopo 1 (t_1) e 6 (t_2) ore sono prelevati 10 ml di acqua dai contenitori con e senza spugne ($n=3$), fissati con 200 μ l di formalina pura tamponata e analizzati tramite microscopia a epifluorescenza dopo colorazione con arancio di acridina per valutare le concentrazioni dei batteri totali (TBN, Total Bacteria Number). Sono stati eseguiti i conteggi assegnando i batteri a tre classi di taglia: piccoli (SSB, Small Size Bacteria, $\varnothing < 0,05 \mu$ m), medi (MSB, Medium Size Bacteria, $\varnothing 0,5-1 \mu$ m), e grandi (LSB, Large Size Bacteria, $\varnothing > 1 \mu$ m). È stata inoltre determinata la concentrazione di proteine (PRT) e carboidrati (CHO) particolati mediante prelievo di 250 ml, a ogni tempo in due repliche per ogni contenitore, analizzati secondo procedure standard dopo filtrazione su filtri Whatman GF/F.

Risultati - I tassi di sopravvivenza e crescita, rilevati nell'impianto SAFEAQUAPLAN® nei mesi relativi al presente esperimento, sono stati rispettivamente dell'89% e

del 30%. I tassi di ritenzione (R) di *I. variabilis* sono stati calcolati come differenza in percentuale tra le concentrazioni iniziali e i trattamenti, e tra i controlli e i trattamenti. L'andamento della densità batterica totale nei contenitori con spugne si è rilevato in diminuzione in entrambi i tempi di controllo, in particolare al t_2 dopo 6 ore di filtrazione (t-test, $p < 0.05$), con valori di R pari al 27.54 e 38.70% al t_1 e t_2 rispettivamente (TBN). I tassi di filtrazione più efficienti si sono rivelati a carico dei MSB (35.21 e 49.34% al t_1 e t_2 rispettivamente) mentre valori negativi dei tassi di filtrazione si sono stati riscontrati per i SSB (-13.07% e -6.10%) e per i LSB al t_2 (28.72% e -20.48%). Le concentrazioni batteriche totali nei trattamenti sono state rilevate del 53.96% in meno rispetto ai controlli dopo 6 ore. Durante il test con *I. variabilis* si è registrata una diminuzione della concentrazione di PRT e CHO, in particolare nel caso dei carboidrati con diminuzione fino al 52,76% rispetto ai controlli. I valori del rapporto PRT/CHO registrati ($1,71 \pm 0,16$ ds) indicano un basso valore nutrizionale della materia organica particolata nel sito d'allevamento.

Conclusioni – I tassi di ritenzione maggiori a carico dei batteri di taglia media evidenziano un'attività preferenziale di predazione da parte di *I. variabilis* sul batterioplancton di taglia di circa $1 \mu\text{m}$ in diametro come dimostrato anche per *Dysidea avara* (Ribes *et al.*, 1999), per quanto la selettività nella filtrazione delle spugne possa variare da specie a specie (Pile *et al.*, 1996). L'abbattimento della concentrazione di carboidrati è presumibilmente collegata all'attività di predazione sul fitoplancton. I tassi di ritenzione delle concentrazioni batteriche e della carica organica particolata evidenziate in questo esperimento, rilevati fino al 50% rispetto all'acqua non trattata con le spugne, suggeriscono la potenzialità di sfruttamento razionale di *I. variabilis* per la spongicoltura integrata finalizzata alla biorimediazione.

Ringraziamenti – Si ringrazia il Laboratorio di Ecologia Acquatica di Base ed Applicata del Dip.Te.Ris. per le analisi e la Lega Navale Italiana del Porto di Rapallo per il supporto logistico.

Bibliografia

- FERRETTI C., MARENGO B., DE CIUCIS C., NITTI M.P., PRONZATO M.A., MARINARI U.M., PRONZATO R., MANCONI R., DOMENICOTTI C. (2007) - Effects of *Agelas oroides* and *Petrosia ficiformis* crude extracts on human neuroblastoma cell survival. *Int. J. Oncol.*, **30**: 161-169.
- MANCONI R., CUBEDDU T., CORRIERO G., PRONZATO R. (1999) - Commercial sponges farming as natural control of floating cages pollution. In: Enne G., Greppi G.F. (eds), *New species for Mediterranean aquaculture*. Biofutur Elsevier: 269-274.
- MANCONI R., PRONZATO R. (2004) - SAFEAQUAPLAN. Sistemi naturali di biofiltrazione, di produzione e di emissione di antifouling naturali a base di spugne per l'abbattimento dell'inquinamento organico e inorganico in ambienti portuali, porti canale, ambienti lagunari, impianti di acquacoltura e industriali. Brevetto per invenzione industriale, Camera di commercio, Genova. GE2004A000057.
- MILANESE M., CHELOSSI E., MANCONI R., SARÀ A., SIDRI M., PRONZATO R. (2003) - The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomol. Eng.*, **20**: 363-368.
- PILE A.J., PATTERSON M.R., WITMAN J.D. (1996) - In situ grazing on plankton 0.10 mm by the boreal sponge *Mycale lingua*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **141**: 95-102.
- RIBES M., COMA R., GILI J.M. (1999) - Natural diet and grazing rate of the temperate sponge *Dysidea avara* (Demospongiae, Dendroceratida) throughout an annual cycle. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **176**: 179-190.

P. MASULLO^{1,2}, M. ATTIANESE¹, F. DEL PRETE^{1,2}, A.L. LANGELLOTTI^{1,2}, G. SANSONE^{1,2}

Università degli Studi di Napoli "Federico II"

¹CRIAcq (Centro interdipartimentale di ricerche per la gestione delle Risorse Idrobiologiche e per l'Acquacoltura),
Via Università, 100 – 80055 Portici (NA), Italia.

²Dip. delle Scienze Biologiche, Sez. di Fisiologia ed Igiene, Via Mezzocannone, 16 – 80134 Napoli, Italia.
giovanni.sansone@unina.it

EFFETTI DI SOSTANZE XENOBIOTICHE (METALLI PESANTI) SINGOLE ED IN MISCELA SULLA SOPRAVVIVENZA DI LARVE DI *SPARUS AURATA*

EFFECT OF SINGLE AND MIXED XENOBIOTIC SUBSTANCES (HEAVY METALS) ON SPARUS AURATA LARVAE

Abstract - The aim of this work was to evaluate the effects of exposure to heavy metals on seabream larvae. Therefore 72 hours old seabream larvae were acutely exposed (48 hours) to cadmium, lead and chromium. Results shown the significative effect at low heavy metal concentrations. Mixture of three heavy metals at NOEL concentration shown significative difference vs control.

Key-words: heavy metals, fish embryos, acute exposition, *Sparus aurata*, ecotoxicological tests.

Introduzione – I metalli pesanti sono una delle sostanze più diffuse tra i contaminanti marini. Il loro potere tossico dipende dal loro stato chimico, dalla loro biodisponibilità e dalla possibilità di bioaccumularsi e biomagnificarsi lungo la catena trofica (Malins e Ostrander, 1994). Gameti ed embrioni di invertebrati (Volpi Ghirardini *et al.*, 2005) sono ampiamente utilizzati nei saggi ecotossicologici per le valutazioni del rischio ambientale da contaminazione chimica. Nel caso dei pesci, numerosi studi e ricerche riguardano la capacità di bioaccumulo (DeValls *et al.*, 1998) ma non molte informazioni sono riportate sugli effetti a basse concentrazioni sugli stadi embrionali. Pertanto lo scopo del presente lavoro è stato quello di verificare la sensibilità di larve di *Sparus aurata* a questo tipo di contaminazione chimica per un eventuale utilizzo di questo sistema biologico nei test ecotossicologici per il biomonitoraggio degli ecosistemi marino-costieri.

Sono stati valutati gli effetti di tre metalli non essenziali quali cromo, cadmio e piombo sia singoli che in miscela su larve di *Sparus aurata* (L. 1758), identificando i valori NOEL (No Observed Effect Level), LOEL (Low Observed Effect Level) ed LD₅₀ (Lethal Dose₅₀).

Materiali e metodi - Larve di *Sparus aurata* dell'età di 72 ore post fecondazione sono state esposte per 48 ore a concentrazioni crescenti di metalli pesanti utilizzati ed alla loro miscela avente concentrazione totale dei tre metalli di 0.002 mg/l costituita per il 50% Pb, 30% Cr e 20% Cd (Tab. 1). Le condizioni sperimentali adottate per l'esposizione sono state: salinità 36-38‰, pH 7,5-8,5, ossigeno disciolto 6-8 ppm, densità 250 embrioni/l. La percentuale di sopravvivenza è stata valutata dopo 48 ore di esposizione e per le successive 48, dopo aver allontanato i metalli dalla soluzione con un ricambio di acqua. Le larve non sopravvissute durante il periodo di sviluppo venivano rimosse. Ogni singola esposizione è stata effettuata in triplicato per un minimo di 3 volte (n≥9), anche il controllo in acqua di mare veniva realizzato in triplicato. I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante il test *T-Student*, accettando come significativi valori di probabilità (p)<0.02 e valori di probabilità (p) compresi tra 0.02 e 0.05 sono stati considerati al limite della significatività.

Risultati - I valori NOEL, LOEL e di LD₅₀ rinvenuti sono riportati in Tab. 1.

Tab. 1 - Valori Noel, Loel ed LD₅₀ determinati in larve di *Sparus aurata* dopo esposizione ai metalli pesanti.

Noel, Loel and LD₅₀ on Sparus aurata larvae after exposure at heavy metals.

METALLI PESANTI	NOEL (mg/l)	LOEL (mg/l)	LD ₅₀ (mg/l)	MIX ME (mg/l)
Piombo	0.0067	0.0125	0.5	0.001
Cromo	0.003	0.005	0.0067	0.0006
Cadmio	0.002	0.0067	0.0125	0.0004
TOTALE ME MIX				0.002

Dai risultati il sistema biologico studiato, alle nostre condizioni sperimentali, presenta una buona sensibilità ai tre diversi metalli pesanti. I metalli utilizzati mostrano la seguente scala di tossicità secondo i valori di LD₅₀: Cromo > Cadmio > Piombo; scala che non viene confermata se vengono considerati i valori NOEL: Cadmio > Cromo > Piombo. Approfondimenti istologici ed apoptotici, sembrano confermare questa seconda scala di tossicità.

Nella valutazione degli effetti della miscela (Fig. 1), si evince differenza significativa nella % di sopravvivenza rispetto ai singoli valori NOEL, ipotizzando un'interazione di tipo sinergico della miscela dei metalli.

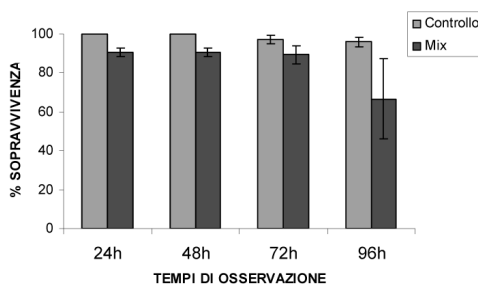


Fig. 1 - Valutazione effetti della miscela ai diversi tempi di osservazione.

Valuation of mixture effects at different observation times.

Conclusioni - Dallo studio da noi condotto sull'effetto dei metalli pesanti sulle larve di *S. aurata*, si evidenzia come, anche a basse concentrazioni (mg/l) degli xenobiotici considerati, si sono avuti effetti significativi in termini di variazioni di % di sopravvivenza. Ciò permette di proporre, in considerazione della buona sensibilità dimostrata, tale sistema biologico per un utilizzo esteso nei test ecotossicologici.

Bibliografia

- DELVALLS T.A., BLASCO J., SARASQUETE M.C., FORJA J.M., GOMEZ-PARRA A. (1998) – Evaluation of heavy metals sediment toxicity in littoral ecosystems using juveniles of the fish *Sparus aurata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **41**: 157-167.
- MALINS D.C., OSTRANDER G.K. (1994) – Metal regulation in aquatic animals: mechanism of uptake, accumulation, and release. In: *Aquatic Toxicology*. Lewis Publishers Ed.: 387-420.
- VOLPI GHIRARDINI A., ARIZZI NOVELLI A., TAGLIAPIETRA D. (2005) – Sediment toxicity assessment in the lagoon of Venice (Italy) using *P. lividus* fertilization and embryo bioassays. *Environment International*, **31**: 1065-1067.

M. MONARI, J. FOSCHI, M. FABBRI, V. MATOZZO*, G.P. SERRAZANETTI

Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
marta.monari@unibo.it

*Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Ugo Bassi, 58/B - 35131 Padova, Italia.

IDENTIFICAZIONE DEL CYP1A-IMMUNOPOSITIVITÀ PROTEIN IN CELLULE IMMUNITARIE DI *CHAMELEA GALLINA* DOPO ESPOSIZIONE A BENZO[A]PIRENE

IDENTIFICATION OF CYP1A-IMMUNOPOSITIVITÀ PROTEIN IN CHAMELEA GALLINA IMMUNE CELL AFTER BENZO[A] PYRENE EXPOSURE

Abstract – To prove CYP1A-immunopositive protein presence and to evaluate MnSOD behaviour in haemocytes and haemolymph, specimens of *C. gallina* were exposed to 0.5 mg/L of Benzo[a]pyrene for 12 days. CYP1A-immunopositive protein showed two bands of 53.5 kDa and 63.8 kDa not differently expressed, whereas MnSOD activity decreased after 7 and 12 days of exposure.

Key-words: Benzo[a]pyrene, *Chamelea gallina*, CYP1A immunopositive-protein, immune response cells, MnSOD.

Introduzione - Gli organismi marini, in particolare i molluschi bivalvi, risultano sensibili all'effetto degli idrocarburi policiclici aromatici (PAH) (Livingstone, 2001). Fra i PAH, il benzo[a]pirene (B[a]P) è metabolizzato a livello microsomiale dal citocromo P450 (CYP) e dal sistema delle ossigenasi a funzione mista (MFO) con la subfamiglia CYP1A come principale isoforma coinvolta nei meccanismi di disintossicazione. Il metabolismo degli xenobiotici porta alla produzione di specie radicali dell'ossigeno (ROS), in particolare anione superossido e H₂O₂ (Peters *et al.*, 1998). La superossido dismutasi (SOD) rappresenta la prima linea di difesa antiossidante che converte l'anione superossido in H₂O₂ (Thannickal e Fanburg, 2000). I molluschi sono caratterizzati, inoltre, da un sistema di difesa (fattori cellulari e umorali) in cui gli emociti giocano un ruolo predominante (Anderson, 1994). Per evidenziare gli effetti del B[a]P sui sistemi di biotrasformazione e di difesa antiossidanti, è stata indagata la presenza del CYP1A nonché il comportamento della MnSOD in emociti ed emolinfa di *Chamelea gallina*.

Materiali e metodi – Esemplari di *C. gallina* nord adriatici sono stati acclimatati in acqua di mare (19±1,0 °C; 30,4‰ di salinità) e trasferiti in vasche da 30 L corrispondenti ai controlli con e senza acetone (120 µg/L) ed ai trattati con 0,5 mg/L di B[a]P (sciolto in 120 µl/L acetone). Gli animali sono stati prelevati dopo 24 ore, 7 giorni e 12 giorni e gli emociti ottenuti dopo opportuno trattamento dell'emolinfa prelevata dal muscolo adduttore anteriore (3 pool/condizione). Su emociti ed emolinfa è stata valutata l'espressione del CYP 1A1/1A2 con l'impiego di anticorpi specifici anti-CYP1A1 (western blotting) e l'attività della MnSOD (dosaggio spettrofotometrico). L'analisi statistica è stata eseguita attraverso studio della varianza (One Way Anova) seguita da Newman Keuls Student's test usando il software Stat.

Risultati – Dopo western blotting, il CYP1A è stata identificato con un'unica banda di peso molecolare apparente pari 53,5 kDa per gli emociti, mentre nell'emolinfa l'isoforma era espressa con una banda principale da 63,8 kDa e una secondaria da circa 43 kDa. L'espressione delle diverse bande non mostrava, nelle diverse condizioni sperimentali, differenze significative rispetto ai controlli con e senza acetone.

L'attività della MnSOD era caratterizzata invece, da una diminuzione significativa dopo 7 giorni con un ritorno dopo 12 gg a livelli confrontabili con il controllo per gli emociti e un ulteriore calo significativo dopo 12 gg in emolinfa.

La presenza del B[a]P sembra non determinare una induzione dell'espressione delle isoforme specifiche del CYP, mentre la risposta antiossidante legata all'attività della MnSOD sembra, soprattutto in emolinfa, compromessa dopo una settimana, probabilmente a conferma di una situazione di sofferenza dovuta all'azione dello xenobiotico. Attualmente nessun gene *CYP* coinvolto nel metabolismo dei PAH è stato sequenziato in invertebrati, ne consegue che non si può escludere la possibile esistenza del CYP1A o di CYP1A-immunopositive protein, ma allo stesso tempo è possibile che esistano altre isoforme del CYP responsabili di risposte simili nei confronti degli idrocarburi aromatici (Chaty *et al*, 2004). La risposta della MnSOD alla presenza di inquinanti è ancora oggi poco studiata in organismi acquatici; la proteina, inducibile, gioca un ruolo cruciale nella risposta allo stress ossidativo (Reed, 2001) anche come conseguenza della attività di disintossicazione dovuta al sistema della MFO.

Conclusioni - La ricerca ha messo in evidenza, anche se in maniera preliminare, la presenza di CYP1A-immunopositive protein in emociti ed emolinfa. Il B[a]P, non determina, nelle cellule immunitarie, l'induzione di CYP1A-immunopositive protein dal momento che l'organo principale deputato ai processi di disintossicazione è rappresentato dalla ghiandola digestiva, mentre sembra responsabile del calo nell'attività della MnSOD. L'azione di xenobiotici influisce su molteplici parametri fisiologici dei bivalvi di interesse commerciale, confermando quindi il ruolo dei molluschi come sensibili indicatori per le attività di biomonitoraggio ambientale in siti contaminati e non.

Bibliografia

- ANDERSON R.S. (1994) - Hemocyte-derived reactive oxygen intermediate production in four bivalve mollusks. *Dev. Comp. Immunol.*, **18** (2): 89-96.
- CHATY S., RODIUS F., VASSEUR P., (2004) - A comparative study of the expression of *CYP1A* and *CYP4* genes in aquatic invertebrate (freshwater mussel, *Unio Tumidus*) and vertebrate (rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol.*, **69**: 81-93.
- LIVINGSTONE D.R. (2001) - Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut. Bull.*, **42**: 656-666.
- PETERS L.D., NASCI C., LIVINGSTONE D.R. (1998) - Variation in levels of cytochrome P450 1A, 2B, 2E, 3A and 4A-immunopositive proteins in digestive gland of indigenous and transplanted mussel, *Mytilus galloprovincialis* in Venice Lagoon, Italy. *Mar. Environ. Res.*, **46**: 295-299.
- REED D.J. (2001) - Mechanisms of chemically induced cell injury and cellular protection mechanisms. In: Hodgson E., Smart R.C. (eds), *Introduction to Biochemical Toxicology*. Wiley, New York: 221-253.
- THANNICKAL V.J., FANBURG B.L. (2000) - Reactive oxygen species in cell signalling. *Am. J. Physiol-Lung C.*, **279**: 1005-1028.

La ricerca è stata eseguita con il contributo della Fondazione della Cassa di Risparmio di Cesena e con fondi ex 60% del prof. Gian Paolo Serrazanetti.

U. NESTI, L. PIAZZI¹, D. BALATA²

ICRAM, Sede Operativa di Livorno, V.le N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
u.nesti@icram.org

¹Dipartimento di Biologia; Università di Pisa. Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.

²Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale e C.I.R.S.A., Università di Bologna, Italia.

VARIABILITY IN PATTERNS OF DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF EPIPHYTES OF *POSIDONIA OCEANICA* EXPOSED TO ANTHROPOGENIC NUTRIENT ENRICHMENT

VARIABILITÀ NELLE MODALITÀ DI DISTRIBUZIONE E ABBONDANZA DEGLI EPIFITI DI POSIDONIA OCEANICA IN SEGUITO AD AUMENTO DI NUTRIENTI DI ORIGINE ANTROPICA

Abstract - This study aimed to compare epiphyte assemblages of leaves and rhizomes of *Posidonia oceanica* exposed to different levels of concentration of nutrients. Results documented differences in composition and abundance of epiphytic assemblages on leaves between disturbed and reference meadows, while assemblages on rhizomes did not appear sensitive to this kind of disturbance.

Key-words: epiphytes, eutrophication, spatial variability, *Posidonia oceanica*.

Introduction - Although seagrasses are known to be sensitive to eutrophication (Short and Wyllie-Echeverria, 1996), these long-leaving organisms may show relatively long times of response that can prevent detecting mild or early effects of disturbances. In contrast, seagrass epiphytes are considered capable to react faster than their host to environmental changes. In this study we proposed that epiphytes of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile are sensitive to low increases of nutrients, i.e. those unable to change drastically the whole structure of meadows, and we tested this proposition by comparing epiphytic assemblages between disturbed and reference meadows, characterized by comparable values of structural and phenological variables.

Materials and methods - The epiphytic assemblages on leaves and rhizomes of *Posidonia oceanica* were studied along the continental coast of Tuscany close to the urban area of Livorno. One potentially impacted (PI) and two reference meadows were selected. In each meadow, two sites (portions of meadow about 600 m² large and 100's of meters apart) were chosen randomly; three replicate plots (1 m² wide and about 10 m apart) were selected at random at each site. Within each plot, five randomly chosen shoots were uprooted and preserved for laboratory observation. Sampling was carried out at a depth of 10 m, in early September 2006. Asymmetrical multivariate analysis of variance based on permutations (PERMANOVA, Anderson, 2001) was conducted on Bray-Curtis dissimilarity matrix calculated from untransformed data. For both rhizome and leaf epiphytes, the analysis consisted of a 3-way model with Meadow (3 levels, random), Site (2 levels, random and nested within Meadow) and Plot (3 levels, random and nested within Site), with five replicates for each plot. The test of the contrast PI vs Reference meadows was constructed following the logic of beyond-BACI designs. SIMPER analysis was used to identify the percentage contribution of each species to the Bray-Curtis dissimilarity between the average of PI and reference meadows.

Results - In leaf epiphyte assemblages a total of 24 taxa were identified in PI and 16 and 18 in the reference meadows; 28 taxa for PI and 31 and 16 for reference meadows, were found in rhizome assemblages. Epiphytic assemblages of leaves differed

between PI and reference meadows, with scale-dependent patterns. In particular, variability among shoots in PI was lower than in reference meadows, while an opposite pattern occurred at the scale of site. No significant variability was documented at the scale of plot. Conversely, the epiphytic assemblages of rhizomes did not show differences between PI and references at the scale of meadow, while relevant variability was observed at smaller scales. Specifically, variability in PI was larger than in reference meadows at the scale of shoot and lower at the scale of plot. Moreover, the variability between sites was larger in PI than in reference meadows. The species responsible for differences between PI and reference meadows changed between leaves and rhizomes. However, some species showed similar trends in both studies; in fact, in PI meadows the algae *Hydrolithon farinosum*, *Dictyota* spp. and *Pneophyllum fragile* increased on leaves, and algae, such as *Mesophyllum lichenoides* and *Hydrolithon farinosum*, on rhizomes. Epiphyte biomass showed significant differences in the contrast PI vs RE ($F = 13.875$, $p < 0.034$) and two tailed tests showed differences in variability at the scale of shoots.

Conclusions - The present study documented significant differences in the structure of epiphytic assemblages on leaves of *P. oceanica* between meadows characterized by higher concentration of nutrients and reference meadows, while assemblages on rhizomes did not appear sensitive to this kind of disturbance. Moreover, in PI meadows, assemblages of leaves and rhizomes showed different patterns of spatial variability compared to reference assemblages. Our findings showed that the number of algal species were higher in disturbed than in reference locations suggesting the model that in oligotrophic systems nutrient enrichment may initially result in an increase in the diversity of taxa. The increase in cover in PI meadows was particularly evident for encrusting algae and Dictyotales. Analogous findings were not documented for epiphytes of rhizomes but it is plausible that a stronger response of these assemblages, comparable to that observed for leaves, will be found in cases of alterations of morphological traits of the plant (e.g. number and length of leaves) or changes in the density of shoots. Under these circumstances, environmental conditions, such as light and hydrodynamics will drastically change, likely affecting strongly the epiphytic assemblages of rhizomes. In reference meadows, patterns of spatial variability observed on leaf assemblages were in agreement with previous findings (Balata *et al.*, 2007), with large variability at small scale, and homogeneity at the broadest scale considered. On the contrary, in PI meadows we observed reduced variability at small scale and large heterogeneity at site scale. These results suggested scale-dependant effects of disturbance. Our findings suggest that multivariate, rather than univariate, measures of spatial variation can be considered as potential indicators of alterations due to human activities.

References

- ANDERSON M.J. (2001) - A new method for a non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, **26**: 32-46.
- BALATA D., NESTI U., PIAZZI L., CINELLI F. (2007) - Patterns of spatial variability of seagrass epiphytes in the north-west Mediterranean Sea. *Marine Biology*, **151**: 2025-2035.
- SHORT F., WILLIE-ECHEVERRIA S. (1996) - Natural and human-induced disturbances of seagrasses. *Environmental and Conservation*, **23** (1): 17-27.

L. SBRESCIA, F. DI STEFANO, M. RUSSO, G.F. RUSSO

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

INFLUENZA DELLA PESCA SPORTIVA SULLE GORGONIE NELL'AMP DI PUNTA CAMPANELLA

INFLUENCE OF SPORT FISHING ON GORGONIANS IN MPA OF PUNTA CAMPANELLA

Abstract- *Gorgonians (Eunicella singularis and Eunicella cavolinii) in MPA of Punta Campanella were monitored to determine the levels of damage of colonies related to fisheries activities. Lost and active fishing gears, in particular lines, constitute an important threat to macrobenthic assemblages.*

Key-words: *monitoring, benthos, sport fishing, lines.*

Introduzione - I gorgonacei costituiscono una *facies* caratteristica nel piano circalitorale della biocenosi del coralligeno. Le attività umane, come l'utilizzo di lenze da pesca, possono danneggiare intere popolazioni (Bavestrello *et al.*, 1997). Nell'AMP di Punta Campanella è stato svolto un monitoraggio per valutare lo stato di degrado delle colonie appartenenti alle specie *Eunicella singularis* (Esper, 1794) e *Eunicella cavolinii* (Von Koch, 1887), in seguito agli eventi di moria massiva verificatisi nel Tirreno Centrale (Gambi *et al.*, 2006), e per censire gli attrezzi da pesca presenti sui gorgonacei. Obiettivo del presente studio è stato quello di individuare la pressione che la pesca sportiva esercita, oltre che sui popolamenti ittici, sul macrobenthos sessile.

Materiali e metodi – Sono state effettuate 26 immersioni in 10 località (10-35 m di profondità) adottando tecniche di rilevamento visuale. Sono state scelte 4 popolazioni di *E. singularis* e di *E. cavolinii* al fine di rilevarne la densità, le classi di taglia e le classi di degrado, utilizzando un quadrato di un metro di lato. I rilevamenti sono stati svolti da maggio a novembre del 2005 in località distribuite su tutta l'area dell'AMP e a luglio del 2006 in 3 località risultate particolarmente disturbate l'anno precedente. In tutte le località è stata verificata la simultanea presenza di gorgonacei e di nasse, reti e/o lenze; per valutare lo stress indotto da ogni tipologia di attrezzo è stato assegnato ad ognuno un rango in base al numero di colonie danneggiate, inoltre, è stato classificato l'impatto su ciascuna località in relazione al numero e alla frequenza di rilevamento degli attrezzi durante il periodo di lavoro.

Risultati – La densità delle colonie è stata valutata considerando nelle diverse località tre fasce batimetriche: A<25 m, 25<B<30 m, C>30 m. La densità di popolazione di *E. singularis* è costante nella fascia batimetrica più profonda (circa 6 col/m²), mentre in quelle più superficiali è variabile. La densità di popolazione di *E. cavolinii* aumenta gradualmente con la profondità (da circa 10 a 25 col/m²), con valori particolarmente elevati nella località Fossa Papa. L'evoluzione temporale delle dominanze quantitative per rango di degrado delle colonie, a loro volta distinte in reclute (h≤5 cm) ed adulte (h>5 cm), indica una certa variabilità dei rapporti quantitativi tra ranghi di degrado. Per *E. cavolinii* le reclute contribuiscono in maniera preponderante a mantenere alquanto costante la percentuale di colonie integre, soprattutto nella località Fossa Papa (35-40%). Per quanto riguarda *E. singularis*, tra maggio e giugno 2005, si registra la presenza massima di colonie degradate (50-70%). La dominanza quantitativa delle reclute è del 15-20%. I ranghi assegnati agli attrezzi in base al numero

di colonie danneggiate sono stati: 1 (<5 colonie), 2 (5-7 colonie), 3 (>7 colonie). Il numero di nasse rilevate è stato esiguo, ne è stata riscontrata la presenza nella sola località Punta Campanella II dove il rango assegnato è stato 2. Le reti sono state rinvenute solo lungo il versante orientale dell'AMP in un intervallo batimetrico di 25-30 m: il numero di attrezzi censiti è stato esiguo (<10), la frequenza di rilevamento è stata bassa e, infine, lo stress indotto alle gorgonie è stato di intensità variabile. La presenza delle lenze è stata riscontrata in tutta l'area di studio in un intervallo batimetrico di 15-35 m. Il numero di lenze rilevate è stato molto elevato (>100), la frequenza di rilevamento è stata alta e, in molte località, è stato assegnato il rango 3. Le lenze, quindi, esercitano una considerevole pressione sui gorgonacei ed il loro utilizzo è da attribuire ai pescatori sportivi. Il Decreto del Ministero dell'Ambiente del 12 dicembre 1997, al Titolo 3 (da art. 18 ad art. 23), regola la pesca sportiva nell'AMP di Punta Campanella: ne vieta l'attuazione nelle zone A, zone B e nei corridoi di transito, mentre ne consente lo svolgimento nelle zone C, previo rilascio di autorizzazione da parte dell'Ente Gestore. Sia pur con le dovute limitazioni, relative al peso delle prede, al numero di ami, al numero di attrezzi per pescatore, è consentito l'utilizzo di: canne singole da lancio o lenza fissa, bolentino, lenze per cefalopodi, canne e lenze a traino di superficie e di fondo. Il numero di pescatori sportivi, residenti e non nei comuni appartenenti al Consorzio di Gestione, autorizzati a svolgere la propria attività durante i periodi prestabiliti, è stato 161 nel 2003, 135 nel 2004, 55 nel 2005 e 108 nel 2006. La presenza dei suddetti pescatori è risultata massima nei mesi di luglio, agosto e settembre.

Conclusioni – Lo stato di degrado dei gorgonacei osservato è chiaramente da impatto antropico, in particolare è adducibile ad un uso eccessivo della pesca con le lenze, molte delle quali sono state rinvenute impigliate tra le ramificazioni delle colonie (Bavestrello *et al.*, 1997). Le lesioni del cenenchima provocate dalle lenze, sia pur limitate a pochi centimetri di tessuto, possono alterare le capacità riproduttive, alimentari e di difesa di una colonia, facilitando l'insediamento degli organismi epibionti (Wahle, 1983). Le popolazioni maggiormente indebolite sono site in località in cui, illegalmente, si concentrano le attività della pesca sportiva (zona B). E' necessario ipotizzare una regolamentazione più dettagliata della suddetta attività che impatta oltremodo il macrobenthos sessile riducendone il valore ecologico e paesaggistico.

Ringraziamenti - Si ringrazia la Riserva Marina di Punta Campanella per il finanziamento dello studio.

Bibliografia

- BAVESTRELLO G., CERRANO C., ZANZI D., CATTANEO-VIETTI R. (1997) – Damage by fishing activities to the Gorgonian coral *Paramunicea clavata* in the Ligurian Sea. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 7: 253-262.
- GAMBI M.C., CIGLIANO M., IACONO B. (2006) – Segnalazione di un evento di mortalità di gorgonacei lungo le coste delle isole di Ischia e Procida (Golfo di Napoli, Mar Tirreno). *Biol. Mar. Mediterr.*, 13 (1): 583-587.
- WAHLE C.M. (1983) - Regeneration of injuries among jamaican gorgonians. The role of colony physiology and environment. *Biol. Bull.*, 165: 778-790.

S. TARLAZZI, I. SCARONI*

ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia – Romagna Struttura Oceanografica Daphne,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
starlazzi@arpa.emr.it

*ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia-Romagna, Sezione Provinciale Ravenna, Italia.

OIL SPILL DA ATTACCO AEREO SULLA COSTA LIBANESE – LUGLIO 2006

OIL SPILL CAUSED BY AERIAL ATTACK ON THE LEBANESE COAST – JULY 2006

Abstract - During the July 2006 war in Lebanon, the reservoirs of Jiyeh power plants were hit resulting in the discharge of 10 to 15 thousand tonnes of heavy fuel oil (IFO150) into the sea. Large tracts of the Lebanese coast were affected and the consequent pollution levels in the marine and coastal ecosystems, due to the oil spill, raised questions about what fish or sea food (urchins, oysters, etc.) may or may not be consumed. To provide a preliminary answer to these questions an oil spill monitoring plan was adopted, focusing on PAHs contamination in *Spondylus spinosus* (Schreibers, 1793) and *Chama pacifica* (Broderip, 1834).

Key-words: oil spill, IPA, bioaccumulation, Lebanon coast.

Introduzione – Nel luglio 2006 un attacco aereo israeliano al parco serbatoi della centrale termoelettrica di Jiyeh ha provocato lo sversamento in mare di una quantità stimata tra 10000 e 15000 tonnellate di olio combustibile (IFO150). La macchia oleosa ha causato la contaminazione di una vasta area di litorale, andando a lambire gran parte della costa libanese oltre che alcune aree della Siria e di Cipro. Il Ministero Ambiente Tutela del Territorio e del Mare, con il coordinamento dell'APAT e la collaborazione di alcune Agenzie Regionali per l'Ambiente, ha predisposto un piano di monitoraggio, con lo scopo di studiare l'impatto di questo evento sulla matrice biota, anche al fine di individuare i possibili rischi di carattere sanitario associati al consumo di alcune specie eduli: *Spondylus spinosus* (Schreibers, 1793) e *Chama pacifica* (Broderip, 1834).

Materiali e metodi – Sono state individuate lungo la costa libanese sei aree (denominate A, B, C, D, E, F) nelle quali era alta la probabilità di trovare le specie sessili oggetto di studio. Considerando la direzione preponderante delle correnti costiere da sud, si sono scelte due aree poste in posizione meridionale rispetto alla zona dell'incidente, da utilizzare come controlli e quattro aree poste più a nord, direttamente impattate dalla macchia oleosa, poste a distanze via via crescenti. I campionamenti di molluschi bivalvi sono stati eseguiti tramite operatori subacquei. Si è deciso di orientare l'analisi chimica verso la ricerca di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in quanto, pur non essendo tra i contaminanti più tossici, questi composti presentano un rischio cancerogeno non nullo e la possibilità di bioaccumulo, rappresentando di fatto un pericolo di carattere sanitario per i prodotti della pesca. Il materiale campionato è stato liofilizzato, estratto con sistema Accelerated Solvent Extraction (ASE) e purificato su colonna di gel di silice. La determinazione analitica finale è stata effettuata con gascromatografo HP 5973 (HRGC/LRMS) acquisendo almeno 2 frammenti per ogni IPA, dei quali uno era lo ione molecolare. L'identificazione ed il riconoscimento si è basato sulla verifica dei tempi di ritenzione e dei rapporti di intensità delle masse dei frammenti stessi. La determinazione quantitative è stata effettuata con rette di calibrazione. La verifica del recupero è stata effettuata con aggiunta di standard marcati. L'analisi gascromatografica è stata condotta secondo il Metodo UNICHIM 825.

Risultati – Il rapporto fluorantene/pirene è un indice molto utilizzato: se è >1 la provenienza degli IPA sarebbe prevalentemente pirogenica, se è <1 la fonte sarebbe petrogenica (Budzinski *et al.*, 1997). Nel presente studio questo rapporto è risultato compreso tra 0,2 e 0,6 e confermerebbe la provenienza petrogenica degli inquinanti ricercati.

Nelle due stazioni di controllo (A e B), il livello di contaminazione da questi inquinanti risulta sostanzialmente basso e si nota una ridotta variabilità sia tra le repliche sia tra le due stazioni. Al contrario le stazioni C, D, E, F che nell'ordine corrispondono ad una maggiore distanza dalla zona in cui si è verificato l'inquinamento, rilevano un marcato gradiente di concentrazione. In particolare la stazione C, vicina ad uno degli scarichi fognari della capitale presenta sia il massimo livello di contaminazione sia la massima variabilità interna. Raggruppando i risultati delle analisi come sommatoria dei singoli analiti (IPA totali), si può confrontare la contaminazione dei campioni libanesi con quella osservata su altre specie (mitili e vongole) raccolte in alcuni siti italiani esposti a diversi livelli di inquinamento: si osserva che i molluschi prelevati in corrispondenza dell'area denominata "C" che presentano i maggiori valori di concentrazione di IPA, si porrebbero in un range di contaminazione tipico di un ambiente ad "elevato impatto industriale" (Di Domenico, 1995). I campioni di controllo rientrano invece vicino a quello che viene considerato il "fondo", ovvero un livello di inquinamento di una zona indisturbata dall'attività industriale. Da una prima osservazione le due specie analizzate sembrano avere una diversa sensibilità nell'accumulare questo tipo di molecole: campioni prelevati nella stessa stazione presentano tendenzialmente concentrazioni maggiori nella specie *Spondylus spinosus*. Va sottolineato però che gli organismi della specie *Spondylus spinosus* presentavano sempre dimensioni maggiori della specie *Chama pacifica* e, a parità di contenuto percentuale di grasso, si può supporre che i primi avevano probabilmente una maggiore capacità filtrante e quindi una maggiore possibilità di trattenere il particolato "inquinato" giustificando il risultato.

Conclusioni – I campioni raccolti lungo la costa libanese hanno fatto riscontrare una significativa differenza tra i siti di controllo e quelli affetti dall'oil spill. Si rileva un evidente gradiente di concentrazione tra i siti più vicini e quelli a maggior distanza dalla zona origine dell'inquinamento, confermando uno stato di diffusa contaminazione da IPA.

Bibliografia

- BUDZINSKI H., JONES I., BELLOCQ J., PIÉRARD C., GARRIGUES P. (1997) - Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, **58**: 85-97.
- DI DOMENICO A. (1995) - Selected carcinogenic organic microcontaminants and heavy metals in the Venice lagoon. II. Contamination levels of biota samples
- UNICHIM Metodo 825 - Determinazione Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle matrici alimentari e ambientali. *Boll. Chim. Igien.*: 605.

G.R. CARVALHO, F. COSTA*

Molecular Ecology & Fisheries Genetics Laboratory, Environment Centre Wales, Bangor University,
Bangor, Gwynedd, UK.

<http://biology.bangor.ac.uk/research/mefgl/>

*Departamento de Biologia, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.

DETECTING SPECIES IN THE OCEANS: THE GLOBAL USE OF DNA BARCODING

IDENTIFICAZIONE DELLE SPECIE NEGLI OCEANI: L'USO GLOBALE DEL BARCODING DEL DNA

Almost 250 years after the publication of the Taxonomy-founding work *Systema Naturae*, by Carl Linnaeus, the inventory and catalogue of the planet's biodiversity is still far from complete: only 1.7 million of an estimated 10+ million species are so far described. Notwithstanding the remarkable merits of the Linnean system, the task is too vast to be ever completed using current conventional approaches. Such a staggering reality, and the customary difficulty that the scientific community and society in general experience to access taxonomic knowledge, has prompted the search for novel tools or approaches for species identification.

Species identification is the critical starting point of any research in marine biology. Conventional identification approaches based on phenotypic characters may be apparently straightforward. However there are various situations in which they may fail or have limited efficiency, such as cryptic species, inherently difficult taxonomic groups, or taxonomically ambiguous eggs and larvae. The discovery of new marine habitats and associated new species, increased threats to marine species from on-going environmental change and habitat disturbance make it increasingly important to develop rapid and robust ways of describing and cataloguing marine biodiversity. Molecular tools of universal implementation, such as the recently proposed DNA barcodes ("a rigorously standardized sequence of a minimum length and quality from an agreed-upon gene, deposited in a major sequence database, and attached to a voucher specimen whose origins and current status are recorded") can counter conventional limitations, providing a simple, yet robust system to unambiguously identify not only whole individuals, but eggs, larvae and body fragments. International efforts are now coordinated by the Consortium for the Barcode of Life (CBOL) which includes more than 120 member organizations in 45 nations. It is closely allied to the Census of Marine Life, aimed at assessing the diversity, distribution, and abundance of marine life in the oceans: past, present, and future.

Here I introduce the concept of DNA barcoding and illustrate its potential in describing, monitoring and conserving marine biodiversity by reference to FISH-BOL, a CBOL-coordinated global effort to assemble DNA barcodes of all fishes by 2012. Fish are a suitable model for testing the implementation of DNA barcoding at a worldwide scale. Although they constitute the largest vertebrate group (about 50% of all vertebrate species), they have a manageable number of species: c. 20 000 marine (15648 in Fish Base, 91 with subspecies), c. 15 000 freshwater (13 544 in Fish Base, 152 with subspecies), (705 shared marine / freshwater species) and c. 80 brackish only (82 in Fish Base, 1 with subspecies). Fish and fisheries resources are one of the key target groups where larger and more immediate benefits from a new biological identification system are anticipated. Such a system will offer a simple – and increasingly rapid and inexpensive – means of unambiguously identifying not only whole fish, but fish eggs and larvae, fish fragments, fish fillets and processed fish. This capability will yield more rigorous and extensive data on recruitment, ecology and geographic ranges of fisheries resources, and improved knowledge of nursery areas and spawning grounds, with evident impacts at the fisheries management and conservation levels.

M. ARCULEO, T. MAGGIO, S. LO BRUTTO

Dip. di Biologia Animale 'G. Reverberi', Università di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
marculeo@unipa.it

**DUE CASI-STUDIO DI 'STOCK IDENTIFICATION'
CON MICROSATELLITI NEL MAR MEDITERRANEO:
LA TRIGLIA DI FANGO *MULLUS BARBATUS*
E IL NASELLO *MERLUCCIUS MERLUCCIUS***

**TWO CASE-STUDY OF STOCK IDENTIFICATION
WITH MICROSATELLITES IN THE MEDITERRANEAN BASIN:
THE RED MULLET *MULLUS BARBATUS*
AND THE HAKE *MERLUCCIUS MERLUCCIUS***

Abstract - We reported data on microsatellites variation of *Mullus barbatus* and *Merluccius merluccius*. Both species showed a deviation from Hardy-Weinberg equilibrium with heterozygotes deficiency. AMOVA revealed that the greater portion of variation is within the samples. *M. barbatus* showed at least two genetically distinct gene pools, whereas the *M. merluccius* is organized into a large panmictic unit.

Key-words: *Merluccius merluccius*, *Mullus barbatus*, microsatellites, Mediterranean Sea.

Introduzione - L'uso di marcatori molecolari, sempre più diffuso negli ultimi anni tra i biologi della pesca, risulta di fondamentale importanza nella identificazione degli *stock* ittici (Carvalho e Hauser, 1995) e nello stabilire la corretta scala geografica dalla quale partire per formulare piani di gestione in accordo con le GSA (Geographical Sub Areas) della FAO.

In Mediterraneo, il nasello, *Merluccius merluccius*, e la triglia di fango, *Mullus barbatus*, sono specie ittiche di elevato interesse economico e sovrasfruttate (Orsi Relini *et al.*, 2002; Mamuris *et al.*, 1998). Entrambe sono specie necto-bentoniche con uova e larve pelagiche, presentano un'ampia distribuzione geografica (Mediterraneo ed Atlantico) (Tortonese, 1975) e sono state ampiamente studiate dal punto di vista biologico, nell'ambito dei progetti MEDITS e GRUND. Nella triglia di fango studi condotti su alloenzimi hanno mostrato conclusioni discordanti; Arculeo *et al.* (1999) in campioni provenienti da diversi siti del Mediterraneo riportavano una omogeneità genetica, mentre Mamuris *et al.* (1998), analizzando campioni del mar Ionio e dell'Egeo trovavano una significativa differenza, ipotizzando la presenza di più unità gestionali. Recentemente, Garoia *et al.* (2004) e Arculeo *et al.* (2006b) analizzando microsatelliti, rispettivamente di campioni adriatici e siciliani, hanno evidenziato differenze così basse da non potere ipotizzare la presenza di popolazioni riproduttivamente isolate.

La struttura genetica del nasello è stata descritta in Mediterraneo attraverso l'analisi degli alloenzimi (Roldan *et al.*, 1998; Lo Brutto *et al.*, 1998, 2004; Imsiridou e Triantaphyllidis, 2001), del DNA mitocondriale (Lo Brutto *et al.*, 2004) e dei microsatelliti (Lundy *et al.*, 1999; Arculeo *et al.*, 2006a); studi che descrivono un unico pool genico all'interno del Mar Mediterraneo.

Alla luce delle conoscenze attuali, si è reso necessario mettere ordine alla mole dei risultati ottenuti, attraverso un confronto di dati nuovi e già pubblicati.

Materiali e metodi - Le nuove analisi di DNA hanno riguardato alcuni campioni di triglia di fango; mentre per il nasello sono stati utilizzati solo i dati dei microsatelliti presenti in letteratura (Lundy *et al.*, 1999; Arculeo *et al.*, 2006a). Per la triglia di fango sono stati analizzati 4 campioni tirrenici, 6 siciliani e 4 adriatici, mentre del nasello sono stati presi in esame 7 campioni siciliani e 1 proveniente dal medio adriatico. Il

DNA totale è stato estratto da 400 individui di triglia di fango provenienti dai 14 siti di campionamento con DNeasy Kit (QIAGEN). Sono stati analizzati sei loci di microsatelliti con *primer* specie-specifici (Garoià *et al.*, 2004), tramite sequenziatore automatico ABI 310 (*Applied Biosystems*). Le analisi statistiche sono state condotte in entrambe le specie con GENETIX 4.01 (Belkhir *et al.*, 2000), GENEPOP 1.2 (Raymond e Rousset, 1995) e Arlequin 3.0 (Excoffier *et al.*, 2005).

Risultati - Nella triglia di fango il numero di alleli per locus variava da 16 (locus *Mb7*) a 69 (locus *Mb39*), con un valore medio di 12, mentre nel nasello sono stati riportati valori compresi tra 7 (locus *Hkb3*) e 45 (locus *Hk9b*), con una media pari a 19. Nella triglia di fango l'eterozigosità media osservata ed attesa per locus era compresa rispettivamente tra 0.342 (S. Agata) e 0.957 (Fano) e tra 0.528 (Alghero) e 0.968 (S. Agata); nel nasello questi valori risultavano compresi tra 0.109 (Licata) e 0.957 (Porticello) e tra 0.340 (S. Agata) e 0.977 (Marsala). In entrambe le specie i test per l'equilibrio di Hardy-Weinberg (HW) condotti per locus sono risultati significativi in alcuni siti anche dopo correzione di Bonferroni, mostrando una tendenza al deficit di eterozigoti. Nella triglia di fango il valore medio stimato di *F_{is}* era di 0.204 ($p < 0.001$), mentre nel nasello risultava pari a 0.394 ($p < 0.005$). Il metodo di Brookfield (1996) non ha rilevato presenza di alleli nulli in entrambe le specie.

Nella triglia di fango il Fisher *exact test* e l'*F_{st}* dell'AMOVA hanno mostrato una eterogeneità spaziale tra i siti analizzati con un valore di *F_{st}* totale significativamente diverso da zero ($F_{st}=0.003$; $p < 0.001$). I confronti a coppie dei valori *F_{st}* dei campioni dell'Adriatico risultano sempre significativi nel confronto con quelli del Tirreno e Siciliani, anche dopo correzione di Bonferroni. Questo dato viene supportato dal dendrogramma UPGMA ricavato dai valori della distanza di Reynold ($F_{st} / (1 - F_{st})$) in cui è possibile riscontrare una separazione tra i campioni Adriatici da quelli del Tirreno e Siciliani.

Nel nasello l'*F_{st}* totale è risultato estremamente basso e non significativo ($F_{st}=0.00012$; $p > 0.005$) evidenziando omogeneità tra i campioni analizzati. Il confronto a coppie dei valori *F_{st}* è risultato significativo ($F_{st}=0.006$; $p < 0.05$) solo tra due campioni siciliani (S. Agata e di Licata). Infine, in entrambe le specie, l'AMOVA mostrava che la maggior parte della variazione genetica si ritrovava all'interno dei campioni (99.7% nella triglia di fango e 99.2% nel nasello) piuttosto che tra i campioni (0.30% nella triglia di fango e 0.80% nel nasello).

Conclusioni - I livelli di variazione genetica riscontrati in entrambe le specie sono risultati alti e paragonabili a quelli trovati in altri pesci ossei (DeWoody e Avise, 2000). Inoltre le due specie mostrano una deviazione dall'equilibrio di HW con un deficit di eterozigoti attribuibile probabilmente ad un effetto Wahlund. Quest'ipotesi potrebbe essere associata, in entrambe le specie, alle migrazioni ontogenetiche stagionali che, associate ai differenti momenti in cui sono stati prelevati i campioni, potrebbero aver determinato il mescolamento di differenti demi. Ciò si può supporre nella triglia di fango i cui campioni, appartenenti al raggruppamento Tirreno-Stretto di Sicilia, non mostrano caratteristiche di panmissia, nonostante siano raggruppati in un unico *cluster*. Nella triglia di fango, infatti, i risultati ottenuti mostrano una evidente differenza genetica tra i campioni dell'Adriatico da quelli Tirrenici e Siciliani. Il *pattern* di strutturazione geografica viene ben supportato dall'analisi gerarchica dell'AMOVA, condotta considerando le GSA della FAO, e dal dendrogramma UPGMA della distanza di Reynold, in cui risulta che i campioni Adriatici formano un *cluster* distinto da tutti gli altri campioni. Questi risultati, in accordo con quelli riportati da Mamuris *et al.* (1998) e Garoià *et al.* (2004), suggeriscono azioni gestionali mirate, anche indirizzate alla presenza di subpopolazioni locali che necessitano di un costante monitoraggio per

stabilire, tempestivamente, eventuali piani di gestione differenziati. La discontinuità genetica, inoltre, nella triglia di fango può essere correlata al caratteristico “paesaggio” dell’Adriatico dove le peculiarità ambientali rendono necessario un approccio di *Landscape Genetics* in cui la variazione genetica deve essere integrata con l’ecologia del paesaggio (Manel *et al.*, 2003).

Nel caso del nasello, studi sulla variazione alloenzimatica avevano rilevato *pattern* di eterogeneità genetica su alcuni loci (*Gpi-2* e *Gapdh*) come effetto di pressioni selettive (Lo Brutto *et al.*, 1998; Ciammaruta *et al.*, 2005) da parte di alcuni parametri ambientali quali temperatura e salinità (Ciammaruta *et al.*, 2005). Conseguentemente, i marcatori neutrali, come i microsatelliti, dimostrano avere un’importanza prioritaria nell’identificazione di *stock*, poiché non sono sensibili ad azioni selettive come i marcatori biochimici. Nel nasello i test di eterogeneità ottenuti dall’analisi dei microsatelliti hanno mostrato che i campioni analizzati sono sostanzialmente rappresentati da un unico *pool* genico, anche se sono state rilevate delle piccole differenze tra due siti Siciliani. Questi risultati sono stati supportati da quelli ottenuti da Levi *et al.* (1994, 2004) che, prendendo in considerazione campioni provenienti da due aree dello Stretto di Sicilia ed utilizzando oltre agli alloenzimi, gli otoliti e la morfometria, confermavano la presenza, nello Stretto di Sicilia, di un unico *stock*. La presenza di un unico *pool* genico, in Mediterraneo, potrebbe essere spiegato dalle elevate capacità di dispersione della specie, anche se future analisi potranno meglio chiarire lo “*status*” del nasello in Mediterraneo.

Bibliografia

- ARCULEO M., LO BRUTTO S., CAMMARATA M., SCALISI M., PARRINELLO N. (1999) - Genetic variability of the Mediterranean Sea red mullet, *Mullus barbatus* (Pisces, Mullidae). *Russian Journal of Genetics*, **35**: 361-365.
- ARCULEO M., SIRNA TERRANOVA M., MAGGIO T., LO BRUTTO S. (2006a) - Analisi della struttura genetica di popolazioni siciliane di *Merluccius merluccius* (Teleostei: Merlucciidae) attraverso l’uso di microsatelliti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13**: 793-796.
- ARCULEO M., MAGGIO T., LO BRUTTO S., SIRNA TERRANOVA M. (2006b) - Identificazione di stock di *Mullus barbatus* (Teleostei: Perciformes) lungo le coste siciliane attraverso l’uso di microsatelliti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13**: 789-792.
- BELKHIR K., BORSA P., CHIKHI L., RAUFASTE N., BONHOMME F. (2000) - Genetix - a window TM based Software for population genetic analyses. Laboratoire Génome, populations, interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- BROOKFIELD J.G.Y. (1996) - A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol. Ecol.*, **5**: 453-455.
- CARVALHO G.R., HAUSER L. (1995) - Molecular genetics and the stock concept in fisheries. In: Molecular genetics in fisheries. In: Carvalho G.R., Pitcher T.J. (eds), Chapman and Hall, London: 55-79.
- CIAMMARUTA R., BONDANELLI P., NASCETTI G. (2005) - Genetic structure and environmental heterogeneity in the european hake (*Merluccius merluccius*). *Mol. Ecol.*, **14**: 2577-2591.
- DEWOODY J.A., AVISE J.C. (2000) - Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J. Fish Biol.*, **56**: 461-473.
- EXCOFFIER L., SMOUSE P.E., QUATTRO J.M. (1992) - Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479-491.
- EXCOFFIER L., LAVAL G., SCHNEIDER S. (2005) - Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**: 47-50.
- GAROIA F., GUARNIERO I., PICCINETTI C., TINTI F. (2004) - First microsatellites loci of red mullet (*Mullus barbatus*) and their application to genetic structure analysis of adriatic shared stock. *Marine biotechnology*, **6**: 446-452.
- IMSIRIDOU A., TRIANTAPHYLLIDIS C. (2001) - Allozyme electrophoretic studies in European hake *Merluccius merluccius* (Gadidae) population. *Biologia*, **56**: 545-547.

- LEVI D., ANDREOLI M.G., ARNERI E., GIANNETTI G., RIZZO P. (1994) - Otolith reading as a tool for stock identification. *Fish. Res.*, **20**: 97-107.
- LEVI D., PATTI B., LO BRUTTO S., ARCULEO M., PARRINELLO N., RIZZO P. (2004) - Genetic and morphometric variation of Mediterranean hake, *Merluccius merluccius*, in the Strait of Sicily (Central Mediterranean). *It. J. Zool.*, **71**: 165-170.
- LO BRUTTO S., ARCULEO M., MAURO A., SCALISI M., CAMMARATA M., PARRINELLO N. (1998) - Allozymic variation in Mediterranean hake, *Merluccius merluccius*, (Gadidae). *Ital. J. Zool.*, **65** (Suppl.): 49-52.
- LO BRUTTO S., ARCULEO M., PARRINELLO N. (2004) - Congruence in genetic markers used to describe Mediterranean and Atlantic populations of European hake (*Merluccius merluccius* L. 1758). *J. Appl. Ichthyology*, **20**: 81-86.
- LUNDY C.J., MORAN P., RICO C., MILNER R.S., HEWITT G.M. (1999) - Macrogeographical population differentiation in oceanic environments: a case study of European hake (*Merluccius merluccius*), a commercially important fish. *Mol. Ecol.*, **8**: 1889-1898.
- MAMURIS Z., APOSTOLIDIS A.P., TRIANTAPHYLLIDIS C. (1998) - Genetic protein variation in red mullet (*M. barbatus*) and striped red mullet (*M. surmuletus*) populations from Mediterranean sea. *Mar. Biol.*, **130**: 353-360.
- MANEL S., SCHWARTZ M.K., LUIKART G., TABERLET P. (2003) - Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evol.*, **18**: 189-197.
- ORSI RELINI L., PAPAConstantinou C., JUKIC-PELADIC S., COUPLET A., DE SOLA L. G., PICCINETTI C., KAVADAS S., ROSSI M. (2002) - Distribution of the Mediterranean hake populations (*Merluccius merluccius smiridus* Rafinesque, 1810) (Osteichthyes: Gadiformes) based on six years monitoring by trawl-surveys: some implications for management. *Sci. Mar.*, **66** (Suppl. 2): 21-38.
- RAYMOND M., ROUSSET F. (1995) - GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity*, **86**: 248-249.
- ROLDAN M.I., GARCIA-MARTIN J.L., UTTER F.M., PLA C. (1998) - Population genetic structure of hake, *Merluccius merluccius*. *Heredity*, **81**: 327-334.
- TORTONESE E. (1975) - *Fauna d'Italia*, vol. XI. *Osteichthyes, parte II*. Calderini Ed., Bologna.

Ricerca parzialmente finanziata con fondi POR-Sicilia 2000/06, progetto cod. 1999. IT.16.1.011/4.17b/8.3.7/0006 e con fondi dell'Università degli Studi di Palermo (ex 60%).

M. CAFFARA, D. FLORIO, A. GUSTINELLI, M.L. FIORAVANTI

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna,
Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
monica.caffara@unibo.it

DIAGNOSTICA MOLECOLARE DELLE MALATTIE DEI PESCI CON PARTICOLARE RIFERIMENTO ALLE MIXOSPORIDIOSI

MOLECULAR DIAGNOSIS OF FISH DISEASES WITH PARTICULAR REFERENCE TO MYXOSPORIDIOSIS

Abstract - *Developments in molecular biology have led to a rapid growth in new methods for diagnosing fish diseases. Identification of parasitic infections still, as traditionally, relies on skilled and experienced microscopists and traditional taxonomy is vital in the study of Parasitology. Nevertheless, novel methods can make important contributions to the taxonomy, diagnosis and screening for parasitic infections.*

Key-words: *molecular diagnosis, fish diseases, parasitic diseases, Myxozoa.*

In linea generale, prima dell'avvento delle tecniche molecolari, la diagnosi delle malattie dei pesci si basava principalmente sull'isolamento dell'agente eziologico, e sua identificazione su base morfologica/fenotipica, oppure mediante esami istologici e sierologici. L'impiego della diagnostica molecolare ha permesso invece di poter determinare direttamente l'agente eziologico implicato attraverso l'evidenziazione del suo materiale genetico e di estendere così la diagnosi anche a quegli organismi per i quali l'isolamento non era possibile o per cui non erano disponibili tecniche diagnostiche tradizionali affidabili (Cunningham, 2002). Considerando l'elevata specificità di queste metodiche è inoltre possibile determinare la presenza di polimorfismi o mutazioni relazionando così le caratteristiche genotipiche quelle fenotipiche (Cunningham, 2002). Nel caso delle malattie parassitarie, l'applicazione delle tecniche parassitologiche tradizionali (Gibson, 1992; Monis, 1999) risulta ancora di fondamentale importanza, anche se l'impiego della biologia molecolare è in grado di fornire un importante supporto soprattutto per quanto riguarda gli studi tassonomici ed epidemiologici. A tutt'oggi il gene che viene più largamente impiegato per la diagnostica delle malattie parassitarie in acquacoltura è rappresentato dal DNA ribosomale (rDNA). Questo gene è infatti un ottimo target in quanto presente in multicopia, organizzato in *tandem repeat* lungo il genoma ed altamente conservato, permette l'impiego di primers universali per l'amplificazione (Medlin *et al.*, 1988). La sequenza di questo gene mostra inoltre la presenza di zone variabili che possono essere sfruttate per assegnare gli organismi ad un livello tassonomico specifico (Gasser e Hoste, 1995; Hershkovitz e Lewis, 1996; Kent *et al.*, 1998; Zhu *et al.*, 1998; Andree *et al.*, 1999a,b). A tal proposito appare interessante sottolineare come, anche se molti gruppi tassonomici sono facilmente identificabili in base a criteri morfologici e morfometrici, per altri l'identificazione su base morfologica risulta estremamente indaginosa in quanto i caratteri tassonomici di specie sono difficilmente distinguibili (Cunningham, 2002).

Un esempio dell'importanza di associare le tecniche parassitologiche tradizionali a quelle molecolari è rappresentato dall'approccio diagnostico alle mixosporidiosi, malattie parassitarie sostenute da organismi del phylum Myxozoa.

I Myxozoa sono metazoi endoparassiti obbligati di invertebrati, prevalentemente Anellidi e Briozoi, e vertebrati, generalmente pesci e più raramente rettili (Eiras, 2005; Garner *et al.*, 2005), uccelli (Bartholomew *et al.*, 2008, in press), anfibi (Jirku *et al.*, 2006) e mammiferi (Kent *et al.*, 2001; Prunescu *et al.*, 2007). La classificazione di questi parassiti è stata ed è tutt'ora molto controversa. Il phylum Myxozoa è rimasto

suddiviso in due classi, Myxosporea e Actinosporea, fino ai primi anni '90, quando vennero recepite le indicazioni fornite da Wolf e Markiv (1984) riguardo alle fasi di sviluppo di questi parassiti negli ospiti vertebrati e invertebrati.

Gli autori dimostrarono infatti che gli appartenenti alle due classi non erano altro che diversi stadi di sviluppo dello stesso parassita e che il ciclo biologico si realizzava con una alternanza tra due ospiti: uno invertebrato in cui avviene la riproduzione sessuata con la formazione di "actinospore" e uno vertebrato (prevalentemente pesci) in cui avviene quella asessuata che esita nella formazione di "mixospore". Da allora questo tipo di alternanza è stata dimostrata in circa 25 specie che parassitano pesci d'acqua dolce (Kent *et al.*, 2001) e recentemente anche per alcune specie dei pesci marini (Koie *et al.*, 2004; Bartholomew *et al.*, 2006). Attualmente sono state descritte circa 2200 specie appartenenti a 65 generi negli ospiti vertebrati (mixospore) e 18 gruppi collettivi in quelli invertebrati (actinospore) (Dyková e Lom, 2007). L'identificazione di entrambi gli stadi di sviluppo si basa principalmente sulla morfologia delle spore (Lom e Arthur, 1989; Lom e Dyková, 1992; 2006), specificità d'ospite e, solo nel caso delle mixospore, tropismo tissutale (Molnár, 1994, 2002). Nonostante Lom e Arthur (1989) e Lom *et al.* (1997) abbiano fornito delle chiavi identificative dettagliate per meglio uniformare l'identificazione dei due stadi di sviluppo, questi parassiti sono caratterizzati da una variabilità morfologica e morfometrica intraspecifica che rende l'identificazione morfologica a livello di specie piuttosto indaginosa se non supportata dalle indagini molecolari. Studi condotti sulla SSU rDNA (18S rDNA) hanno evidenziato che il phylum Myxozoa è separato dal punto di vista filogenetico in due *clade* ben distinti, non in base alla morfologia delle spore, ma a seconda dell'habitat dei loro ospiti, marino e dulciacquicolo. I *subclade* invece raggruppano generi diversi a seconda della localizzazione nell'ospite, indipendentemente dalla morfologia della spora, distinguendo così specie celozoiche, a tropismi intraluminale e specie istozoiche a localizzazione tissutale extracellulare o intracellulare. Interessante appare anche il fatto che, dal punto di vista filogenetico, specie appartenenti allo stesso genere (con spore identiche morfologicamente) possano essere separate o, per contro, differenti generi possano raggrupparsi in uno stesso cluster (Lom e Dyková, 2006). Attualmente le indagini molecolari condotte su questo phylum sono volte principalmente a svelare il loro complesso ciclo biologico, il range di ospiti e l'alternanza dei due stadi di sviluppo. Quest'ultimo punto risulta particolarmente interessante in quanto la morfologia delle due forme mixosporea (vertebrato) / actinosporea (invertebrato) è completamente differente e quindi solo attraverso l'analisi genetica può essere possibile stabilire una relazione tassonomica.

Ad esempio applicativo verrà di seguito descritto un episodio di mixosporidiosi muscolare osservata in pesci rossi (*Carassius auratus auratus*) allevati sul territorio nazionale con ricostruzione del ciclo biologico dell'agente eziologico attraverso identificazione della fase actinosporea nell'ospite invertebrato.

Macroscopicamente i pesci presentavano due neoformazioni ellissoidali circoscritte alla zona posteriore della testa. L'esame microscopico del contenuto delle lesioni evidenziava la presenza di spore riferibili morfologicamente a parassiti Myxozoa ed in particolare al genere *Myxobolus*. Le spore sono state quindi sottoposte ad identificazione molecolare amplificando il 18S rDNA mediante PCR e successivo sequenziamento. La comparazione mediante BLAST della sequenza ottenuta ha restituito il 99,4% di identità con *Myxobolus lentisuturalis* Dyková, Fiala and Nie, 2002, descritto in Cina in prussian carp (*Carassius gibelio*) e mai segnalato in Italia. Nel contempo, al fine di definire il ciclo biologico del parassita ed identificare l'eventuale l'ospite alternato presente nell'ambiente in studio, si è proceduto a raccogliere dalle vasche di allevamento organismi bentonici con particolare riferimento ad anellidi. Gli invertebrati venivano posti singolarmente in piastre da colture cellulari a 6 pozzetti in acqua dechlorinata

(Yokoyama *et al.*, 1991) ed osservati al microscopio invertito ogni 3 giorni per circa 2 mesi, per verificare l'eventuale liberazione di actinospore. Dopo circa 15 giorni in alcuni pozzetti si è osservata la presenza di actinospore che sono state identificate su base morfologica come appartenenti al gruppo collettivo Raabeia-type. Parallelamente gli oligocheti presenti nei pozzetti positivi sono stati sottoposti ad identificazione, risultando appartenente alla specie *Branchiura sowerbyi*. La PCR e il sequenziamento condotto sulle Raabeia-type ha restituito una identità del 100% con *M. lentisuturalis*, individuando in *B. sowerbyi* l'ospite alternato di questa specie di Myxozoa nell'ambiente in studio. Sebbene queste osservazioni vadano supportate da prove d'infezione sperimentale in laboratorio, i risultati ottenuti hanno permesso di individuare gli ospiti alternati del parassita nelle nostre realtà di allevamento. Questo aspetto risulta di particolare importanza per l'applicazione di procedure di profilassi e controllo delle mixosporidiosi, verso le quali non sono a tutt'oggi conosciuti mezzi efficaci di terapia.

Bibliografia

- ANDREE K.B., EL-MATBOULI M., HOFFMAN R.W., HEDRICK R.P. (1999a) - Comparison of 18S and ITS-1 rDNA sequences of selected geographic isolates of *Myxobolus cerebralis*. *Int. J. Parasitol.*, **29**: 771-775.
- ANDREE K.B., SZEKELY C., MOLNAR K., GRESOVIAC S.J., HEDRICK R.P. (1999b) - Relationships among members of the genus *Myxobolus* (Myxozoa: Bivalvidae) based on small subunit ribosomal DNA sequences. *J. Parasitol.*, **85**: 68-74.
- BARTHOLOMEW J.L., ATKINSON S.D., HALLETT S.L. (2006) - Involvement of *Manayunkia speciosa* (Annelida: Polychaeta: Sabellidae) in the life cycle of *Parvicapsula minibicornis*, a myxozoan parasite of Pacific salmon. *J. Parasitol.*, **92**: 742-748.
- CUNNINGHAM C.O. (2002) - Molecular diagnosis of fish and shellfish diseases: present status and potential use in disease control. *Aquaculture*, **206**: 19-55.
- DYKOVÁ I., LOM J. (2007) - Comments on the recent knowledge and some of the topics to be solved in the research on Myxozoa. *Parassitologia*. 7th International Symposium on Fish Parasites. Viterbo (Italy). 24th - 28th September 2007, **49** (Suppl. 2): 146 pp.
- EIRAS J.C. (2005) - An overview on the myxosporean parasite in amphibians and reptiles. *Acta Parasitol.*, **50**: 267-275.
- GARNER M.M., BARTHOLOMEW J.L., WHIPPS C.M., NORDHAUSEN R.W., RAITI P. (2005) - Renal myxozoanosis in Crowned River turtles *Hardella thurjii*: description of the putative agent, *Myxidium hardella* n. sp. by histopathology, electron microscopy, and DNA sequencing. *Vet. Pathol.*, **42**: 589-595.
- GASSER R.B., HOSTE H. (1995) - Genetic markers for closely-related parasitic nematodes. *Mol. Cell. Probes*, **9**: 315-320.
- GIBSON D.I. (1992) - Helminth parasites of aquatic organisms: taxonomic problems. *Bull. Scand. Soc. Parasitol.*, **2**: 58-67.
- HERSHKOVITZ M.A., LEWIS L.A. (1996) - Deep-level diagnostic value of the rDNA-ITS region. *Mol. Biol. Evol.*, **13**: 1276-1295.
- JIRKŮ M., BOLEK M.G., WHIPPS C.M., JANOVY J., KENT M.L., MODRÝ D. (2006) - A new species of *Myxidium* (Myxosporae: Myxidiidae), from the western chorus frog, *Pseudacris triseriata triseriata*, and Blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi* (Hylidae) from eastern Nebraska USA: morphology, phylogeny and critical comments on amphibian *Myxidium* taxonomy. *J. Parasitol.*, **92**: 611-619.
- KENT M.L., ANDREE K.B., BARTHOLOMEW J.L., EL-MATBOULI M., DESSER S.S., DEVLIN R.H., FEIST S.W., HEDRICK R.P., HOFFMANN R.W., KHATTRA J., HALLETT S.L., LESTER R.J.G., LONGSHAW M., PALENZEULA O., SIDDALL M.E., XIAO C. (2001) - Recent Advances in Our Knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot. Microbiol.*, **48**: 395-413.
- KENT M.L., KHATTRA J., HERVIO D.M.L., DEVLIN R.H. (1998) - Ribosomal DNA sequence analysis of isolates of the PKX myxosporean and their relationship to members of the genus *Sphaerospora*. *J. Aquat. Anim. Health*, **10**: 12-21.
- KOIE M., WHIPPS C.M., KENT M.L. (2004) - *Ellipsomyxa gobii* (Myxozoa: Ceratomyxidae) in the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei: Gobiidae) uses *Nereis* spp. (Annelida: Polychaeta) as invertebrate hosts. *Folia Parasitol.*, **51**: 14-18.

- LOM J., ARTHUR J.R. (1989) - A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporidia. *J. Fish Dis.*, **12**: 151-156.
- LOM J., DYKOVÁ I. (1992) - *Protozoan Parasites of Fishes*. Elsevier, New York: 315 pp.
- LOM J., DYKOVÁ I. (2006) - Myxozoan genera: definition and note on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol.*, **53**: 1-36.
- LOM J., MCGEORGE J., FEIST S.W., MORRIS D., ADAMS A. (1997) - Guidelines for the uniform characterisation of the actinosporean stages of parasites of the phylum Myxozoa. *Dis. Aquat. Org.*, **30**: 1-9.
- MEDLIN L., ELWOOD H.J., STICKEL S., SOGIN M.L. (1988) - The characterisation of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*, **71**: 491-499.
- MOLNÁR K. (1994) - Comment on the host, organ and tissue specificity of fish myxosporidia and on the type of their intrapiscine development. *Parasit. Hung.*, **27**: 5-20.
- MOLNÁR K. (2002) - Site preference of myxosporidia spp. on the fins of some Hungarian fish species. *Dis. Aquat. Org.*, **52**: 123-128.
- MONIS P.T. (1999) - The importance of systematics in parasitological research. *Int. J. Parasitol.*, **29**: 381-388.
- PRUNESCU C.C., PRUNESCU P., PUCEK Z., LOM J. (2007) - The first finding of myxosporidian development from plasmodia to spores in terrestrial mammals: *Soricimyxum fegati* gen. et sp. n. (Myxozoa) from *Sorex araneus* (Soricomorpha). *Folia Parasitol.*, **54**: 159-164.
- YOKOYAMA H., OGAWA K., WAKABAYASHI H. (1991) - A new collection method of actinosporeans - a probable infective stage of myxosporidia to fishes - from tubificids and experimental infection of goldfish with the actinosporean *Raabeia* sp. *Fish Pathol.*, **26**: 133-138.
- ZHU X., GASSER R.B., PODOLSKA M., CHILTON N.B. (1998) - Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *Int. J. Parasitol.*, **28**: 1911-1921.

R. CANNAS, P. PASOLINI¹, C. MANCUSI², M.C. FOLLESA, S. CABIDDU,
F. HEMIDA³, F. SERENA², F. TINTI¹

Dip. Biologia Animale ed Ecologia, Univ. di Cagliari, Viale Poetto, 1 - 09126 Cagliari, Italia.
rcannas@unica.it

¹Dip. BES., Università di Bologna, Italia.

²ARPAT, Livorno, Italia.

³ISMAL, Algeri, Algeria.

DISTRIBUZIONE, SISTEMATICA MOLECOLARE E FILOGEOGRAFIA DI *RAJA POLYSTIGMA* E *RAJA MONTAGUI* NEL MEDITERRANEO

DISTRIBUTION, MOLECULAR SYSTEMATICS AND PHYLOGEOGRAPHY OF RAJA POLYSTIGMA AND RAJA MONTAGUI IN THE MEDITERRANEAN

Abstract – Molecular genetic analyses samples of the two skate species *Raja polystigma* and *Raja montagui* from the Mediterranean and Atlantic allowed to describe their differential distribution; *R. polystigma* results present and abundant only in the whole Central-Western Mediterranean basin, while *R. montagui* is retrieved both in Mediterranean, exclusively its Westernmost area (Algerian basin) and in the Atlantic. The finding in *R. polystigma* of several mitochondrial haplotypes, some confined to specific areas, could indicate the possible existence of separated populations within the Mediterranean, to be confirmed by further genetic studies.

Key-words: DNA, *Raja polystigma*, *Raja montagui*, *Rajidae*, zoogeography.

Introduzione – Nella fauna marina mediterranea sono conosciute almeno 15 specie appartenenti ai Rajidae (Rajiformes, Elasmobranchii), tra queste ben 2 (*Raja polystigma* e *L. melitensis*) sono endemiche, *R. asterias* e *R. radula* possono essere considerate tali (Serena, 2005). Sempre più spesso è stato segnalato un rischio di declino e di estinzione locale per queste specie (Dulvy *et al.*, 2003). Poiché i caratteri morfo-anatomici diagnostici per l'identificazione specifica appaiono talora inadeguati e fuorvianti (Tinti *et al.*, 2003), l'obiettivo del presente lavoro è di utilizzare marcatori molecolari per l'identificazione degli individui delle due specie *Raja polystigma* Regan, 1923 e *R. montagui* Fowler, 1910, caratterizzate da caratteri morfo-anatomici e areali apparentemente sovrapposti (Stehmann e Burkel, 1984; Serena, 2005) e di definire la loro distribuzione e zoogeografia.

Materiali e metodi – Il campionamento delle due specie è stato condotto tra il 2001 e il 2007 in 5 aree del Nord-Est Atlantico (Mare d'Irlanda) e della parte centro-occidentale del Mediterraneo (coste Algeria, Sardegna, Tirreno settentrionale e Adriatico). Per ciascun individuo è stato estratto il DNA genomico, amplificati e sequenziati due frammenti mitocondriali ipervariabili dei geni 16S rDNA (16S, 240 paibasi circa) e regione di controllo (CR, 360 paibasi circa). Le coppie di primer e le condizioni di reazione utilizzate sono riportate in Valsecchi *et al.* (2005). Le sequenze nucleotidiche sono state allineate e sono stati identificati gli aplotipi utilizzando il software DNASP 4.0. Le relazioni filogenetiche tra gli aplotipi sono state ricostruite applicando il metodo Neighbor Joining con il software MEGA 3.01 ed il metodo Kimura-2-parametri. Il supporto statistico delle relazioni filogenetiche è stato verificato mediante bootstrap (1000 permutazioni). Nelle analisi filogenetiche, le sequenze ortologhe di *R. brachyura* sono state utilizzate come outgroup. Il software ARLEQUIN 3.01 è stato utilizzato per stimare il differenziamento genetico tra i campioni geografici di *R. polystigma* mediante calcolo degli indici di fissazione Φ_{st} , sia sull'insieme dei campioni che per coppie di campioni.

Risultati – Sono stati analizzati in totale 167 individui (Tab. 1), identificati sulla base dei caratteri morfo-anatomici in uso (Stehmann e Burkel 1984). Tutti gli individui del campione nord-est Atlantico sono stati attribuiti a *R. montagui*, invece, l’assegnazione specifica degli individui mediterranei è risultata problematica in relazione alla grande variabilità dei morfotipi e dei caratteri considerati. Tutti i 167 esemplari sono stati caratterizzati per la variazione nucleotidica del 16S, mentre 159 per la variazione del CR. Dall’analisi del polimorfismo nucleotidico sono stati identificati 11 aplotipi 16S e 21 aplotipi CR (Tab. 1).

Tab. 1 - Distribuzione degli aplotipi mitocondriali nelle cinque aree campionate.

Distribution of the mitochondrial haplotypes in the five samples.

Aplotipi	Mare d’Irlanda	Algeria	Sardegna	Tirreno_E	Adriatico
16SV	N = 27	N = 22	N = 37	N = 74	N = 7
Rmon_H01	27	5			
Rpol_H01		15	19	43	6
Rpol_H02					1
Rpol_H03		1	3		
Rpol_H04		1	4		
Rpol_H05			9	27	
Rpol_H06				1	
Rpol_H07			2	1	
Rpol_H08				1	
Rpol_H09				1	
Rpol_H10				1	
CR	N = 26	N = 21	N = 30	N = 74	N = 8
Rmon_H01	24	5			
Rmon_H02	1				
Rmon_H03	1				
Rpol_H01		6	11	30	6
Rpol_H02					1
Rpol_H03		6	4	13	1
Rpol_H04		3	6		
Rpol_H05		1	1	4	
Rpol_H06				1	
Rpol_H07				2	
Rpol_H08				1	
Rpol_H09			1	4	
Rpol_H10				4	
Rpol_H11				1	
Rpol_H12				1	
Rpol_H13			1	9	
Rpol_H14				1	
Rpol_H15				1	
Rpol_H16				2	
Rpol_H17			4		
Rpol_H18			1		
Rpol_H19			1		

Nell’ambito degli 11 aplotipi 16S, l’aplotipo Rmon_H01 risulta chiaramente differenziato dagli altri 10 aplotipi Rpol (Fig. 1a). L’aplotipo Rmon_H01 è l’unico pre-

sente nel campione proveniente dal Mare d'Irlanda mentre tra i campioni mediterranei si ritrova solo in cinque esemplari del campione Algeria. Gli aplotipi Rpol_H01-H10 si raggruppano nell'albero filogenetico Neighbor-Joining in un unico cluster ben supportato da valori di bootstrap (Fig. 1a; BP=72%). Gli aplotipi Rpol sono ulteriormente suddivisi in due sottogruppi; uno di questi include Rpol_H05, Rpol_H06 e Rpol_H09, presenti solo nei campioni Tirreno settentrionale e costa orientale sarda. Due aplotipi (Rpol_H03 e Rpol_H04) sono stati ritrovati esclusivamente negli individui del campione algerino e della costa occidentale della Sardegna.

Nell'ambito dei 21 aplotipi della regione di controllo CR, 3 aplotipi sono presenti in esemplari atlantici e mediterranei di *R. montagui* (Rmon_H01-03), questi si differenziano notevolmente dagli altri (Rpol_H01-H19), raggruppandosi in un cluster basale ben supportato nell'albero filogenetico Neighbor Joining (Fig. 1b). Nel Mediterraneo si ritrova solo Rmon_H01 (l'aplotipo più comune nel Mare d'Irlanda) limitatamente al campione algerino. I cinque individui che possiedono questo aplotipo CR sono gli stessi individui che possiedono l'aplotipo 16S Rmon_H01.

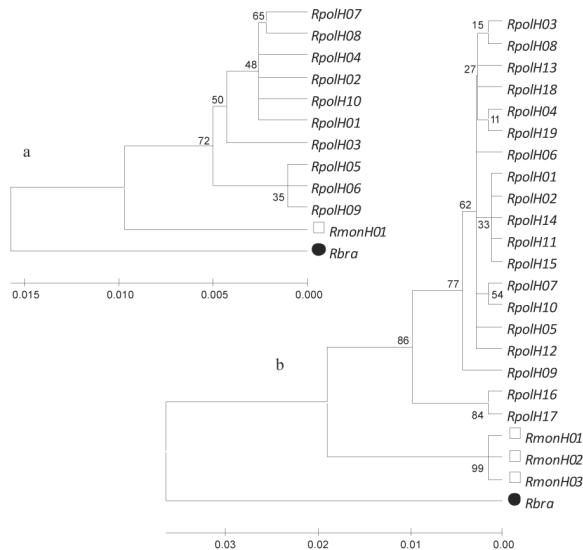


Fig. 1 - Albero filogenetico Neighbor-Joining degli aplotipi mitocondriali del 16S (a) e CR (b). Accanto ai nodi sono riportati i valori di bootstrap. Rbra si riferisce alla sequenza di *Raja brachyura*, usata come outgroup.

*Neighbour-joining phylogenetic tree of the mitochondrial haplotypes for 16S (a) e CR (b). Bootstrap values are indicated near the nodes. Rbra refers to the sequence of *Raja brachyura*, used as outgroup.*

I restanti 19 aplotipi CR (Rpol_H01-H19) formano un cluster ben supportato (BP=86%). L'aplotipo CR Rpol_H01 è dominante in tutti i campioni mediterranei, ad eccezione del campione Algeria. L'aplotipo Rpol_H04 è presente esclusivamente nei campioni algerini e sardi occidentali, mentre Rpol_H13 è esclusivo di Tirreno settentrionale e Sardegna orientale.

Nell'ambito dei campioni mediterranei ascrivibili alla specie *R. polystigma* (formati dagli individui portanti gli aplotipi Rpol 16S e CR), i due marcatori mitocondriali analizzati sembrano dare indicazioni diverse per il differenziamento genetico dei campioni. L'analisi degli indici Φ_{st} , basata sul 16S, indica un generale differenziamento genetico tra i campioni ($\Phi_{st\ TOTAL} = 0,089$; $P = 0,001$) e, tra i confronti a coppie, il Φ_{st} Tir-

reno settentrionale - Algeria e Tirreno settentrionale - Adriatico risultano significativi ($\Phi_{st} = 0,188$ $P < 0,01$ e $\Phi_{st} = 0,16087$ $P < 0,05$ rispettivamente). Tuttavia, se si scompone il campione sardo in individui della costa occidentale ed orientale, risulta significativo anche il valore di Φ_{st} tra Tirreno settentrionale-Sardegna occidentale ($\Phi_{st} = 0,2203$; $P < 0,01$). Per quanto riguarda la regione di controllo, $\Phi_{st\ TOTAL} = 0,02989$ ($P = 0,05$) è risultato significativo ma con un valore più basso, mentre nessuno dei confronti a coppie basati sul CR risulta significativo.

Conclusioni – L'analisi molecolare condotta su un numero rilevante di individui e campioni geografici del Mediterraneo Occidentale ha permesso di definire la distribuzione delle due specie. *Raja montagui*, che sulla base della bibliografia sarebbe diffusa nell'Atlantico Nord-Orientale e in tutto il Mediterraneo, è stata ritrovata nel Mediterraneo Occidentale ma limitatamente alle coste algerine. In Algeria sono stati trovati gli unici individui caratterizzati dal possedere aplotipi 16S e CR del tipo Rmon. Non si conosce la precisa localizzazione delle catture algerine dato che i campioni, collezionati presso la Poissonerie di Algeri, derivano da aree di pesca orientale e occidentale del bacino algerino (F. Hemida, comunicazione personale). È verosimile che *R. montagui* sia presente principalmente lungo le coste occidentali dell'Algeria (Hemida, 2005). *R. polystigma* sembra occupare tutta la parte centro occidentale del Mediterraneo, dall'Algeria fino all'Adriatico dove però rappresenta una piccola porzione delle catture. Questa specie include linee evolutive mitocondriali area-specifiche facendo ipotizzare l'esistenza di popolazioni caratterizzate dalla conservazione di polimorfismi mitocondriali ancestrali misti a linee mitocondriali più recenti. Questo scenario zoogeografico ed evolutivo deve comunque essere confermato da analisi condotte su un numero più ampio di campioni geografici, provenienti anche da altre aree mediterranee (come ad es. il Canale di Sicilia e il Mar Egeo) e atlantiche adiacenti lo stretto di Gibilterra (coste marocchine e iberiche) e dall'applicazione di marcatori nucleari funzionali ad evidenziare eventuali processi di ibridazione interspecifica e/o introgressione genica.

In generale, la divergenza molecolare in specie filogeneticamente vicine e identiche per le caratteristiche morfo-anatomiche suggerisce l'esistenza di specie gemelle e geneticamente politipiche nei Rajidae, come già evidenziato in altri taxa di Elasmobranchi (Quattro *et al.*, 2006).

Bibliografia

- DULVY N.K., SADOVY Y., REYNOLDS J.D. (2003) - Extinction vulnerability in marine populations. *Fish Fisheries*, **4**: 25–64.
- HEMIDA F. (2005) - Les Sélaciens de la côte algérienne: Biosystème des Requins et des Raies; Ecologie, Reproduction et Exploitation de quelques populations captures. Thèse du diplôme de Doctorat d'Etat. USTHB, Alger: 271 pp.
- QUATTRO J.M., STONER D.S., DRIGGERS W.B., ANDERSON C.A., PRIEDE K.A., HOPPMANN E.C., CAMPBELL N.H., DUNCAN K.M., GRADY J.M. (2006) - Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). *Mar. Biol.*, **148**: 1143-1155.
- SERENA F. (2005) - Field identification guide to the sharks and rays of the Mediterranean and Black Sea. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome: 97 pp.
- STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) - Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*. UNESCO, Paris: 163-196.
- TINTI F., UNGARO N., PASOLINI P., DE PANFILIS M., GAROIA F., GUARNIERO I., SABELLI B., MARANO G., PICCINETTI C. (2003) - Development of molecular and morphological markers to improve species-specific monitoring and systematics of Northeast Atlantic and Mediterranean skates (Rajiformes). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **288**: 149–165.
- VALSECCHI E., PASOLINI P., BERTOZZI M., GAROIA F., UNGARO N., VACCHI M., SABELLI B., TINTI F. (2005) - Rapid Miocene - Pliocene dispersal and evolution of Mediterranean rajid fauna as inferred by mitochondrial gene variation. *J. Evol. Biol.*, **18**: 436-446.

L. COLOMBO, P. BELVEDERE, L. DALLA VALLE

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Viale G. Colombo, 3 – 35121 Padova, Italia.
lorenzo.colombo@unipd.it

GENETIC ENGINEERING IN AQUACULTURE: POSSIBILITIES AND LIMITATIONS

TRANSGENESI IN ACQUACOLTURA: POSSIBILITÀ E LIMITAZIONI

Abstract - Growth hormone gene transfer into the germinal line of fish for growth enhancement, though successfully applied in more than thirty species, has been biased by the lack of any commercial application. Emphasis on ecosystemic risk assessment by governmental agencies to establish transgenic fish fitness in nature and lack of full gonadal sterility in transgenic strains for grow-out is to be blamed.

Key-words: fish culture, biotechnology, growth rate, risks, sterility.

Historical background - In the last twenty years, the domestication process of aquatic species has been progressing at an accelerated pace, supported by technological advances that were not even envisaged at the time of the domestication of land plants and animals. According to the last estimate, the number of aquatic animal species entering domestication, already 430, is 10-fold greater than that of all domesticated land animal species, now plateaued at 44 (Duarte *et al.*, 2007).

Lately, the development of recombinant DNA technology by gene transfer into the germinal line has opened the avenue for direct genetic manipulation of domesticated stocks. The announcement of the first fast-growing transgenic fish by Zhu *et al.* (1985) spurred a technological development mainly aimed at enhancing the relatively slow growth rate of cultured fish through the transfer of growth hormone (GH)-encoding constructs. GH-transgenic fish of more than thirty teleost species were typically shown to grow 2-11-fold faster than controls, to attain better feed conversion into protein and to require less water and energy to reach market size, while mostly retaining an essentially normal appearance.

Moreover, researchers have soon adopted a rather conservative approach, resorting to all-fish constructs or autotransgenesis, in which both the promoter and the encoding portion of the transgene were derived from the recipient or closely related species. Since the overall protein profile of GH-autotransgenic fish is qualitatively equivalent to that of nontransgenic fish, food safety issues for consumers are presently deemed to be negligible (Devlin *et al.*, 2006). Even advocates of the most strict controls over the approval of applications for the mass culture of GH-transgenic fish concede that they may be important to meet future food demands, especially in the developing world (Logar and Pollock, 2005; Stokstad, 2002), in accordance with FAO forecast (Bartley, 1999). These needs are tremendously urgent, because the world population is presently increasing at the rate of half billion people every 6 years!

Ecosystemic risk assessment - To-day, however, the balance of the extensive genetic engineering endeavour in fish is not fortunate, facing the paradox of a long list of considerable technical achievements biased by the lack of any commercial application. Only a side-line concoction, glowing-in-the-dark zebrafish and medaka, branded with green or red fluorescent protein (GFP and RFP) genes, has entered the market, joyfully welcome by Time magazine as one of the coolest inventions in 2003. Compliance with the requirement of substantial nutritional equivalence (lacking in transgenic crops that are expanding at the present rate of about 10% per year) was not enough to approve the commercial farming of fast-growing transgenic fish, because they failed

the scrutiny, mainly articulated in the realm of possible risks, about their ecosystemic compatibility and safety.

The assessment of the ecosystemic risks posed by fertile transgenic escapees from fish farms means to ascertain, on a case-by-case basis, the probability that they may establish a permanent population in the wild (fitness estimate), the level of harm imposed on recipient biocommunities (biodynamic impact estimate) and, in the presence of feral conspecifics, the degree and consequences of their transgenic contamination by crossbreeding (genetic impact estimate). The whole procedure should be intended as a continuously evolving task to be performed under a wide range of experimental conditions and sites, in relation to possible habitat heterogeneity, seasonal fluctuations of ecosystemic dynamics, and the potential plasticity of the phenotypic effects of the transgene.

The applicability of field tests as the fundamental step in risk assessment, however, is troublesome. Apart from the difficulty to accurately parameterize the innumerable biological and ecological interactions that may influence the survival and reproduction of fertile transgenic fish in the wild, the irresolvable predicament is that fish tested in natural ecosystems are essentially unrecoverable, while tests in secluded environments, like semi-natural mesocosms or laboratory microcosms, are of limited significance due to their arbitrary constraints. Analogously, mathematical modelling may predict some general consequences under certain assumptions that are just as arbitrary.

On these grounds, no wonder that the determination of the real natural fitness of transgenic fish is considered a momentous task (Devlin *et al.*, 2006) with enormous costs, feeble chances of success, and actually a sort of mission impossible. Equally daunting is the forecasting of the possible outcomes of transgenic contamination of wild populations. Because estimates deduced from experimental tests would have at best contingent validity and limited predictive capacity, advisory scientific panels and governmental agencies in charge of evaluating commercial applications were necessarily bound to enforce the most rigorous versions of the precautionary principle, thus opting for endless moratoria.

A point to be considered is that genetic contamination of wild fish by a transgene is not equivalent to native gene passage by introgressive hybridization between varieties or species. Not only because transgenes are not “true” genes, as their non-coding sequences are often simplified to ensure a specific transcription with minimal genetic interplay within the harbouring genome. Such design reflects a convenient reductionistic approach to jump start a trait without progressing holistically through the careful accumulation of small genetic gains acquired by selection along multiple generations. But the most important aspect is that transgenes and transgenic fish are proprietary items that can be patented and are contoured by property rights, licensing agreements and liability for caused damages. This levies unprecedented responsibility for unforeseen ecosystemic harm on the applying firm, in much the same way as a patented drug does. For this reason, fertile transgenic fish are *not* a useful invention, because applicants would be obliged not only to sustain the investments for the onerous risk assessment procedure, but also to account for unpredicted environmental damages. Moreover, their property rights would be exposed to infringement, as competing enterprises might be tempted to exploit escapees for parallel productions, unless objected on expensive legal terms.

Requirement of complete reproductive sterility - In order for GH-transgenic fish to be not only an impressive laboratory invention, but also a commercial innovation applicable in the context of fish culture, the obvious conclusion is to solve the problem of how to maintain fertility in transgenic spawners in order to perpetuate a transgenic line, while securing complete reproductive sterility in transgenic fish for grow-out. It

is surprising that private companies interested in developing transgenic fish culture for commercial purposes have not already satisfied this requirement as a top priority to ensure full market control on their products, without the risks of being sued at later times for transgenic contaminations. Apparently, the rush in the implementation of gene transfer in agriculture instigated the belief that the same trend was possible in fish culture. This disregards the fact that complete sterility is an additional obligation for on-growing transgenic fish not only to safeguard wildlife, but also to justify financial investments in this kind of enterprise. Hence, concern about environmental safety and the pursuing of company profitability not always are such contrasting factors, as often surmised (Stokstad, 2002).

Sterility by gonadal disgenesis or gametogenic failure is a parameter that can be easily and routinely monitored in the fish farm and be certified by inspectors. However, ensuring 100% sterility in cultured transgenic stocks is not a simple task. Use of sterilization techniques having less than 100% efficiency, like triploidy induction by pressure or heat shocks, is not at all satisfactory, given the large number of fish that may accidentally escape from aquaculture facilities and the great reproductive potential of fish. This explains the persistent postponement by the Food and Drug Administration of the approval of the application filed in 1996 by AquaBounty Farms in Waltham, Massachusetts, USA, to commercially produce its patented AquAdvantage salmon, a fast-growing GH-transgenic Atlantic salmon, despite the claim that it would be sterile by triploidization.

To overcome the impasse, a promising strategy could be to combine triploidy induction with other techniques in order to fill up the gap in its per cent effectiveness. Several approaches are worth to be thoroughly investigated, like allotriploidization of transgenic hybrids from systematically distant species, as in intergeneric hybridization, which are sterile already in the diploid condition owing to the unsuccessful pairing of chromosomes at meiosis (Colombo *et al.*, 1998). Good candidates are a number of sterile hybrids adopted for aquaculture for their superior growth rate with respect to the parental species (Bartley *et al.*, 1997).

Similar to this double sterility approach would be the transfer of an additional transgene with a vitellogenin promoter driving the expression of the enzyme thiaminase to induce thiamine deficiency in order to compromise the viability of the few diploid females residual in all-female triploid stocks at the onset of follicular estrogen secretion (Devlin *et al.*, 2006). Broodstock would retain fertility by being fed an excess of the vitamin. Promising would be also the application of transgenesis to induce RNA interference by dsRNA, rather than by antisense RNA, to knock-down GnRH synthesis, thus preventing gonadal maturation. This line of research is also to be recommended to mitigate genetic impacts on aquatic fauna by conventional fish farming.

Conclusions - Whatever the best solution, a point is worth remarking. It would be disgraceful to dismiss gene transfer technology as inapplicable to fish culture, just because the first attempts have been inadequate. Some people got rightly alarmed or irritated because of this, but their criticism should be interpreted as a positive force for technological improvement, rather than as an ideological effort to dump technological progress. This is a time when the list of sequenced genomes is starting to include teleost species, structural genomics is rapidly converting into functional genomics, where the function of each gene is pointed out, and is further evolving into integrative genomics, where genes behave as interconnected nodes within the dynamic integration of the genomic network.

In the past, geneticists have made wonders by platonically gazing at the shadows of genes as reflected in the realized phenotypes. Now, we have the privilege of admiring life in full shining, diving into miniaturized landscapes in motion, reading and

understanding the ultimate alphabet in which the book of all creatures is written. The emerging language is very complicated and our initial articulations are still guttural sounds, but we can learn the respect for complexity, appreciate and expand the gift of our reasoning, enjoy the flowing of novel living beings from our hands, while assuming better responsibility in satisfying our needs.

References

- BARTLEY D.M. (1999) - International instruments for the responsible use of genetically modified organisms. *FAO Aquaculture Newsletter*, **23**: 11-16.
- BARTLEY D.M., RANA K., IMMINK A.J. (1997) - The use of interspecies hybrids in aquaculture and their reporting to FAO. *The FAO Aquaculture Newsletter*, **17**: 7-13.
- COLOMBO L., BARBARO A., FRANCESCON A., LIBERTINI A., BORTOLUSSI M., ARGENTON F., DALLA VALLE L., VIANELLO S., BELVEDERE P. (1998) - Towards an integration between chromosome set manipulation, intergeneric hybridization and gene transfer in marine fish culture. *Cahiers Opt. Méditerran.*, **34**: 77-122.
- DEVLIN R.H., SUNDSTRÖM L.F., MUIR W.M. (2006) - Interface of biotechnology and ecology for environmental risk assessments of transgenic fish. *Trends Biotechnol.*, **24**: 89-97.
- DUARTE C.M., MARBÁ N., HOLMER M. (2007) - Rapid domestication of marine species. *Science*, **316**: 382-383.
- LOGAR N., POLLOCK L.K. (2005) - Transgenic fish: is a new policy framework necessary for a new technology? *Environ. Sci. Policy*, **8**: 17-27.
- STOKSTAD E. (2002) - Engineered fish: friend or foe of the environment? *Science*, **297**: 1997-1999.
- ZHU Z., LI G., HE L., CHEN S. (1985) - Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *J. Appl. Ichthyol.*, **1**: 31-34.

R. DENARO, F. CRISAFI, M. YAKIMOV, L. GENOVESE

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero CNR Sezione di Messina,
Spianata S.Raineri, 86 – 98123 Messina, Italia.
renata.denaro@iamc.cnr.it

ESPRESSIONE DEI GENI DEPUTATI ALLA VIRULENZA IN RISPOSTA A STRESS AMBIENTALI NEL PATOGENO *LISTONELLA ANGUILLARUM*

EXPRESSION OF VIRULENCE GENES IN RESPONSE TO ENVIRONMENTAL STRESS IN THE PATHOGEN LISTONELLA ANGUILLARUM

Abstract – *Listonella anguillarum* causes high mortality of fish reared in aquaculture. In this study the expression of genes identified as responsible for virulence were observed during environmental changes in order to better understand the mechanisms that trigger the virulence strains in the pathogen facultative *Listonella anguillarum*.

Key-words: *Listonella anguillarum*, gene expression, virulence, environmental changes.

Introduzione – Il patogeno *Listonella anguillarum* viene riportato come causa di severe infezioni che interessano per lo più pesci, bivalvi e crostacei allevati (Austin *et al.*, 1993; Bolinches *et al.*, 1986; Bowser *et al.*, 1981; Mizuki *et al.*, 2006). Viene considerato come un patogeno opportunisto, infatti viene frequentemente determinato insieme alla microflora del tratto intestinale degli organismi ospiti (Sugita *et al.*, 2008), in questa sede può rimanere innocuo oppure, in dipendenza di fattori ambientali, provocare la patologia. Tra i fattori che inducono l'insorgenza o mitigano la virulenza di *Listonella anguillarum* sono stati individuati la temperatura, la salinità e la concentrazione di ferro (Crosa *et al.*, 1980; O'Toole *et al.*, 1996) suggerendo che il controllo e l'ottimizzazione di tali parametri potrebbero reprimere la virulenza ed aiutare la prevenzione delle patologie negli impianti di acquicoltura (Hauton *et al.*, 2000; Chu *et al.*, 1996). È noto inoltre che la variazione di tali parametri può essere causa di stress ed indurre stati fisiologici di quiescenza che non ne consentono la determinazione con metodi colturali.

Gli effetti dei cambiamenti ambientali studiati mediante metodi colturali e molecolari hanno evidenziato che le variazioni di temperatura e salinità influiscono la mobilità del flagello nelle prime fasi dell'infezione, la capacità di crescita ed anche patogenicità, ma non è stata individuata fino ad oggi l'azione esercitata sull'espressione genica del patogeno. Tale informazione consentirebbe di approfondire le conoscenze sui meccanismi di controllo della virulenza nei ceppi patogeni opportunisti ed inoltre potrebbe fornire importanti spunti per la scelta di markers molecolari per una rapida diagnosi sia della presenza di *Listonella anguillarum* che del suo stato di virulenza.

A tal fine è stato effettuato uno studio su due sierotipi di *Listonella anguillarum*, O1 (virulento, il 90% dei ceppi appartenenti a questo sierotipo ospita il plasmide PJM1 della virulenza) ed O3 (ATCC 43307 Soransen *et al.*, 1986 carente del plasmide e considerato non virulento in seguito a test d'infezione) durante l'esposizione a variazioni di salinità, temperatura e concentrazioni di ferro.

Sulla base della letteratura fino ad oggi riportata, i geni individuati come principali responsabili della virulenza di *Listonella anguillarum* sono due plasmidici, *angR* e *fatA* (Di Lorenzo *et al.*, 2003) e sei cromosomici *omp*, *rpoN*, *fur*, *empA*, *toxR*, *tonB*, (Okuda *et al.*, 2001; Bay *et al.*, 2007).

Il gene *angR* codifica per la proteina anguibactina che fa parte del sistema di tra-

sporto del ferro codificato dal plasmide PJM1. Inoltre sembra che il gene *angR* giochi un ruolo importante nella regolazione del gene *fatA*. L'anguibactina, è uno dei siderofori prodotti durante l'infezione che servono a sottrarre il ferro all'ospite e trasferirlo ai trasportatori per consentirne l'uso al patogeno. Il gene *fatA* è anch'esso parte del sistema di uptake del ferro ma la sua funzione è quella di trasporto, così come il gene *tonB* (Stork *et al.*, 2004). L'espressione del gene *fatA* è sottoposta ad un delicato controllo a partire dalla concentrazione stessa del ferro (Waldbeser *et al.*, 1993), un RNA antisense e dal gene *fur* in condizioni di carenza ed eccesso di ferro (Tomalsky *et al.*, 1994). Il gene *toxR*, inizialmente considerato come principale responsabile della virulenza, sembra invece essere implicato nella risposta a cambiamenti ambientali (Okuda *et al.*, 2001). Il gene *omp* codifica per proteine dette porine e sembra avere una funzione nella resistenza dei microrganismi a sostanze dannose, garantisce per esempio la resistenza alla bile (Wang *et al.*, 2003). Il gene *empA* codifica per metalloproteasi che prendono parte al processo di infezione espletando attività proteolitica durante la fase dell'invasione (Denkin *et al.*, 2004). Il gene *rpoN* fa parte dei sigma factors e sembra essere espresso in maniera costitutiva per questo motivo viene considerato gene housekeeping (Gonzalez *et al.*, 2003).

Materiali e metodi – Sono state allestite colture di *Listonella anguillarum* sierotipi O1 ed O3, che venivano coltivati in condizioni ottimali (25 °C, 1% NaCl, 50 µM) in tre diverse condizioni di salinità (contenuto in NaCl 1.5-3-5%), temperatura (15-25-37 °C) e concentrazione di ferro (minima per aggiunta di EDTA, 5 µM ferro cloruro e 10 µM ferro cloruro). Con l'intento di quantificare la reale attività dei geni le analisi sono state effettuate su RNA. Le colture venivano monitorate mediante lettura fotometrica OD_{600nm} ed i campioni per l'estrazione dell'RNA venivano raccolti in triplo durante la fase esponenziale. Un totale di 27 campioni veniva raccolto per ogni sierotipo. La misura dell'espressione genica avveniva mediante analisi quantitativa relativa in *real time pcr*, utilizzando come housekeeping il gene *rpoN*. L'elaborazione dei dati è avvenuta mediante il metodo DDCt che prevedeva la normalizzazione dei risultati sia in relazione al gene di riferimento che alle condizioni ottimali di crescita rispetto alle condizioni di stress. La chimica usata, metodo Syber Green ha previsto delle fasi preliminari di ottimizzazione delle condizioni di reazione.

Il disegno sperimentale della reazione di *real time PCR* prevedeva:

- La valutazione del gene housekeeping come affidabile riferimento per il metodo analitico testato (DDCt). A tal fine sono state effettuate diluizioni seriali del cDNA alle condizioni ottimali di crescita, ciascuna diluizione diveniva template per testare tutti i geni target. Viene considerato positivo il test in cui i geni target danno la stessa efficienza di amplificazione del gene housekeeping.
- La verifica della specificità dei primers: amplicone unico, assenza di dimeri, specificità di sequenza.
- Ottimizzazione della concentrazione dei primers
- Real time pcr
- Elaborazione dei risultati: il valore del ciclo soglia di amplificazione del gene target veniva normalizzato rispetto a quello dell'housekeeping ed il risultato veniva normalizzato rispetto al calibratore che nel nostro caso era costituito dalle condizioni ottimali di crescita dei due ceppi.

Risultati – Il sierotipo O1 di *Listonella anguillarum*, ceppo virulento ha mostrato il seguente comportamento:

alla temperatura di 15 °C è stata registrata una overespressione dei geni *toxR* ed *empA* rispettivamente del 20% e del 50% rispetto al gene costitutivo *rpoN*.

Alla temperatura di 37 °C vengono overespressi i geni plasmidici (*angR* del 40% e

fatA del 30% rispetto al gene housekeeping) e tutti gli altri geni uniformano il trend di espressione a quella dell'housekeeping.

L'aggiunta del 3% di salinità al terreno stimola l'espressione di *toxR*, *angR* e *fatA* con una quantità tre volte superiore rispetto all'espressione basale. L'aumento della salinità fino al 5% favorisce l'espressione di *empA* ed *angR* ed in minima parte *toxR*, mentre reprime *omp*, *fur*, *tonB* e *fatA* per circa il 20% rispetto all'housekeeping. La carenza di ferro ottenuta mediante l'aggiunta di EDTA determina un'overespressione dei geni plasmidici deputati alla cattura e trasporto del ferro, mentre l'aggiunta di quantità crescenti di ferro determina l'aumento dell'espressione del gene *toxR* in un modo dose-dipendente. Il sierotipo O3 ha mostrato un comportamento differente, già visibile dal trend delle curve di crescita del ceppo esposto a variazioni ambientali. Infatti mostrava curve di crescita più basse e sembrava rispondere meno prontamente alle variazioni ambientali. Alla temperatura di 15 °C *toxR*, *tonB* e *fur* venivano overespressi a 37 °C *fur*, *tonB* ed *empA* con una massima espressione di *fur*. L'aumento di salinità sia al 3% che al 5% causava elevatissime espressioni di tutti i geni ed in particolare *fur* che raggiungeva valori fino a 12 volte superiori rispetto al gene di riferimento. L'aggiunta di EDTA stimolava l'espressione di *tonB*, in condizioni di carenza di ferro, mentre l'aggiunta di 5 e 10 µM di ferro reprimeva l'espressione di *tonB* e stimolava prevalentemente l'espressione di *fur* e *toxR*. Dal confronto tra i due sierotipi emerge una differente risposta alle variazioni ambientali con una migliore capacità di reazione allo stress del sierotipo O1 rispetto al sierotipo O3. Data l'assenza del plasmide nel sierotipo O3, l'espressione dei geni deputati alla virulenza non è sovrapponibile eccetto che per alcuni di essi. *toxR* e *tonB* sembrano essere i geni che in entrambi i ceppi rispondono alle variazioni di temperatura, salinità e carenza di ferro. Una espressione differenziale è stata registrata per i geni plasmidici nel sierotipo O1 che rispondono prontamente con elevati picchi di espressione in condizioni di carenza. Le stesse condizioni inducono un aumento nell'espressione dei geni *toxR* ed *omp*. Il sierotipo O3 risponde con *toxR* e *fur* ma in un modo che non è dose-dipendente così come viene registrato per il sierotipo O1.

Conclusioni - In conclusione lo stress che maggiormente causa una espressione differenziale è la carenza di ferro che porta all'aumento dell'espressione dei geni coinvolti nella produzione di siderofori, che in vivo sono deputati alla cattura e trasporto del ferro causando emorragia nei tessuti infetti. Inoltre il gene *fur*, che fino ad oggi veniva indicato come responsabile della virulenza (Tomalsky *et al.*, 1994) regolando l'espressione dei geni plasmidici, sembra avere un ruolo preponderante nel sierotipo O3 che manca del plasmide, nella risposta alle variazioni ambientali.

Bibliografia

- AUSTIN B., AUSTIN D.A. (1993) - *Bacterial Fish Pathogens: Diseases in farmed and wild fish*. 2nd Ed. Chichester, United Kingdom. Ellis Horwood, Ltd.
- BAY L., LARSEN L.J., LEISNER J.J. (2007) - Distribution of three genes involved in the PJM1 iron-sequestering system in various *Vibrio anguillarum* serogroups. *Systematic and Applied Microbiology*, **30**: 85-92.
- BOLINCHES J., TORANZO A.E., SILVA A., BARJA J.L. (1986) - Vibriosis as the main causative factor of heavy mortalities in the oyster culture industry in northwestern Spain. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **6**: 1-4.
- BOWSER P.R., ROSEMARK R., REINER C.R. (1981) - A preliminary report of vibriosis in cultured American lobsters, *Homarus americanus*. *J. Invertebr. Pathol.*, **37** (1): 80-85.
- CHU F.-L.E. (1996) - Laboratory investigations of susceptibility, infectivity, and transmission of *Perkinsus marinus* in oysters. *J. Shellfish Res.*, **15** (1): 57-66.
- CROSA H., HODGES L.L., SCHIEWE M.H. (1980) - Curing of a plasmid is correlated with an attenuation of virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Infect. Immun.*, **27** (3): 897-902.

- DENKIN S.M., NELSON D.R. (2004) - Regulation of *Vibrio anguillarum* *empA* metalloprotease expression and its role in virulence. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**: 4193-4204.
- DI LORENZO M., STORK M., TOLMASKY M., ACTIS L., FARRELL D., WELCH T., CROSA L., WERTHEIMER A., CHEN Q., SALINAS P., WALDBESER L., CROSA J.H. (2003) - Complete Sequence of Virulence Plasmid pJM1 from the Marine Fish Pathogen *Vibrio anguillarum* Strain 775. *J. Bacteriol.*, **185**: 5822-5830.
- GONZALEZ S.F., OSORIO C.R., SANTOS Y. (2003) - Development of a PCR-based methods for the detection of *Listonella anguillarum* in fish tissues and blood samples. *Dis. Aquat. Org.*, **55**: 109-115.
- HAUTON C., HAWKINS L.E., HUTCHINSON S. (2000) - The effects of salinity on the interaction between a pathogen (*Listonella anguillarum*) and components of a host (*Ostrea edulis*) immune system. *Comp. Biochem. Physiol.*, **B 127**: 203-212.
- MIZUKI H., WASHIO S., MORITA T., ITOI S., SUGITA H. (2006) - Distribution of a fish pathogen *Listonella anguillarum* in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* atchery. *Aquaculture Research*, **261**: 26-32.
- OKUDA J., NAKAI T., SE CHANG P., OH T., NISHINO T., KOITABASHI T., NISHIBUCHI M. (2001) - The *toxR* Gene of *Vibrio (Listonella) anguillarum* Controls Expression of the Major Outer Membrane Proteins but Not Virulence in a Natural Host Model. *Infection and immunity*, **143**: 3849-3859.
- O'TOOLE R., MILTON D.L., WOLF-WATZ H. (1996) - Chemotactic motility is required for invasion of the host by the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Microbiol.*, **19**: 625-637.
- SORENSEN U. B. S. LAURITS L.J. (1986) - Serotyping of *Vibrio anguillarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **51**: 593-597.
- STORK M., DI LORENZO M., MOURINO S., OSORIO C.R., LEMOS M.L., CROSA J.H. (2004) - Two *tonB* Systems Function in Iron Transport in *Vibrio anguillarum*, but Only One Is Essential for Virulence. *Infect. Immun.*, **72**: 7326-7329.
- SUGITA H., MIZUKI H., ITOI S. (2008) - Prevalence of a fish pathogen, *Listonella anguillarum*, in the intestinal tract of fish collected off the coast of Japan. *Aquaculture Research*, **39** (1): 103-105.
- TOMALSKY M.E., WERTHEIMER A.M., ACTIS L.A., CROSA J.H. (1994) - Characterization of the *Vibrio anguillarum fur* gene: role in regulation of expression of the FatA outer membrane protein and catechols. *J. Bacteriol.*, **176**: 213-220.
- WALDBESER L.S., TOMALSKY M.E., ACTIS L.A., CROSA J.H. (1993) - Mechanisms for negative regulation by iron of the *fatA* outer membrane protein gene expression in *Vibrio anguillarum*. *J. Biol. Chem.*, **268**: 10433-10439.
- WANG S.-Y., LAURITZ J., JASS J., MILTON D.L. (2003) - Role for the major outer-membrane protein from *Vibrio anguillarum* in bile resistance and biofilm formation. *Microbiology*, **149**: 1061-1071.

I. GUARNIERO, Z. ZACCARO¹, P. PASOLINI¹, C. RAGAZZINI¹, F. RONGAI,
A. CARIANI¹, G. FERRARA¹, F. HEMIDA², M. TRENTINI, F. TINTI¹

CdL Acquacoltura e Ittiopatologia, Università di Bologna,
Viale Vespucci, 2 - Cesenatico (FC), Italia.
ilaria.guarniero@unibo.it

¹Dip. B.E.S., Università di Bologna, Italia.

²ISMAL, Algeri, Algeria.

GENETICA MOLECOLARE E CONSERVAZIONE DI ELASMOBRANCHI: SISTEMATICA, FILOGEOGRAFIA E UNITÀ DI POPOLAZIONE IN *RAJA CLAVATA* E *R. STRAELENI*

MOLECULAR GENETICS AND CONSERVATION OF THE ELASMOBRANCHES: SYSTEMATICS, PHYLOGEOGRAPHY AND POPULATION UNITS IN RAJA CLAVATA AND R. STRAELENI

Abstract – Genetic variation analyses of AFLP and mitochondrial loci in European and South-African samples putatively assigned to *Raja clavata* revealed that cryptic isolation took place in the Austral hemisphere generating the sibling species *R. straeleni*. Genetic differences and population structure were detected among and within Mediterranean and North-eastern Atlantic *R. clavata*.

Key-words: chemotaxonomy, genetic isolation, sexual isolation, shark fisheries, sibling species.

Introduzione – La razza chiodata (*Raja clavata* L. 1758) è un Rajidae distribuito lungo le coste dell'Atlantico Nord-Orientale (da Madera fino all'Islanda e alla Norvegia), del Mediterraneo, del Mar Nero Occidentale e, secondo molti autori, raggiunge anche le coste dell'Atlantico Sud-Orientale e dell'Oceano Indiano (Stehmann e Burkel, 1984; Serena, 2008). Tuttavia, la tassonomia e la sistematica delle popolazioni dell'emisfero australe rimangono incerte e, pur presentando caratteri morfo-anatomici che le riconducono a *R. clavata*, vengono attribuite alla specie *R. straeleni* Poll 1951 (razza biscotto; Compagno e Ebert, 2007). *Raja clavata* predilige la platea continentale ed è quindi catturata frequentemente con lo strascico arrivando a rappresentare, nel Mediterraneo, la specie di razza più abbondante e importante (Serena, 2007). Mentre gli stock atlantici sono sfruttati dalla pesca commerciale demersale, nel Mediterraneo *R. clavata* riveste importanza commerciale solo localmente. Tuttavia, la specie è considerata a rischio di declino (stato secondo IUCN: Lower risk – Near threatened). Recentemente è stata oggetto di uno studio filogeografico con loci microsatelliti e sequenze del gene citocromo b, che ha evidenziato una strutturazione delle popolazioni della platea continentale Nord-Europea, del Mediterraneo e delle Azzorre (Chevolot *et al.*, 2006). Il presente lavoro ha lo scopo di investigare la sistematica molecolare e la struttura delle popolazioni degli emisferi Boreale e Australe di *Raja clavata* e *R. straeleni* utilizzando marcatori molecolari ipervariabili (loci Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP e sequenze della regione di controllo del DNA mitocondriale).

Materiali e metodi - Il campionamento degli individui con morfotipo *clavata*-like è stato condotto tra il 2001 e il 2007 in 6 aree dell'emisfero Boreale (Atlantico Nord-Orientale: Mar di Norvegia, Mar Celtico; Mediterraneo: coste Algeria, Tirreno Orientale, Adriatico e coste Turchia Orientale) e due dell'emisfero Australe (Atlantico Sud-Orientale e coste sudafricane dell'Oceano Indiano). Ciascun individuo è stato caratterizzato sia per la variazione nucleotidica di un frammento della regione di controllo (CR, 420 paia basi circa) sia per il polimorfismo allelico a 351 loci AFLP, generati con una digestione genomica con gli enzimi di restrizione MseI e EcoRI, e amplificazioni selettive utilizzando le combinazioni del primer EcoRI-ACG con 4 primer MseI-CTA/

CAG/CTT/CAA. Le condizioni di reazione utilizzate sono riportate in Garoia *et al.* (2007). Le sequenze CR sono state allineate ed utilizzando il software DNASP 4.0 sono stati identificati gli aplotipi. Le relazioni filogenetiche tra gli aplotipi sono state ricostruite applicando il metodo Maximum Parsimony Network con il software TCS 1.21. Le stime di differenziamento genetico in termini di indici di fissazione totale e a coppie (CR: Φ_{st} ; AFLP: F_{st}) sono state calcolate con i software ARLEQUIN 3.01 (CR) e AFLP-SURV v. 1.0 (AFLP). La struttura genetica di popolazione dei campioni è stata verificata tramite l'AMOVA con il software ARLEQUIN 3.01. La significatività degli indici di fissazione a coppie e dell'AMOVA (al livello di $P=0,01$) è stata verificata mediante comparazione degli osservati con quelli attesi sulla base di assenza di struttura genetica attraverso 10000 permutazioni casuali degli individui tra i campioni.

Risultati – Un totale di 254 individui con morfotipo *clavata*-like sono stati campionati. Di questi, 199 sono relativi ai campioni dell'emisfero Boreale e 55 a quelli dell'emisfero Australe. L'analisi filogenetica dei 50 aplotipi CR rinvenuti ha evidenziato l'esistenza di due linee mitocondriali CR differenziate da 4 sostituzioni nucleotidiche fissate (Fig. 1). La prima linea include tutti gli aplotipi dei campioni dell'emisfero Boreale mentre la seconda quelli dei campioni dell'emisfero Australe. Nell'ambito della linea aplotipica boreale, sono inoltre individuabili delle sottolinee geografiche di aplotipi dell'Atlantico Nord-Orientale, Mediterraneo Centro-Occidentale, Mediterraneo Orientale e Tirreno Orientale. Al contrario, nella linea australe non sono state identificate sottolinee geografiche. Il differenziamento genetico tra i campioni boreali e australi è risultato elevato e altamente significativo con entrambi i tipi di marcatori (Tab. 1). Nell'ambito dei campioni boreali, la variazione dei loci AFLP rivela un differenziamento genetico significativo, in particolare tra quelli dell'Atlantico Nord-Orientale nei confronti di quelli mediterranei e all'interno dei mediterranei. Al contrario la variazione del CR mostra risultati contraddittori, rivelando il differenziamento significativo del solo campione coste Turchia, ma solo rispetto ai campioni mediterranei. I campioni dell'Atlantico Nord-Orientale risultano invece geneticamente indifferenziati per entrambi i marcatori. Le analisi AMOVA rivelano una strutturazione genetica significativa solo tra i campioni atlantici e mediterranei.

Conclusioni – L'elevato differenziamento genetico osservato tra i campioni boreali e australi osservato con entrambi i tipi di marcatori mitocondriali e nucleari chia-

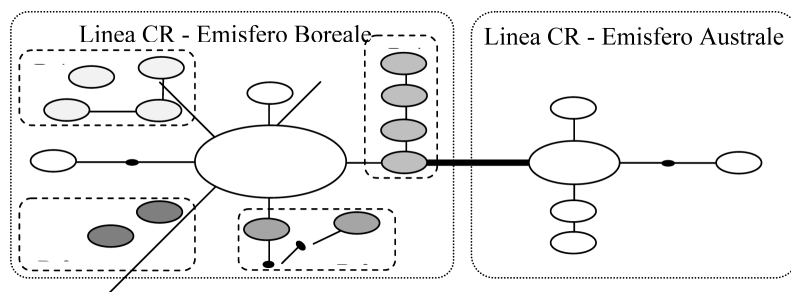


Fig. 1 - Diagramma del Maximum Parsimony Network degli aplotipi CR di *Raja clavata* e *R. straeleni*. La linea in grassetto che unisce le due linee indica le 4 sostituzioni nucleotidiche che le differenziano. Nella linea CR – Emisfero Boreale sono identificabili 4 sottolinee geografiche di aplotipi: B.1: Mediterraneo Centro-Occidentale; B.2: coste Turchia; B.3: Tirreno Orientale; B.4: Atlantico Nord-Orientale.

*Diagram of the Maximum Parsimony Network of *Raja clavata* and *R. straeleni* CR haplotypes. The bold line connecting the two CR lineages indicates the 4 fixed differentiating nucleotide substitutions. Within the CR lineage – Boreal Hemisphere, 4 geographic subclades of haplotypes were identified: B.1: Central-Western Mediterranean; B.2: Turkish coasts; B.3: Eastern Tyrrhenian; B.4: North-Eastern Atlantic.*

Tab. 1 - Indici di fissazione tra coppie di campioni di *Raja clavata* calcolati sulla base del locus mitocondriale CR (valori sopra la diagonale) e dei loci AFLP (valori sotto la diagonale). In grassetto sono i valori significativi con $P < 0,01$.

Pairwise fixation indexes between samples of Raja clavata based on the CR (values above the diagonal) and AFLP loci (values below the diagonal). Values in bold are significant at $P < 0.01$.

	Mar di Norvegia	Mar Celtico	coste Algeria	Tirreno Orientale	Mar Adriatico	coste Turchia	coste Sud Africa
Mar di Norvegia	-	-0,0177	0,0618	0,0637	0,0783	0,0730	0,8284
Mar Celtico	0,0041	-	0,0402	0,0230	0,0407	0,0818	0,8355
coste Algeria	0,0632	0,0483	-	0,0105	0,0027	0,0970	0,8581
Tirreno Orientale	0,0238	0,0159	0,0302	-	0,0172	0,1214	0,8599
Mar Adriatico	0,0066	0,0018	0,0448	0,0148	-	0,1298	0,8507
coste Turchia	0,0480	0,0367	0,0101	0,0244	0,0322	-	0,8026
coste Sud Africa	0,1606	0,1441	0,0600	0,1187	0,1503	0,0803	-

ramente definisce un chiaro isolamento genetico e l'appartenenza alle due specie *R. clavata* (presente nell'emisfero Boreale) e *R. straeleni* (emisfero Australe). Il parallelo elevato conservativismo morfo-anatomico dei campioni delle due specie suggerisce lo stato di specie criptiche. La speciazione criptica appare rilevante nell'ambiente marino ed anche nell'ambito degli Elasmobranchi (Knowlton, 1993; Quattro *et al.*, 2006 e referenze qui citate). In *R. clavata*, i marcatori AFLP risultano più risolutivi di quelli mitocondriali e microsatelliti (Chevolot *et al.*, 2006 e presente studio) nell'evidenziare il differenziamento genetico e possibili unità di popolazione all'interno del Mediterraneo. In questo bacino appare ben supportata la divergenza tra le popolazioni della parte orientale rispetto a quelle della parte occidentale e tra quelle mediterranee e quelle nord-atlantiche. Dall'insieme dei dati genetico-molecolari ottenuti con numerosi tipi di marcatori mitocondriali su *R. clavata* (Chevolot *et al.*, 2006 e presente studio) e sulla specie gemella *R. straeleni*, appare evidente una forte strutturazione dei taxa, legata a processi di isolamento per distanza e di dispersione occorsi durante il Pleistocene. Differenti paleoclimi e paleoambienti quaternari legati ad oscillazioni della temperatura e del livello marino (Graham *et al.*, 2003) possono aver promosso ripetuti isolamenti di demi locali e la formazione di rifugi e di aree di ricolonizzazione secondaria.

Bibliografia

- CHEVOLOT M., HOARAU G., RIJNSDORP A.D., STAM W.T., OLSEN J.L. (2006) - Phylogeography and population structure of thornback rays (*Raja clavata* L., Rajidae). *Mol. Ecol.*, **15**: 3693-3705.
- COMPAGNO L.J.V., EBERT D.A. (2007) - Southern African skate biodiversity and distribution. *Environ. Biol. Fish.*, **80**: 111-124.
- GAROIA F., GUARNIERO I., GRIFONI D., MARZOLA S., TINTI F. (2007) - Comparative analysis of AFLP and SSRs efficiency in resolving population genetic structure of Mediterranean *Solea vulgaris*. *Mol. Ecol.*, **16**: 1377-1387.
- GRAHAM M.H., DAYTON P.K., ERLANDSON J.M. (2003) - Ice ages and ecological transitions on temperate coasts. *TREE*, **18**: 33-40.
- KNOWLTON N. (1993) - Sibling species in the sea. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **24**: 189-216.
- QUATTRO J.M., STONER D.S., DRIGGERS W.B., ANDERSON C.A., PRIEDE K.A., HOPPMANN E.C., CAMPBELL N.H., DUNCAN K.M., GRADY J.M. (2006) - Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). *Mar. Biol.*, **148**: 1143-1155.
- SERENA F. (2008) - *Standardization of the identification methods and stock assessment approaches to rays of the Mediterranean Sea*. Società Italiana di Biologia Marina, Santa Margherita Ligure (GE): 111 pp.
- STEHMANN M., BURKEL D.L. (1984) - Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.-C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*. vol.1. Paris, UNESCO: 163-196.

A. LIBERTINI

Istituto di Scienze Marine, C.N.R. , Riva 7 Martiri, 1364/A – 30122 Venezia, Italia.
angelo.libertini@ismar.cnr.it

LA MANIPOLAZIONE DEL CORREDO CROMOSOMICO: APPLICAZIONI IN ACQUACOLTURA

CHROMOSOME SET MANIPULATION IN AQUACULTURE

Abstract – *The role of chromosome set manipulation in finfish and shellfish aquaculture is shortly reviewed. Results on polyploidisation and uniparental inheritance coming from personal experimentation and literature are summarised.*

Key-words: *fish and shellfish culture, biotechnology, polyploids, sex determination.*

Introduzione - La manipolazione del corredo cromosomico (MCC) è una applicazione biotecnologica che mira ad alterare il “normale” meccanismo con cui i caratteri dei genitori sono trasmessi alla progenie durante la riproduzione sessuata. Con opportuni interventi manipolativi si possono produrre: a) individui poliploidi, cioè che hanno un numero di cromosomi superiore al normale diploide ($2n$), ma pur sempre multiplo di “ n ” (triploide = $3n$; tetraploide = $4n$; ecc.); b) individui diploidi originati per trasmissione uniparentale del genoma, ossia esclusivamente dalla madre (diploidi ginogenoti) o dal padre (diploidi androgenoti).

Nell'intento di ottenere rese analoghe a quelle riportate in agronomia, ove molti cultivar delle piante più performanti sono di origine poliploide (naturale o indotta tramite MCC), a partire dal secondo dopoguerra la MCC è stata sperimentata anche in acquacoltura, inizialmente per le specie di acqua dolce e, in seguito, per le marine.

Nelle specie ittiche, la condizione triploide comporta generalmente sterilità e si riteneva che l'energia non investita nella riproduzione potesse andare a favore di una maggiore crescita corporea (FAO, 2000). Nella produzione di triploidi costituirebbe un indubbio vantaggio poter disporre di riproduttori tetraploidi, da incrociare con normali diploidi, per ottenere il 100% di individui $3n$ senza ulteriore MCC.

Tra le specie oggetto di acquacoltura, talvolta uno dei due sessi può risultare più interessante per la produzione, sia perché esibisce un più alto tasso di crescita, sia per peculiari aspetti organolettici particolarmente graditi dal mercato, come nel caso delle femmine dei salmonidi e degli storioni o dei maschi nelle tilapie. In questi casi l'applicazione della MCC, per produrre ceppi ginogenoti o androgenoti, e l'inversione sessuale, con appropriati trattamenti ormonali, possono garantire la produzione di lotti monossuati, nel volgere di una o due generazioni (Purdom, 1993).

Il presente lavoro riassume alcuni dei risultati e dà una valutazione sull'applicazione della MCC in acquacoltura, in base ad esperienze dirette e derivanti dalla letteratura.

Materiali e metodi - In acquacoltura, la MCC è stata più ampiamente sperimentata su pesci teleostei e molluschi, in virtù di alcuni tratti distintivi della loro biologia (elevata fertilità, modalità esterna di fecondazione, buona tolleranza alla poliploidia) che favoriscono l'applicazione delle tecniche di manipolazione. Dirette esperienze sono state effettuate dall'autore su branzino, orata, ombrina e trota fario.

La MCC prevede di impedire uno dei processi cariocineticici che seguono la fecondazione provocando: o la mancata espulsione di un globulo polare, con conseguente inglobamento d'un ulteriore corredo aploide di cromosomi nel nucleo del futuro zigote, oppure inibire la mitosi nello zigote, provocando il raddoppiamento del numero di cromosomi. Il blocco di questi eventi è attuato tramite la temporanea esposizione ad

uno shock fisico (termico caldo, termico freddo, o pressorio) oppure ad un agente chimico (citocalasina B o D, 6-dimetilaminopurina, caffeina, colchicina). Questi trattamenti inibiscono la formazione del fuso, impedendo la migrazione dei cromosomi nella cariocinesi. Nel caso s'impieghino nella fecondazione normali gameti maturi, la mancata espulsione del polocita provoca la generazione di individui triploidi, mentre bloccando la segmentazione si ottengono dei tetraploidi. Se nel medesimo schema operativo uno dei due gameti è stato geneticamente inattivato, tramite radiazioni ultraviolette o gamma, si potranno ottenere diploidi ginogenoti o androgenoti. I diploidi ginogenoti possono originare dal blocco della meiosi ovocitaria (meioginogenoti) o della mitosi (mitoginogenoti), gli androgenoti sono prodotti esclusivamente per blocco mitotico.

Risultati - Da un punto di vista metodologico, gli shock fisici sono maggiormente impiegati nella MCC applicata ai pesci, mentre per i molluschi si tende a preferire l'uso di inibitori chimici del fuso (Purdom, 1993; Nell, 2002). Dalle diverse esperienze emerge come lo shock termico a caldo sia maggiormente nocivo per le uova rispetto a quello pressorio, al termico a freddo e al trattamento chimico, influenzando spesso significativamente sulla sopravvivenza degli individui manipolati e provocando malformazioni (Purdom, 1993; personali osservazioni).

Triploidi sono stati ottenuti con elevate percentuali di successo (>90%) in branzino, orata e ombrina tramite shock a freddo ($\Delta T \sim 15$ °C). In trota fario la percentuale di triploidi ottenuta con shock a caldo è stata molto variabile (20-100%) e strettamente dipendente dal numero e dalla qualità delle uova trattate. Bisogna precisare che in questa specie, a differenza delle altre tre citate, per avere lotti di produzione adeguati (superiori alle 50.000 uova) occorre cumulare le ovature di più femmine, le quali possono rispondere in maniera differenziata ai trattamenti. Nei pesci l'induzione della triploidia provoca una completa sterilità, generalmente di tipo gonadico nelle femmine (ovario vestigiale) e gametico nei maschi. Raramente la triploidia ha influito positivamente sulla crescita e, in ogni caso, riscontri positivi si sono rilevati generalmente dopo la pubertà (Cal *et al.*, 2006). In lotti misti, costituiti da pesci diploidi e triploidi, si crea competizione tra le due ploidie e la percentuale di individui $3n$ progressivamente diminuisce.

Nei molluschi triploidi la crescita è maggiormente accelerata che nei diploidi (Guo *et al.*, 1996; Dunstan *et al.*, 2007). Le ostriche triploidi hanno gonadi di dimensioni ridotte ma possono essere in grado di produrre gameti, seppure in quantità limitata. In altri molluschi (pettini e abaloni) i triploidi sono completamente sterili (Guo *et al.*, 1996; Lohrmann e Von Brand, 2005; Dunstan *et al.*, 2007).

Riproduttori tetraploidi fertili sono stati raramente ottenuti tra i teleostei, prevalentemente per salmonidi e ciprinidi. In molte specie soprattutto marine, come ad esempio il branzino, la condizione tetraploide comporta un'iniziale bassa sopravvivenza, accompagnata da malformazioni nella morfologia delle larve, che portano ad una rapida sparizione degli individui $4n$ nei lotti manipolati (Libertini e Bertotto, 2004; Sakao *et al.*, 2006). Nell'allevamento dell'ostrica concava (*Crassostrea gigas*) l'impiego di riproduttori tetraploidi ha consentito una massiva produzione di triploidi, tale da raggiungere livelli commerciali in alcuni stati del Nord America. In questo caso, i riproduttori tetraploidi erano stati ottenuti bloccando l'espulsione del primo polocita in uova di triploidi fecondate con sperma diploide (Guo *et al.*, 1996), tale procedimento è attualmente protetto da brevetto (US Patent 5824841).

La produzione di diploidi ginogenoti per via meiotica è stata sperimentata per molte specie di teleostei, più limitata, generalmente a ciprinidi e salmonidi, è stata l'attenzione rivolta ai mitoginogenoti (Komen e Thorgaard, 2007).

Nel branzino la meioginogenesi produce lotti costituiti sia da femmine sia da

maschi, con le prime in netta maggioranza, testimoniando che in questa specie il sesso non è determinato da un sistema genetico monofattoriale. Nei meioGINOgenoti di *D. labrax*, svezzati a temperature inferiori ai 20 °C, gonadogenesi e fertilità sono comparabili a quelle dei diploidi biparentali. Femmine meioGINOgenoti sono state impiegate con successo per ulteriori esperimenti di ginogenesi (Francescon *et al.*, 2005). Il branzino è, inoltre, una delle tre specie di teleostei marini per cui è stata prodotta progenie ginogenote doppio aploide, tramite blocco mitotico (Bertotto *et al.*, 2005). Un lotto di doppi aploidi è stato allevato fino al quinto anno di età senza aver dato segni di maturazione delle gonadi. Infine, il lotto è stato sacrificato durante la stagione riproduttiva, e le gonadi, apparentemente tutti ovari, presentavano un aspetto vestigiale molto simile a quello delle femmine triploidi. Delle circa due dozzine di specie di teleostei per cui sono stati prodotti ceppi ginogenetici doppio aploidi, solo per una decina si sono potuti produrre cloni omozigoti (Komen e Thorgaard, 2007).

Ceppi androgenoti sono stati prodotti con successo per una decina di specie di teleostei, di cui circa metà sono di reale interesse per l'acquacoltura (salmonidi e ciprinidi), e dai quali sono originati cloni omozigoti (Komen e Thorgaard, 2007).

Nei salmonidi, nelle tilapie e nella carpa, la cui determinazione del sesso è prevalentemente cromosomica ad eterogametia maschile, la MCC ad eredità uniparentale è stata impiegata, in alternativa all'esclusivo impiego di ormoni, per originare riproduttori che hanno generato, tramite accoppiamento con genitori "normali", ceppi monossuati (Ezaz *et al.*, 2004; Komen e Thorgaard, 2007). Progenie ginogenetica (pertanto geneticamente costituita di sole femmine XX) può essere sottoposta ad inversione sessuale, tramite trattamento con ormoni masculinizzanti, al fine di produrre neomaschi (XX) da accoppiare con normali femmine (XX) per generare ceppi costituiti da sole femmine (Purdom, 1993). Un esperimento simile è attualmente in corso, per la trota fario, in un impianto sperimentale di Veneto Agricoltura. Con l'androgenesi (o con la ginogenesi applicata a neofemmine XY) è possibile produrre maschi YY da incrociare con femmine XX per produrre ceppi monossuati di maschi (XY), come messo in pratica per la tilapia (Ezaz *et al.*, 2004). La MCC ad eredità uniparentale non ha ancora superato il livello sperimentale nei molluschi.

Conclusioni - Nonostante un'ampia sperimentazione, l'impiego della MCC a livello commerciale ha, di fatto, al suo attivo pochi riscontri positivi. Pertanto, l'applicazione della MCC richiede sempre un'accurata sperimentazione al fine di valutarne efficacemente gli effettivi benefici quando applicata ad un dato sistema biologico. Il maggior successo della MCC si riscontra nei triploidi di ostrica concava: crescono più dei diploidi e, avendo gonadi ridotte, sono commerciabili per tutto l'anno a differenza dei $2n$. In ogni caso la triploidia nei molluschi si accompagna molto spesso ad un incremento della resa in taglia. Lotti di sole femmine nei salmonidi e di soli maschi in tilapia garantiscono incrementi significativi della produzione, rispetto a omologhi lotti costituiti dai due sessi, e sono ormai largamente diffusi negli impianti intensivi. Per i salmonidi gli allevatori hanno mostrato interessamento verso ceppi di sole femmine triploidi, per rispondere alla richiesta di pezzature decisamente più grandi dell'usuale taglia commerciale. Le associazioni e gli enti preposti al ripopolamento ittico possono essere interessati all'immissione in natura di pesci triploidi perché la loro sterilità, ed altri caratteri associati alla sindrome $3n$, garantiscono un minore impatto sui popolamenti naturali. Ceppi doppio aploidi e cloni omozigoti sono attivamente impiegati nello studio dei caratteri quantitativi (QTL) e per la costruzione di mappe genetiche.

Ringraziamenti - Per la diretta collaborazione nelle ricerche si è grati ai colleghi: A. Barbaro, D. Bertotto, F. Bilò, F. Borghesan, A. Francescon, e S. Salviati. Si ringrazia Veneto Agricoltura per l'ospitalità presso i suoi impianti ittici sperimentali di Pellestrina (VE) e Valdagno (VI).

Bibliografia

- BERTOTTO D., CEPOLLARO F., LIBERTINI A., BARBARO A., FRANCESCON A., BELVEDERE P., BARBARO J., COLOMBO L. (2005) - Production of clonal founders in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., by mitotic gynogenesis. *Aquaculture*, **246**: 115-124.
- CAL R.M., VIDAL S., GOMEZ C., ALVAREZ-BLAZQUEZ B., MARTINEZ P., PIFERRER F. (2006) - Growth and gonadal development in diploid and triploid turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, **251**: 99-108.
- DUNSTAN G.A., ELLIOTT N.G., APPELYARD S.A., HOLMES B.H., CONOD N., GRUBERT M.A., COZENS M.A. (2007) - Culture of triploid greenlip abalone (*Haliotis laevis* Donovan) to market size: Commercial implications. *Aquaculture*, **271**: 130-141.
- EZAZ M.T., MYERS J.M., POWELL S.F., McANDREW B.J., PENMAN D.J. (2004) - Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, **232**: 205-214.
- FAO (2000) - How appropriate are currently available biotechnologies for the fishery sector in developing countries? URL: <http://www.fao.org/biotech/c4doc.htm>
- FRANCESCON A., BARBARO A., BERTOTTO D., LIBERTINI A., CEPOLLARO F., RICHARD J., BELVEDERE P., COLOMBO L. (2005) - Assessment of homozygosity and fertility in meiotic gynogens of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, **243**: 93-102.
- GUO X.M., DEBROSSE G.A., ALLEN S.K. (1996) - All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture*, **142**: 149-161.
- KOMEN H., THORGAARD G.H. (2007) - Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: A review. *Aquaculture*, **269**: 150-173.
- LIBERTINI A., BERTOTTO D. (2004) - Una microtecnica per allestire campioni da singole larve di pesci teleostei per la diagnosi della ploidia tramite citometria a flusso. *Lettere GIC*, **13**: 9-12.
- LOHRMANN K.B., VON BRAND E. (2005) - Histological study of gonads in triploid scallops, *Argopecten purpuratus*. *Journal of Shellfish Research*, **24**: 369-375.
- NELL J.A. (2002) - Farming triploid oysters. *Aquaculture*, **210**: 69-88.
- PURDOM C.E. (1993) - *Genetics and Fish Breeding*. Chapman and Hall, London: 228 pp.
- SAKAO S., FUJIMOTO T., KIMURA S., YAMAHA E., ARAI K. (2006) - Drastic mortality in tetraploid induction results from the elevation of ploidy in masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture*, **252**: 147-160.

L. ORSI RELINI, G. PALANDRI, F. GARIBALDI, L. LANTERI,
E. CILLI*, G. FERRARA*, F. TINTI*

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.

largepel@unige.it

*Molecular Genetics for Environmental & Fishery Resources Laboratory (GenMAP)

Interdept. Center for Research in Environmental Sciences, Via Sant'Alberto, 163 - 48100 Ravenna, Italia.

TOWARDS A NEW TAXONOMICAL APPROACH TO MEDITERRANEAN SMALL TUNA OF GENUS *AUXIS*

VERSO UNA NUOVA CLASSIFICAZIONE DEI PICCOLI TONNI DEL GENERE *AUXIS* DEL MEDITERRANEO

Abstract – *Systematic studies (Collette e Aadland, 1996) have assigned the Mediterranean tunas of genus Auxis to the subspecies Auxis rochei rochei (Risso, 1810), but the diagnostic characters proposed for this taxon only in part fit Mediterranean material. A research, supported by MIUR, was carried out both on morphological characteristics and genetic diversity of four geographical samples of Auxis, three of the Mediterranean and one of adjacent Atlantic (Morocco). Only one species was found, with a relevant genetic diversity. The Mediterranean Auxis has peculiar colour patterns and show morphological characteristics typical of both A. rochei and A. thazard of the Indo Pacific. If these peculiarities will be recognized by means of distinct taxa (e.g. subspecies), it's name will remain that of Risso, but the form inhabiting the Indian Ocean and Western Pacific will assume a new name.*

Key-words: *Auxis rochei, morphology, species and population genetics, Mediterranean.*

Introduction – At present both FAO and ICCAT are encouraging research about small tunas, i.e. a group of Scombridae of medium and small size (genus *Euthynnus*, *Auxis*, *Sarda* etc.) with the aim of a better exploitation of these species and a possible reduction of fishery pressure on bluefin tuna. In any planning of fisheries regarding migratory species, such as both large and small tunas are, the basic problem is the stock unit identification. Moreover for fish of genus *Auxis* there is also the need to verify at which extent a series of morphological and taxonomic characteristics, studied mainly in extra Mediterranean areas (Uchida, 1981), can be considered valid also for Mediterranean fish: this problem appeared quite sometimes ago in ichthyological studies which evidenced the peculiarities of this fish, starting from external features such as colour patterns (Tortonese, 1963; Rodriguez-Roda, 1980; Cefali and Cavallaro, 1983).

Within the framework of a MIUR research project with the aim to detect spatial and temporal pattern of variation in the Mediterranean tuna populations, samples of Atlantic and Mediterranean *Auxis* tunas has been investigated by an integrated analytical approach using morphological and genetic characters to provide the best approximation of relationships among these scombrids (Collette *et al.*, 2001).

The background - The bullet tuna, *Auxis rochei* (Risso, 1810), is an epipelagic neritic as well as oceanic species (Collette and Nauen, 1983), cosmopolitan in warm waters.

Its distribution is not completely understood due to the close morpho-anatomical similarity with the congeneric cosmopolitan frigate tuna *Auxis thazard* (Lacepede, 1800), which many European ichthyologists considered a not valid species for a long time.

In the belief that there was a single worldwide species of *Auxis*, they used the name *A. thazard*, the first appeared in the literature, for the Mediterranean fish. In countries of South Mediterranean, the name *A. thazard* is still in use, so that FAO and ICCAT statistics are not based on species but on a mixed category. A monographic study (Uchida, 1981) and a worldwide reexamination of collections (Collette and Aadland, 1996) described the peculiar characteristics of the two species of *Auxis*. Moreover, the

latter paper divided them in subspecies, with the identification of two new taxonomic units in Eastern Pacific, *A. rochei eudorax* and *A. thazard brachydorax*. In the same study, 43 specimens belonging to 23 Mediterranean collections from France, Italy, Austria, Lebanon, Israel (including fish of Western, Central and Eastern Mediterranean) were assigned to *A. rochei rochei* (Fig. 1). However, proposed keys are of difficult use in the Mediterranean.

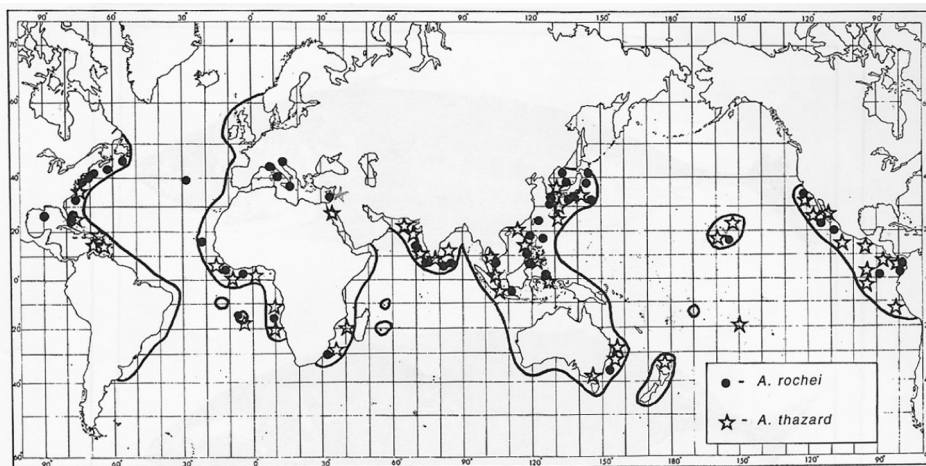


Fig. 1 - Distribution of *Auxis rochei* and *A. thazard* studied by Collette and Aadland (1996).

Distribuzione degli Auxis rochei e A. thazard studiati da Collette e Aadland (1996).

Materials and methods – Adult and larval samples of *Auxis* were collected from Mediterranean (Ligurian Sea, Ionian Sea, the Sicily Strait) and the Atlantic Morocco for a total of 226 specimens. Morphological analysis of sub-adult and adult individuals was based on six biometric and four meristic characteristics; the latter were: a) number of rows of scales in the lateral corselet at second dorsal fin origin; b) number of gillrakers on first arch; c) ordinal number of the vertebra in which the first free parapophysis occurs; d) ordinal number of the vertebra in which the first foramen occurs (figures of these vertebral characteristics in Uchida, 1981).

Genetic analysis was carried out on adults and larvae by using mitochondrial and nuclear DNA markers whose variation at multiple taxonomic levels was screened based on appropriated PCR-based technologies. The individual species identification was carried out using a PCR-multiplex method that amplify species-specific mtDNA fragments in *A. rochei* and *A. thazard* (Infante *et al.*, 2004). The genetic diversity and structure of population samples were investigated through the variation analysis of a mtDNA sequence marker (a 417 bp fragment of the control region, Cilli *et al.*, unpublished) and of an array of six nuclear microsatellite loci (Catanese *et al.*, 2007). Genetic variation analyses were performed applying a huge number of appropriated statistical tests and software.

Results and conclusions – In terms of biometric and meristic characters the four geographical samples appeared very similar. Biometric characteristics resulted homogeneous, with minor differences explained by size/age and sampling season; the latter influencing the length/weight relationship and condition index. Meristic characters resulted: a) typical of *A. rochei* in the majority of fish larger than about 27 cm FL; b) the mean

number of gillrakers, 41.82, was the lowest registered in *A. rochei* populations (see Collette and Aadland, 1996) and therefore the closest to *A. thazard* populations; c) the first free parapophysis resulted in modal positions typical of *A. rochei*; d) the first inferior foramen resulted in modal positions typical of *A. thazard* (Orsi Relini *et al.*, 2008).

The molecular species identification experiments indicated that all 226 individual fish, independently from the sampling area, showed the species-specific mtDNA fragment markers for *A. rochei* defined by Infante *et al.* (2004). Therefore, it is likely that they can be assigned to this species. A confirmation of this issue was given by the 45 control region sequence haplotypes we obtained for a subset of 46 individuals from Atlantic Morocco and Mediterranean (Ligurian and Ionian Seas). Under a BLAST search, such haplotypes matched with high levels of statistical support together with homologous nucleotide sequences of *A. rochei* deposited in GenBank. All these genetic evidences are consistent with the previous observations of Collette and Aadland (1996) that reported for the Mediterranean and adjacent East Atlantic only the bullet tuna *A. rochei*. At the same time, the taxonomically univocal assignment to *A. rochei* based on genetic data is contrasting with the uncertain taxonomy of the same individuals based on the above mentioned colour patterns and meristic characters. If these peculiarities will be recognized by means of distinct taxa (e.g. a new subspecies), the name of the Mediterranean fish will remain that of Risso, but the form inhabiting the Indian Ocean and Western Pacific will assume a new name.

The within-species genetic variation analyses carried out using analysing in parallel the variation of control region nucleotide sequences and species-specific microsatellite loci revealed high levels of haplotype and allelic diversity, respectively. This issue was consistent with previous genetic investigations based on allozymic loci (Cimmaruta *et al.*, 1998). Genetic divergence among population samples resulted in general low with both mitochondrial and nuclear loci, showing Φ_{ST} and F_{ST} values which tended to zero, respectively. Nevertheless, while the control region haplotype frequencies of population samples did not significantly differ over a large geographic range (from Morocco to Central Mediterranean), the allele frequencies of population samples at the microsatellite loci resulted significantly different at a lower geographic scale ($P < 0.01$). However, the low number of individuals analysed for control region sequence variation (46) suggests to be cautious in the interpretation of these results. On the contrary, the large size of samples included in the microsatellite loci variation analysis (196 individuals from four locations) gave more robustness to the resulting pattern. In fact, the variation analysis of microsatellite markers detected a subtle but significant genetic structuring within the Mediterranean (between Ligurian and Ionian samples) and among Mediterranean and the adjacent North Atlantic sample (Morocco). Evidences of genetic structure in North Atlantic and Mediterranean populations were also obtained in large tunas, being detected in the Atlantic bluefin *Thunnus thynnus* based on both markers (Carlsson *et al.*, 2004, 2007; Ferrara *et al.*, unpublished data). Although further and deeper analysis of these data sets are needed, it appears that bullet tuna are highly diverse and contemporaneously show local differences of the genetic composition. Such pattern can be probably related to the plurality of spawning sites of these small tunas, along all coasts of the Mediterranean. In fact, summing the results of 30 surveys targeting bluefin tuna larvae in the Western, Central and Eastern Mediterranean, the abundance of *A. rochei* larvae resulted equal to the 67% of the total scombrid larvae assembled (Piccinetti and Piccinetti-Manfrin, 1993).

References

- CATANESE G., INFANTE C., CRESPO A., ZUASTI E., PONCE M., FUNES V., PEREZ L., MANCHADO M. (2007) - Development and characterization of eight microsatellite markers in bullet tuna (*Auxis rochei*). *Mol. Ecol. Notes*, 7: 842:844.

- CARLSSON J., McDOWELL J.R., DÍAZ-JAIMES P., CARLSSON J.E.L., BOLES S.B., GOLD J.R., GRAVES J.E. (2004) - Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Mol. Ecol.*, **13**: 3345-3356.
- CARLSSON J., McDOWELL J.R., CARLSSON J.E.L., GRAVES J.E. (2007) - Genetic identity of YOY Bluefin Tuna from the Eastern and Western Atlantic Spawning Areas. *J. Hered.*, **98**: 23-28.
- CEFALI A., CAVALLARO G. (1983) - Considerazioni di carattere sistematico su alcuni individui Mediterranei del genere *Auxis* Cuvier 1829. *Mem. Biol. Mar. Ocean.*, **13**: 213-222.
- CIMMARUTA R., IACONELLI M., NASCETTI G., BULLINI L. (1998) - Diversità genetica in popolazioni di grandi pelagici del Mediterraneo. *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (3): 300-310.
- COLLETTE B.B., NAUEN C.E. (1983) - FAO species catalogue. Vol 2. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. *FAO Fish. Synop.*, **125** (2): 137 pp.
- COLLETTE B.B., AADLAND C.R. (1996) - Revision of the frigate tunas (Scombridae, *Auxis*), with descriptions of two new subspecies from the eastern Pacific. *Fish. Bull.*, **94**: 423-441.
- COLLETTE B.B., REEB C., BLOCK B.A. (2001) - Systematics of the Tunas and Mackerels (scombridae). In: Tuna. Physiology, ecology and evolution: 5-33.
- INFANTE C., CATANESE G., PONCE M., MANCHADO M. (2004) - Novel method for the authentication of frigate tunas (*Auxis thazard* and *Auxis rochei*) in commercial canned products. *J. Agr. Food Chem.*, **52**: 7435-7443.
- ORSI RELINI L., PALANDRI G., GARIBALDI F., LANTERI L., TINTI F. (2008) - Between lumpers and splitters, which taxonomical approach to mediterranean small tuna of genus *Auxis*? *ICCAT/FAO Meeting on small tunas*, Malaga May 2008, SCRS/2008/x: in press.
- PICCINETTI C., PICCINETTI MANFRIN G. (1993) - La riproduzione dei tinnidi in Mediterraneo. *Biologia Marina, suppl. Notiziario SIBM*, **1**: 325-328.
- RODRIGUEZ-RODA (1980) - Presencia de la melva *Auxis rochei* (Risso, 1810), en las costas sudatlánticas de Espana. *Inv. Pesq.*, **44** (1): 169-176.
- TORTONESE E. (1963) - La popolazione Mediterranea di *Auxis* (Pisces Thunnidae) in rapporto alla sistematica del genere. *Ann. Civ. Mus. Sc. Nat.*, **74**: 140-155.
- UCHIDA R.N. (1981) - Synopsis of biological data on frigate tuna, *Auxis thazard*, and bullet tuna, *A. rochei*. *NOAA Tech. Rep. NMFS Circular 436. FAO Fish. Synop.*, **12**: 463 pp.

T. PATARNELLO, A. MININNI, S. FERRARESSO, L. BARGELLONI

Dipartimento di Sanità pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università degli Studi di Padova
Viale dell'Università, 16- 35020 Agripolis, Legnaro (PD), Italia.
tomaso.patarnello@unipd.it

AN INTEGRATED MICRO-ARRAY PLATFORM FOR INVESTIGATING mRNA EXPRESSION PROFILING IN *SPARUS AURATA* L.

SVILUPPO DI UNA PIATTAFORMA MICRO-ARRAY AD OLIGONUCLEOTIDI PER L'ANALISI DEL PROFILO DI ESPRESSIONE IN SPARUS AURATA L.

Abstract - The gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) is a marine teleost fish that belongs to the family Sparidae. Sparids are of great importance for fisheries and aquaculture. *S. aurata* is the most prominent, with an average cultured production of 100 million metric tonnes per year. We developed a micro-array platform using the in-situ synthesized 60mers Agilent technology for 19,734 unique transcripts obtained from a large (more than 25,000) ESTs collection. This micro-array was tested for detecting genes differentially expressed during two early developmental stages of *S. aurata*. More than 1000 transcripts belonging to different functional categories (according to GO - gene ontology) showed significant changes in the comparison between the considered developmental stages.

Key-words: *Sparus aurata*, EST collection, micro-array, expression profiling, developmental stages.

Introduction - The gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) is a marine teleost fish that belongs to the family Sparidae. Sparids are of great importance for fisheries and aquaculture, being excellent food fish, with high commercial value. *S. aurata* is the most prominent, with an average cultured production of 100 million metric tonnes per year. The great importance of the gilthead sea bream for marine aquaculture has fuelled an increasing number of studies in many different areas such as immunology, endocrinology, bone morphology, and muscle physiology. A better understanding of the molecular mechanisms underlying key productive traits (e.g. growth rate, muscle and bone development, resistance/susceptibility to stress and disease) holds the promise to revolutionize animal farming, leading to improved programs of genetic breeding and highly effective means to monitor the effects of husbandry conditions on farmed animals. Functional genomics, i.e. a “whole-genome” approach to the study of interactions between genes and environment, offers unprecedented opportunities to achieve such a goal.

Materials and methods - Early developmental stages of gilthead sea bream were collected at the fish farm “Impianto di Acquacoltura Ca' Zuliani” (Monfalcone, Italy), two stages, stage 1 (larvae at 24 hours post-hatching) and stage 4 (larvae at 96 hours post-hatching) total RNA was extracted from five independent pools per stage using the RNaseasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Each pool contained approximately 40-50 larvae.

Results – *Microarray design* - We developed a micro-array platform using the in-situ synthesized 60mers Agilent technology. A total of 26,774 ESTs plus 157 sea bream mRNA sequences publicly available in GenBank were clustered together. The number of unique clusters was 19,734. On the base of the Agilent platform Probe design was positively completed for 19,715 target clusters. Of these, 19,664 were represented by two non-overlapping probes, 51 were characterised by a single probe. Probe quality was scored with a five grades score system (BC1-4, BC-poor) based on nucleotide com-

position. The majority of designed probes (96.1%) had the highest score (BC1), 3.6% were scored as BC2, the remaining ones (0.3%) had BC3 or BC4 scores, none showed the lowest score (BC-poor). A two class SAM test (Tusher *et al.*, 2001) was performed to identify differentially expressed genes between developmental stages 1 and 4. A list of 1518 (4%) probes was selected with a False Discovery Rate (FDR) equal to zero. Within these 1518 probes, 1050 unique genes were identified. A GO definition of the biological process associated with the encoded protein was obtained for 134 (33%) of down-regulated transcripts and for only 52 (8%) up-regulated genes. To evaluate the micro-array platform performance, gene-specific quantitative (q)RT-PCR assays, was assessed for 11 selected genes.

Conclusions – The genomic era offers extraordinary opportunities to develop powerful tools in all fields of biology, including aquaculture. The micro-array technology is one of those as it allows to investigate the expression profiling of thousands of gene in the same experiment. This is now also possible for the gilthead sea bream, representing a significant progress in the application of biotechnologies to aquaculture.

References

TUSHER V.G., TIBSHIRANI R., CHU G. (2001) - Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98** (9): 5116-5121.

G. TEROVA, S. RIMOLDI, R. GORNATI, G. BERNARDINI, M. SAROGLIA

Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari (DBSM), Università dell'Insubria,
Via Dunant, 3 - 21100 Varese, Italia.
genciana.terova@uninsubria.it

REGOLAZIONE GENICA DELLA GRELINA NELLA SPIGOLA (*DICENTRARCHUS LABRAX*) IN RISPOSTA ALLE FLUTTUAZIONI NELLA DISPONIBILITÀ DELL'ALIMENTO

*REGULATION OF GHRELIN GENE EXPRESSION IN SEA BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*) IN RESPONSE TO FLUCTUATIONS IN FOOD AVAILABILITY*

Abstract - Ghrelin is a novel appetite-inducing peptide hormone secreted by the stomach. Using molecular cloning techniques we sequenced the full-length cDNA for ghrelin in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and deposited it in GenBank under the accession n° DQ665912. We also analyzed fasting-induced changes in the expression of ghrelin mRNA, using real-time RT-PCR. Our results revealed that ghrelin was highly expressed in the stomach with much lower levels of expression in the proximal intestine and brain. Levels of ghrelin mRNA in the stomach were upregulated under conditions of negative energy balance, such as starvation, and downregulated during positive energy balance, such as refeeding. These findings offer new information about the sea bass ghrelin gene expression and support a role of this orexigenic hormone in the regulation of food intake in sea bass.

Key-words: Sea bass, gene expression, aquaculture, ghrelin, real-time PCR.

Introduzione - Il senso di appetito e di sazietà nel pesce, come negli altri vertebrati, appare essere regolato da complessi meccanismi che coinvolgono complicate interazioni tra il cervello e i segnali periferici. Perfino nei mammiferi, dove questi meccanismi sono stati studiati per decenni, non sono ancora stati completamente chiariti (Volkoff *et al.*, 2005).

Secondo un modello proposto recentemente esiste un sistema centrale dell'alimentazione che controlla la quantità di cibo assunto. Questo sistema coinvolge specifici nuclei dell'ipotalamo ed elabora le informazioni ricevute da due principali sistemi periferici: un sistema a breve termine, che trasmette segnali di sazietà o appetito, ed un sistema a lungo termine che invia all'ipotalamo informazioni sul livello delle riserve energetiche corporee. Un elemento chiave di questo processo di comunicazione sembra essere la grelina, un ormone di recente identificazione (Kojima *et al.*, 1999), meglio conosciuto come ormone dell'appetito in quanto tra i suoi compiti c'è quello di inviare al cervello l'input della sensazione della fame. La grelina è un piccolo peptide di 28 amminoacidi prodotto principalmente dallo stomaco ma sintetizzato anche nel cervello che svolge un ruolo molto importante nel controllo del rilascio dell'ormone della crescita da parte dell'ipofisi e nella stimolazione dell'appetito. Per quanto riguarda i pesci, la grelina è stata clonata e purificata solo di recente in alcune specie e gli studi fino ad ora effettuati, sono a favore di un'azione oressante di questo peptide. Tuttavia l'esatto ruolo di questo ormone nei teleostei ed il meccanismo della sua regolazione, sono ancora in gran parte sconosciuti.

La nostra ricerca nella spigola (*Dicentrarchus labrax*), una specie di interesse economico per l'acquacoltura del Mediterraneo, è finalizzata ad identificare geni candidati, coinvolti nel fenomeno della "crescita compensatoria" (il balzo di crescita, insolitamente veloce, che si verifica nel pesce alimentato dopo un periodo di digiuno). A questo proposito abbiamo isolato in precedenza le sequenze codificanti per un numero di geni ed abbiamo valutato gli effetti del digiuno prolungato e della successiva rialimentazione degli animali sui livelli dei loro trascritti (Terova *et al.*, 2006, 2007, 2008).

In questa ricerca abbiamo approfondito ulteriormente l'argomento testando l'eventuale coinvolgimento del gene codificante la grelina nel meccanismo della crescita compensatoria.

Materiali e metodi - Un mese prima dell'inizio dell'esperimento, 140 esemplari di branzino sono stati mantenuti in 4 vasche di vetroresina del volume di 2 m³ ciascuna, con 35 pesci per vasca, per acclimatarsi. All'inizio della sperimentazione tutti gli animali sono stati pesati e biometrizzati, quindi assegnati "ad random" a ciascuno dei due trattamenti. I pesci in due delle quattro vasche sono stati alimentati ad apparente sazietà (controlli) per tutta la durata dell'esperimento, mentre quelli nelle altre due sono stati privati del mangime per 35 giorni e poi rialimentati "ad libitum" per 21 giorni, con lo stesso tipo di mangime utilizzato prima del digiuno. Cinque pesci da ciascun gruppo sperimentale sono stati campionati ai seguenti punti tempo: prima del digiuno (day 0), 4 giorni dopo l'inizio del digiuno, alla fine del periodo di digiuno, e successivamente a 4, 14, e 21 giorni dall'inizio della rialimentazione. Per le analisi di biologia molecolare sono stati prelevati stomaco, intestino prossimale, fegato, muscolo e cervello. Tutti i pesci sono stati inoltre pesati alla fine del periodo del digiuno e dopo 21 giorni di rialimentazione.

Per le analisi molecolari, dopo l'estrazione dai tessuti prelevati, l'RNA totale è stato retrotrascritto a cDNA ed utilizzato come template per le successive reazioni di amplificazione mediante PCR. Un'aliquota di ogni prodotto di amplificazione di PCR è stata poi sottoposta ad elettroforesi su gel di agarosio. Le bande di interesse sono state estratte dal gel, clonate e sequenziate. Le estremità 5' e 3' terminale del cDNA sono state amplificate utilizzando le tecniche della 5' e 3' RACE. Il numero di copie di trascritto del gene della grelina è stato quantificato in modo assoluto via one tube-two step Taqman® Real-time RT-PCR, utilizzando delle curve standard costruite con opportuni campioni a numero noto di copie di mRNA di questo gene.

Risultati - *L'effetto della rialimentazione sulle performances di crescita della spigola.* All'inizio della sperimentazione il peso medio delle spigole era 120,11±4,47 g per il controllo e 117,58±3,58 g per il gruppo designato al trattamento. Dopo 35 giorni i pesci privati del cibo hanno mostrato un significativo calo del peso corporeo (100,38±3,38 g) rispetto ai controlli che durante lo stesso periodo di tempo sono stati alimentati ad apparente sazietà e che avevano raggiunto dopo 35 giorni un peso pari a 134,03±2,31 g. Durante il successivo periodo di rialimentazione i pesci non alimentati hanno aumentato il loro peso corporeo a 143,69±4,57 g, compensando la perdita causata dal periodo di digiuno e raggiungendo il peso dei controlli (145,74±4,31 g).

Clonaggio e sequenziamento della grelina. L'intera sequenza codificante per la grelina è stata isolata e poi depositata in banca genica con il numero di accesso n° DQ665912. Tale sequenza è costituita da 798 bp, comprende una regione non-tradotta in 5' di 89 bp, un'open reading frame di 324 bp e una regione non-tradotta in 3' di 385 bp, completa del segnale di poliadenilazione (AATAAA). Questa sequenza codifica per la progrelina, un peptide di 108 aa, con una massa molecolare teorica di 22 kDa.

Quantificazione dell'espressione genica della grelina. Questa analisi ha rilevato alti livelli di espressione della grelina nello stomaco e, molto più bassi nell'intestino prossimale e nel cervello. Il digiuno per 5 settimane ha significativamente aumentato il numero delle copie del trascritto ($p < 0.05$) nello stomaco, mentre 4 giorni di digiuno non hanno portato ad un incremento significativo di tali livelli i quali non risultano diversi dai controlli. Il successivo recupero dal digiuno è stato associato ad un significativo aumento nei livelli di trascritto della grelina, rispetto ai controlli fino al 4° giorno di rialimentazione. Successivamente, a 10 giorni dall'inizio della rialimentazione il trascritto è diminuito rispetto al precedente valore, ma è rimasto ancora significa-

tivamente più alto del controllo per poi ritornare ai livelli originali dopo 21 giorni. Non sono state invece evidenziate differenze nei livelli di espressione della grelina nel cervello e nell'intestino prossimale tra i punti tempo di campionamento.

I nostri risultati dimostrano che nella spigola lo stomaco rappresenta il sito principale di espressione e produzione della grelina come è stato dimostrato anche nell'uomo (Ariyasu *et al.*, 2001), in pesce gatto (*Ictalurus punctatus*) e in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Parhar *et al.*, 2003).

I livelli di espressione intestinale della grelina nella specie da noi utilizzata sono simili a quelli riscontrati in pesce gatto e in tilapia, benché più bassi rispetto a quelli trovati nel pesce rosso (*Carassius auratus*). Ciò può essere dovuto al fatto che il pesce rosso non ha un vero stomaco differenziato e quindi, in questo caso, il tratto intestinale sostituisce lo stomaco come principale sito di espressione della grelina.

L'espressione della grelina nel cervello di spigola non è risultata significativa, in accordo con quanto osservato in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), pesce gatto, pesce rosso e tilapia. Ciò suggerisce che in queste specie la grelina sintetizzata nel cervello possa essere coinvolta nella regolazione dell'assunzione volontaria di cibo, pur non giocando un ruolo di rilievo, come invece avviene con quella prodotta a livello dello stomaco. Deboli segnali di mRNA per la grelina sono stati osservati nel cervello della specie umana, oltre che di ratto e topo.

Il presente studio ha rilevato una "up-regulation" della grelina durante il digiuno e una "down-regulation" durante la fase di rialimentazione, risultati questi che concordano con le interpretazioni precedenti sul ruolo della grelina e forniscono ulteriori prove sull'azione oressigenica di questo nuovo peptide gastrointestinale nei pesci. Cambiamenti analoghi dei livelli di mRNA della grelina durante il digiuno sono risultati anche da studi condotti su ratti, uccelli e anfibi.

Nel pesce rosso, il digiuno ha indotto aumenti del trascritto della grelina nell'intestino entro il settimo giorno di digiuno, con incrementi significativi dei livelli di grelina nel sangue, mentre un decremento postprandiale è stato registrato sia nei livelli di mRNA della grelina nello stomaco, sia in quelli nel sangue (Unniappan *et al.*, 2004).

Nella spigola le variazioni di espressione della grelina avvengono in un intervallo di tempo piuttosto ampio se confrontato con quanto avviene in mammiferi ed uccelli, dove si hanno cambiamenti significativi del trascritto già dopo 12-24 ore di digiuno. L'andamento di espressione osservato in spigola è però simile a quello degli anfibi e degli altri pesci teleostei. Nella rana toro, ad esempio, l'espressione nello stomaco aumenta dopo 10 giorni di digiuno (Kaiya *et al.*, 2006), mentre nella tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) i livelli di trascritto della grelina non variano nemmeno dopo 7 giorni di privazione di cibo (Parhar *et al.*, 2003). Queste differenze nelle risposte al digiuno della grelina possono trovare spiegazione nelle differenze nel metabolismo energetico tra gli animali omeotermi (mammiferi e uccelli) ed eterotermi (rane e pesci).

I pesci privati del cibo nel corso dell'esperimento hanno mostrato, durante la fase di rialimentazione, una crescita più veloce rispetto ai controlli, compensando in questo modo la perdita del peso causata dal periodo di digiuno. L'iperfagia innescata dal periodo di digiuno nel nostro studio, è un esempio semplice, ma convincente della regolazione dell'alimentazione. L'iperfagia è il meccanismo con cui la spigola ha compensato la diminuzione della crescita durante il digiuno. Il significativo incremento della quantità di cibo ingerito ha portato ad una rapida crescita, nonostante non sia stato osservato alcun miglioramento nell'efficienza di conversione.

Conclusioni - Abbiamo isolato e depositato in Banca genica (acc. n° DQ665912) la sequenza completa codificante per la grelina nella spigola. Abbiamo inoltre dimostrato che lo stato nutrizionale dell'animale influenza i livelli di espressione della grelina,

inducendo una “up-regulation” in condizioni di bilancio energetico negativo e una “down-regulation” in condizioni di bilancio energetico positivo, mentre non ha effetti sull’espressione della grelina nell’intestino prossimale e nel cervello. Questi cambiamenti nei livelli di trascritto della grelina cibo-correlati sostengono l’ipotesi che essa rivesta un ruolo importante nella regolazione dell’assunzione del cibo in spigola.

Bibliografia

- ARIYASU H., TAKAYA K., TAGAMI T. *et al.* (2001) - Stomach is a major source of circulating ghrelin and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **86**: 4753-4758.
- KAIYA H., SAKATA I., YAMAMOTO K. *et al.* (2006) - Identification of immunoreactive plasma and stomach ghrelin, and expression of stomach ghrelin mRNA in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Gen. Comp. Endocr.*, **148**: 236-244.
- KOJIMA M., HOSODA H., DATE Y. *et al.* (1999) - Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, **402**: 656-660.
- PARHAR I.S., SATO H., SAKUMA Y. (2003) - Ghrelin gene in chichlid fish is modulated by sex and development. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, **305**: 169-175.
- TEROVA G., BERNARDINI G., BINELLI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2006) - cDNA encoding sequences for myostatin and FGF6 in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) and the effect of fasting and refeeding on their expression levels. *Domest. Anim. Endocrinol.*, **30**: 304-319.
- TEROVA G., RIMOLDI S., CHINI V., GORNATI R., BERNARDINI G., SAROGLIA M. (2007) - Cloning and expression analysis of insulin-like growth factor I and II in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L) during long-term fasting and refeeding. *J. Fish. Biol.*, **70/B**: 219-233.
- TEROVA G., RIMOLDI S., BERNARDINI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2008) - Sea bass ghrelin: molecular cloning and mRNA quantification during fasting and refeeding. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **155/2**: 341-351.
- UNNIAPPAN S., CANOSA L.F., PETER R.E. (2004) - Orexigenic actions of ghrelin in goldfish: feeding-induced changes in brain and gut mRNA expression and serum levels and responses to central and peripheral injections. *Neuroendocrinology*, **79**: 100-108.
- VOLKOFF H., CANOSA L.F., UNNIAPPAN S. *et al.* (2005) - Neuropeptides and the control of food intake in fish. *Gen. Comp. Endocr.*, **142**: 3-19.

S. BURATTI, S. FRANZELLITTI, R. POLETTI, A. CAPUZZO, E. FABBRI

Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali (CIRSA), Università di Bologna,
Via Sant'Alberto, 163 – 48100 Ravenna, Italia.
elena.fabbri@unibo.it

Centro Ricerche Marine (CRM), Viale Vespucci, 2 - 47042 Cesenatico (FC), Italia.

Dipartimento di Biologia, Sez. di Fisiologia, Università di Ferrara, Via Borsari 46 - 44100 Ferrara, Italia.

CORRELAZIONE TRA I LIVELLI DI BIOTOSSINE ALGALI E ALCUNI PARAMETRI FISIOLGICI DEL MITILO *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

RELATIONSHIP BETWEEN LEVELS OF ALGAL TOXINS AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF THE MUSSEL (MYTILUS GALLOPROVINCIALIS)

Abstract - Increasing levels of homoyessotoxins accumulated in mussels during the period of study (June-Dec 2006) were directly correlated with an increased expression of different genes (*PgP*, *Mrp2* and *MVP*) of the Multi Xenobiotic Resistance family. However at very high levels of toxins, the gene expressions were inhibited. We hypothesise mussels react to algal toxin by activating outward transporters such as *PgP*, *Mrp2* and *MVP*.

Key-words: algal toxins, *Mytilus galloprovincialis*, *MXR*-related gene expression, cyclic AMP, Adriatic Sea.

Introduzione - Gli effetti che le biotossine algali accumulate dai mitili hanno sulla salute umana sono ben noti. Sono invece rari gli studi riguardanti i potenziali effetti delle tossine sui parametri fisiologici dei mitili, è si ritiene che questi bivalvi subiscano solo marginalmente gli effetti delle tossine (Ade *et al.*, 2003). Nel presente studio abbiamo valutato la relazione tra l'accumulo di tossine algali ed alcuni dei principali parametri fisiologici del mitilo *Mytilus galloprovincialis*. Particolare attenzione è stata rivolta all'espressione di geni codificanti per le proteine del complesso MXR (*multi-xenobiotic resistance*), trasportatori di membrana coinvolti nei processi di detossificazione, e ai livelli di AMP ciclico (AMPc) molecola chiave nei fenomeni di trasduzione del segnale neuroendocrino.

Materiali e metodi - I mitili sono stati forniti dal Centro Ricerche Marine (CRM) di Cesenatico, presso cui è stato misurato l'accumulo di biotossine. Il campionamento è stato effettuato a cadenza mensile, da giugno a dicembre 2006, in 4 siti differenti: 2 banchi naturali (Ra08 e Ra09) e 2 allevamenti al largo di Cesenatico (Ce43 e Ce44). Presso il Laboratorio di Fisiologia e Biochimica Ambientale del CIRSA (Ravenna) sono stati prelevati i tessuti (ghiandole digestive, branchie, e mantello), è stato estratto l'RNA totale e valutata mediante PCR semiquantitativa l'espressione genica di tre trasportatori di membrana (*Pgp*, *MRP2* e *MVP*), studiando così la cosiddetta risposta MXR (Franzellitti e Fabbri, 2006). I livelli tissutali di AMPc sono stati valutati presso il laboratorio di Fisiologia dell'Università di Ferrara con un dosaggio di tipo radiochimico (Fabbri e Capuzzo, 2006).

Risultati - I parametri chimico-fisici (T, O₂%, conducibilità, ecc.), rilevati dalla Struttura Oceanografica Daphne dell'ARPA Emilia Romagna durante il periodo di studio non hanno mostrato variazioni significative nel corso dello studio. La concentrazione della clorofilla *a* invece ha subito un importante aumento da giugno a dicembre, giustificabile dato il corrispondente aumento della concentrazione di fitoplancton e del numero di specie algali riconosciute all'interno dei campioni di acqua analizzati.

Durante lo stesso periodo 4 campioni sono risultati positivi ai test di tossicità; il campione del sito Ra08 di giugno è risultato positivo al test del topo per le tossine PSP (con una concentrazione di 454 $\mu\text{g STXeq./kg p.e.}$), mentre i mitili provenienti da entrambi gli allevamenti di Cesenatico in ottobre e da Ra08 in dicembre erano positivi al test per le tossine liposolubili. Esaminando i risultati delle analisi chimiche relative alle tossine liposolubili, è stato osservato nel corso del tempo un aumento molto marcato della concentrazione totale di tali composti. Più in particolare, ha avuto luogo un aumento quasi esponenziale della concentrazione di homoyessotossina (homoYTX) e una concomitante diminuzione della concentrazione di yessotossina (YTX) nei tessuti dei mitili analizzati. L'espressione dei prodotti genici codificanti per i trasportatori MXR ha mostrato una significativa correlazione con la concentrazione delle tossine liposolubili presenti nei tessuti dei mitili. In particolare all'aumentare della concentrazione di homoYTX si manifestato un corrispondente aumento dell'espressione dei prodotti genici codificanti per i tre trasportatori. Tuttavia, alle concentrazioni massime di homoYTX i mitili mostravano una forte riduzione dei livelli di espressione. L'analisi statistica ha evidenziato un'ulteriore diretta correlazione tra la concentrazione di homoYTX e i livelli di AMPc nei tessuti, correlata a sua volta con l'espressione genica dei trasportatori del complesso MXR.

Conclusioni - Il progressivo accumulo di biotossine algali, soprattutto di homoYTX, nei mitili in ambiente naturale è correlato all'aumento dei livelli relativi di mRNA che codificano per le proteine responsabili del fenomeno di resistenza agli xenobiotici; tuttavia alle più elevate concentrazioni di homoYTX il fenomeno i livelli di espressione sono molto bassi. E' possibile ipotizzare che, a fronte di un accumulo di tossine, nei mitili vengano attivate appropriate risposte difensive per la estrusione delle tossine stesse, inibite quando la loro concentrazione supera determinati limiti. Tale fenomeno è stato dimostrato per altri composti ed è noto come inibizione della risposta MXR (Bard, 2000). I livelli di AMPc nei tessuti aumentano all'aumentare della concentrazione di homoYTX e sono invece inversamente correlati alla concentrazione di YTX. I livelli del nucleotide inoltre sono correlati all'aumento dell'espressione dei geni MXR. Quest'ultima relazione permette di ipotizzare che anche nei mitili, come nell'uomo (Rohlf e Glazer, 1995), l'AMPc moduli l'espressione dei geni MXR.

Bibliografia

- ADE P., FUNARI E., POLETTI R. (2003) - Risk to human health associated with marine toxic algae. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **39** (1): 53-68.
- BARD S.M. (2000) - Multixenobiotic resistance as a cellular defense mechanism in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, **48**: 357-389.
- FABBRI E., CAPUZZO A. (2006) - Adenylyl cyclase activity and its modulation in the gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to Cr^{6+} and Cu^{2+} . *Aquatic Toxicology*, **76**: 59-68.
- FRANZELLITTI S., FABBRI E. (2006) - Cytoprotective responses in the Mediterranean mussel exposed to Hg^{2+} and CH_3Hg^+ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **351**: 719-725.
- ROHLFF C., GLAZER R.I. (1995) - Regulation of multidrug resistance through the cAMP and EGF signalling pathways. *Cellular Signalling*, **7** (5): 431-443.

A. FABBROCINI¹, A. BAGNOLI^{1,2}, R. D'ADAMO¹, A.L. LANGELLOTTI^{1,2},
M. PANUNZIO¹, G. SORRENTI¹, V. VITIELLO^{1,2}

¹CNR Istituto di Scienze Marine, Sede Lesina, Via Pola, 4 - 71010 Lesina (FG), Italia.
adele.fabbrocini@fg.ismar.cnr.it

²Dip. Scienze Biologiche & Criacq, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italia.

MOTILITÀ DI SEME CRIOPRESERVATO DI ORATA
(*SPARUS AURATA* L. 1758): VALUTAZIONI COMPARATE
TRA ANALISI VISUALE E COMPUTERIZZATA

MOTILITY OF CRYOPRESERVED GILTHEAD SEABREAM
(*SPARUS AURATA*, L. 1758): COMPARING VISUAL EVALUATIONS
AND THE SPERM CLASS ANALYZER RESULTS

Abstract - The motility evaluation provides a rapid assessment of the sperm quality. The motility parameters of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L. 1758, Perciformes, Sparidae) spermatozoa have been analyzed by visual evaluation and by the SCA (Sperm Class Analyzer) system in order to evaluate its usefulness to assess the sperm quality after cryopreservation.

Key-words: sperm, motility, computer assisted analysis, cryopreservation, gilthead sea bream.

Introduzione - La motilità è uno dei criteri principali per la valutazione della qualità degli spermatozoi, dal momento che una sua alterazione, dovuta a danni a livello strutturale e/o fisiologico, può riflettersi in un abbassamento della capacità fecondante. L'analisi computerizzata della motilità spermatica permette di misurare in tempo reale parametri quali le velocità e gli indici da esse derivati, considerati buoni descrittori della motilità e direttamente correlabili alla capacità fecondante (Rurangwa *et al.*, 2004). Obiettivo del presente lavoro è la caratterizzazione del "pattern di motilità" del seme criopreservato di orata (*S. aurata*), al fine di ottenere una rapida ed oggettiva valutazione delle variazioni nella qualità del seme in seguito alla procedura di criopreservazione, utilizzando sia l'analisi visuale che un sistema computerizzato.

Materiali e metodi - Il seme è stato prelevato per spremitura addominale da esemplari di allevamento e trasportato in laboratorio a 0-2 °C. Il seme è stato poi diluito in NaCl 1%+DMSO 5%, congelato con un gradiente di 10 °C/min (Fabbrocini *et al.*, 2000) e conservato in azoto liquido; il seme è stato scongelato con un gradiente di 15 °C/sec e conservato a +4 °C, non attivato, fino a 4 h. Per la valutazione dei parametri di motilità, aliquote di seme, sia fresco che scongelato, sono state attivate mediante diluizione in H₂O_{mare} filtrata (36‰, pH 8.02, 18 °C) ed analizzate allo SCA (Sperm Class Analyzer, Microptic s.l.) come descritto in Di Matteo *et al.*, 2007; la motilità è stata inoltre valutata mediante osservazione diretta al microscopio in contrasto di fase da tre operatori indipendenti; le valutazioni sono state effettuate al momento della diluizione (t0) e dopo 5 e 15min a 18 °C. L'analisi statistica dei risultati è stata condotta mediante T di Student (n=40).

Risultati - Le percentuali di spermatozoi rapidi (velocità>45 µm/sec) analizzati mediante SCA e le classi di motilità registrate mediante analisi visuale dei campioni di seme di orata fresco e scongelato sono rappresentate in Fig. 1. Nel seme fresco, la % di spermatozoi rapidi, presenta il primo significativo calo a 15 min dall'attivazione (P<0.001). Il seme scongelato mantiene una % di spermatozoi rapidi all'attivazione paragonabile al fresco anche dopo 1h dallo scongelamento; a differenza del seme fresco però, si osserva un significativo calo della % dei rapidi già a 5min dall'attivazione (P<0.001), anche se questi valori si mantengono poi costanti fino a 15 min.

Dopo 2 e 4 h dallo scongelamento, invece, anche la motilità all'attivazione risulta essere significativamente inferiore sia a quella del seme fresco che a quella del seme attivato immediatamente dopo lo scongelamento ($P < 0.001$). I valori della rVCL (velocità degli spermatozoi rapidi sulla loro traiettoria) sono compresi tra 95 e 150 $\mu\text{m}/\text{sec}$ e quelli della rVSL (velocità lineare degli spermatozoi rapidi) tra 50 e 100 $\mu\text{m}/\text{sec}$, senza significative differenze tra freschi e scongelati. La motilità totale valutata mediante analisi visuale presenta un andamento simile, anche se i decrementi in relazione al tempo dallo scongelamento e dall'attivazione risultano meno marcati.

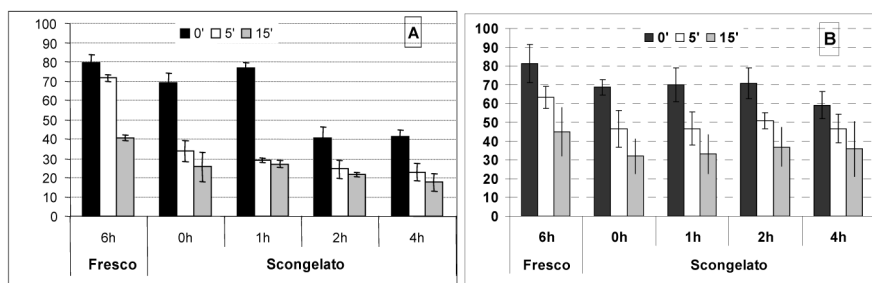


Fig. 1 - Motilità all'attivazione (t_0) e dopo 5 e 15 min: (A) analisi allo SCA e (B) analisi visuale.

Motility at the activation (t_0) and after 5 and 15 min: (A) SCA analysis; (B) visual analysis.

Conclusioni - I parametri descrittivi della motilità analizzati nel seme fresco mediante SCA presentano valori paragonabili a quelli riscontrati nella spigola da Felip *et al.*, 2006. È importante notare che i livelli di r-VCL e r-VSL rimangono paragonabili a quelli del seme fresco anche quando il numero di spermatozoi rapidi si abbassa notevolmente. L'unica differenza tra le due metodiche di analisi consiste nella capacità del sistema computerizzato di distinguere gli spermatozoi rapidi ($>45 \mu\text{m}/\text{sec}$) dai motili totali. Questo permette di quantificare nei singoli campioni scongelati il numero di spermatozoi fisiologicamente paragonabili al seme fresco di buona qualità, discriminando efficacemente, in tempo reale, i campioni potenzialmente in grado di ottenere buone percentuali di fecondazione. Questi primi positivi risultati incoraggiano ad ottimizzare le procedure di acquisizione ed analisi con questo sistema anche per altre specie ittiche sia di valore ecologico che commerciale, ai fini di un suo utilizzo sia in acquacoltura che in ecotossicologia.

Bibliografia

- DI MATTEO O., SORRENTI G., D'ADAMO R., FABBROCINI A. (2007) - Utilizzo dello SCA per la valutazione della motilità in saggi ecotossicologici. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (1): 120-123.
- FABBROCINI A., LUBRANO LAVADERA S., RISPOLI S., SANSONE G. (2000) - Cryopreservation of sea bream *Sparus aurata* spermatozoa. *Cryobiology*, **40** (1): 46-53.
- FELIP A., ZANUY S., CARRILLO M. (2006) - Comparative analysis of growth performance and sperm motility between precocious and non-precocious males in the European sea bass (*D. labrax*). *Aquaculture*, **256**: 570-578.
- RURANGWA E., KIME D.E., OLLEVIER F., NASH J.P. (2004) - The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish *Aquaculture*, **234**: 1-28.

I. GUARNIERO, M. PASSAMONTI¹, F. RONGAI, M. TRENTINI, A. RINALDI²

CdL Acquacoltura e Ittiopatologia, Fac. Med. Vet., Univ. di Bologna,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
ilaria.guarniero@unibo.it

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Via Selmi, 3 – 40126 Bologna, Italia.

²Struttura Oceanografica Daphne, ARPA Emilia Romagna, Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.

ANALISI COMPARATIVA DEL FRAMMENTO GENICO 18S rDNA NEL MOLLUSCO BIVALVE *MACTRA CORALLINA* (LINNEO 1758)

COMPARATIVE ANALYSIS OF 18S rDNA IN THE BIVALVE MOLLUSC *MACTRA CORALLINA* (LINNEO 1758)

Abstract – Two specimens of *Mactra corallina* var. *corallina* (white habitus) and 9 specimens of *Mactra corallina* var. *lignaria* (brown habitus) were analysed in order to define the correct taxonomic level of the two forms. Sequences alignments, genetic distances and phylogenetic analysis account for a strong separation between the two morphotypes. These results should be taken into account in management policy decisions.

Key-words: macrobenthos, *Mactra corallina*, 18S rDNA, marine resources.

Introduzione – La specie *Mactra corallina* (= *stultorum*, Linneo 1758) è distribuita in tutto il Mediterraneo, in Italia (coste Adriatiche in particolare) è oggetto di pesca artigianale e si trova regolarmente nei mercati, dove viene venduta per il consumo (Fischer *et al.*, 1987). Questa specie predilige i fondali sabbiosi prossimi alla costa, presenta una conchiglia sottile di medie dimensioni che può presentare o meno fasci radiali di colore bruno. A seconda della presenza di quest'ultimo carattere morfologico o meno, è stata identificata da alcuni autori come *M. corallina* var. *corallina* (habitus chiaro) e *M. corallina* var. *lignaria* (habitus scuro). In questo lavoro si è scelto di utilizzare questa ultima denominazione. Questo lavoro rappresenta un primo approccio di carattere molecolare (sulla base del gene 18S rDNA, ampiamente utilizzato su Bivalvi; Canapa *et al.*, 2001). Una corretta classificazione delle specie oggetto di pesca infatti ha ricadute di tipo applicativo, in quanto in un'ottica di conservazione e di una corretta gestione degli stock ittici è necessario conoscere esattamente la composizione in specie e la distribuzione delle risorse aliutiche.

Materiali e metodi – Gli esemplari analizzati sono stati raccolti nel settembre 2006 nei fondali sabbiosi antistanti la costa di Cesenatico. Gli esemplari raccolti sono stati immediatamente preservati in alcol 80% e conservati a +4 °C. Per ogni individuo, il DNA genomico è stato ottenuto a partire da una frazione di tessuto prelevata dal piede tramite protocollo salino standard con C-TAB 2%. L'amplificazione di una porzione di 514 pb del gene 18S è stata effettuata con i primer e il protocollo proposto da Livi *et al.* 2006. Gli stessi primer sono stati utilizzati per le reazioni di sequenza. Le sequenze ottenute sono state allineate secondo l'algoritmo CLUSTALW. Le distanze genetiche (P-Distance) e gli alberi filogenetici Neighbor-Joining (modello di distanze: K-2-P) e Maximum Parsimony sono stati calcolati tramite MEGA 4.0. Il supporto statistico alla robustezza dei nodi è stato ottenuto tramite Bootstrap con 1000 repliche e i valori di Bootstrap inferiori al 70% non sono stati considerati.

Risultati – Dall'allineamento di tutte le sequenze (due per *M. corallina* var. *corallina*; 9 per *M. corallina* var. *lignaria*; 18 sequenze di riferimento e una per l'outgroup *M. galloprovincialis*) sono state individuate 142 posizioni variabili su un totale di 514

pb. *M. corallina* var. *corallina* differisce dalla variante *lignaria* in 23 posizioni (pari al 4,47% del frammento sequenziato). Il frammento sequenziato è apparso conservato all'interno delle due varianti: non sono stati osservati polimorfismi intra-variante. Le distanze genetiche calcolate sulla base del modello P-Distance hanno mostrato una divergenza fra la varietà *corallina* e *lignaria* pari a 0,04. Le stesse distanze calcolate per specie diverse appartenenti alla famiglia delle Mactridae (i.e. genere *Spisula* con *S. solida*, *S. solidissima* e *S. subtruncata*; genere *Lutraria* con *L. lutraria* e *L. sieboldi*; genere *Tresus* con *T. capax* e *T. nuttali*) sulla base dello stesso frammento 18S hanno mostrato distanze interspecifiche pari a 0,01. Per quanto riguarda la ricostruzione filogenetica, l'analisi dell'albero NJ mostra in posizione basale due principali gruppi evolutivi: il gruppo A costituito da individui appartenenti alla superfamiglia Mactroidea (fam. Mactridae e fam. Mesodesmatidae, che in quest'analisi appare polifiletica) e il gruppo B costituito da individui appartenenti alla superfamiglia Veneroidea (qui presenti con un'unica famiglia: Veneridae). All'interno del gruppo a si osservano due clusters principali: uno costituito dagli individui del genere *Mactra* e l'altro da tutti gli altri individui appartenenti alla famiglia Mactridae presi in considerazione come sequenze di confronto. Infine è interessante notare come *M. corallina* var. *corallina* costituisca un cluster separato rispetto alla var. *lignaria* e come i due gruppi si mostrino reciprocamente monofiletici. La topologia dell'albero NJ è supportata da alti valori di bootstrap associati ai nodi fondamentali. Risultati del tutto analoghi sono stati ottenuti con il metodo MP: la topologia fondamentale dell'albero è completamente rispettata.

Conclusioni – Sulla base dei risultati parziali finora ottenuti (alti valori associati di P-Distance, topologia degli alberi filogenetici), sembrerebbe che la suddivisione della specie *M. corallina* nelle due varianti *corallina* e *lignaria* fatta sulla base delle caratteristiche morfologiche non solo abbia ragione di esistere, ma che le due varianti possano addirittura essere elevate al rango di specie. I due morfotipi campionati sono infatti sintopici pur mostrando due frammenti 18S rDNA nettamente distinti, il che potrebbe essere indicativo di un blocco nel flusso genico. Si tratta comunque di un primissimo approccio nel tentativo di fare chiarezza nella annosa questione della classificazione della specie in oggetto, che dovrà essere confermato da ulteriori analisi su un numero più congruente di campioni e su altri frammenti genici. Infine è interessante notare come le due specie appartenenti alla famiglia delle Mesodesmatidae analizzate (entrambe le sequenze ottenute da GenBank) appaiano polifiletiche e per tanto si suggerisce una revisione di tale famiglia su base molecolare.

Bibliografia

- CANAPA A., BARACCA M., MARINELLI A., OLMO E. (2001) – A molecular phylogeny of Heterodonta (Bivalvia) based on small ribosomal subunit RNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **21** (1): 156-161.
- FISCHER W., SCHNEIDER M., BAUCHOT M.L. (1987) - Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. Végétaux et invertébrés. FAO Publication, Rome.
- LIVI S., CORDISCO C., DAMIANI C., ROMANELLI M., CROSETTI D. (2006) - Identification of Bivalve species in an early development stage through PCR-SSCP and sequence analysis of partila 18S rDNA. *Mar. Biol.*, **149**: 1149-1161.

G. ISANI, A. BONALDO¹, P. FAGIOLI¹, L. MARIANI², E. CARPENÈ, G. ANDREANI

Dip. Clinico Veterinario, Alma Mater Studiorum, Univ. di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
gloria.isani@unibo.it

¹Dip. di Morfofisiologia Veterinaria e Produzioni Animali, Univ. di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.

²Lab. di Acquacoltura, Polo Scientifico-Didattico di Cesena, Univ. di Bologna,
Via dei Mille, 160 – 47042 Cesenatico (FC) Italia.

PIRUVATO CINASI E MIOSINE IN ORATE (*SPARUS AURATA*) ALIMENTATE CON DIETE A DIVERSO CONTENUTO LIPIDICO

PYRUVATE KINASE AND MYOSINS IN GILTHEAD SEA BREAM (SPARUS AURATA) FED DIETS WITH DIFFERENT LIPID CONTENT

Abstract – This study shows interesting relationship between biochemical and nutritional parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets with different lipid content. In particular, is noteworthy the increase of pyruvate kinase activity and the different expression of myosin light chain LC3 at the end of experimental feeding.

Key-words: pyruvate kinase, myosins, artificial diets, *Sparus aurata*.

Introduzione – In molti teleostei l'aumento della disponibilità energetica nella dieta comporta un accumulo di grasso nei vari tessuti, incluso il muscolo. Inoltre, la quantità e qualità di lipidi accumulati influenzano la qualità del muscolo in termini di valore nutrizionale e sensoriale. Per quanto riguarda le variazioni di parametri biochimici del muscolo in dipendenza dal diverso contenuto lipidico, gli studi sono ancora scarsi; nei salmonidi è stato riportato che l'aumento dei lipidi nella dieta non provoca variazioni di enzimi muscolari (Kolditz *et al.*, 2008). La presente ricerca è stata condotta su orate (*Sparus aurata*) di allevamento alimentate con diete a diverso contenuto lipidico allo scopo di integrare i dati di accrescimento con alcuni parametri biochimici.

Materiali e metodi - Esemplari di orata (*S. aurata*) sono stati alimentati con 3 diete isoproteiche a quantità crescenti di lipidi (D1, D2 e D3). I campionamenti sono stati effettuati dopo 6 (T1) e 12 settimane (T2) e sono stati prelevati campioni di muscolo scheletrico laterale bianco. L'attività della piruvato cinasi (PK), espressa in U/mg di proteina, è stata determinata mediante tecniche spettrofotometriche, secondo quanto riportato da Isani *et al.* (2004). Le proteine miofibrillari sono state estratte, separate in SDS-PAGE e le catene leggere della miosina sono state identificate mediante Western blotting, secondo quanto riportato da Isani *et al.* (2004).

Risultati – Durante il corso della sperimentazione non si sono manifestati casi di mortalità. Gli esemplari hanno presentato tassi di accrescimento giornaliero di 1,54, 1,45 e 1,48% giorno⁻¹ e un peso finale di 252,3, 238,9 e 245,4 g nei gruppi alimentati rispettivamente con la dieta D1, D2 e D3.

La PK è caratterizzata da una attività elevata (con valori che variavano da 5,5 a 7,1 U/mg proteina all'inizio della sperimentazione), in accordo con il ruolo fisiologico svolto da questo enzima regolatore della glicolisi, la principale via metabolica che fornisce l'ATP necessario alla contrazione nel muscolo bianco. Per tutte e tre le diete, si è riscontrato un aumento significativo dell'attività dell'enzima nel corso della sperimentazione, correlato con l'accrescimento ponderale. L'aumento è più evidente (al T0, 6,5 U/mg proteina e al T2, 10,9 U/mg di proteina) nel caso della dieta D1, quella contenente la minore quota lipidica.

Come negli altri vertebrati, anche nel muscolo dei pesci, la miosina è costituita da catene pesanti (HC) e da due tipi di catene leggere alcaline (LC1 e LC3) e un tipo di catene leggere regolatorie (LC2). L'espressione delle catene leggere risponde a molteplici fattori endogeni ed esogeni, come ad esempio la composizione della dieta. Le tre catene leggere della miosina di orata, identificate tramite Western blotting, hanno il seguente ordine di migrazione elettroforetica: LC1<LC3<LC2. Nel corso della sperimentazione, il rapporto LC1:LC3 aumenta in modo significativo soltanto nei pesci alimentati con la dieta a più elevato contenuto lipidico (Dieta D3), passando da 1,3 al T0 a 6,0 dopo 12 settimane di alimentazione; questa variazione è dovuta soprattutto a diminuzione della LC3 rispetto alle altre due catene leggere.

Conclusioni – I valori di attività misurati negli esemplari di orata oggetto di questa sperimentazione sono in accordo con quanto riportato in letteratura (Isani *et al.*, 2004; Kolditz *et al.*, 2008) e mostrano una correlazione positiva con le dimensioni corporee (Isani *et al.*, 2004; Davies e Moyes, 2007). In base ai dati ottenuti, possiamo ipotizzare che, al termine della sperimentazione, i pesci alimentati con la dieta D3 presentino nel muscolo bianco un minore potenziale glicolitico, in accordo con attività più basse della PK e nel contempo le fibre muscolari presentino una minore velocità di contrazione, come evidenziato dalla diminuzione della LC3 (Moutou *et al.*, 2001). Si ricorda a questo proposito una particolarità, che rende il muscolo dei pesci un interessante modello di studio: in questi organismi le catene leggere LC1 e LC3 sono codificate da geni diversi (Dalla Libera *et al.*, 1991), a differenza dei mammiferi nei quali le due catene leggere si ottengono per *alternative splicing* da uno stesso gene.

Bibliografia

- DALLA LIBERA L., CARPENÈ E., THIEBERT J., COLLINS J.H. (1991) – Fish myosin alkali light chains originate from two different genes. *J. Muscle Res Cell Mot.*, **12**: 366-371.
- DAVIES R., MOYES CD. (2007) - Allometric scaling in centrarchid fish: origins of intra- and inter-specific variation in oxidative and glycolytic enzyme levels in muscle. *J. Exp. Biol.*, **210** (21): 3798-3804.
- KOLDITZ C., BORTHAIRE M., RICHARD N., CORRAZE G., PANSE RAT S., VACHOT C., LEFÈVRE F., MÉDALE F. (2008) – Liver and muscle metabolic changes induced by dietary 1 energy content and genetic selection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Epub ahead of print January 30, 2008.
- ISANI G., ANDREANI G., MONARI M., DALLA LIBERA L., ZANNONI M., CARPENÈ E. (2004) – Zn, Cu, Pyruvate kinase and Myosin in white muscle of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed a Zn enriched diet. *Basic Appl. Myology*, **14** (2): 87-94.
- MOUTOU K.A., CANARIO A.V., MAMURIS Z., POWER D.M. (2001) – Molecular cloning and sequence of *Sparus aurata* skeletal myosin light chains expressed in white muscle: developmental expression and thyroid regulation. *J. Exp. Biol.*, **204** (17): 3009-3018.

L. STABILI^{1,2}, M.I. ACQUAVIVA¹, R.A. CAVALLO¹, E. CECERE¹, R. LO NOCE¹,
M. NARRACCI¹, A. PETROCELLI¹

¹IAMC, Sezione di Taranto – CNR, Via Roma, 3 – 74100 Taranto, Italia.
loredana.stabili@iamc.cnr.it

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università di Lecce,
Via Prov.le Lecce-Monteroni – 73100 Lecce, Italia.

ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DI MACROALGHE PRELEVATE NEL MAR PICCOLO DI TARANTO

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MACROALGAE COLLECTED IN THE MAR PICCOLO OF TARANTO

Abstract – In the present work we report the presence of antibacterial activity in seaweeds common in the Mar Piccolo of Taranto (Northern Ionian Sea, Italy). In particular *Gracilariopsis longissima* and *Gracilaria dura* extracts showed a bacteriostatic activity.

Key-words: antibacterial activity, bacteria, *Gracilariopsis longissima*, *Gracilaria dura*, macroalgae.

Introduzione – L'ambiente marino è ricco di sostanze strutturalmente uniche, talora con attività farmacologiche interessanti, che si accumulano principalmente negli organismi viventi. Le macroalghe ad esempio sono una fonte per la produzione di metaboliti quali polisaccaridi, lipidi, proteine, carotenoidi, vitamine, steroli, enzimi, antibiotici (Colwell, 1983) Recentemente un'attività antimicrobica nei confronti di batteri patogeni per l'uomo e per i pesci è stata evidenziata nell'alga *Laurencia chondrioides* Børgesen (Bansemir, 2004) inoltre, dagli alginati, polisaccaridi abbondantemente presenti nella parete cellulare delle alghe brune, sono state estratte alcune frazioni degli acidi mannuronico e guluronico che hanno mostrato una notevole attività antibatterica contro *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (Hu *et al.*, 2005) Anche gli estratti lipidici di macroalghe sono studiati come fonte di sostanze con proprietà antibatteriche. Il presente lavoro ha avuto lo scopo di verificare la presenza di un'attività antibatterica nelle macroalghe *Gracilariopsis longissima* (S.G. Gmelin) Steentoft, L.M. Irvine *et Farnham* e *Gracilaria dura* (C. Agardh) J. Agardh prelevate nel Mar Piccolo di Taranto.

Materiali e metodi – Le macroalghe provengono dai popolamenti bentopleustofitici del Mar Piccolo di Taranto e sono state raccolte in primavera. Gli estratti algali sono stati ottenuti mediante l'utilizzo di un estrattore soxhlet con una soluzione di cloroformio/metanolo 2:1 a 55 °C per 60 minuti. L'estratto algale è stato utilizzato per valutare l'attività antimicrobica usando un saggio di inibizione di crescita batterica in piastra col metodo di diffusione in agar. Per i saggi di attività antibatterica sono stati utilizzati alcuni ceppi batterici appartenenti al genere *Vibrio* (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio cholerae non O-1* *Vibrio vulnificus* e *Vibrio salmonicida*) coltivati in Marine broth. La concentrazione di tali batteri è stata determinata spettrofotometricamente a 540 nm durante la loro fase esponenziale di crescita. Per l'esecuzione del saggio di attività antibatterica un'aliquota pari a 100 µL di ciascuna sospensione batterica è stata seminata per *spread plate* su piastre contenenti 20 mL di Marine Agar. Su ogni piastra, sono stati adagiati dischetti di carta Whatman N° 1 sterili di 6 mm di diametro imbevuti con 30 µL dei differenti estratti algali (concentrazione pari a 5 mg/mL di estratto secco in etanolo) da saggiare per l'esecuzione del test con il metodo Kirby Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Il controllo è stato effettuato procedendo con lo stesso metodo utilizzando dischetti imbevuti con 30 µL del solo solvente.

Risultati – L'estratto di *Gracilariopsis longissima* esercita un'attività batteriostatica nei confronti di tutti i vibriani utilizzati (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio vulnificus* e *Vibrio cholerae* non O-1). L'estratto di *Gracilaria dura* invece ha un'attività batteriostatica solo nei confronti di *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis* e *Vibrio cholerae* non O-1 (Tab. 1).

Tab. 1 - Attività antibatterica (espressa come diametro d'inibizione della crescita batterica) delle due alghe esaminate.

Antibacterial activity (expressed as diameter of bacterial inhibition) in the two seaweeds examined.

Ceppo batterico	Diametro d' inibizione (mm)	
	<i>Gracilariopsis longissima</i>	<i>Gracilaria dura</i>
<i>Vibrio alginolyticus</i>	25	10
<i>Vibrio fluvialis</i>	8	8
<i>Vibrio salmonicida</i>	8	0
<i>Vibrio vulnificus</i>	15	0
<i>Vibrio cholerae</i> non O-1	10	8

Conclusioni – I risultati ottenuti in questo lavoro sono incoraggianti e suggeriscono l'impiego di dosi crescenti degli estratti algali delle due specie utilizzate per la caratterizzazione dell'attività antibatterica osservata e la preparazione di composti antibatterici d'interesse farmacologico. In particolare l'azione antibatterica nei confronti dei vibriani riscontrata negli estratti algali impiegati lascia supporre che le molecole responsabili di tale attività potrebbero essere utilizzate per la lotta alle vibriosi. Queste costituiscono uno dei problemi maggiori negli impianti di allevamento ittico poiché molte specie di pesci sono suscettibili ad infezioni sostenute da vibriani quando la loro superficie è danneggiata o quando sono presenti altri fattori di stress (Bordas *et al.*, 1998).

Bibliografia

- BANSEMIR A., JUST N., MICHALIK M., LINDEQUIST U., LALK M. (2004) - Extracts and sesquiterpene derivatives from the red Alga *Laurencia chondrioides* with antibacterial activity against fish and human pathogenic bacteria. *Chemistry & Biodiversity*, **1** (3): 463-467.
- BAUER A.W., KIRBY W.M., SHERRIS J.C., TURCK M. (1966) – Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**: 493-496.
- BORDAS M.A., BALEBONA M.C., RODRIGUEZ-MAROTO J.M., BORREGO J.J., MORIÑIGO M.A. (1998) - Chemotaxis of pathogenic *Vibrio* strains toward mucus surfaces of gilt-heat sea bream (*Sparus aurata* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, **64**: 1573-1575.
- COLWELL R.R. (1983) - Biotechnology in marine science. *Science*, **222**: 1924.
- HU X., JIANG X., GONG J., HWANG H., LIU Y., GUAN H. (2005) – Antibacterial activity of lyase-depolymerized products of alginates. *J. Appl. Phycol.*, **17**: 57-60.

R. CARLUCCI, G. SASSANELLI, F. MASTROTOTARO, M. IMPERATRICE, A. MATARRESE

Dipartimento di Zoologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.
r.carlucci@biologia.uniba.it

ASPETTI RIPRODUTTIVI DI *OSTREA EDULIS* (L., 1758)
(BIVALVIA: OSTREACEA) NEL MAR GRANDE DI TARANTO
(MAR IONIO SETTENTRIONALE)

REPRODUCTIVE FEATURES OF OSTREA EDULIS (L., 1758)
(BIVALVIA: OSTREACEA) IN THE MAR GRANDE OF TARANTO
(NORTHERN IONIAN SEA)

Abstract - The reproductive features of *O. edulis* were investigated collecting monthly samples from a breeding population in the Mar Grande of Taranto (Northern Ionian Sea). A total of 240 gonads were observed. Macroscopic observations were compared with histological preparations. Mature eggs and sperms were observed throughout the year. Spawning and incubation of larvae occur during spring and summer with a lowering during July and August, when the highest temperatures were recorded into the sea.

Key-words: reproduction, European flat oyster, *Ostrea edulis*, Northern Ionian Sea, Mediterranean Sea.

Introduzione - L'ostrica piatta *Ostrea edulis* (L., 1758) è un bivalve edule di importanza commerciale distribuito nell'Atlantico nord-occidentale ed in Mediterraneo (Diaz-Almela *et al.*, 2004). A causa di una epizoozi (Cano e Rocamora, 1996), un drastico declino delle abbondanze degli stock commerciali di questa specie è stato registrato in tutti i siti di allevamento europei. Sebbene stringenti misure, limitanti il rischio di epidemie, siano state adottate in sede comunitaria, la produzione commerciale di *O. edulis* è attualmente piuttosto bassa, soprattutto in Mediterraneo. In Italia, sono stati allestiti specifici programmi di reintroduzione della specie nelle aree di distribuzione naturale. In questo contesto, gli aspetti riproduttivi di *O. edulis* sono stati studiati osservando una popolazione in allevamento nel Mar Grande di Taranto, nell'ambito di un programma di ricerca che si propone di tutelare la varietà locale di *O. edulis tarentina* Issel, 1882 (Demir, 2003).

Materiali e metodi - Un campionamento casuale di *O. edulis* è stato effettuato con cadenza mensile da aprile 2007 a marzo 2008. Ogni mese sono stati prelevati 20 esemplari campionando una popolazione raccolta su banchi naturali e mantenuta in allevamento per la durata dell'esperimento. La lunghezza umbone-margine inferiore (mm) e il peso umido (g) sono stati misurati per ogni esemplare. La maturità delle gonadi è stata valutata applicando la scala macroscopica di Perusko (1967). L'esame a fresco della gonade e del liquido aspirato dalla cavità palleale ha permesso di osservare, al microscopio ottico, i differenti stadi di maturazione degli elementi germinali maschili e femminili ed i differenti stadi di sviluppo degli embrioni (Mietti *et al.*, 2002). Le informazioni acquisite a fresco, sono state confrontate con quelle derivanti dall'osservazione di preparati istologici, allestiti e colorati con blu di toluidina o con soluzione emallume-Carrazzi (Mazzi, 1977).

Risultati - Il range dimensionale dei 240 esemplari campionati era compreso tra 42 e 105 mm di lunghezza umbone-margine inferiore. Il più piccolo esemplare maturo misurava 42 mm. In tutti i mesi di campionamento sono stati osservati esemplari maturi. In particolare, al periodo compreso tra gennaio e marzo, durante il quale le gonadi hanno presentato uova e morule spermatiche mature, segue un periodo di emissione dei gameti maturi. Infatti, l'osservazione di gonadi svuotate, associata alla

presenza di gameti maturi e delle larve *veliger* in fase di incubazione in cavità palleale, indica che la riproduzione (emissione, fecondazione, sviluppo embrionale e rilascio delle larve *veliger*) avviene soprattutto in primavera e prosegue per tutto il periodo estivo. Un rallentamento della maturazione e della conseguente emissione degli elementi germinativi, si verifica in luglio ed agosto, probabilmente in corrispondenza delle temperature più elevate. Infatti, quando in tarda estate-inizio autunno le temperature si abbassano, si assiste ad una ripresa della maturazione ed emissione dei gameti. Con l'ulteriore calo delle temperature in autunno, la condizione delle gonadi appare piuttosto eterogenea corrispondendo ad una fase di progressiva maturazione degli elementi germinativi. L'analisi istologica ha confermato che i mesi invernali e l'inizio della primavera rappresentano il periodo nel quale le gonadi di *O. edulis* raggiungono il loro massimo grado di maturazione. Infatti, l'osservazione di tali preparati ha evidenziato la presenza di follicoli completamente ripieni di uova e morule spermatiche mature. I preparati istologici relativi alle gonadi dei campioni prelevati in primavera ed estate hanno presentato una maggiore eterogeneità. Infatti, sono stati osservati gonadi con follicoli contenenti esclusivamente morule spermatiche in diverso stadio di maturazione, nonché gonadi con follicoli contenenti sia ovociti che morule spermatiche in diverso stadio di maturazione. Inoltre, sono stati osservati gonadi con follicoli parzialmente ripieni di uova e morule spermatiche mature.

Conclusioni - Sebbene esistano evidenze sperimentali circa l'influenza della temperatura sull'attività riproduttiva dell'ostrica piatta (Ruiz *et al.*, 1992), i risultati conseguiti nella presente ricerca contribuiscono a meglio comprendere alcuni aspetti del ciclo biologico di *O. edulis*. Infatti, le osservazioni a fresco ed i preparati istologici hanno evidenziato che la gametogenesi è continua in tutti i mesi dell'anno, presentando un rallentamento, esclusivamente in corrispondenza del periodo più caldo, registrato tra luglio ed agosto. Tutto ciò differenzia la popolazione di *O. edulis* dei Mari di Taranto (Mar Ionio settentrionale) da quella osservata in Medio Adriatico (Mietti *et al.*, 2002), nella quale durante il periodo invernale si osserva una stasi riproduttiva.

Bibliografia

- DIAZ-ALMELA E., BOUDRY P., LAUNEY S., BONHOMME F., LAPEGUE S. (2004) - Reduced female gene flow in the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Journal of Heredity*, **95** (6): 510-516.
- DEMIR M. (2003) - Shells of Mollusca collected from the Seas of Turkey. *Turk J. Zool.*, **27**: 101-140.
- CANO J., ROCAMORA J. (1996) - Growth of the European flat oyster in the Mediterranean Sea (Murcia, Spain). *Aquaculture International*, **4**: 67-84.
- MAZZI V. (1977) - *Manuale di tecniche istologiche e istochimiche*. Piccin Editore, Padova: 750 pp.
- MIETTI N., PRIOLI G., FIORI F., TONTINI N. (2002) - Studi sull'attività riproduttiva di *Ostrea edulis* L. in medio Adriatico e prove di reperimento di seme selvatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9**: 145-153.
- PERUSKO G.H. (1967) - A study of the gonads of *Ostrea edulis* L. in relation to its spawning cycle in the north Adriatic. *Thalassia Jugosl.*, **3**: 5-10.
- RUIZ C., MARTINEZ D., MOSQUERA G., ABAD M., SANCHEZ J.L. (1992) - Seasonal variation in condition, reproductive activity and biochemical composition of the flat oyster, *Ostrea edulis*, from San Cibrán (Galicia, Spain). *Marine Biology*, **112**: 67-74.

La ricerca è stata supportata dalla Regione Puglia nell'ambito del programma "Reintroduzione dell'allevamento di *Ostrea edulis* nei bacini marini di Taranto" - Re.O.Tar. - POR Puglia 2000-2006 - Asse IV - Sistemi locali di sviluppo Misura n. 4.13 - Sottomisura 4.13.E "Azioni innovative".

M. MANCUSO, M.T. COSTANZO, G. MARICCHIOLO, R. ZACCONE, L. PIRRERA,
M. GRISTINA¹, D. CUCCU², L. GENOVESE

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC) – CNR – Sez. di Messina
Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.
monique.mancuso@iamc.cnr.it

¹IAMC-CNR, Sez. Ma zara del Vallo (TP), Italia.

²Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Univ. di Cagliari, Italia.

PRIMO CASO DI VIBRIOSI NELL'ARAGOSTA ROSSA (*PALINURUS ELEPHAS*) (FABRICIUS, 1787) IN SICILIA

FIRST REPORT OF A VIBRIOSIS EPISODE OCCURRED IN EUROPEAN RED SPINY LOBSTER (*PALINURUS ELEPHAS*) (FABRICIUS, 1787) IN SICILY

Abstract - In Sicily, during a growth trial, an episode of vibriosis in *Palinurus elephas* (Decapoda, Palinuridea) occurred. Specimens presented tail erosion and necrosis of the appendages. Bacteriological assays identified that 50.5% of bacterial strains was *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*, 27% *Vibrio* *parahaemolyticus* and 22% *Vibrio* *alginolyticus*. Our results support the hypothesis that handling stress causes a decrease of immune defense inducing the outbreak of diseases.

Key-words: *Palinurus elephas*, crustacean diseases, bacterial disease, vibriosis.

Introduzione – L'aragosta rossa (*Palinurus elephas*, Fabricius, 1787), tipica del Mar Mediterraneo, è una specie molto pregiata. A causa dell'*overfishing* e grazie all'elevato valore commerciale, negli ultimi anni, grande interesse è stato rivolto a questa specie sia per una reintroduzione nel suo habitat naturale che come specie innovativa in acquacoltura (Booth e Kittaka, 1994). Uno dei problemi più gravi legati all'allevamento dei crostacei è l'insorgenza di patologie che si manifestano soprattutto a carico dell'esoscheletro e del ventaglio caudale (Musgrove *et al.*, 2005; Geddes, 2001) e che sono per la maggior parte sono causate da batteri appartenenti al genere *Vibrio*. In questo lavoro riportiamo un caso di Vibriosi in esemplari di *P. elephas* durante un esperimento di adattamento alla cattività e monitoraggio della crescita in microcosmo.

Materiali e metodi – Nel Luglio 2006, 10 esemplari di aragosta rossa (P.M. 99,25±30,46; L.C.47,8±9,3) di provenienza selvatica, sono stati suddivisi per sesso e stabulati presso l'impianto dell'IAMC-ME in 2 vasche a circuito aperto (V=2 m³), mantenuti in condizioni di foto-termoperiodo naturale e alimentati *ad libitum* con mitili vivi. A 6 mesi dalla cattura, la malattia, si è presentata in una femmina attraverso erosione e necrosi del ventaglio caudale e delle appendici; la patologia si è diffusa rapidamente in tutti gli esemplari a causa delle operazioni gestionali routinarie. Sono stati dunque effettuati campionamenti (dopo 19, 21 e 34 gg dall'esordio della malattia) di acqua (una vasca è stata usata come controllo); di emolinfa, previa anestesia degli esemplari con olio di garofano (SIGMA, 50 mg/L), e tamponi delle lesioni. L'acqua è stata in parte filtrata e posta su TCBS, addizionato al 2% di NaCl (c.f.), ed in parte seminata su Marine Agar. I campioni di emolinfa ed i tamponi sono stati seminati in Marine broth ed 24-48 h a 24 °C; poi 0,1 ml di sospensione batterica sono stati seminati su Marine Agar e TCBS agar (Oxoid) addizionato di 2% di NaCl (c.f.), incubati rispettivamente per 7 gg e 24-48 h a 24 °C. Sui ceppi isolati sono state effettuate le analisi batteriologiche quali-quantitative classiche.

Risultati – Al momento della comparsa della patologia (6 mesi dopo la cattura) gli esemplari avevano raggiunto una taglia media di 129 g ±40 per le femmine e di 140 g ±9

per i maschi, corrispondente ad un accrescimento ponderale medio del 34% e 29% rispettivamente. La patologia è stata riscontrata nel 90% dei soggetti in esame, anche se non è stata registrata alcuna mortalità. Le analisi sui campioni d'acqua hanno evidenziato l'esistenza di differenze a carico dei batteri eterotrofi e vibriani totali tra le vasche degli infetti e quella del controllo. Gli eterotrofi totali nel controllo erano 30, 110 e 80 CFU/ml mentre nella vasca dei maschi erano 140, 280 e 550 CFU/ml infine nella vasca delle femmine 160, 310 e 640 CFU/ml rispettivamente nel 19°, 21° e 34° giorno. I vibriani totali erano assenti nella vasca di controllo, nei maschi la presenza è stata registrata solo al 34° giorno (20 CFU/100 ml) e nelle femmine variava da 10 a 60 CFU/100ml (dal 19° al 34° giorno). L'emolinfa analizzata è risultata sterile.

Dalle appendici e dal ventaglio caudale sono stati isolati 198 ceppi batterici, di cui il 50,5% era costituito da *Listonella (Vibrio) anguillarum*, il 27% da *Vibrio parahaemolyticus* ed il 22% da *Vibrio alginolyticus*.

Conclusioni – Dai dati ottenuti è stato, inoltre, appurato che l'infezione era solo esterna, l'emolinfa, infatti, si presentava sterile, segno di assenza di setticemia. La riduzione delle manipolazioni ha comportato una notevole riduzione delle lesioni esterne, le quali non erano state trattate con nessun tipo di antibiotico e/o antisettico.

La patologia è stata causata da ceppi differenti, tutti appartenenti al genere *Vibrio*, ipotizzando che lo stress da manipolazione possa aver provocato un abbassamento delle difese immunitarie favorendo in tal modo l'attacco dei batteri patogeni opportunisti che sono più abbondanti nei mesi estivi. I vibriani per le loro capacità chitinolitiche e proteolitiche sono spesso associati a lesioni del carapace dei crostacei e sono fra i primi microrganismi che invadono gli organismi acquatici *post-mortem* (Mancuso *et al.*, 2006). Questo è il primo caso di malattia riportato in aragosta rossa in Sicilia, un episodio con lesioni simili è stato segnalato in Sardegna durante esperimenti analoghi (Cuccu osser. pers, 2006). Ulteriori studi sono comunque necessari al fine di stabilire la causa primaria delle patologie in questa specie.

Bibliografia

- BOOTH J.D., KITAKA J. (1994) - Growout of juvenile spiny lobster. In: B.F. Philips, J.S. Cobb, J. Kittaka (eds), *Spiny lobster management*. Fishing news Books, Oxford, U.K.: 424-445.
- CUCCU D. (2006) – Osservazione personale.
- GEDDES M., MUSGROVE R., THOMAS C. (2003) - Investigation of Tail fan necrosis in live-held adult southern rock lobster. *Developments in Rock lobster Enhancement and Aquaculture III*, April 2001, Adelaide.
- MANCUSO M., ZACCONE R., GENOVESE L., MARICCHIOLO G., CALABRÒ A., MARINO F. (2006) - Brown Spot Disease: un fattore limitante la riproduzione controllata di mazzancolla (*Melicertus kerathurus*). *Ittiopatologia: Rivista di patologia degli organismi acquatici*, 3: 15-20.
- MUSGROVE R., GEDDES M., THOMAS C. (2005) - Causes of tail fan necrosis in Southern Rock Lobster, *Jasus edwardsii*. *New Zealand Journ. Mar. and Freshwater Res.*, 39: 293-304.

A. MARCHINI, D. SAVINI, A. OCCHIPINTI AMBROGI

Dip. di Ecologia del Territorio, Sez. di Ecologia, Università di Pavia,
Via S. Epifanio, 14 – 27100 Pavia, Italia.
agnese.marchini@unipv.it

AQUACULTURE AND INTRODUCED SPECIES IN THE EU-MED REGION. PART II: DISPERSAL RISK INTO THE WILD

ACQUACOLTURA E SPECIE INTRODOTTE NELLA REGIONE EURO-MEDITERRANEA. PARTE II: RISCHIO DI DISPERSIONE IN AMBIENTE NATURALE

Abstract – A methodology is proposed in order to assess dispersal risk of non native species along the productive chain of aquaculture practices. The method quantifies dispersal risk associated to import, farming practices and market destinations also considering risk of establishment into the wild and associated potential transfer of non target species. The proposed DRI (Dispersal Risk Index) has been tested on 5 NIS, commonly harvested in the EU-MED region (2 bivalves: *Ruditapes philippinarum*, *Crassostrea gigas*, 2 crustaceans: *Fenneropenaeus indicus*, *Marsupenaeus japonicus* and 1 fish: *Pagrus major*).

Key-words: aquaculture, introduced species, risk analysis, Mediterranean sea.

Introduction - Aquaculture involves a highly clustered and complex productive chain; each step has an associated risk of dispersal of alien organisms in the wild (Occhipinti *et al.*, 2008). When a new species is considered for aquaculture the first step of the productive chain is import of larvae, juveniles or adults that commonly occurs by a mix of transportation vectors (by air, ground or sea), each one bearing a risk of inadvertent spill into the wild (Kennedy & Fitch, 1990). A second important step of the productive chain is farming, which usually occurs in four typologies: (1) Intensive – closed: rearing facilities for on-growing based on recirculating water systems. Such facilities are usually enclosed and the effluent is continuously treated (e.g. nursery and larval rearing); (2) Intensive – open: intensive rearing facilities outside of buildings, taking water from and returning to available sources (surface, ground) (e.g. Valliculture); (3) Extensive – gated: extensive rearing facilities with barriers to entry (e.g. fish cages); (4) Extensive – open: extensive rearing facilities with little or no barrier to entry (e.g. bivalve harvesting in the Northern Adriatic lagoons). This last category shows the highest risk, being comparable to stocking on purpose of non native species directly in the wild. Data gathered from the ongoing Coordinated Action Project IMPASSE indicate that 20% of non native cultured species in Europe (both marine and freshwater) are farmed in extensive open systems, while < 10% are farmed in intensive closed systems (Occhipinti *et al.*, 2008). Also market destinations can be differently weighted under a risk assessment perspective. Many freshwater species, but also marine ones, are farmed for different stocking purposes in the wild (Molony *et al.*, 2003), this case representing the highest risk. As far as marine species are concerned, the majority of farmed organisms goes directly to the food market as transformed food (still bearing a risk of parasite and disease introduction) or alive (risk of spill of target and non target organisms into the wild). In this second case the higher hazard is represented by bivalves and some crustacean species that are requested alive by the market either for sanitary (bivalves – DL 530/92) or aesthetic/social reasons (e.g. hommards).

Materials and methods - The risk assessment protocol for NIS dispersal mechanisms has been obtained by reviewing the most important factors determining disper-

sal of aquacultured marine species along their productive chain. Eight categories of risk factors have been considered: (1) Import procedures; (2) Farming typologies; (3) Depuration operations; (4) Transformation operations; (5) Delivery to the market; (6) Market destination-use; (7) Ecological and biological traits; (8) Potential transfer of associated non target species. Hazard factors have been categorised in five risk levels: very low, low, medium, high, very high. The highest dispersal risk was assigned to species farmed in extensive open system for biocontrol or stocking (i.e. meaning that a NIS is voluntarily released into the wild), being small in body size, euryecious, pollution tolerant, vagile, bearing long-living planktonic larvae and native to temperate regions (i.e. displaying climate match). Their potential of being vectors of associated non target species was also assessed by considering factors such as: packaging (e.g. oysters boxed up in algae) or being documented hosts parasites or fouled species (e.g. bivalves). A “DRI-Dispersal Risk Index” was computed as a weighted sum of all risk factors displayed by a species. DRI consists of two components: 1) Dispersal risk of a target species along the productive chain; 2) Potential transfer of associated non target species. The risk score for the two components ranges from 0 = no risk to 5 = very high dispersal risk.

Results – The two most commercialised NIS bivalves in the EU-MED, i.e. *T. philippinarum* and *C. gigas*, showed a high level of dispersal risk (Global DRI \cong 7), mainly due to farming procedures (extensive open systems) and intrinsic high dispersal capability in relation with biological traits. They also displayed the highest transfer potential of associated non-target species (DRI-non target species =4) (Tab. 1).

Tab. 1 - Application of the DRI to five species introduced for aquaculture in the EU-MED region.
Applicazione del DRI a cinque specie introdotte per acquacoltura nella regione Euro-Mediterranea.

	<i>R. philippinarum</i>	<i>C. gigas</i>	<i>F. indicus</i>	<i>M. japonicus</i>	<i>P. major</i>
1) DRI - target species	3.1	2.86	2.17	1.72	2.19
2) DRI - non-target species	4	4	2	2	1.5
Global DRI	7.1	6.86	4.17	3.72	3.69
Risk level	high	high	medium	low	low

Conclusions – The high dispersal risk assigned to *R. philippinarum* and *C. gigas* matches with the actual dispersion of these 2 bivalves into the wild, thus DRI could be considered as a reliable decision support system for sustainable aquaculture.

References

- KENNEDY C.R., FITCH D.J. (1990) - Colonization, larval survival and epidemiology of the nematode *Anguillicola crassus*, parasitic in the eel, *Anguilla anguilla*, in Britain. *Journal of Fish Biology*, **36**: 117-131.
- MOLONY B.W., LENANTON R., JACKSON G., NORRIS J. (2003) - Stock enhancement as a fisheries management tool. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **13**: 409-432.
- OCCHIPINTI AMBROGI A., SAVINI D., COWX I.G., COPP G., NUNN A. (2008) - Analysis of drivers of the use of introduced species and dispersal mechanisms from aquaculture related activities. *Report to the European Commission, FP6 Impasse Project, Deliverable 1.3*: 26 pp.

The study was supported by the EU Coordinated Action IMPASSE “Environmental impact of alien species in aquaculture” (Project: 044142).

A. PAIS, S. SERRA, S. SABA, G. MELONI, C. DIMAURO, M. SINI, P. MANCA

Sezione di Acquacoltura ed Ecologia Marina, Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari,
Via E. De Nicola, 9 – 07100 Sassari, Italia.
pais@uniss.it

SOPRAVVIVENZA E CRESCITA DI ESEMPLARI
DI *ANEMONIA VIRIDIS* (FORSKÅL, 1775) ALIMENTATI
CON DIETE DIVERSE IN AMBIENTE CONTROLLATO

*LABORATORY TRIALS ON THE EFFECTS OF DIFFERENT DIETS
ON SURVIVAL AND GROWTH OF THE SEA ANEMONE
ANEMONIA VIRIDIS (FORSKÅL, 1775)*

Abstract - Three different diets (i.e. fish, mussels and terrestrial oligochaete worms) were tested on *Anemonia viridis* specimens reared under laboratory conditions. Although good survival rates and excellent growth performances were observed for all the diets, sea anemones fed with fish (*Atherina boyeri*) showed a superior growth, whereas those fed with worms (*Eisenia fetida*) exhibited the best survival rate.

Key-words: Actiniaria, sea anemones, artificial feeding, growth.

Introduzione - Tra le diverse specie di anemoni di mare, *Anemonia viridis* (Forskål, 1775) (Anthozoa: Hexacorallia) riveste un ruolo di rilievo dal punto di vista economico sia a fini alimentari (Carpine, 1987; Thorpe *et al.*, 2000) sia per l'acquariologia ornamentale (Calado, 2006). In Italia, il consumo di questo Celenterato è abbastanza diffuso al meridione e soprattutto in Sardegna, malgrado in questa regione non esista attualmente alcuna specifica regolamentazione che ne disciplini il prelievo. Poiché alcune precedenti ricerche hanno mostrato ottime potenzialità per l'allevamento di questa specie in ambiente controllato (Chessa *et al.*, 2000), scopo del presente lavoro è stato quello di valutarne sopravvivenza e crescita in seguito alla somministrazione di differenti tipologie di diete.

Materiali e metodi - Circa 200 esemplari di *A. viridis* pescati nel Golfo dell'Asinara (Sardegna Nord occidentale) sono stati trasportati in laboratorio e mantenuti a digiuno in acquario per una settimana. Successivamente, 180 di essi sono stati divisi in 3 lotti sperimentali da 60 individui ciascuno e, a gruppi di 20, posizionati in maniera *random* all'interno di 9 vasche tronco-coniche (di volume pari a circa 15 l ciascuna) in un impianto a circuito chiuso con temperatura (18 °C) e fotoperiodo (12 h luce, 12 h buio) controllati. In un intervallo temporale di 2 mesi, con cadenza bisettimanale, i 3 lotti di *A. viridis* sono stati nutriti con 3 diversi tipi di alimento: pesci (*Atherina boyeri* Risso, 1810), mitili (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) e vermi oligocheti non marini [*Eisenia fetida* (Savigny, 1826)]. Indipendentemente dalla dieta, durante ogni somministrazione ciascun esemplare ha ricevuto una razione di alimento pari a circa 0,30 g di peso umido. Prima dell'inizio dell'esperimento e per tutta la durata dello stesso, con cadenza quindicinale è stato rilevato il peso umido di tutti gli individui, previa sgocciolatura su carta assorbente. I dati medi di accrescimento di ciascun lotto sperimentale sono stati analizzati per mezzo dell'ANOVA utilizzando la procedura GLM del *software* SAS (Kaps e Lamberson, 2004), mentre il confronto tra i relativi valori di sopravvivenza è stato effettuato mediante il test del Chi-quadrato (Sokal e Rohlf, 1995).

Risultati - Gli esemplari di *A. viridis* utilizzati per la sperimentazione (di peso umido sgocciolato compreso tra 3,0 e 27,2 g), a partire da valori medi iniziali dei 3

lotti di $11,0 \pm 5,6$ g (pesci), $8,6 \pm 3,2$ g (mitili) e $9,1 \pm 3,5$ g (vermi), dopo 8 settimane di alimentazione hanno mostrato incrementi ponderali medi pari rispettivamente a $16,2 \pm 5,8$, $12,8 \pm 3,0$ e $14,3 \pm 7,7$ g. L'analisi statistica utilizzata per la comparazione tra i diversi tipi di dieta ha messo in evidenza differenze altamente significative ($p < 0,001$) tra quella a base di *A. boyeri* (pesci) e le altre 2. Il confronto effettuato tra queste ultime (i.e. *M. galloprovincialis* vs *E. fetida*), viceversa, non ha mostrato differenze significative ($p = 0,468$). Alla fine dell'esperimento sono stati osservati tassi di sopravvivenza alquanto simili tra i 3 lotti (i.e. pesci=71,7%, mitili=70,0%, vermi=80,0%) ed il test del Chi-quadrato non ha rilevato alcuna differenza di rilievo tra di essi ($p = 0,410$).

Conclusioni - In generale, i risultati preliminari ottenuti hanno evidenziato buone percentuali di sopravvivenza ed ottime *performances* di crescita di *A. viridis* in ambiente controllato per tutte e 3 le tipologie di alimento testate. Tuttavia, a fronte di tassi di sopravvivenza non significativamente differenti tra i 3 lotti sperimentali, il maggiore incremento ponderale medio è stato osservato in quello a cui sono stati somministrati pesci. Sebbene in alcuni recenti studi siano già stati esaminati numerosi aspetti della composizione biochimica di esemplari di questa specie di provenienza naturale (González *et al.*, 2001; Cengarle *et al.*, 2003), ulteriori indagini sulle caratteristiche organolettiche di individui di *A. viridis* alimentati con le stesse diete utilizzate in questo studio potrebbero definitivamente confermare l'applicabilità di simili tecniche di allevamento anche a fini commerciali.

Ringraziamenti - Si ringrazia Antonio Mazza per il prezioso aiuto fornito nel corso della ricerca.

Bibliografia

- CALADO R. (2006) - Marine ornamental species from European waters: a valuable overlooked resource or a future threat for the conservation of marine ecosystems? *Sci. Mar.*, **70** (3): 389-398.
- CARPINE C. (1987) - Cnidaires. In: Fischer W., Schneider M., Bauchot M.L. (eds), *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37*. Vol. I. Végétaux et invertébrés. FAO, Rome: 147-166.
- CENGARLE L., CHESSA L.A., PANTALEO A., TILLOCA G., VITALE L. (2003) - Aspetti della composizione biochimica di alcune specie di invertebrati marini di interesse economico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (2): 327-334.
- CHESSA L.A., PAIS A., MURA F., SCARDI M., SERRA S. (2000) - Prove di riproduzione indotta e di alimentazione in *Anemonia sulcata* (Pennant). *Biol. Mar. Mediterr.*, **7** (1): 624-627.
- GONZÁLEZ M., CARIDE B., LAMAS A., TABOADA C. (2001) - Nutritional value of the marine invertebrates *Anemonia viridis* and *Haliotis tuberculata* and effects on serum cholesterol concentration in rats. *J. Nutr. Biochem.*, **12** (9): 512-517.
- KAPS M., LAMBERSON W.R. (2004) - *Biostatistics for Animal Science*. CABI Publishing, Wallingford, UK: 445 pp.
- SOKAL R.R., ROHLF F.J. (1995) - *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 3rd ed. W.H. Freeman and Co., New York: 887 pp.
- THORPE J.P., SOLÉ-CAVA A.M., WATTS P.C. (2000) - Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiologia*, **420**: 165-184.

A. RONCARATI, P. MELOTTI, N. BRINA¹, S. PIGNATA²,
A. FELICI, A. DEES, O. MORDENTI³

Dip. di Scienze Veterinarie, Università di Camerino, Viale Circonvallazione, 93/95 – 62024 Matelica, Italia.
paolo.melotti@unicam.it

¹COOP Italia S.C.aR.L., Casalecchio di Reno (BO), Italia.

²C.R.I.P.S., Università di Bologna, Italia.

³Di.Mor.Fi.P.A., Università di Bologna, Italia.

QUALITY TRAITS OF WILD AND FARMED TURBOT COMMERCIALIZED BY AN ITALIAN SUPERMARKET COMPANY

CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELLE CARNI DI ROMBO SELVATICO E ALLEVATO COMMERCIALIZZATO DA UNA CATENA DELLA G.D.O. ITALIANA

Abstract – *The study aimed at comparing quality of the meat of reared turbot, coming from a Spanish farm that supplied an important Italian supermarket company, with that of wild turbot.*

Key-words: *farmed and wild turbot, meat quality, lipid content, fatty acid profile.*

Introduction – In Italy, fries of turbot are not available to sustain industrial productions and species diversification in order to offer new opportunities to farmers. In the past, attempts of turbot culture were carried out from French fingerlings towards on-growing sea bass and sea bream plants, but juveniles died because of the high temperature in fattening tanks during the summer season. Although this situation, turbot is one of the most appreciated marine finfish in our Country and fishery supplied only 749 t in 2006 (FAO, 2007) not enough to satisfy the domestic demand. Consequently, Italian imports of turbot amounted at about 1100 t; this data makes Italy one of the most important importer of turbot within the EU (ISMEA, 2007).

The aim of the present study was to compare the chemical composition of meat of farmed turbot coming from a Spanish farm that supplied an important Italian supermarket company with that of wild turbot collected from commercial fishermen in the middle area of Adriatic Sea.

Materials and methods – Chemical analysis were carried out on 20 farmed (FT) and 20 wild fish (WT) collected through a year, without significant differences in terms of mean body weight; a portion of skinned dorsal muscle was collected, homogenised and submitted to the following analysis: dry matter (determined at 105 °C for 24 h); total nitrogen (Kjeldahl, conversion factor of N to protein 6.25); total lipids extracted with chloroform/methanol (2:1 v/v) (Folch *et al.*, 1956) and converted to fatty acid methyl esters following Sukhija and Palmquist (1988). Total cholesterol was calculated using as internal standard beta-sytosterol. All the data were submitted to analysis of variance (ANOVA) to one way comparing samples of FT with WT samples in the same time.

Results – Considering the chemical composition (Tab. 1), the most important differences were found in the total lipid content that resulted significantly higher in farmed FT than WT turbot. The farmed sample showed a significant higher content of cholesterol respect the wild one. As regards the fatty acid profile, no differences were noted in the saturated fatty acids (SFA) category. The monounsaturated fatty acids (MUFA) showed the highest percentage in FT compared to WT group. On the contrary, the polyunsaturated (PUFA) fraction resulted higher in the WT respect to FT batch. About the most important n-3 PUFA, marked differences were found in

EPA and DHA fatty acids in favour of cultured and wild turbot, respectively. The percentage of w3 PUFA was significantly higher in captured batch whereas total w6 PUFA resulted significantly lower in the farmed one. As consequence, ratio of w6/w3 appeared significantly higher in farmed than wild turbot.

Tab. 1 - Mean \pm s.d. of body weight, proximate composition, total cholesterol and main fatty acids of farmed (FT) and wild (WT) turbot (Mean \pm s.d.) (different letters show significant differences: a, b = P<0.05).

Pesi medi, composizione centesimale, colesterolo totale e principali acidi grassi rilevati nelle carni di rombo allevato (FT) e selvatico (WT) (Media \pm s.d.) (lettere diverse mostrano differenze statisticamente significative: a, b = P<0.05).

	FT	WT
Body weight g	710 \pm 70	720 \pm 85
Dry matter % as it is	22.2 \pm 0.9	21.91 \pm 0.4
Protein % as it is	19.31 \pm 0.5	18.97 \pm 1.4
Lipids % as it is	3.88 \pm 1.4a	1.73 \pm 0.9b
Ash % as it is	1.05 \pm 0.2	0.95 \pm 0.2
Cholesterol mg/100 g	65.3 \pm 4a	45.59 \pm 9b
SFA %	24.9 \pm 1.1	25.5 \pm 1.6
MUFA %	26.22 \pm 1.7a	22.46 \pm 3.5b
PUFA %	44.01 \pm 0.5b	48.34 \pm 2.7a
C20:5 n3 (EPA) %	14.32 \pm 0.7a	9.86 \pm 3.2b
C22:5 n3 (DPA) %	4.58 \pm 0.6	5.97 \pm 1.4
C22:6 n3 (DHA) %	10.57 \pm 0.4b	22.8 \pm 3.9a
w3 %	30.17 \pm 0.9b	43.22 \pm 1.8a
w6 %	14.11 \pm 0.3a	7.73 \pm 3.7b
w6/w3	0.5 \pm 0.02a	0.32 \pm 0.02b

Conclusions – This work aimed at valorization of turbot from aquaculture. Chemical composition resulted similar to the wild fish in terms of dry matter, protein and ash content. Marked differences were noted in the lipid content, total cholesterol and fatty acid profile due to the composition of diet; feed administered to farmed turbot was formulated without genetically modified (G.M.) feedstuffs containing high proportion of aquatic protein sources and low lipid amount (18% as it is). However, from a nutritional point of view, cultured turbot showed an excellent value (N.R.C., 2002).

References

- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G.H. (1956) - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **60**: 497-509.
- FAO (2007) – Fish Stat Plus. Universal software for fishery statistical time series. Fao.
- ISMEA (2007) - Il settore ittico in Italia e nel mondo: le tendenze recenti. ISMEA, Roma: 392 pp.
- N.R.C. (National Research Council) (2002) – Dietary guidelines for human people. Univ. California.
- SUKHIJA P.S., PALMQUIST D.L. (1988) - Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and faces. *J. Agric. Food Chem.*, **36**: 1202-1206.

D. SAVINI, A. MARCHINI, A. OCCHIPINTI AMBROGI

Dip. di Ecologia del Territorio, Sez. di Ecologia, Università di Pavia, Via S. Epifanio, 14 – 27100 Pavia, Italia.
dario.savini@unipv.it

AQUACULTURE AND INTRODUCED SPECIES IN THE EU-MED REGION. PART I: STATUS AND TRENDS

ACQUACOLTURA E SPECIE INTRODOTTE NELLA REGIONE EURO-MEDITERRANEA. PARTE I: STATO ATTUALE E TENDENZE

Abstract – *In the last few decades fishery production has been experiencing a generalised decline worldwide giving reasons to an increase in aquaculture practices. Non-native organisms have been imported for aquaculture and related activities both in inland and marine environments, causing impacts on native ecosystems. Hereby, a review concerning the use of non native species in aquaculture is presented, taking into account the present status and future trends of species introduction in Mediterranean countries of Europe.*

Key-words: *aquaculture, introduced species, Mediterranean Sea.*

Introduction - Commercial exploitation of wild fish stocks over the last century was the major cause of the now well-documented decline in stocks worldwide (Pauly *et al.*, 2002). Within the European Union (EU) this has resulted in rules (Council Regulations n. 2371/2002; n. 1967/2006) to promote sustainable fishing in the region, whose primary aim is to support a shift from a merely economic management of fisheries (i.e. increase catches per unit effort) to a sustainable end point (i.e. increase quality per unit effort). In the short term, this policy will result in a further decrease in fishery production and, possibly, in an increase in aquaculture practices to meet market demand for aquatic products. The EU and many Member States have expressed a great concern for the increasing number of non indigenous species (NIS) and for the impact of invasive species on native species and habitats, calling for measures to control the introduction of NIS (Council Regulation n. 708/2007). Nevertheless, this uncontrolled trend, concomitant with the impacts alien species can bring (Minchin 2007; Olenin *et al.*, 2007), is likely to continue if concerted effort is not taken to regulate movements of alien species in connection with aquaculture activities.

The paper reports the current status of non native species introduction for aquaculture, focusing on marine/estuarine species voluntarily introduced in Southern European Mediterranean countries (Italy, France, Spain, Greece, Turkey, Slovenia, Croatia, Bosnia-Herzegovina, Montenegro, Albania, Malta and Cyprus). A list of the most important non native species farmed in the EU-MED region has been produced together with information concerning: dates, reasons of introduction, relative contribution to the average aquaculture production values per country and records of associated transfer of non target alien species.

Materials and methods - Fishery and aquaculture production values per country were obtained from FAO Global Fishery Production and Global Aquaculture production datasets (www.fao.org/fishery/statistics/). Elaborations were carried out with the software Fishstat Plus Vs 2.32 (FAO, 2000). The 1970-1990 and 1991-2005 production values were averaged and compared. Information on non native species introduced for aquaculture purposes was obtained from the ongoing EU Coordination Action Project IMPASSE (Environmental impacts of alien species in aquaculture, www.hull.ac.uk/hifi/IMPASSE n° 044142). Production values (t/year) of non native species were also obtained from the FAO Global Aquaculture production dataset.

Results - The western EU-MED countries experienced a decrease in fishery production since the 1990's, weaker for Spain and France (-5.4%, -2.2%, respectively) but dramatic for Italy: -55,628 t (-15.4%). The "fishery crisis" is also remarkable in the Balkans, in particular in Albania: -4,388 t (-70.8%), whereas other countries of the Eastern Mediterranean display a countertrend of increasing fishery production (Cyprus: +33.9%; Greece: +46.4%; Turkey: +11.5%). The three latter countries, as well as Italy and France, have also been greatly developing aquaculture activities since 1991 as a response to the reduced catches and increased market demand. A total number of 19 NIS have been considered for aquaculture purposes in the EU-MED region. At present, only 5 of them are significantly contributing in the total EU-MED aquaculture production: two bivalves (*Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum*), two penaeid shrimps (*Fenneropenaeus indicus* and *Marsupenaeus japonicus*) and one fish (*Pagrus major*). Contribution of NIS to the total aquaculture production is very important only in Italy and France, mainly due to *C. gigas* and *R. philippinarum* (about 45% of total aquaculture production in Italy). The commercial transfer of bivalves is responsible of introducing a large amount of associated non target species, especially algae used for seeds packaging (Verlaque *et al.*, 2007). Eastern Mediterranean countries (Cyprus, Turkey and Greece) are focusing their efforts in research for farming non native species of Eritrean origin (Lessepsian species), i.e. penaeid crustaceans, already established in that region of the Mediterranean. Research is an important driver of introduction of non native species also in Italy, where 3 non native fishes (*Paralichthys olivaceus*, *Pagrus major*, *Solea senegalensis*) and 3 penaeid shrimps (*Fenneropenaeus chinensis*, *Penaeus monodon*, *Penaeus semisulcatus*) have been imported for this reason.

Conclusions - The present study confirms the growing importance of the use of non native species for aquaculture purposes in EU-MED countries, supporting the generalised concern of the European Community for implementing effective rules (i.e. Council Regulation n. 708/2007) in order to minimise dispersal and ecological impact of non native species in the wild.

References

- FAO (2000) - FAO Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit.
- MINCHIN D. (2007) - Aquaculture and transport in a changing environment: overlap and links in the spread of alien biota. *Mar. Poll. Bull.*, **55**: 302-313.
- OLENIN S., MINCHIN D., DAUNYS D. (2007) - Assessment of biopollution in aquatic ecosystem. *Mar. Poll. Bull.*, **55**: 79-394.
- PAULY D., CHRISTENSEN V., GUÉNETTE S., PITCHER T.J., SUMAILA U.R., WALTERS C.J., WATSON R., ZELLER D. (2002) - Towards sustainability in world fisheries. *Nature*, **418**: 689-695.
- VERLAQUE M., BOUDOURESQUE C-F., MINEUR F. (2007) - Oyster transfer as a vector for marine species introductions: a realistic approach based on the macrophytes. In: CIESM, 2007. Impact of mariculture on coastal ecosystems. *CIESM Workshop Monographs*, Monaco, **32**: 39-47.

The study was supported by the EU Coordinated Action IMPASSE "Environmental impact of alien species in aquaculture" (Project: 044142).

T. SCIROCCO, M. FLORIO, A. SPECCHIULLI, L. CILENTI, G. PAZIENZA, P. BREBER

Istituto di Scienze Marine-CNR, Sede di Lesina, Via Pola, 4 – 71010 Lesina (FG), Italia.
tommaso.scirocco@fg.ismar.cnr.it

PROVE DI ALLEVAMENTO DI *CRASSOSTREA GIGAS* (THUNBERG) IN LAGUNA DI VARANO (ITALIA)

BREEDING EXPERIMENT OF CRASSOSTREA GIGAS (*THUNBERG*) IN VARANO LAGOON (ITALY)

Abstract – In this work the results of a test breeding of *Crassostrea gigas* (Thun.) in Varano lagoon, performed from 2006 to 2007, are presented. Minimum average size with trade interest was 6 cm and it was observed for six months. The results obtained suggest good prospects for the oyster culture reintegration into the activities of the aquaculture brackish from reassess.

Key-words: *Crassostrea gigas*, growth, Varano lagoon, breeding.

Introduzione - Tra i molluschi bivalvi la specie più allevata al mondo è l'ostrica concava, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1773) (Edwards, 2005). In Europa oltre il 90% delle ostriche sono prodotte in Francia seguita dalla Spagna e l'Olanda. In Italia allevamento delle ostriche è ancora una pratica poco esercitata e spesso è associata alla mitilicoltura (Rossi *et al.*, 2001). L'obiettivo della prova è quello di diversificare le produzioni alieutiche della laguna di Varano, visto che l'unica attività praticata è la mitilicoltura. La laguna di Varano non è nuova ad allevamenti sperimentali di ostrica concava (*C. gigas*) infatti agli inizi degli anni 1970-1972 sono stati messi a dimora diversi quantitativi di seme di questo bivalve con risultati incoraggianti (Blundo *et al.*, 1972). In questo lavoro vengono descritti i risultati di una prova di allevamento effettuata durante il 2006-2007.

Materiali e metodi - La prova di allevamento è stata svolta nel periodo compreso tra maggio 2006 ed aprile 2007. Il seme di *C. gigas*, di provenienza francese (laguna di Sète), era ripartito in 21 ceste di plastica (34×21×77 cm con maglia di 6×8 mm) con una densità di circa 190 ind/cesta e 60 reste. Le ceste sono state posizionate in acqua a circa un metro e mezzo di profondità. Ogni resta portava mediamente 80 piccole ostriche. Tutti gli esemplari avevano una lunghezza media di 32 mm (± 7 mm) ed un peso umido medio di 3 g (± 2 g). Di ogni campione random (60 animali per le ceste e 30 per le reste) sono stati determinati mensilmente la lunghezza e peso umido totale e contemporaneamente misurati temperatura (°C), salinità (psu), ossigeno (% di saturazione), pH, clorofilla "a" e fitoplancton dei campioni d'acqua. Dopo 5 mesi dalla semina, su un campione random di 12 animali, è stato determinato l'indice di condizione (Phernambucq *et al.*, 1983).

Risultati - Dopo due mesi dalla semina i tassi di accrescimento delle due tecniche di allevamento (reste e ceste), sono stati di 15 mm per le ostriche nelle reste e di 24 mm per le ostriche contenute nelle ceste.

Tre mesi, dopo, la semina si è evidenziato nell'impianto uno sviluppo massivo di epibionti (balanidi, bivalvi e policheti serpuloidi). Il fenomeno è stato particolarmente massivo sulle reste, creando impedimento all'acquisizione dei parametri morfometrici. Questi ultimi sono stati quindi misurati sulle ostriche presenti nelle ceste. Dopo 14 mesi di osservazione le ostriche hanno raggiunto una lunghezza ed un peso medio di 91.5 mm (Dev.St.=11.5), è 59.2 g (Dev.St.=16.3). La taglia massima rilevata è stata, rispettivamente di 119.3 mm in lunghezza e 111.0 g in peso. La taglia media minima commerciale, pari a 61 mm (Dev. St.=8.2), e 22.7 g (Dev. St.=8.4) è stata raggiunta

appena dopo 3 mesi dalla semina. L'indice di condizione raggiunge valori massimi (41.17) in primavera, mentre i minimi (15.55) conseguenti allo svuotamento delle gonadi si hanno durante i mesi autunnali.

L'analisi statistica ha evidenziato una forte correlazione peso-salinità ($r=0.875$ $p=0.0001$), peso-temperatura ($r= -0.575$ $p=0.05$). La mortalità totale registrata equivale a circa il 20% sul totale della animali in acqua. La presenza dei blisters nelle valve interne delle ostriche, ha evidenziato come le ostriche allevate nelle ceste presentavano un alto grado di presenza (70%), rispetto a quelle adese alla corda (40%).

Conclusioni – I risultati ottenuti lasciano intravedere buone prospettive per un giusto reinserimento dell'ostricoltura nel novero delle attività acquacolturali salmastre da rivalutare. Le osservazioni morfometriche rilevate sono sostanzialmente in accordo con quanto riferito da precedenti studi effettuati su popolazioni di ostriche studiate da Blundo *et al.* (1972) nella laguna di Varano, da Pellizzato e Da Ross (1985), nella laguna di Venezia e da Fabi *et al.* (1989), Maffei *et al.* (1996) nell'Adriatico centro settentrionale.

Bibliografia

- BLUNDO C.M., CASTAGNOLO L., LUMARE F. (1972) - Nota sull'accrescimento di *C. angulata* (Lmk) e *C. gigas* (Thunberg) nella laguna di Varano e primi tentativi di fecondazione artificiale. *Boll. Pesca, Piscic. Idrobiol.*, **27** (2): 297-315.
- EDWARDS E. (2005) – World shellfish production keeps growing. *Fish Farming International*, **32** (1): 38 p.
- FABI G., FIORENTINI L., GIANNINI S. (1989) - Experimental shellfish culture on artificial reef in the adriatic sea. *Bull. of Marine Science*, **44** (2): 923-933.
- MAFFEI M., PIVA P., PRIOLI G. (1996) - Allevamento sperimentale di *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in mare aperto su filari flottanti semi-sommersi. *Biol. Mar. Mediterr.*, **3** (1): 252-255.
- PELLIZZATO M., DA ROSS L. (1985) - Allevamento sperimentale di *Ostrea edulis* L. e *Crassostrea gigas* (Thunberg) in laguna di Venezia. *Oebalia* **11** (3) N.S.: 89-893.
- PHERNAMBUCQ A.J.W., VROONLAND C.S. (1983) - A comparison of four indexes of condition of the european flat oyster (*Ostrea edulis* L.) *Inter. Coun. Explorer. Sea C.M.* 1983/F:3.
- ROSSI R., PRIOLI G., PELLIZZATO M., TUROLLA E., GIULINI G. (2001) – Molluschicoltura. In: S. Cataudella e P. Bronzi (a cura di), AA.VV. *Acquacoltura responsabile*. Unimar-Uniprom 2001: 422-348.

Risultati - Sono stati censiti un totale di 275 individui, di cui 143 appartenenti alla specie *Flabellina affinis*, 129 appartenenti alla specie *Cratena peregrina* e solo 3 individui appartenenti alla specie *Flabellina ischitana*. Gli individui rilevati sono distribuiti in maniera non omogenea secondo i tre diversi range batimetrici considerati: il primo che si estende da 0 m fino alla profondità di 10 m; il secondo da 10 m e 20 m; e il terzo da 20 m fino a 30 m. Osservando i dati emersi da questa analisi è stata creata una carta di distribuzione. Si è arrivati alla conclusione plausibile che esistono alcuni aspetti che hanno influenzato tale distribuzione. Si tratta di elevati valori di inquinamento antropico che nei transetti I, III e V hanno agito negativamente sulla diffusione del substrato; un forte idrodinamismo che nei transetti II e IV ha inciso, al contrario, positivamente. Sono stati tenuti in considerazione fattori come l'estrema variabilità che è tipica dello Stretto di Messina, la particolare geomorfologia e la caratterizzazione bionomica del fondale, peculiare del sito oggetto di studio.

Conclusioni - Vari autori hanno mostrato che l'elevato idrodinamismo delle acque è responsabile dell'alta biodiversità delle popolazioni bentoniche in quest'area. L'intenso regime idrodinamico rilascia una grande quantità di sostanza organica immediatamente utilizzata dalle popolazioni bentoniche costiere (De Domenico, 1987). Si può supporre quindi che la distribuzione delle popolazioni bentoniche sia principalmente controllata da fattori fisici, come l'idrodinamismo e la geomorfologia del fondo (Spanò, 1998).

In particolare nello Stretto di Messina la distribuzione dei molluschi nudibranchi non appare strettamente correlata con la profondità. In quest'area, come precedentemente accennato, il sistema idrodinamico causa una turbolenza delle masse d'acqua che ostacola la zonazione verticale delle comunità zoobentoniche. Tutto questo è segno di una stretta correlazione con la struttura dei sedimenti che localmente caratterizzano i vari biotopi.

I dati riportati non sono ancora sufficienti ai fini di una chiara ipotesi bionomica, ma è possibile affermare che queste specie preferiscono, nell'area indagata, fondali detritici con granulometrie grossolane.

Bibliografia

- BIANCHI C.N., PRONZATO R., CATTANEO-VIETTI R., BENEDETTI CECCHI L., MORRI C., PANSINI M., CHEMELLO R., MILAZZO M., FRASCHETTI S., TERLIZZI A., PEIRANO A., SALVATI E., BENZONI F., CALCINAI B., CERRANO C., BAVESTRELLO G. (2003) - I fondi duri. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), *Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino Mediterraneo*. Biol. Mar. Mediterr., **10** (Suppl. 1): 1-638.
- CATTANEO-VIETTI R., CHEMELLO R., GIANNUZZI-SAVELLI R. (1990) - Atlas of Mediterranean Nudibranchs - Atlante dei Nudibranchi nel Mediterraneo. Ed. La conchiglia: 1-264.
- DE DOMENICO E. (1987) - Caratteristiche fisiche e chimiche delle acque nello Stretto di Messina. *Documents et Travaux Institut Geologique Albert De Lapparent, Paris*, **11**: 225-235.
- SPANÒ N. (1998) - Distribution of Crustacea Decapoda (Anomura and Brachyura) in the Straits of Messina. *Journal of Natural History*, **32**: 1697-1705.
- TRAINITO E. (2005) - *Nudibranchi del Mediterraneo - Guida ai molluschi opisthobranchi*. Ed. Il Castello: 1-96.

F. AZZINI, B. CALCINAI*, C. CERRANO, M. PANSINI

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
mpansini@dipteris.unige.it

*Dip. Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italia.

SYMBIOTIC ASSOCIATIONS OF SPONGES AND MACROALGAE:
THE CASE OF *HALICLONA (GELLIUS) CYMAEFORMIS*
AND *CERATODICTYON SPONGIOSUM*
FROM THE HA LONG BAY (VIETNAM)

ASSOCIAZIONI SIMBIOTICHE TRA SPUGNE E MACROALGHE:
HALICLONA (GELLIUS) CYMAEFORMIS E *CERATODICTYON*
SPONGIOSUM NELLA BAIA DI HA LONG (VIETNAM)

Abstract – *Demosponge specimens associated with a red alga unable to live alone have been observed in very shallow water in the patchy coral reef and in a marine karst lake of the Ha Long Bay. The alga contributes to support the sponge that is bushy-ramose in shape. Upper branches tend to flatten in order to receive more light for enhancing photosynthesis. The associated organisms may emerge at low tide.*

Key-words: *Demosponges, red algae, symbiosis, intertidal, Tonkin Gulf.*

Introduction – Symbioses involving sponges and macroalgae are much less numerous than those where hosts are photosynthetic microorganisms (cyanobacteria, diatoms, zooxanthellae). They generally occur in marine environments where nutrients are low. Mutual benefits for both partners derive from the exchange of metabolites, coming from the photosynthetic activity and the sponge diet. Other advantages are the additional support that algae can give to the sponges and the protection from grazing they receive. Prince *et al.* (1984) successfully cultivated the red alga *Ceratodictyon spongiosum* Zanardini, 1878, but they were unable to let it survive in the field. Pile *et al.* (2003) reported that the grazing on bacteria and protozoans by *Haliclona (Gellius) cymaeformis* provides carbon for itself and enough particulate nitrogen to meet the needs of the association with *Ceratodictyon*. Low levels of photosynthate are transferred to the sponge by the alga, probably as a result of the extracellular nature of this association. Conversely, significant transfer of nutrients from intracellular algal symbionts has been reported by Trautman and Hinde, 2001.

Ceratodictyon spongiosum is known to live only in symbiosis with *Haliclona (Gellius) cymaeformis* (Esper, 1794). Purpose of this note is to describe the sponge-alga association and the relationship between partners in the Ha Long Bay.

Materials and methods - Several specimens of this sponge were collected by snorkelling at a maximum depth of 3 m from the patchy reefs of Dau Be Island and from the Bui Xam marine karst lake in the Bo Hon Island (Ha Long Bay, Vietnam). The morphology of the associated organisms has been studied by optical and electronic microscopy.

Results - The *Ceratodictyon-Haliclona* symbiotic association is very common in the shallow waters of the bay. The sponge morphology varies according to water-movement intensity. In sheltered positions sponge specimens have a bushy form, with flattened, elk horn shaped branches that offer wider surfaces to solar radiation. In relatively more exposed conditions, sponge specimens become cushion shaped to lobate, devoid of branches. The oscules – 1,5 to 3 mm in diameter – are round or elongated, flush

or slightly raised, always in the upper part of the sponge. The colour in life is dark green. Since water-movement is rather low among the islands of the bay, the bushy masses may live free on the bottom – a very unusual habit for sponges - and in certain spots they can be uncovered by the ebbing tide. The *Ceratodictyon*'s densely packed algal filaments support the sponge body, making it tough and inelastic. The skeleton of the subgenus *Gellius* Gray, 1867 is normally a reticulation of paucispicular tracts of oxeas forming polygonal meshes, with scarce spongin restricted to the mesh nodes. However in the symbiotic specimens of *H. cymaeformis* the spicules may be parallelly arranged to the algal bundles without forming the usual reticulation. Abundant oxeas and sigma microscleres are dispersed in the skeletal framework that is intertwined with the algal thallus. Oxeas are fusiform or slightly angulate, with both extremities pointed. They measure 127-158 by 5-10 μm (mean 148,1-8,5 μm). "C" shaped sigmas are 1 μm thick, generally angulate, 13-20 μm long (mean 15,6 μm).

After a critical evaluation of the literature data, we have excluded two records from the Biscay Bay and the Mediterranean Sea, restricting the distribution of this symbiotic association to the tropical Indo-Pacific (Red Sea, South China Sea, Indian Ocean, Arafura Sea, Northern Australia).

Conclusions - The partial substitution of the sponge skeleton by the algal thallus strengthens the association, thus allowing it to live in very shallow waters while maintaining an erect form, which is different from other sponge species that, in the same environment, are encrusting or massive in shape. The vegetative tissues that protect the sponge against solar radiation, allow it to remain uncovered at ebb tide, a condition that sponges can tolerate in very shadowed positions only. Other sponge species (e.g. *Geodia cydonium*, *Haliclona coerulea*) can live with or without symbiotic macroalgae (Ávila Torres & Carballo, 2004; Corriero, 1989) but this is not the case of *Haliclona (Gellius) cymaeformis* that has been recorded only in association with *Ceratodictyon spongiosum*. Both partners have mutual, nutritional benefits, but the sponge chemical defences may concur to repel grazers and potential competitors for space, giving the associated organisms significant advantages towards the symbiotic life.

References

- ÁVILA TORRES E., CARBALLO J.L. (2004) - Growth and standing stock biomass of a mutualistic association between the sponge *Haliclona coerulea* and the red alga *Jania adherens*. *Symbiosis*, **36** (3): 225-243.
- CORRIERO G. (1989) - The sponge fauna from the Stagnone di Marsala (Sicily): taxonomic and ecological observations. *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*, Genova, **53**: 101-113.
- PILE A.J., GRANT A., HINDE R., BOROWITZKA M.A. (2003) - Heterotrophy on ultraplankton communities is an important source of nitrogen for a sponge-rhodophyte symbiosis. *The Journal of Experimental Biology*, **206**: 4533-4538.
- PRINCE I.R., FRICKER R., WILKINSON C.R. (1984) - *Ceratodictyon spongiosum* (Rhodophyta), the macroalgal partner in an alga-sponge symbiosis, grown in unialgal culture. *Journal of Phycology*, **20**: 156-158.
- TRAUTMAN D.A., HINDE R. (2001) - Sponge/algal symbioses: A diversity of associations. In: J. Sekbach (ed), *Symbiosis*. Kluwer Academic Publishers, Rotterdam: 521-537.

R. BALDACCONI, C. LONGO

Dipartimento di Zoologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
rossella_baldacconi@msn.com; c.longo@biologia.uniba.it

DATI PRELIMINARI SUL POPOLAMENTO A PORIFERI ASSOCIATO ALLA PIATTAFORMA A VERMETIDI DEL LITORALE PUGLIESE

PRELIMINARY DATA ON THE SPONGE ASSEMBLAGE ASSOCIATED WITH VERMETID REEF FROM THE APULIAN COAST

Abstract – *The sponge assemblage from the vermetid reefs along the Apulian coast (Ionian Sea) has been investigated. A total of 25 taxa were found, some of which under the external board of the reefs and in the cuvettes, the remaining between the interstices in the reefs portion under active building.*

Key-words: *sponge assemblage, vermetid reef, Ionian Sea.*

Introduzione – Le piattaforme a vermetidi sono biocostruzioni marine che si sviluppano lungo la fascia di transizione, tra il piano mesolitorale ed infralitorale superiore. Tali biocostruzioni contribuiscono in modo rilevante ad incrementare l'eterogeneità del substrato ed i valori di biodiversità dei popolamenti che occupano questa fascia (Chemello *et al.*, 2000). In Mediterraneo, il vermetide gregario *Dendropoma paetreum* (Monterosato, 1884) svolge un ruolo fondamentale nell'edificazione di tali strutture organogene. Lungo le coste italiane i *reefs* a vermetidi più imponenti sono localizzati in Sicilia, principalmente sulla fascia costiera tirrenica nord-occidentale e nelle isole Egadi (Chemello *et al.*, 2000). Piattaforme a vermetidi sono presenti anche lungo le coste pugliesi, ma finora non sono mai state oggetto di indagini. In questa nota vengono riportati i risultati preliminari sulla spongofauna associata a piattaforme a *Dendropoma paetreum* presenti lungo il litorale ionico pugliese.

Materiali e metodi – Nel mese di agosto 2007 sono state individuate due formazioni a vermetidi nel tratto di costa antistante l'abitato di Torre Ovo e Campomarino (Mar Ionio). Il primo *reef* (40° 18' 11" N; 17° 29' 57" E) si trova sul lato esposto di un isolotto distante 150 m dalla costa. Il bordo esterno è costituito da un'incrostazione articolata lunga una decina di metri e spessa tra 10 e poco più di 30 cm. Numerose *cuvettes* del diametro variabile, da pochi centimetri fino ad oltre un metro, sono presenti nella zona retrorecifale. La seconda biocostruzione a vermetidi (40° 17' 49" N; 17° 33' 12" E) è caratterizzata da un sistema di atolli separati da una modesta cornice principale, formatasi su una piattaforma di abrasione pressoché orizzontale, esposta a sud. Gli atolli, il cui diametro medio è compreso tra 50 cm e 3 m, presentano una porzione attiva in espansione verso il lato esposto, spessa oltre 20 cm. Lo studio della spongofauna associata alle biocostruzioni è stato effettuato tra agosto 2007 e gennaio 2008, mediante: campionamento fotografico della piattaforma, degli atolli e delle *cuvettes* di maggiori dimensioni (30 immagini su superfici di 400 cm² per sito); prelievo puntiforme di substrato (25 cm²) sul bordo esterno della piattaforma e degli atolli (porzione superiore ed inferiore), sulle pareti e sul fondo delle *cuvettes*; prelievo "a vista" di frammenti di spugne. Ciò per limitare i danni derivanti dal tradizionale grattaggio di superfici standard su una biocenosi protetta (Direttiva "Habitat").

Risultati – Dall'analisi dei campioni raccolti, il popolamento a poriferi risulta costituito da 25 *taxa*, 23 dei quali identificati a livello specifico. Il numero maggiore di specie di poriferi (15, pari al 60%), si concentra nella porzione inferiore del mar-

gine esterno della piattaforma, degli atolli e nelle *cuvettes*. In particolare, le specie più abbondanti sono *Sarcotragus spinosulus* ed *Ircinia variabilis*, che, in alcuni tratti, formano una fascia continua, spessa da 10 a 20 cm, dove esemplari anche di notevoli dimensioni crescono l'uno accanto all'altro, sovrapponendosi parzialmente. Le altre specie rinvenute sono tipiche del piano infralitorale (*Clathrina clathrus*, *C. coriacea*, *Tethya aurantium*, *Chondrosia reniformis*, *Phorbas fictitius* e *P. tenacior*). Le pareti delle *cuvettes* di maggiori dimensioni sono colonizzate principalmente da *Crambe crambe* e *S. spinosulus*, mentre sul fondo sono ben visibili le papille di alcune specie di poriferi perforanti (*Cliona celata*, *C. rhodensis*, *C. viridis*). Nella porzione in attiva espansione verso il largo, tra gli interstizi o all'interno di conchiglie vuote di vermetidi, sono state censite 10 specie (pari al 40%). *Stoeba plicata* e *Cliona viridis* sono le specie più abbondanti; quest'ultima si ritrova soprattutto nelle porzioni antiche della piattaforma non più in attiva espansione. Specie esclusive del bordo esterno della piattaforma sono *Samus anonymus* e *Jaspis johnstoni*. Specie esclusive del bordo esterno degli atolli: *Stelletta lactea*, *Timea stellata*, *Rhabderemia minutula*, segnalata per la prima volta nel Mar Ionio (Pansini e Longo, 2003) e *Myxilla iotrochotina*.

Conclusioni – Tra i popolamenti associati ai *reefs* a vermetidi del Mediterraneo sono stati studiati la componente algale (Mannino, 1992), a molluschi (Pandolfo *et al.*, 1996), a policheti (Badalamenti *et al.*, 1998) e l'ittiofauna (Goren e Galil, 2001). In accordo con Chemello *et al.* (2000) gli alti valori di biodiversità censiti sono dovuti principalmente all'incremento delle nicchie e delle risorse disponibili all'interno della piattaforma stessa. A conferma di ciò, lo studio della spongofauna ha evidenziato che un numero cospicuo di specie, tipicamente infralitorali, colonizzano la porzione inferiore del bordo esterno della piattaforma, degli atolli e le *cuvettes* di maggiori dimensioni. Inoltre, gli interstizi presenti tra le conchiglie di *D. petraeum* rappresentano l'habitat d'elezione per specie insinuanti e perforanti. In conclusione, appare evidente come la piattaforma a vermetidi rappresenti, anche per la spongofauna, un habitat estremamente favorevole, caratterizzato da elevati valori di biodiversità.

Bibliografia

- BADALAMENTI F., CHEMELLO R., D'ANNA G., RIGGIO S. (1998) – Diversity of the Polychaete assemblage in the hard bottom mediolittoral along the north-western Sicilian coast: the role played by the vermetid bioconstruction. 1° Conv. Naz. Sc. Mare, "Diversità e Cambiamento", Abstr., 14.
- CHEMELLO R., DIELI T., ANTONIOLI F. (2000) – Il ruolo dei "reef" a molluschi vermetidi nella valutazione della biodiversità. In: *Mare e cambiamenti globali - Aspetti scientifici e gestione del territorio*, ICRAM, Roma: 105-118.
- GOREN M., GALIL B.S. (2001) – Fish Biodiversity in the Vermetid Reef Of Shiqmona (Israel). *Mar. Ecol.*, **22** (4): 369-378.
- MANNINO A.M. (1992) – Studio fitosociologico della vegetazione mesolitorale a *Lithophyllum lichenoides* Philippi (Rhodophyceae, Corallinales). *Natur. siciliano*, suppl. IV, **16** (1-2): 3-25.
- PANDOLFO A., CHEMELLO R., CIUNA I., LO VALVO M., RIGGIO S. (1996) – Analisi della distribuzione dei molluschi nella zona di transizione tra mesolitorale ed infralitorale superiore lungo le coste della Sicilia. *Biol. Mar. Mediterr.*, **3** (1): 78-87.
- PANSINI M., LONGO C. (2003) – A review of the Mediterranean Sea sponge biogeography with, in appendix, a list of the demosponges hitherto recorded from this sea. *Biogeographia*, **24**: 59-90.

C. BATTOCCHI, M. CARUBBI, S. CAPELLACCI, C. TOTTI*, A. PENNA

Centro di Biologia Ambientale, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"
Viale Trieste, 296-61100 Pesaro, Italia.
c.battocchi@yahoo.it

*DISMAR, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia.

APPLICAZIONE DI TECNICHE MOLECOLARI
PER L'IDENTIFICAZIONE DI MICROALGHE
BENTONICHE TOSSICHE (OSTREOPSIDACEAE)
IN AREE COSTIERE DELL'ADRIATICO SETTENTRIONALE

MOLECULAR IDENTIFICATION OF BENTHIC TOXIC
OSTREOPSIDACEAE ALONG COASTAL AREAS
OF THE NORTHERN ADRIATIC SEA

Abstract - In the last few years the frequency of harmful events related to the *Ostreopsis* sp. blooms in the Mediterranean Sea are seriously increased with critical impact on human health and marine ecosystem. In this study we have applied a PCR based assay for the identification of these benthic dinoflagellates in field samples collected along different Marche region sites; some of these areas have never been investigated before.

Key-words: microphytobenthos, *Ostreopsidaceae*, Harmful Algal Blooms, Polymerase Chain Reaction, Adriatic Sea.

Introduzione – Le microalghe appartenenti al genere *Ostreopsis* sono dinoflagellate bentoniche produttrici di tossine analoghe alla palitossina (Lenoir *et al.*, 2004). Le fioriture causate da tali microrganismi nel Mar Mediterraneo hanno mostrato negli ultimi anni una forte tendenza all'aumento con seri impatti sulla salute umana e sull'ecosistema marino (Totti *et al.*, 2007). In questo studio è stata monitorata la presenza del genere *Ostreopsis* e delle specie *O. ovata* e *O. siamensis* in due aree costiere della regione Marche applicando la tecnica molecolare di PCR, basata sull'amplificazione genere e specie specifica delle regioni ribosomali ITS e del gene 5.8S, e la tecnica di microscopia ottica.

Materiali e metodi – Il campionamento è stato effettuato mensilmente nel periodo compreso tra maggio e ottobre 2007 su 4 stazioni costiere localizzate tra Pesaro e Gabicce Mare e 6 stazioni nell'area di Ancona (Palombina e Riviera del Conero). La presenza delle *Ostreopsis* spp. è stata monitorata sia su macrofite (macroalghe e angiosperme marine), sia in campioni di retinate superficiali (maglia 10 µm). I campioni di macrofite sono stati raccolti in immersione e trattati secondo il protocollo indicato da bentox.net (www.bentoxnet.it). La sospensione contenente le microalghe epifite e i campioni di retinata sono stati conservati in Lugol e in seguito sottoposti sia ad analisi molecolare che microscopica per l'identificazione e il conteggio delle *Ostreopsis* spp. L'analisi molecolare è stata effettuata applicando la tecnica di PCR con l'utilizzo di primers genere e specie specifici disegnati sulle regioni ITS e 5.8S del DNA ribosomiale (Penna *et al.*, 2007). Il volume utilizzato è stato di 90 ml per i campioni di retinata e di 50 ml per le acque di raccolta di macrofite. L'analisi microscopica è stata effettuata su subcampioni variabili da 2 a 25 ml, utilizzando microscopi rovesciati Zeiss Axiovert 40 CFL e 135H. Il conteggio delle specie HAB è stato effettuato sull'intera camera di sedimentazione con ingrandimento di 20× e 40×. Alcuni campioni sono stati osservati in epifluorescenza previa colorazione con Calcofluor White.

Risultati – Su un totale di oltre 100 campioni analizzati con entrambe le tecniche, il 63% dei campioni risultava positivo per la presenza di *Ostreopsis* spp. con la tecnica

molecolare di PCR, mentre solo il 37% risultavano positivi con le analisi di microscopia. L'identificazione specie specifica si è resa possibile solo con l'analisi di PCR, per cui dei campioni risultati positivi alla presenza di *Ostreopsis* spp., il 93% è risultato positivo per la presenza della specie *O. ovata*, mentre nel 4% era presente *O. siamensis* (Fig. 1, 2). Le analisi di microscopia non sempre hanno permesso di discriminare i due morfotipi *O. ovata* e *O. cf. siamensis* per l'estrema variabilità morfologica e conseguente difficoltà di riconoscimento. Inoltre, il genere *Ostreopsis* è risultato essere presente in entrambe le tipologie di campioni, ma maggiormente nelle acque di raccolta delle macrofite dove è stato ritrovato con valori di abbondanze cellulari che variavano da non rilevabile a 121 cell. g⁻¹ fw. nell'area di Pesaro e da non rilevabile a 8.0×10³cell. g⁻¹ fw nell'area di Ancona.

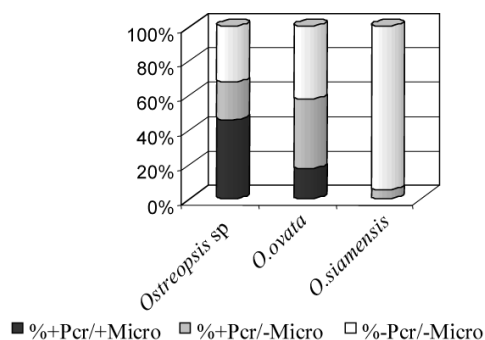


Fig. 1 - Confronto delle percentuali di positività e negatività ottenute con le analisi di PCR e di microscopia sui campioni analizzati per l'identificazione del genere e delle specie *Ostreopsis*.
Comparison of the positive and negative sample percentages using the PCR and microscopy techniques for the detection of genus and species *Ostreopsis*.

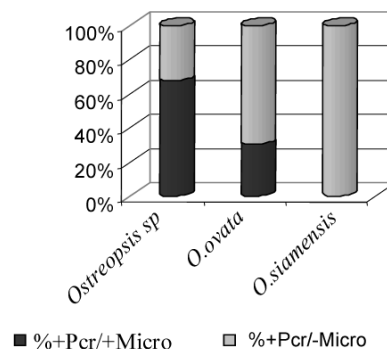


Fig. 2 - Numero dei campioni positivi ottenuti con la tecnica di PCR rispetto alla microscopia per l'identificazione del genere e delle specie *Ostreopsis*.

Increase of positive samples obtained by PCR respect to microscopy for the detection of genus and species *Ostreopsis*.

Conclusioni – Le analisi di microscopia hanno permesso l'identificazione e la stima delle abbondanze di *Ostreopsis* spp., ma non sempre hanno permesso di discriminare tra le due specie *O. ovata* e *O. siamensis*. Al contrario, la tecnica molecolare di PCR è risultata un metodo specifico e sensibile per l'identificazione sia del genere *Ostreopsis* che delle due specie *O. ovata* e *O. siamensis*. Tale tecnica può essere affiancata a quella di microscopia per rilevare la presenza di tali specie soprattutto a basse concentrazioni cellulari.

Bibliografia

- LENOIR S., TEN-HAGE L., TURQUET J., QUOD J.P., BERNARD C., HENNION M.C. (2004) - First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (Dinophyceae) benthic bloom in the southwestern Indian Ocean. *Journal of Phycology*, **40**: 1042-1051.
- PENNA A., BERTOZZINI E., BATTOCCHI C., GALLUZZI L., GIACOBBE M.G., VILA M., GARCES E., LUGLIÈ A., MAGNANI M. (2007) - Monitoring of HAB species in the Mediterranean Sea through molecular methods. *Journal of Plankton Research*, **29**: 19-38.
- TOTTI C., CUCCHIARI E., ROMAGNOLI T., PENNA A. (2007) - Bloom occurrence of *Ostreopsis ovata* along the Conero Riviera (NW Adriatic Sea). *Harmful Algae News*, **33**: 1-3.

M. BERTOLINO, B. CALCINAI, G. BAVESTRELLO, D. PICA, M. GASPARDO, C. CERRANO*

Dipartimento di Scienze del Mare (Di.S.Mar.), Università Politecnica delle Marche,
Via Brece Bianche – 60131 Ancona, Italia.
b.calcinai@univpm.it

*Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.

PORIFERI EPIBIONTI SU *CARIJOA* SPP. (CNIDARIA, OCTOCORALLIA) DALL'OCEANO PACIFICO

EPIBIONTIC PORIFERA ON CARIJOA SPP. (CNIDARIA, OCTOCORALLIA) FROM THE PACIFIC OCEAN

Abstract – The octocoral *Carijoa* was observed frequently covered by numerous species of sponges in Indonesia, Hawaii and Vietnam. These species generally cover part of the colony with a thin coat of tissue. The major of the sponges belongs to the order Poecilosclerida, while the most frequent genera recorded in all the three areas are *Mycale* and *Tedania*. No specie-specific relationship was observed. Once again epibiosis represents the right solution for survival of encrusting species in high competitive areas, where they should strongly fight to colonize primary substrates.

Key-words: competition, sponges, epibiosis, *Carijoa*.

Introduzione – Grazie alla loro elevata plasticità, alcune specie di spugne hanno risolto il problema della competizione per il substrato attraverso il fenomeno dell'epibiosi (Rützler, 1970) instaurando talvolta relazioni stabili con altri organismi che sono molto frequenti a tutte le latitudini. Tali relazioni possono determinare sia nelle spugne che nei loro ospiti, rilevanti alterazioni morfologiche (van Soest e Verseveldt, 1987). Nell'ambito degli Cnidari sono note numerose associazioni tra spugne e idrozoi e scifozoi (Rützler, 1970; Lewis, 1982; Petersen, 1990; Uriz *et al.*, 1992), mentre i rapporti con gli antozoi appaiono molto rari (van Soest e Verseveldt, 1987). Un primo studio riguardante l'associazione tra la demospongia *Desmapsamma anchorata* e l'ottocorallo *Carijoa riisei* è stato condotto in Indonesia (Calcinaï *et al.*, 2004), dove è stata descritta una stretta interazione tra i due organismi che determina variazioni sensibili nella morfologia e nell'organizzazione strutturale dell'ottocorallo. Alle Hawaii questo ottocorallo rappresenta una minaccia, in quanto in alcune aree è in grado di ricoprire interamente le colonie di alcune specie endemiche, come coralli neri o gorgonie. Dati non ancora pubblicati mettono in dubbio l'origine atlantica del *Carijoa* hawaiano, supponendo la presenza di almeno due specie distinte di *Carijoa* alle Hawaii. Scopo di questo lavoro è ampliare la conoscenza delle relazioni che legano le spugne con *Carijoa* spp. in altre aree dell'Indo-Pacifico.

Materiali e metodi – Nel corso di diverse spedizioni in Indonesia, Hawaii e Vietnam volte alla caratterizzazione della biodiversità di quelle aree sono stati raccolti 33 campioni di *Carijoa* spp. ricoperti da poriferi. Lo studio tassonomico dei poriferi è stato condotto su dissociati scheletrici analizzati con microscopio ottico ed elettronico (SEM).

Risultati –Le specie di poriferi trovate associate a *Carijoa* spp. sono 27 appartenenti a 10 generi: *Spirastrella* cfr. *cunctatrix* Schmidt, 1868, *Protosuberites epiphytum* (Lamarck, 1815), *Terpios fugax* Duchassaing e Michelotti, 1864, *Batzella aurantiaca* (Lévi, 1958), *Chondropsis* sp. 1, *Chondropsis* sp. 2, *Desmapsamma anchorata* (Carter, 1882), *Hymedesmia* sp., *Tedania (Tedania) anhelans* (Lieberkühn, 1859), *Tedania (Tedania) brevispiculata* Thiele, 1903, *Tedania (Tedania) ignis* (Duchassaing e Miche-

lotti, 1864), *Biemna fistulosa* (Topsent, 1897), *Amphylectus* sp., *Mycale* (*Aegogropila*) *crassissima* (Dendy, 1905), *Mycale* (*Aegogropila*) *phillipensis* (Dendy, 1896), *Mycale* (*Carmia*) *macilenta* (Bowerbank, 1866), *Mycale* (*Carmia*) *toxifera* (Dendy, 1896), *Mycale* (*Mycale*) *grandis* Gray, 1867, *Mycale* (*Zygomycale*) *parishi* (Bowerbank, 1875), *Mycale* sp. 1, *Mycale* sp. 2, *Mycale* sp. 3, *Acanthella* sp., *Halichondria* (*Halichondria*) *melanodocia* de Laubenfels, 1936, *Hymeniacidon* sp., *Callyspongia* sp. 1 e *Callyspongia* sp. 2. I generi più rappresentati sono *Mycale* e *Tedania*. Le diverse specie di spugna si sviluppano con spessori variabili sull'asse e sull'antocodio dell'ottocorallo permettendo però ai polipi di espandersi e contrarsi normalmente. In un numero esiguo di campioni la spugna si sviluppa semplicemente come un sottile film incrostante e, a parte *Desmapsamma anchorata*, nessuna specie arriva a condizionare fortemente lo sviluppo della colonia alterandone la morfologia e la simmetria di crescita. Le specie individuate sono note anche in forma non-epibionte negli stessi ambienti con un habitus generalmente incrostante.

Conclusioni – I nostri dati dimostrano che le specie del genere *Carijoa* sono specializzate per le associazioni con i poriferi che, probabilmente, difendono i polipi da possibili predatori. Non sono state riscontrate simbiosi obbligate infatti sia le colonie di *Carijoa* spp. che le spugne possono vivere isolate. Il fatto che alcuni generi siano stati osservati con maggiore frequenza suggerisce, per queste spugne una maggiore plasticità ecologica che permette l'ampliamento degli habitat colonizzabili.

Per evitare di essere colonizzati da epibionti, gli organismi del benthos sessile sviluppano efficaci difese chimiche frutto del loro metabolismo secondario. In alcuni casi, tuttavia, l'epibiosi può evolvere in un rapporto cooperativo che porta ad una serie di proprietà emergenti, imprevedibili, a partire dalle caratteristiche dei due partners, suggerendo una possibile via filogenetica per lo stabilirsi di associazioni mutualistiche. È evidente come i meccanismi regolativi di questi rapporti debbano essere ricercati a livello di interazioni chimiche e cellulari tra i due organismi partecipanti all'associazione. A livello di comunità, il principale effetto del fenomeno dell'epibiosi è un aumento di biodiversità, in seguito ad un sostanziale aumento dell'eterogeneità spaziale e delle possibili interazioni.

Bibliografia

- CALCINAI B., BAVESTRELLO G., CERRANO C. (2004) – Dispersal and association of two alien species in the Indonesian coral reef: the octocoral *Carijoa riisei* and the demosponge *Desmapsamma anchorata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **84**: 937-941.
- LEWIS S.M. (1982) – Sponge-zoanthid association. Functional interactions. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, **12**: 465-474.
- PETERSEN K.W. (1990) – Evolution and taxonomy in capitate hydroids and medusae (Cnidaria: Hydrozoa). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **100** (2): 101-231.
- RÜTZLER K. (1970) – Spatial competition among Porifera: solution by epizoism. *Oecologia*, **5**: 85-95.
- SOEST R.W.M. VAN, VERSEVELDT J. (1987) – Unique symbiotic octocorals – sponge association from Komodo. *Indo-Malayan Zoology*, **4**: 27-32.
- URIZ M.J., ROSSEL D., MALDONADO M. (1992) – Parasitism, commensalism or mutualism? The case of Scyphozoa (Cnidaria) and horny sponges. *Marine Ecology Progress Series*, **81**: 247-255.

F. BIRARDI, M. LENZI, E. FRANCHI, D. SOLARI, R. ROFFILLI, P. GENNARO, S. FOCARDI

Università degli Studi di Siena, Dipartimento di Scienze Ambientali,
Via P.A. Mattioli 4, 53100 Siena, Italia.
LEALab; ICRAM.
francesca.birardi@gmail.com

SPREAD OF *CAULERPA RACEMOSA* VAR. *CYLINDRACEA* IN BACK-REEF AREAS (TUSCANY SOUTHERN COAST)

DIFFUSIONE DI CAULERPA RACEMOSA VAR. CYLINDRACEA *IN AREE DI RETRO-BARRIERA DA PRATERIA* *(COSTA DELLA TOSCANA MERIDIONALE)*

Abstract - Surveys were carried out in 2005 and 2006 to define changes in morphometry and biomass of the *Bryopsidales*, *Chlorophyta*, *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*, appeared in two *Posidonia oceanica* back-reefs that had recently lost their typical population because of high tourist pressure. The results showed significant differences between the two back-reefs, and that *C. racemosa* spread significantly in both sites.

Key-words: *phytobenthos* changes, *Posidonia oceanica* back barriers reefs, *Caulerpa racemosa* v. *cylindracea*, *biometrics*, *Tyrrhenian Sea*.

Introduction - The invasive *Chlorophyta Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman, Boudouresque has spread swiftly along Mediterranean coasts since the early 1990s (Piazzi *et al.*, 2005). It was defined as a stress tolerant species considering its spread in degraded areas (Buia *et al.*, 1998). It lately spread to *Posidonia oceanica* (L.) Del. back-reef areas of the S. Liberata stretch of coast (Monte Argentario, Tuscany), replacing a *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch., *Nanozostera noltii* (Horn.) Tomlinson *et* Posluzny and *Caulerpa prolifera* (Forsskål) J.V. Lamour. mixed meadow, that disappeared just before this spread (Lenzi *et al.*, 2007). This study aims at describing *C. racemosa* spread in back-reef areas, assessing any differences in other coastal habitats and understanding its role in the colonisation of degraded areas.

Materials and methods - In two back-reef areas (west and east) of *P. oceanica* barriers, in Santa Liberata bay, four 5×5 m plots, two in each area (A, E and H, I, respectively) at 120-150 cm depth, were randomly chosen and marked. In each plot 15 20×20 cm were collected in July 2005 and 2006 to determine biomass of *C. racemosa* and other macroalgae; samples were cleaned then oven-dried at 90 °C for 24 hours. Sub-samples of 10 g were used to obtain morphometric measurements: branchlet and stolon thickness (BT, ST), erect axis and branchlet length (EAL, BL). Data was processed by PERMANOVA and “canonical analysis of principle coordinates” (CAP).

Results - PERMANOVA showed a significant interaction of factors *Year* and *Site* for all parameters. Individual pairwise comparisons performed on interaction factor (*Year*Site*) showed that ST and BT were significantly different in the two back-reefs (higher in the west) in 2005 (P<0.001 and P<0.05, respectively), but unchanged in 2006, while BL and EAL were significantly different in the two back-reefs (higher in the east) in 2006 (both P<0.05), but unchanged in 2005. CAP analysis of the morphometric multivariate data set showed an absence of variation in the west back-reef between 2005 and 2006, and significant differences in the east back-reef between 2005 and 2006. This was due to an increase during 2006 of BT, BL, ST and EAL (negative correlation -0.899, -0.897, -0.820 and -0.463, respectively, with CAP1). The same correlation model discriminated the 2005-2006-west group observations from those of the

2005-east group. The 2006-east group was significantly discriminated from the 2005-2006-west group, mainly due to EAL and ST, the former being higher (positive correlation 0.583 with CAP2) and the latter lower (negative correlation -0.446 with CAP2) in the first group with respect to the second. Our samples were characterized by thalli of *C. racemosa* having a short erect axis with respect to those reported in other parts of the Mediterranean. Ranges were 1.2-8.6 mm in the west and east sites in 2005, 6.2-6.5 mm in the east site and 2.2-8.6 mm in the west site in 2006. A thin stolon with low EAL may be better adapted for penetrating very dense algal turf. Indeed, the lower values of ST and BT in the east than in the west back-reef in 2005 could be related to the manner of initial colonisation of the invasive algae in the east back-reef. In this site, the larger EAL and BL in 2006 could be due to population stability and loss of pioneer likeness. *C. racemosa* biomass (g d.w. m⁻²) increased by a factor of 55 to 90 in the four plots, and the “*C. racemosa* to other macroalgal biomass” ratio (C.r.:O.A.) increased by a factor of 16 to >100, between July 2005 and July 2006. PERMANOVA confirmed the *C. racemosa* biomass increase, showing a significant difference in relation to the factor *Year* and no difference in relation to the factor *Site*. Altogether, *C. racemosa* biomass showed a range of 0.00-3.25 g d.w. m⁻² in 2005 and of 12.90-106.52 in 2006. Our data confirms the considerable substrate-covering capacity and rapid development of biomass that *C. racemosa* has shown in the Mediterranean so far (Piazzì *et al.*, 2005), and also the species’ aggressiveness on shallow sheltered bottoms with dead matte, as in back-reefs.

Conclusions – The invasion of *C. racemosa* was very rapid and, according to Lenzi *et al.* (2007), possibly very recent, as indicated by its low biomass in 2005 and relatively high value in 2006. The species invaded the back-reefs, preferring a substrate of *P. oceanica* dead matte with thin algal turf. Piazzì *et al.* (2001) claim that the presence of algal species forming turfs is a major regulator of *C. racemosa* performance in the Mediterranean. Its spread may have occurred because of the decline of the mixed meadows (*C. nodosa*-*N. noltii*-*C. prolifera*) in the back-reef areas, that was attributed to a reduction in the sediment OM due to high tourist pressure (Lenzi *et al.*, 2007). Its distribution in shallow waters, the relatively high biomass and the considerable substrate-covering capacity suggest a good adaptation to high light conditions and the presence of a suitable substrate without competitors.

References

- BUIA M.C., PETROCELLI A., SARACINO O.D. (1998) - *Caulerpa racemosa* spread in the Mediterranean Sea: first record in the Gulf of Taranto. *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (1): 527–529.
- LENZI M., FRANCHI E., GIOVANI A., MICARELLI P., ROFFILLI R., SOLARI D., FOCARDI S. (2007) - Change in the phytobenthos settlement along the Santa Liberata coast (Southern Tuscany, Italy). Third Mediterranean Symposium on Marine Vegetation. Marseilles, 27–29 March 2007, UNEP, MAP, RAC/SPA: 88–95.
- PIAZZÌ L., CECCHERELLI G., CINELLI F. (2001) - Threat to macroalgal diversity: effects of the introduced green algae *Caulerpa racemosa* in the Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **210**: 149-159.
- PIAZZÌ L., MEINESZ A., VERLAQUE M., AKÇALI B., ANTOLI B., ARGYROU M., BALATA, D., BALLESTEROS E., CALVO S., CINELLI F., CIRIK S., COSSU A., D’ARCHINO R., DJELLOULI S.A., JAVEL F., LANFRANCO E., MIFSUD C., PALA D., PANAYOTIDIS P., PEIRANO A., PERGENT G., PETROCELLI A., RUITTON S., ŽULJEVIĆ A., CECCHERELLI G. (2005) - Invasion of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean Sea: an assessment of the early stages of spread. *Cryptogamie, Algologie*, **26**: 189-202.

V. CEGLIE, C. LONGO, M. MERCURIO, C. NONNIS MARZANO,
F. CARDONE, R. BALDACCONI, G. CORRIERO

Dipartimento di Zoologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
g.corriero@biologia.uniba.it

DISTRIBUZIONE DI *CAULERPA RACEMOSA*
VAR. *CYLINDRACEA* LUNGO LE COSTE PUGLIESI

DISTRIBUTION OF CAULERPA RACEMOSA
VAR. *CYLINDRACEA* ALONG THE APULIAN COASTS

Abstract - The distribution of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* along the Apulian coasts is reported. The survey, carried out from spring to autumn 2007, showed that this alga has widely colonized a large variety of substrates in several stations of the Apulian coast (Ionian and Adriatic Sea).

Key-words: *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*, biological invasion, Apulian coast.

Introduzione – *Caulerpa racemosa* è un'alga verde distribuita nei mari tropicali e subtropicali. Segnalata per la prima volta in Mediterraneo nel 1926 lungo le coste tunisine (Hamel, 1930), è stata presumibilmente introdotta attraverso il Canale di Suez. A partire dagli anni novanta, si è ampiamente diffusa raggiungendo le coste italiane: Sicilia (Alongi *et al.*, 1993), litorale pugliese ionico (Buia *et al.*, 1998) ed adriatico (Costantino *et al.*, 2002), Campania (Gambi e Terlizzi, 1998), Toscana (Piazzi *et al.*, 1994), Liguria (Bussotti *et al.*, 1996), Sardegna (Di Martino e Giaccone, 1995). In accordo con Verlaque *et al.* (2003), responsabile di tale invasione è la varietà *cylindracea* di *Caulerpa racemosa*. In questo studio viene riportata la distribuzione attuale di *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman & Boudouresque lungo le coste adriatiche e ioniche pugliesi.

Materiali e metodi – L'indagine è stata svolta in 30 siti dislocati lungo le coste pugliesi. I rilevamenti sono stati condotti in immersione con autorespiratore, dalla superficie fino a 35 m di profondità, tra aprile ed ottobre 2007. In particolare, sono stati registrati il tipo di substrato (roccia, sabbia, fango, ecc.), l'esposizione, la profondità e la modalità di colonizzazione dell'alga (chiazze, rizoidi sporadici, prato).

Risultati - *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* è presente in gran parte delle stazioni indagate (86,6%), su substrati rocciosi primari ed organogeni (biocenosi del coralligeno), su *matte* morte di *Posidonia oceanica*, su fondi incoerenti sabbiosi e fangosi e su substrati artificiali (massi frangiflutti, cordame, legno, PVC). L'alga è stata osservata lungo tutto il range batimetrico indagato. In condizioni di ridotto idrodinamismo forma ampi e densi prati (30% delle osservazioni totali), mentre in ambienti superficiali esposti è presente sotto forma di chiazze piccole e sparse o di rizoidi sporadici. La specie è molto abbondante nelle aree ad elevato interesse naturalistico di Porto Cesareo (LE) e Torre Guaceto (BR), mentre risulta assente nelle aree insulari e negli ambienti costieri di transizione (Tab. 1).

Conclusioni – La costa pugliese risulta invasa da *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* che occupa tutti i tipi di substrato disponibili, lungo un ampio range batimetrico. La diffusione di questa alga è dovuta alle peculiarità dell'ambiente costiero pugliese, particolarmente esposto alle invasioni di specie aliene per cause riconducibili all'elevata pressione antropica: l'intenso traffico marittimo, l'alto carico di inquinanti di differente natura; la presenza di porti militari e commerciali; l'intensa attività di acquacoltura. Tuttavia, a fronte di questa situazione, le indagini sulla distribuzione di

questa specie, così come degli altri numerosi organismi alloctoni presenti nelle acque costiere pugliesi (Mastrototaro *et al.*, 2004), sono molto limitate. In tal senso è auspicabile un incremento dell'attività di monitoraggio di un fenomeno che appare sempre più diffuso e ad alto impatto ambientale.

Tab. 1 - Distribuzione di *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* nei 30 siti monitorati lungo la costa pugliese.

Distribution of Caulerpa racemosa var. cylindracea along the Apulian coast.

Siti	Prof.	Substr.	Copertura	Siti	Prof.	Substr.	Copertura
Isole Tremiti	//	//	A	Porto Badisco	0-10	R	▪
Lago di Lesina	//	//	A	Ugento	5-10	R; MM	◻
Zapponeta	//	//	A	Bacini di Ugento	//	//	A
Bisceglie	0-5	R	•	Torre suda	15-20	R; S	•
Molferra	0-5	R	•	Santa Caterina	32	R	•
Giovinazzo	0-5	R	•	Porto Cesareo	10-35	R; S	◦ •
Bari	0-10	R	◻	Campomarino	15-20	R; MM	•
Torre a Mare	0-5	SA; F	•	Torre dell'Ovo	0-30	R; S	•
Cozze	0-5	R	•	Leporano	10-20	R	◻
Polignano	0-12	R	▪	San Vito	0-20	R; P	•
Torre Canne	2	R	•	Porto di Taranto	7-12	SA; MM	▪
Rosa Marina	0-10	R	◦ •	Mar Piccolo	5-10	SA	▪
Villanova	0-18	R; MM; SA	▪ ◻	Punta Rondinella	0-5	F	▪
Torre Guaceto	3-15	R; MM	• ▪	Isole Cheradi	0-6	R; F	◻
Cerano	10	MM	•	Secca di Chiatona	8-15	R	•

Bibliografia

- ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G. (1993) – Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **26**: 49-53.
- BUIA M.C., PETROCELLI A., SARACINO O.D. (1998) - *Caulerpa racemosa* spread in the Mediterranean Sea: first record in the Gulf of Taranto. *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (1): 527-529.
- BUSSOTTI S., CONTI M., GUIDETTI P., MARTINI F., MATRICARDI G. (1996) – First record of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh along the coast of Genoa (North-Western Mediterranean). *Doriana, Suppl., Ann. Mus. Civ. St. Nat. "G. Doria"*, **6** (294): 1-5.
- COSTANTINO N., QUARANTA L., DE ZIO V., PASTORELLI A.M., ROSITANI L., UNGARO N. (2002) – Sulla recente presenza di *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh sui fondi costieri dell'Adriatico sud-occidentale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 613-615.
- DI MARTINO V., GIACCONE G. (1995) – La dispersione in Mediterraneo di alghe tropicali del genere *Caulerpa*. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **28**: 693-705.
- GAMBI M.C., TERLIZZI A. (1998) – Record of large population of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Chlorophyceae) in the Gulf of Salerno (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (1): 553-556.
- HAMEL G. (1930) - Les caulerpes méditerranéennes. *Rev. Algol.*, **5**: 229-230.
- MASTROTOTARO F., PETROCELLI A., CECERE E., MATARRESE A. (2004) - Non indigenous species settle down in the Taranto Seas. *Biogeographia*, **25**: 47-53.
- PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F. (1994) – Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Crypto. Algol.*, **15** (3): 183-189.
- VERLAQUE M., DURAND C., HUISMAN J.M., BOUDOURESQUE C.F., LE PARCO Y. (2003) - On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). *Eur. J. Phycol.*, **38**: 325-329.

F. CUMANI, A. DI PASCOLI, G. BRESSAN

Dipartimento di Biologia (Dip. Biol.), Università di Trieste
Via L. Giorgieri, 10 – 34100 Trieste, Italia.
francescocumani@libero.it

OSSERVAZIONI FENOECOTIPICHE DI BIOINDICATORI
IN COLTURA DI LABORATORIO: *PNEOPHYLLUM FRAGILE*
KÜTZING E *HYDROLITHON BOREALE* (FOSLIE)
CHAMBERLAIN (CORALLINALES, RHODOPHYTA)

*PHENOTYPIC OBSERVATIONS OF BIOINDICATORS IN
LABORATORY CULTURE: PNEOPHYLLUM FRAGILE KÜTZING
AND HYDROLITHON BOREALE (FOSLIE) CHAMBERLAIN
(CORALLINALES, RHODOPHYTA)*

Abstract – *The morphogenetic development of Corallinales spores has been studied in culture of laboratory to assay a light gradient as a distance of the thalli from the source. On the basis of the preliminary results below it seems that these algae should be used to describe the original environment.*

Key-words: *bioindicators, culture, Pneophyllum fragile, Hydrolithon boreale, Corallinales.*

Introduzione - Posto che le colture in laboratorio permettono di valutare meglio gli adattamenti morfologici e fisiologici di un organismo in rapporto all'ambiente in cui vive (Ichiki *et al.*, 2000; Bañares *et al.*, 2002), si è cercato di rilevare un eventuale gradiente di sviluppo morfogenetico delle spore di Corallinales (specie *Pneophyllum fragile* Kützing e *Hydrolithon boreale* (Foslie) Chamberlain) in rapporto al percorso ottico della luce, espresso come distanza dei dischi germinativi dalla sorgente luminosa.

Materiali e metodi - Campioni di alghe calcaree, incrostanti, sassicole, sono state prelevate in aprile e in luglio 2007, *in-shore*, presso la baia di Sistiana (Golfo di Trieste, Alto Adriatico) a una profondità di 2-3 m. Le inseminazioni e le colture sono state condotte in quattro vasche (10 litri ciascuna) disposte a cascata, con acqua di mare corrente, in circuito chiuso, filtrata e rinnovata. L'impianto è stato posto all'interno di una cella termostata (20-22 °C) cronoregolata (L/D = 10:14) in modo tale che i dischi germinativi, provenienti dalle medesime specie, fossero sottoposti a condizioni di fotoperiodo e temperatura costanti. L'illuminazione nella cella è stata garantita da un complesso di tre lampade (Osram L36W/965 Biolux 2300 lm, Osram L36W/77 Fluora 1400 lm, Osram L36W/76 Natura de Luxe 1800 lm), eccentrico all'asse longitudinale dell'impianto, in modo tale da generare un diverso percorso ottico (espresso in cm) rispetto ai diversi gradini della cascata: vasca A (min 60; max 81), vasca B (min 68; max 87), vasca C (min 76; max 94), vasca D (min 84; max 100,5), con un gradiente di intensità luminosa PAR compreso tra 26 e 4 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Per ogni vasca sono stati disposti in fila 20 vetrini, preventivamente preparati, per un totale di 80 unità, al fine di raccogliere in modo casuale le spore cadute dai concettacoli e prodotte per choc termico indotto durante le inseminazioni dai talli progenitori sospesi. Il censimento dei dischi germinativi è stato effettuato tramite conta diretta al microscopio ottico, entro la prima settimana di vita (Cumani, 2007). Lo stato di sviluppo dei talli, in rapporto al percorso ottico, è stato rilevato durante l'inseminazione primaverile mediante Image Pro-Plus®, per un periodo di due mesi ed espresso in termini di superficie di ricoprimento.

Risultati - Nel corso dell'intera sperimentazione primaverile-estiva sono stati censiti in totale 6230 talli, di cui 3358 in aprile e 2872 in luglio così distribuiti: (a) nel

mese di aprile, un progressivo incremento nella presenza dei dischi germinativi dalla vasca A alla vasca D (375, 554, 1115, 1314 rispettivamente); (b) nel mese di luglio, ancora un progressivo incremento, simmetricamente corrispondente all'inseminazione precedente, dalla vasca A alla vasca D (227, 419, 770, 1456). Considerando il successo germinativo, non solo in termini di numero di talli, ma anche di superficie di ricoprimento, nel periodo primaverile è stato registrato un numero di dischi germinativi con area significativamente superiore a $6 \times 10^5 \mu\text{m}^2$, con un gradiente di allontanamento dalla sorgente luminosa (4 talli nella vasca A; 6 talli nella B e nella C; 8 nella D). Per completezza d'informazione ricordiamo che la messa a punto metodologica, era stata condotta preventivamente nei mesi invernali, con talli progenitori provenienti da una stazione *off-shore*, a una profondità di 12÷13 m; su 10462 dischi germinati con successo era stata notata non solo una forte stagionalità, ma soprattutto una diversa distribuzione dei talli nelle vasche (A:2980; B:1766; C:3475; D:2241). Sulla base del rilevamento del numero soglia di 300 cellule/disco germinativo, sono stati individuati dei precisi gradienti di percorso ottico all'interno delle vasche superiori: A e B, zona più vicina alla sorgente luminosa, rispettivamente 61÷64 cm e 68÷70 cm; C, zona più lontana 83÷89,5 cm.

Conclusioni - Rispetto alla sperimentazione primaverile-estiva sono state registrate variazioni nella distribuzione e nello sviluppo dei dischi germinativi nelle vasche con un incremento del numero e della superficie dei talli direttamente proporzionale alla distanza dalla sorgente luminosa. Sulla base di queste premesse, lo studio in termini di successo della germinazione di dischi germinativi di *H. boreale* e di *P. fragile* sembra particolarmente adatto all'analisi dei fattori influenti e dell'ambiente da cui le alghe progenitrici provengono. Solo una verifica condotta in piena coincidenza spazio/temporale e ripetuta in un arco di tempo maggiore, potrà suffragare l'ipotesi che vi sia un'importante diversità ecofisiologica a livello dei talli progenitori raccolti in un ambiente "superficiale" o in un ambiente "profondo", come sembra di poter evidenziare.

Bibliografia

- BAÑARES E., ALTAMIRANO M., FIGUEROA F.L., FLORES-MOYA A. (2002) - Influence of UV radiation on growth of sporelings of three non-geniculate coralline red algae from Southern Iberian Peninsula. *Phycological Research*, **50** (1): 23.
- CUMANI F. (2007) - Caratterizzazione fenoeotipica di bioindicatori in coltura di laboratorio: *Pneophyllum fragile* Kutzing e *Hydrolithon boreale* (Foslie) Chamberlain (Corallinales, Rhodophyta). Tesi di Laurea specialistica in Biologia marina, Università degli studi di Trieste.
- ICHIKI S., MIZUTA H., YAMAMOTO H. (2000) - Effects of irradiance, water temperature and nutrients on the growth of sporelings of the crustose coralline alga *Lithophyllum yessoense* Foslie (Corallinales, Rhodophyceae). *Phycological Research*, **48**: 115-120.

R. D'ADDABBO, C. DE LEONARDIS, R. SANDULLI*, M. GALLO

Dip.di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
r.daddabbo@biologia.uniba.it

*Dip. di Scienze per l'Ambiente, Univ. di Napoli "Parthenope",
Centro Direzionale Is. C4 – 80143 Napoli, Italia.

FURTHER STUDIES OF MEIOFAUNA AND TARDIGRADE FAUNA IN TWO ITALIAN MARINE PROTECTED AREAS

ULTERIORI STUDI SULLA MEIOFAUNA E TARDIGRAFOFAUNA IN DUE AREE MARINE PROTETTE ITALIANE

Abstract – Sediments of the two Italian marine protected areas were investigated to study meiofauna and tardigrade fauna. Our data showed high values of meiofauna and nematode density in fine sands and a high diversity of tardigrade fauna in coarse sediment. Two new species belonging to Halechiniscidae and Batillipedidae were found. Further data on Mediterranean marine tardigrade fauna are described.

Key-words: Meiofauna, Heterotardigrada, Marine Protected Areas, Mediterranean Sea.

Introduction – Our present study provides additional information about the meiofauna and tardigrade fauna in the two Italian Marine Protected Areas of Porto Cesareo (Lecce) and of Capo Caccia (Sassari), including the submarine cave of Nereo, with the analysis of further sediment samples collected in 6 localities of these areas (D'Addabbo *et al.*, 2007a,b; De Leonardis *et al.*, 2007; Sandulli *et al.*, 2002). The present data confirm the existence of a remarkable connection between composition, density and diversity in meiofauna and tardigrade fauna, and particular kinds of sediments. Particle size analysis of sediment revealed coarse sands, primarily formed by coralligenous debris at Porto Cesareo, and medium or fine sands at Capo Caccia. Two new species belonging to the Batillipedidae and Halechiniscidae families were found and for the first time *Megastigarctides setoloso* was collected in the Mediterranean Sea.

Materials and methods – Meiofaunal sediment samples were collected by direct hand coring at depths ranging from 1m to 20m, in six localities in the Marine Protected Areas (zone C): Isola dei Conigli, the port area, and S. Isidoro, at Porto Cesareo (18 sites); Dragunara, Fertilia and the submarine cave of Nereo, at Capo Caccia (10 sites). Samples were fixed in 5% neutral formaldehyde seawater solution. After sorting and counting the meiofauna, a total of 2500 tardigrades were identified at the species level and a total of 500 nematodes at the genus level. Identification and taxonomic studies were performed using contrast phase and interference contrast microscopes (Leica DM 2500). Shannon-Wiener diversity index (H') and Pielou's index (J) were calculated. The sediment was analysed for granulometry.

Results – All examined sediment samples in Porto Cesareo (12 sites) were composed of coarse sand (ϕ 0.25), except S. Isidoro (3 sites) of fine sand (ϕ 3.25). Densities of meiofauna showed generally high values: 7029 ind. \times 10 cm⁻² from fine sand, where nematodes were the dominant taxon with 3599 ind. \times 10 cm⁻². The lowest meiofauna abundance recorded was 1926 ind. \times 10 cm⁻² from coarse sand. Taxa diversity (H') and evenness (J) ranged between 0.88 and 2.04, and between 0.24 and 0.61 respectively. Nematodes were by far the dominant taxon in samples from fine sand (83%), belonging to 3 orders: Enoplida (11%), Chromadorida (47%), Monhysterida (42%). The dominant family present was Chromadoridae (44%), with 4 genera: *Neochromadora* (22%) *Chromadorella* (20%) *Prochromadorella* (1%) *Dichromadora* (1%). The Copepoda, on the contrary, including nauplii (90%), were present in coarse sand.

The remaining taxa recorded include Annelida, Ostracoda, Amphipoda, Cladocera, Kinorhyncha, Turbellaria, Acarina and Tardigrada, which were present in very low percentages. The Tardigrada abundance was 2527 ind. \times 10 cm⁻² in only one locality with coarse sediment (Isola dei Conigli). In the AMP of Porto Cesareo 13 species were present belonging to 4 families: Stygarctidae (1%), Batillipedidae (1%), Echiniscoidida (1%) and Halechiniscidae (97%). Of this last family, one species, *Florarctus* n.sp., is new to science. Among new findings in Apulia, it is worth noting that of *Echiniscoides bruni*, Gallo D'Addabbo *et al.*, 1992, previously known only in Sardinia at a 40 m depth (Grimaldi de Zio *et al.*, 2003). The finding of *Megastygarctides setoloso* in the locality of S. Isidoro, is very remarkable, being its first record in the Mediterranean Sea. Sediment samples examined in 3 localities of Capo Caccia, including a submarine cave, were composed of medium and fine sands. The highest meiofauna abundance recorded was 9676 ind. \times 10 cm⁻² from fine sand in the submarine cave of Nereo, followed by Fertilia with 7599 ind. \times 10 cm⁻², where nematodes were the dominant taxon, with 3850 and 1327 ind. \times 10 cm⁻² respectively. In the first locality were recorded the orders: Enoplida (2%) with 1 family (1 genus), Chromadorida (47%) with 8 families (4 genera), Monhysterida (54%) with 3 families (10 genera). According to the indices H' and J diversity was highest at Dragunara (H'=2.48; J=0.75), followed by Fertilia (2.17; 0.61) and the submarine cave of Nereo (1.63; 0.47). The systematic study of tardigrades revealed a total of 7 species belonging to 3 families Batillipedidae (96%), Halechiniscidae (3%) and Stygarctidae (1%). All families were present only in the cave, where a new species of Batillipedidae, *Batillipes* n.sp. as well as *Pseudostygarctus mirabilis* (Stygarctidae) were collected. **This last species was found for the first time in Sardinia and in the cave.** The highest values of abundance were calculated at 87 and 37 ind. \times 10 cm⁻² in Dragunara and Fertilia respectively, in the same localities with high indices diversity (1.6; 0.8).

Conclusions - Meiofauna and tardigrade fauna abundances and diversities were recorded in the two marine protected areas. The highest abundance of nematodes was calculated in fine sands, whereas the highest tardigrade abundance and diversity were found in coarse sands. The Halechiniscidae family was dominant in the sediments of Porto Cesareo, one of Batillipedidae in Capo Caccia in connection with a particular kind of sediment. In the cave of Nereo, 3 families were found and also a new species of Batillipedidae. Another interesting finding, in this habitat, is the presence of one species of Stygarctidae that, with its plesiomorphic characteristics, complies with the conservative environment of the cave. The study of cave tardigrades, carried out along the Italian coasts, has permitted us to describe 7 new species to science. This suggests the importance of further investigation of meiofauna in submarine caves.

References

- D'ADDABBO R., SANDULLI R., DE LEONARDIS C., GALLO M. (2007) - La tardigradofauna di due Aree Marine Protette Italiane. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 100-101.
- D'ADDABBO R., DE LEONARDIS C., SANDULLI R., GALLO M. (2007) - La Tardigradofauna delle grotte sottomarine italiane. Atti 68° Convegno UZI, Lecce, 2007: 42.
- DE LEONARDIS C., DE ZIO GRIMALDI S., D'ADDABBO R., GALLO M., SANDULLI R. (2007) - Meiobenthos and nematode communities in three Italian Marine Protected Areas (Miramare, Porto Cesareo and Capo Caccia). *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 76-77.
- GRIMALDI DE ZIO S., GALLO D'ADDABBO M., SANDULLI R., D'ADDABBO R. (2003) - Cecklist of the Italian marine Tardigrada. *Meiofauna Marina*, **12**: 97-13.
- SANDULLI R., DE ZIO GRIMALDI S., GALLO D'ADDABBO M., CALÒ L., BRESSAN E. (2002) - Aspetti della Biodiversità della Meiofauna lungo il litorale pugliese. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 484-493.

C. DE LEONARDIS, A. MONTEMORRA, R. D'ADDABBO, R. SANDULLI*

Dip.di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.

*Dip. di Scienze per l'Ambiente, Univ. di Napoli "Parthenope",

Centro Direzionale Is. C4 – 80143 Napoli, Italia.

roberto.sandulli@uniparthenope.it

MEIOBENTHOS AND NEMATODE COMMUNITIES IN THE VENICE LAGOON

MEIOBENTHOS E NEMATOFUNA NELLA LAGUNA DI VENEZIA

Abstract – Sediments of the Venice Lagoon were investigated to study meiofauna and nematode composition. Our data showed low values of meiofauna and nematode density and diversity, especially in correspondence of the most stressed areas. There are significant differences between the areas closer to the city of Venice and those far apart, as confirmed by the multivariate analyses (MDS and ANOSIM).

Key-words: *Meiofauna, Nematoda, Lagoon of Venice, Adriatic Sea.*

Introduction – Knowledge of the structure, composition and diversity of meiofauna and nematofauna along the coast of Adriatic Sea is rather fragmentary (e.g. Vidakovic, 1988; Vrizer 1989; Villano & Warwick, 1995; Sandulli *et al.*, 2002; De Leonardis *et al.*, 2008). The aim of the present study were to investigate and to gather further information on the characteristics of meiofauna and nematode communities of the Lagoon of Venice. In particular, this study evaluates any similarities/dissimilarities among five selected areas within the lagoon, using the proximity of the urban and industrial area of Venice as discriminating factor in the multivariate analyses.

Materials and methods – Meiofaunal sediment samples were collected from five areas in the Lagoon of Venice (19 sites), during Summer 2004. Samples were fixed in 5% neutral formaldehyde seawater solution. Meiofauna was extracted from muddy sediment by centrifugation with LUDOX AM solution. After sorting and counting of meiofauna, a total of 1873 nematodes were identified to the genus level, 934 of these to the species level. The MDS on relative nematode genera abundances was applied to spatial grouping, and significance of differences among the five areas were tested using ANOSIM. The contribution of individual genera (90% cumulative contribution) to the dissimilarity was determined using the SIMPER test (Clarke & Warwick, 1994; Clarke & Gorley, 2006).

Results – All examined samples were composed of silty mud sediment. Densities and diversities of meiofauna showed generally low values. The lowest meiofauna abundance recorded was 91 ind.·10 cm⁻² from area III, and the highest was 3608 ind.·10 cm⁻² from area I. The taxa diversity (H') and evenness (J) ranged between 0.2 (area III) and 1.9 (area I), and between 0.2 (area II) and 1 (area III), respectively. Nematodes were by far the dominant taxon in all samples (34-96%), followed by Copepoda including nauplii (3-64%). The remaining taxa recorded include Annelida, Ostracoda, Kinorhyncha, Turbellaria, Amphipoda, Isopoda, Cumacea, Cladocera, Acarina and Rotifera, which were present in very low percentages. A total of 33 genera of nematodes were identified in all samples: 21 in area I, 17 in area II, 18 in area III, 15 in area IV, and 15 in area V. The dominant family were Desmodoridae (45%) and Linhomoeidae (42%) in area I; Comesomatidae (44%) and Linhomoeidae (22%) in area II; Xyalidae (22%) and Comesomatidae (19%) in area III; Comesomatidae (40%) and Xyalidae (36%) in area IV; and Linhomoeidae (43%) and Oncholaimidae (38%) in area V. The dominant nematode genera present in all five areas were *Terschellingia* (11-41%, 1A),

Sabatieria (1-34%, 1B), *Metachromadora* (0-45%, 2B), *Daptonema* (0-32%, 1B), and *Metoncholaimus* (0-24%, 2B). A total of 934 nematodes were identified to the species level: 140 *Terschellingia longicaudata* De Man, 1907; 13 *Terschellingia* sp. A; 174 *Terschellingia* sp. B; 76 *Paracomesoma dubium* Filipjev, 1918; 277 *Metachromadora pulvinata* Wieser & Hopper, 1967; 107 *Metachromadora remanei* Gerlach, 1951; 124 *Metoncholaimus albidus* Bastian, 1865; 1 *Preacanthonchus micoletzkyi* Schuurmans Stekhoven, 1950; 11 *Marylynnia preclara*, Hopper 1972; 11 *Mesacanthion diplochma* Southern, 1914. The multivariate analyses were performed to assess the variability of nematode community in the different areas. The MDS plot (stress: 0.13) revealed differences in nematode genus abundance that might be attributable to the proximity to the city of Venice. Results of the one-way ANOSIM procedure for area group confirmed that there was a significant difference in nematode community among the five areas (Global R=0.614; P=0.001). The R values of pairwise comparison showed in particular that the only differences were detected between area I and II (R=0.706; P=0.005) and between area I and III (R=0.955; P=0.002); the remaining groups (area I-IV, I-V, II-III, II-IV, II-V, III-IV, III-V and IV-V) were similar (P>0.005). SIMPER analysis showed that the average dissimilarity of the area I-area II group and of the area I-area III group was due to 17 genera (90% cumulative contribution), among which were *Sabatieria*, *Metachromadora*, *Paracomesoma*, *Daptonema* and *Terschellingia*.

Conclusions - Meiofauna and Nematofauna abundances and diversities recorded in the Lagoon of Venice are within the range of other muddy sediment areas. The lowest abundances and diversity indices recorded in the areas II and III are possibly due to the particularly stressed conditions in the proximity of the urban and industrial area of Venice. The area I shows the highest taxa diversity and the highest number of nematode genera than the remaining areas, that could be due to better environmental conditions.

References

- CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - Changes in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. *Natural Environment Research Council UK*: 144 pp.
- CLARKE K.R., GORLEY R.N. (2006) - Primer v.6: User Manual Tutorial. Primer-E Ltd, Plymouth.
- DE LEONARDIS C., SANDULLI R., VANAVERBEKE J., VINCX M., DE ZIO S. (2008) - Meiofauna and nematofauna diversity in some Mediterranean subtidal areas of the Adriatic and Ionian Sea. *Sc. Mar.*, **72** (1): 5-13.
- SANDULLI R., DE ZIO GRIMALDI S., GALLO D'ADDABBO M., CALÒ L., BRESSAN E. (2002) - Aspetti della Biodiversità della Meiofauna lungo il litorale pugliese. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 484-493.
- VIDAKOVIC J. (1988) - Meio and Nematofauna from Rasa bay (North Adriatic, Yugoslavia). *Vie Milieu*, **38**: 213-220.
- VILLANO N., WARWICK R.M. (1995) - Meiobenthic Communities Associated with the Seasonal Cycle of Growth and Decay of *Ulva rigida* Agardh in the Palude Della Rosa, Lagoon of Venice. *Est. Coast Shelf Sci.*, **41**: 181-194.
- VRISER B. (1989) - Meiofauna of the southern part of the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). I. Community structure and abundance. *Biol. Vestn.*, **37**: 65-76.

A. DI PASCOLI, M. TONIOLO, G. BRESSAN

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Trieste,
Via L. Giorgieri, 10 – 34127 Trieste, Italia.
a.dipascoli@libero.it

MODELLIZZAZIONE TRIDIMENSIONALE COME STRUMENTO PER L'ANALISI DEL RICOPRIMENTO DI CORALLINALES

3D MODELLING AS TOOL TO ESTIMATE SURFACE AREA OF INCRUSTANT CORALLINALES

Abstract - This study presents an original method for the determination of the area of incrustant algae belong to Corallinales. The 3D modelling allowed to estimate the real contribution of calcareous algae cover. The method is relatively quick and convenient.

Key-words: modelling, area, photography, Corallinales.

Introduzione - La fotografia subacquea è stata usata con successo per quantificare il macrobenthos di substrato duro in maniera non distruttiva (Holme e McIntyre, 1984) e direttamente *in situ* (Di Pascoli *et al.*, 2006), ma il limite delle immagini bidimensionali ha condotto ad una sottostima nel caso in cui il soggetto da analizzare abbia una complessa forma nelle tre dimensioni (Chancerelle, 2000; Soriano *et al.*, 2001; Ninio *et al.*, 2003). Nel corso dello studio dei popolamenti macrofitobentonici presenti sulle strutture artificiali sommerse poste sul Dosso di Santa Croce (Golfo di Trieste, Alto Adriatico), è stata messa a punto un'analisi tridimensionale dell'area mirata alla valutazione rapida del ricoprimento da parte di Corallinales incrostanti delle superfici esterne delle valve dei mitili, diffusamente presenti nel sito.

Materiali e metodi - Il programma per la modellizzazione tridimensionale ha richiesto la creazione di un supporto costruito artigianalmente per effettuare le fotografie.

L'attrezzatura utilizzata era composta da: una macchina fotografica digitale Nikon Coolpix 4200 e una struttura circolare in pvc, con sostegno in acciaio inox per l'alloggiamento della macchina. La base è stata costruita in modo tale che possa ruotare e il soggetto da fotografare possa essere ripreso da diverse angolazioni, indispensabili per ottenere le immagini utili alla modellizzazione tridimensionale. Le superfici studiate erano rappresentate da valve di *Mytilus galloprovincialis*, raccolte a 10 m di profondità. Per ogni conchiglia è stato necessario eseguire 8 fotografie da diverse angolazioni per la creazione, con il programma i Modeller 3D Professional, del modello tridimensionale. Il calcolo della superficie è stato eseguito con il programma C.A.D. Rhinoceros.

Risultati - Sono state prese in considerazione 11 aree di 30×30 cm² (area minima quantitativa) per valutare la quantità di cozze presenti in particolare sui F.A.D. immersi sul Dosso di Santa Croce. Le conchiglie mostravano un'ampia colonizzazione da parte di alghe calcaree incrostanti, presenti in particolare sulla valva rivolta verso la luce. La presenza media di molluschi per area considerata era risultata pari a 84,0 (±45,4) individui. La presenza media per m² è stata stimata sulle 933 unità.

Circa una quarantina di esemplari di *Mytilus galloprovincialis* sono stati raccolti lungo tutta la superficie della rete flottante, portati in superficie e trenta valve sono state fotografate e analizzate. Per ogni campione è stato creato un modello tridimensionale, rapportato alle dimensioni reali, precedentemente rilevate con un calibro elettronico digitale, quindi è stata calcolata l'area dell'intera superficie e l'area dell'alga

incrostante. La superficie media per valva era risultata pari a 2416,71 ($\pm 511,45$) mm², il ricoprimento medio da parte delle Corallinales era 1257,50 ($\pm 455,11$) mm².

Considerando che la presenza di cozze per metro quadro era stata stimata in 933 unità, la superficie disponibile offerta dalle conchiglie era risultata pari a 2,25 m² $\pm 0,47$. Poichè il 52,03% di questa superficie era occupata da Corallinales incrostanti si era potuto stimare che la presenza di queste alghe per metro quadro era pari a 1,17 m² $\pm 0,42$.

Conclusioni - Le alghe rosse calcaree risultano essere spesso una componente vegetale dominante nel ricoprimento di strutture artificiali sommerse in mare. L'impiego di una metodologia non distruttiva ha permesso di stimare il ricoprimento tridimensionale in termini di effettiva presenza-assenza abbondanza-dominanza, confermando la diffusione di queste alghe, come era stato inizialmente osservato durante le prime immersioni subacquee. L'analisi del ricoprimento ha convalidato l'importanza delle Corallinales come specie colonizzatrici, in grado di adattarsi ad un'ampia varietà di substrati.

Bibliografia

- CHANCERELLE Y. (2000) - Méthodes d'estimation des surfaces développées de coraux scléractiniaux à l'échelle d'une colonie ou d'un peuplement. *Oceanologica Acta*, **23** (2): 211-219.
- DI PASCOLI A., SUSTERSIC A., POLONIATO D., BABBINI L., BRESSAN G. (2006) - Tecniche di biomonitoraggio: metodo di valutazione rapida del ricoprimento macrofitobentonico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 174-175.
- HOLME N.A., MCINTYRE A.D. (1984) - *Methods for the study of marine benthos*. IBP Handbook n. 16. 2nd Ed. Oxford, Blackwell: 387 pp.
- NINIO R., DELEAN S., OSBORNE K., SWEATMAN H. (2003) - Estimating cover of benthic organism from underwater video images: variability associated with multiple observers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **265**: 107-116.
- SORIANO M., MARCOS S., SALOMA C. (2001) - Image Classification of Coral Reef Components from Underwater Color Video. *Oceans Conference Record (IEEE)*, **2**: 1008-1013.

G. FABI, S. MANOUKIAN, A. SARAPPA, A. SPAGNOLO

CNR – Istituto di Scienze Marine (ISMAR) Sede di Ancona, Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.
a.spagnolo@ismar.cnr.it

MODIFICAZIONI TEMPORALI DELLE BIOCENOSI BENTONICHE DI FONDO MOBILE LUNGO LA COSTA DEL PROMONTORIO DEL CONERO (NORD ADRIATICO)

TEMPORAL CHANGES OF THE SOFT-BOTTOM BIOCENOSIS ALONG THE COASTAL AREA OF CONERO PROMONTORY (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Abstract – The soft-bottom biocenosis along the coastal area in front of the Conero Promontory were characterized up to 12 m of depth in 2000 and 2002 to detect possible changes in the community structure. No inter-annual differences were observed at 4 m of depth. A shifting from the unstable bottom biocenosis to the well sorted fine sand one at 8 and 12 m, instead, was recorded at some sampling sites.

Key-words: soft-bottom biocenosis, temporal variations, Conero Promontory, Northern Adriatic Sea.

Introduzione – I fondali antistanti il Promontorio del Conero dal porto di Ancona alla foce del fiume Musone si presentano molto eterogenei, essendo prevalentemente rocciosi quelli più costieri e mobili quelli del largo. Sono anche presenti alcune aree (Passetto, Baia di Mezzavalle, Sirolo, da Numana alla foce del fiume Musone) in cui si ha una forte predominanza di sabbia dalla costa sino a 10-12 m di profondità, con un aumento della frazione fine alle quote maggiori. Per la caratterizzazione delle comunità bentoniche presenti in questi tratti di fondo mobile, nel 2000 è stato condotto uno studio volto ad individuare le specie dominanti e quelle maggiormente bioindicatrici (Fabi *et al.*, 2003). L'indagine è stata ripetuta dopo due anni, al fine di evidenziare eventuali modifiche nella distribuzione dei taxa e delle biocenosi (Ausili *et al.*, 2002).

Materiali e metodi – Nel 2000 e 2002 sono stati effettuati prelievi a 4, 8, 12 m di profondità (3 campioni/sito) con benna Van Veen (capacità: 13 l; apertura: 0,105 m²) lungo 4 transetti ortogonali alla costa: 600 m a Nord della foce del Musone (T1), Marcelli (T2), Baia di Mezzavalle (T7) e Passetto (T10). Presso T10 non sono stati campionati i -4 m per la presenza di affioramenti rocciosi, mentre in T7 è stata aggiunta una stazione a -2 m. Dopo il sorting, sono state calcolate densità (n. ind/0,105 m²; N) e ricchezza specifica (S) e i taxa sono stati suddivisi secondo le affinità biocenotiche. Per individuare eventuali differenze interannuali, ai dati di densità, previa trasformazione in $\sqrt{}$, è stato applicato il Multi-Dimensional Scaling (MDS), calcolando una matrice di similarità basata sul coefficiente di Bray-Curtis. Per ottenere un quadro più esauriente dell'area, ogni sito è stato anche caratterizzato granulometricamente.

Risultati - Nel 2000 sono stati censiti 72 taxa in T1, 88 in T2 e T7 e 68 in T10, mentre nel 2002 S è diminuita ovunque (T1: 66; T2: 69; T7: 45; T10: 29). Molluschi e/o policheti sono sempre risultati i gruppi più numerosi, seguiti dai crostacei e dai gruppi minori. N è invece aumentata nel 2002 lungo tutti i transetti ad eccezione di T10, in cui si è ridotta (da $86,9 \pm 32,3$ a $23,7 \pm 1,0$). Anche considerando le 3 profondità, ad esclusione di T2-4 m, T7-2 m e del transetto T10, nel 2002 si è registrato un forte aumento di N, dovuto soprattutto a taxa legati alla natura sabbiosa dei sedimenti.

Nel 2000 nei siti a 2-4 m (sabbia: $95 \pm 2\%$) è risultata dominante la biocenosi delle sabbie fini ben calibrate (SFBC), con *Chamelea gallina* e *Owenia fusiformis* tra i taxa principali. Nel 2002 (sabbia: 100%) non sono emerse particolari variazioni, tranne

in T1, dominato da *Lentidium mediterraneum* (biocenosi delle sabbie fini superficiali; SFS), praticamente assente nel 2000 ($132,3 \pm 12,1$ e $0,3 \pm 0,0$ rispettivamente).

Nei siti a -8 m i sedimenti sono risultati sempre sabbiosi (2000: $90 \pm 2\%$; 2002: $95 \pm 1\%$). In T1 la comunità, dapprima ascrivibile alla biocenosi dei fondi mobili instabili (MI) per la coesistenza di specie SFBC (es. *O. fusiformis*, *C. gallina*, *Pharus legumen*), dei fanghi terrigeni costieri (VTC; es. *Philine aperta*) e MI (*Corbula gibba*), a causa di un incremento della sabbia (da 86 a 93%), è diventata prettamente SFBC per la dominanza di specie sabulicole e di altre indicatrici di sabbie infangate (es.: *Prionospio cirrifera*, *P. caspersi*). In T2 era stata evidenziata una situazione di transizione tra SFBC e MI, mentre nel 2002 la prima biocenosi è diventata principale per la predominanza di *C. gallina*, *O. fusiformis*, *P. caspersi* e *P. cirrifera*. In T7 e T10 non sono avvenute variazioni particolari, essendo sempre più importante la SFBC.

I -12 m sono risultati caratterizzati da sabbia siltosa tranne T10 (sabbia). T1 e T2 non hanno mostrato variazioni (MI in entrambi gli anni). In T7 e T10, invece, la comunità, prettamente MI per la presenza di *C. gibba*, si è trasformata in SFBC con *O. fusiformis* e/o *C. gallina* dominanti, seppure con *C. gibba* ancora numerosa.

Le variazioni interannuali sopra descritte sono state confermate dall'MDS, che ha evidenziato una separazione tra i 2 anni e una somiglianza tra i siti alla stessa profondità.

Conclusioni - La ripetizione del monitoraggio dopo due anni ha evidenziato dei cambiamenti consistenti in una riduzione di S determinata dalla scomparsa di alcuni molluschi e crostacei. Il numero di individui sabulicoli e indicatori di sabbie infangate è invece aumentato quasi ovunque. Nei campioni prelevati a -2 e -4 m ha sempre dominato la SFBC. Solo in T1 nel 2002 ha prevalso la SFS con *L. mediterraneum*, organismo tipico di ambienti estuari (Bedulli e Ambrogi, 1982; Forni e Occhipinti Ambrogi, 2005; Spagnolo *et al.*, 2006), forse a seguito di un maggiore apporto del fiume Musone rispetto al 2000. A -8 m nei siti più a Sud si è verificata una riduzione della biocenosi MI a favore della SFBC per un aumento di sabbia, anche in questo caso attribuibile al Musone e alla corrente costiera diretta a NW, che favorisce il trasporto di materiale più fine in tale direzione. Comunque, i sedimenti a -8 m sono risultati meno grossolani di quelli presenti a -2 e -4 m e caratterizzati da specie sabulicole e da altre indicatrici di un più accentuato infangamento. Una commistione di MI e SFBC ha caratterizzato i -12 m, sebbene nel 2002 nei due siti a Nord abbia prevalso la SFBC, a causa di un aumento della componente sabbiosa, forse determinata dallo spostamento delle frazioni fini causato dalla corrente adriatica principale, diretta da NW verso SE.

Bibliografia

- AUSILI S., FABI G., PANFILI M. (2002) - Caratterizzazione bentonica e valutazione di eventuali indicatori biologici ambientali nella fascia costiera compresa tra "Esino, Conero e Musone". Rapporto del CNR-ISMAR di Ancona per la Regione Marche: 83 pp.
- BEDULLI D., AMBROGI R. (1982) - Il popolamento malacologico della fascia marina costiera antistante il delta del fiume Po. *Soc. Malacol., Ital., Lavori*: 93-102.
- FABI G., MARINI M., PALLADINO S. (eds) (2003) - L'area marina antistante il promontorio del Monte Conero. *Quaderni dell'Istituto Ricerche Pesca Marittima*, Ancona, Nuova Serie, 1: 139 pp.
- FORNI G., OCCHIPINTI AMBROGI A. (2005) - Struttura di popolazione del bivalve *Lentidium mediterraneum* e variazioni ambientali in Nord Adriatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **12** (1): 277-280.
- SPAGNOLO A., MANOUKIAN S., AUSILI S. (2006) - Distribuzione di *Lentidium mediterraneum* lungo la fascia costiera adriatica compresa tra i fiumi Esino e Musone. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 252-253.

G. FORNI, M. CIGLIANO¹, R. GUGLIELMO¹, E. ARDESI²

Dipartimento di Ecologia del Territorio, Sezione di Ecologia, Università di Pavia,
Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.
giulia.forni@unipv.it

¹Stazione Zoologica "A. Dohrn", Laboratorio di Ecologia del Benthos, Napoli, Italia.
²ARPAER, Struttura Oceanografica Daphne, Cesenatico (FC) Italia

FIRST RECORD OF *MALMGRENIELLA LILIANAE*
(POLYCHAETA POLYNOIDAE: POLYNOINAE)
ALONG THE ITALIAN COAST

PRIMA SEGNALAZIONE DI MALMGRENIELLA LILIANAE
(*POLYCHAETA POLYNOIDAE: POLYNOINAE*) NEI MARI ITALIANI

Abstract – The first record of *Malmgreniella lilianae* Pettibone, 1993 (*Polychaeta*, *Polynoidae*) along the Italian coasts (Northern Adriatic Sea) is reported. Previous record refers this species in the Mediterranean Sea (Croatian coasts) from 0.5 to 69 m depth, but the habitat was unknown. The present paper provides information on the distribution and ecology of this species. Various specimens were collected southward of the Po river delta, an area characterized by high variability of environmental factors.

Key-words: *Malmgreniella lilianae*, *Polychaeta*, *Polynoidae*, Adriatic Sea.

Introduction - Various specimens of the polychaete *Malmgreniella lilianae* Pettibone, 1993 (*Polychaeta*, *Polynoidae*) have been found for the first time along the Italian coast (Northern Adriatic Sea). This new occurrence is reported here, thus increasing the knowledge about distribution and ecology of the species.

M. lilianae was first described after being found in the southwestern Atlantic (Bay of Flamengo, Sao Paulo, Brazil) (Barnich & Fiege, 2001), whereas in the Mediterranean Sea it was first found along the Croatian coast (Rovinj) (Barnich & Fiege, 2001).

The identification of species of the genus *Malmgreniella* is rather difficult, and literature data on distribution and habitat of the 7 species present in the Mediterranean Sea are scarce (Barnich & Fiege, 2003); before now, there were only 4 known species along the Italian coast (Castelli *et al.*, 2006).

Materials and methods – Samples were collected from May 2005 to June 2007 by means of a Van Veen grab in the soft bottoms of the area southward the Po river delta (Northern Adriatic Sea). Grain size analyses were also carried out. The *M. lilianae* specimens were identified with a stereomicroscope and a compound microscope and according to the keys and description given by Barnich & Fiege (2001, 2003).

Results - In total 23 specimens of *M. lilianae* were collected during various times of the year at 3 sites: Porto Garibaldi (one station at 16 m depth), Lido di Ravenna (two stations at 16 and 24 m depth) and Lido Adriano (one station at 16 m depth) (Tab. 1).

This species is easy to distinguish from the other representatives of the genus for the absence of microtubercles on the elytra and for the presence of the long, tapering and exclusively unidentate neurochaetae (Barnich & Fiege, 2001). Our specimens correspond to the detailed description in Barnich & Fiege (2001, 2003). The sediment composition in the three study sites is essentially muddy or sandy muddy (Tab. 1).

Conclusions - According to the recent polychaete check-list (Castelli *et al.*, 2006), 22 species of *Polynoidae* had been reported along the Italian coasts, 4 of which belonged

to the genus *Malmgreniella*. This new record of the Atlantic species *Malmgreniella lilianae* adds to these figures. The Northern Adriatic area where the species was found is characterized by high variability of environmental features, being influenced by the input of the river flow; furthermore, algal blooms and hypoxic events occasionally occur, caused by the high nutrient load (De Witt & Bendoricchio, 2001). Therefore, the occurrence of *M. lilianae* in this area demonstrates that the species: (i) is mainly associated with muddy and sandy bottoms (as do other species of the genus), and (ii) is highly capable of adapting to and thriving in such an unstable environment.

Tab. 1 - Number of *M. lilianae* specimens found at each station and during each sampling period with reference to sediment composition at the stations.

Numero di individui di M. lilianae trovati in ciascuna stazione e data di campionamento con riferimento alla composizione granulometrica del sedimento nei diversi siti.

Location	Station code	Sampling date	Depth (m)	Sediment composition		Specimens of <i>M. lilianae</i>
				Sand (%)	Silt + clay (%)	
Porto Garibaldi	1004	May 05	16	21.5	78.5	1
	1004	October 05	16	79.7	20.3	2
	1004	July 06	16	39.4	60.6	6
	1004	June 07	16	18.3	69.2	5
Lido di Ravenna	7	October 05	16	2.5	97.5	1
	14	October 05	24	3.6	96.3	7
Lido Adriano	1009	June 07	16	35.3	64.7	1

Acknowledgement - The authors would like to thank Cristina Gambi and Anna Occhipinti for their critical reviews of the text.

References

- BARNICH R., FIEGE D. (2001) – The Mediterranean species of *Malmgreniella* Hartman, 1967 (Polychaeta: Polynoidea: Polynoinae), including the description of a new species. *J. Nat. Hist.*, **35**: 1119-1142.
- BARNICH R., FIEGE D. (2003) – The Aphroditoidea (Annelida: Polychaeta) of the Mediterranean Sea. *Abhandlungen Seckenberg. Naturforsch. Ges.*, **559**: 170 pp.
- CASTELLI A., BIANCHI C.N., CANTONE G., CINAR M.E., GAMBI M.C., GIANGRANDE A., IRACI SARERID., LANERA P., LICCIANO M., MUSCO L., SANFILIPPO R. (2006) – Annelida Polychaeta check-list of the Italian coasts. www.sibm.it/CHECKLIST/principalechecklistfauna.htm
- DE WITT M., BENDORICCHIO G. (2001) – Nutrient fluxes in the Po basin. *Sci. Total Environ.*, **273**: 147-161.

Some of the results presented in this paper are part of a Project financed by ENI in 2005 and entitled “Studio per la caratterizzazione della colonna d’acqua, dei sedimenti marini e delle biocenosi di fondo nella zona di mare antistante Marina di Ravenna, sede delle sealine dirette verso i terminali SAROM 1-3E4”.

A. GERGIC, A. DI PASCOLI, G. BRESSAN

Dipartimento di Biologia, Università di Trieste
Via Licio Giorgieri, 10 - 34127 Trieste, Italia.
gergic.andrea@libero.it

IL MACROFITOBENTHOS DEL PROMONTORIO
DI SALVORE (CROAZIA, NORD ADRIATICO).
STUDIO FLORISTICO E APPLICAZIONI DIDATTICHE

*MACROFITOBENTHOS OF THE COAST
NEAR SAVUDRIJA (CROATIA, NORTH ADRIATIC SEA).
FLORISTIC STUDY AND DIDACTIC APPLICATION*

Abstract – *The phytobenthic communities along the coast near Savudrija (Croatia, North Adriatic) were studied. A total of 87 taxa at specific and intraspecific level were identified: 59 Rhodophyceae, 12 Phaeophyceae, 15 Chlorophyceae, 1 Spermatophyta. The great diversity of habitats and the high number of species highlights the importance of this site like a didactic example for university's students.*

Key-words: *biodiversity, macrophytobenthos, North Adriatic Sea.*

Introduzione – L'impatto antropico cui è stato sottoposto l'ambiente marino dalla fine degli anni Sessanta, ha operato profondi effetti di deterioramento sull'intero ecosistema ed in particolare sulla vegetazione algale costiera (Johansson *et al.*, 1998; Noronha *et al.*, 2003). L'imminente ingresso della Croazia nella Comunità Europea, rappresenta per l'ambiente costiero di questa Nazione un potenziale pericolo, perché significa un probabile ulteriore aumento del turismo e degli impatti antropici ad esso connessi. Al fine di valutare lo stato attuale dell'ambiente sommerso è stato eseguito uno studio sulla comunità macrofitobentonica del piano infralitorale del promontorio di Salvore, prima località del territorio croato dopo il confine con la Slovenia. In futuro l'area di studio verrà monitorata annualmente dagli studenti dell'Università di Trieste durante la *Summer School* del corso di Fitocologia Marina, in modo da verificare eventuali alterazioni ambientali antropogeniche tramite lo sviluppo di serie storiche.

Materiali e metodi – Sono state scelte sei stazioni di campionamento, designate da S1 a S6, lungo il litorale del promontorio di Salvore, in tre aree diverse per morfologia del fondale ed idrodinamismo. I campioni, raccolti in ottobre 2006 ed in aprile 2007 ad una profondità compresa tra i 50 centimetri ed i 4 metri (medio- e infralitorale fotofilo), sono conservati nell'algoteca del Dipartimento di Biologia dell'Università di Trieste e fanno parte integrante del relativo erbario umido. Una banca dati allestita con schede di una parte delle specie determinate e con materiale iconografico originale fungerà da base per l'avvicinamento degli studenti allo studio del fitobenthos dell'area investigata.

Risultati – La determinazione dei campioni raccolti ha portato all'identificazione di 87 specie (con due esemplari determinati solo a livello di genere). Di questi campioni il 67.8% è costituito da Rhodophyceae (59 specie), il 13.8% Phaeophyceae (12 specie), il 17.2% Chlorophyceae (15 specie) e l'1.2% Spermatophyta (1 specie). Solo due specie risultano presenti in tutte le stazioni ed in entrambi i periodi (*Flabellia petiolata* (Turra) Nizamuddin e *Valonia utricularis* (Roth) C. Agardh), mentre 27 taxa sono stati trovati in un'unica occasione. L'individuazione degli elementi fitogeografici delle specie determinate ha portato ai seguenti risultati: il 33% delle specie sono Cosmo-

polite, le Atlantiche sono il 23%, le Indo-Atlantiche il 20%, le Pantropicali l'11%, le Mediterranee il 7%, le Atlanto-Pacifiche il 5% e le Circumboreo-Australi l'1%. In media sono state rilevate 31 specie per stazione, ma analizzando stagionalmente i risultati ottenuti si osserva che la media autunnale è di 27,2, mentre quella primaverile è di 34,8. Il numero minimo di taxa è stato rilevato nella stazione S1 in Ottobre (22), quello massimo nella S4 in Aprile (44). Dall'analisi statistica dei rilievi si nota come la stagionalità risulti essere il gradiente discriminante per le stazioni da S1 a S5, mentre la stazione S6, unica ad essere caratterizzata dalla presenza di una rigogliosa prateria a fanerogame, si differenzia anche nell'analisi multivariata dalle precedenti. Il presente studio ha permesso inoltre di individuare tre stazioni particolarmente interessanti sia dal punto di vista della biodiversità intesa come tipi di specie, che da quello della diversificazione di habitat. È stato perciò sviluppato un percorso didattico mirato a far conoscere ed apprezzare la biodiversità e lo stato dell'ambiente, che porta gli interessati a toccare con mano gli ecosistemi sommersi e a verificare come questi si modifichino anche in modo sostanziale al variare delle condizioni di illuminazione, profondità ed idrodinamismo. Per rendere maggiormente accessibili le informazioni raccolte è stato realizzato inoltre un percorso virtuale in CD-ROM in cui, partendo dalla pianta dell'area di studio e tramite collegamenti ipertestuali, si arriva alle schede delle specie maggiormente rappresentative raccolte in ognuna delle tre stazioni più interessanti, passando attraverso la descrizione, illustrata da fotografie, dell'ambiente subaereo e di quello subacqueo.

Conclusioni – La ricchezza floristica riscontrata è interessante, specialmente se confrontata con quella emersa da studi simili nella vicina località di Pirano (Slo) eseguiti da Rindi e Battelli (46 taxa) nel 2005 e da Orlando-Bonaca *et al.* (51 taxa) nel 2008. In generale l'ambiente esaminato si presenta discretamente intatto, nonostante in passato, come sovente ricordato dai pescatori locali (e purtroppo anche al giorno d'oggi, come verificato personalmente), sia stato interessato pesantemente dalla raccolta del dattero di mare (*Litophaga litophaga* L.), che ha modificato visivamente il paesaggio sottomarino. Attualmente inoltre la zona è oggetto di un notevole impatto antropico legato allo sviluppo turistico dell'area.

Il percorso didattico ideato risulta uno strumento di facile lettura dell'ambiente e consente agli universitari cui è rivolto di osservare l'eterogeneità del paesaggio sottomarino in maniera minuziosa ed approfondita. Questo fa del promontorio di Salvore un luogo privilegiato per avvicinare gli studenti allo studio del macrofitobenthos.

Bibliografia

- JOHANSSON G., ERIKSSON B.K., PEDERSÉN M., SNOEIJIS P. (1998) - Long term changes of macroalgal vegetation in the Skagerrak area. *Hydrobiologia*, **385**: 121-138.
- NORONHA L., LOURENCO N., LOBO-FERREIRA J.P., LLEOPART A., FEOLI E., SAWKAR K., CHACHADI A.G. (2003) – *Coastal tourism environment, and sustainable local development*. TERI, Darbari Seth Block, New Delhi: 464 pp.
- ORLANDO-BONACA M., LOVRENC L., SOTIRIS O. (2008) - Benthic macrophytes as a tool for delineating, monitoring and assessing ecological status: The case of Slovenian coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, in stampa
- RINDI F., BATTELLI C. (2005) - Spatio-temporal variability of intertidal algal assemblages of the Slovenian coast (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *Botanica Marina*, **48**: 96-105.

M. MERCURIO, M. SCISCIOLI, E. LEPORE, M. GHERARDI

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
m.mercurio@biologia.uniba.it

NOTE SULLA POPOLAZIONE DI *HYDROIDES DIANTHUS*
(VERRILL, 1873) (POLYCHAETA: SERPULIDAE)
DEL MAR PICCOLO DI TARANTO (MAR IONIO)

NOTES ON *HYDROIDES DIANTHUS*
(VERRILL, 1873) (POLYCHAETA: SERPULIDAE)
FROM MAR PICCOLO OF TARANTO (APULIA, IONIAN SEA)

Abstract - Life cycle and population dynamics of the calcareous tube-building polychaete *Hydroides dianthus* has been studied from January to December 2007 at Mar Piccolo of Taranto. This species showed a high fluctuation of density values throughout the year. The recruitment was observed in September, immediately after reproduction. The decrease in density observed in autumn seems to be due to the death of several adults after the reproductive period.

Key-words: *Hydroides dianthus*, life cycle, Ionian Sea.

Introduzione - I mari di Taranto sono caratterizzati dalla presenza di un'abbondante fauna bentonica a filtratori, con dominanza di poriferi (Longo *et al.*, 2004), molluschi bivalvi (Bedulli *et al.*, 1986), anellidi policheti (Gherardi *et al.*, 1993) e ascidie (Mastrototaro *et al.*, in stampa). Tra gli anellidi policheti piuttosto comune è *Hydroides dianthus* (Verrill, 1873), un polichete serpulideo che vive in caratteristici tubi calcarei e che risulta estremamente diffuso nei porti e nelle lagune, dove può sopportare ampie variazioni di salinità (da 25‰ a 50‰), temperatura (tra 5 °C e 30 °C) (Bianchi, 1981) e ossigeno (Sagasti *et al.*, 2003). In questa nota vengono riportati i risultati preliminari relativi ad uno studio annuale effettuato sulla popolazione di *H. dianthus* che vive nel Mar Piccolo di Taranto.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto lungo la parete verticale sommersa (50-70 cm di profondità) di un molo in cemento di alcuni km in lunghezza, situato sulla costa nord-occidentale del 1° Seno del Mar Piccolo di Taranto, caratterizzato dalla presenza di una ricca comunità macrobentonica. I prelievi (1 campione più 2 repliche) sono stati effettuati mediante grattaggio di superfici standard di 600 cm² da Gennaio a Dicembre 2007. Tutti gli esemplari di *Hydroides dianthus* sono stati contati, misurati (lunghezza del torace) ed esaminati allo stereomicroscopio per registrare la presenza di individui sessualmente maturi. La densità è stata calcolata considerando il numero di esemplari in 100 ml di volume di materiale campionato. Gli istogrammi taglia/frequenza sono stati realizzati considerando 11 classi di taglia comprese tra 0 e 5,5 mm.

Risultati - Sono stati complessivamente campionati 520 esemplari di *Hydroides dianthus* con una densità media mensile pari a $9,2 \pm 7,3/100$ ml. I valori di abbondanza hanno mostrato considerevoli variazioni durante i diversi mesi dell'anno: il picco di abbondanza è stato registrato nei mesi invernali (densità variabili tra $17,3 \pm 4,1/100$ ml a gennaio; $13,2 \pm 3,2/100$ ml a febbraio e $26,2 \pm 12,5/100$ ml a marzo) mentre i valori minimi sono stati registrati in tarda estate/autunno (settembre: $2,5 \pm 1,2/100$ ml; ottobre: $1,6 \pm 2,3/100$ ml; novembre: $2,6 \pm 1,1/100$ ml). Per quanto riguarda il ciclo riproduttivo la presenza di esemplari in riproduzione, sia maschili che femminili, è stata osservata nei mesi estivi, da giugno ad agosto; pochi esemplari femminili sono stati osservati anche

nel mese di novembre. I valori medi mensili di lunghezza del torace variano dai valori minimi registrati a settembre e dicembre ($1,8 \pm 0,68$ mm e $2,08 \pm 1,06$ mm, rispettivamente), ai valori massimi osservati a marzo e maggio ($3,02 \pm 0,68$ mm e $3,13 \pm 0,46$ mm, rispettivamente). Dall'analisi della distribuzione taglia/frequenza è stato rilevato come la struttura della popolazione, nei primi 6 mesi dell'anno, mostri un andamento unimodale piuttosto costante, con le classi di taglia centrali costantemente più rappresentate (tra 2 e 3,5 mm); tra luglio e agosto si assiste ad una riduzione del numero di esemplari nelle classi di taglia maggiori (comprese tra 3 e 4 mm). Nel mese di settembre, immediatamente dopo la fase riproduttiva, sono stati campionati alcuni esemplari di piccola taglia, compresi tra 0,5 e 1,5 mm; nei due mesi successivi questa piccola coorte si sposta nelle classi di taglia progressivamente maggiori (tra 1,5 e 2,5 mm ad ottobre e tra 2 e 3 mm a novembre).

Conclusioni – L'ampia oscillazione dei valori di densità osservata per la popolazione di *Hydroides dianthus* del Mar Piccolo di Taranto è in accordo con quanto riportato per altri anellidi policheti di ambienti acquatici di transizione, soggetti ad importanti variazioni dei parametri ambientali (Giangrande e Frascchetti, 1993; Gillet e Gorman, 2002). Per *H. dianthus*, specie che ben tollera le variazioni di salinità, temperatura e ossigeno, il decremento dei valori di densità osservato nei mesi autunnali sembra dovuto alla morte della maggior parte degli individui adulti dopo la fase riproduttiva, anche se l'influenza di altri fattori estrinseci non può essere esclusa (Gherardi *et al.*, 2005). Il rinvenimento di esemplari di piccola taglia nel mese di settembre, subito dopo la fine della fase riproduttiva, rappresenta l'unico evento di reclutamento registrato durante l'anno di osservazione, in accordo con quanto riportato in letteratura (Sagasti *et al.*, 2003).

Bibliografia

- BEDULLI D., BIANCHI C.N., ZURLINI G., MORRI C. (1986) – Caratterizzazione biocenotica e strutturale del macrobenthos delle coste pugliesi. In: *Indagine ambientale del sistema marino costiero della regione Puglia*, E.N.E.A. – C.R.E.A., Santa Teresa, La Spezia: 227-255.
- BIANCHI C.N. (1981) – Policheti sepuloidei. In: *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque lagunari e costiere italiane AQ/1/96*. 5. Consiglio Nazionale delle Ricerche – Monotipia erredi – Genova: 187 pp.
- GHERARDI M., LEPORE E., SCISCIOLI M. (1993) – Distribution of the Polychaetous Annelids in the Ionian and lower Adriatic Sea: descriptive analysis. *Oebalia*, **19**: 27-45.
- GHERARDI M., MASTRODONATO M., SION L., MUSCO L., LEPORE E., SCISCIOLI M., GIANGRANDE A. (2005) – Reproduction activity of *Exogone naidina* (Polychaeta: Exogoninae) in a population from Apulian coast (Adriatic Sea). *Mar Biol.*, **147**: 197-203.
- GIANGRANDE A., FRASCCHETTI S. (1993) – Life cycle, growth and secondary production in a brackish-water population of polychaete *Notomastus latericeus* (Capitellidae) in the Mediterranean Sea. *P.S.Z.N.I.: Mar. Ecol.*, **14** (4): 131-327.
- GILLET P., GORMAN E. (2002) – Population structure and secondary production of *Heteromastus filiformis* (Polychaeta: Capitellidae) in the Loire estuary, France. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **82**: 395-402.
- LONGO C., SCALERA LIACI L., MANUEL M., CORRIERO G. (2004) – Note sui poriferi del Mar Grande e del Mar Piccolo di Taranto (Mar Ionio). *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 440-443.
- MASTROTOTARO F., D'ONGHIA G., TURSI A. (2008 in press) - Spatial and seasonal distribution of ascidians in a semi-enclosed basin of the Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*.
- SAGASTI A., DUFFY J.E., SCHAFFNER L.C. (2003) - Estuarine epifauna recruit despite periodic hypoxia stress. *Mar. Biol.*, **142**: 111-122.

E. MOLIN, M. BOCCI, M. PICONE, G. PENNA¹, G. ZANOVELLO²

Thetis SpA – Castello, 2737/f - 30122 Venezia, Italia.
emiliano.molin@thetis.it

¹Consiglio Regionale Veneto, San Marco, 2321 - 30124 Venezia, Italia.

²Studio Altieri SpA, Via Colleoni, 52 - Thiene (VI), Italia.

ANALISI FOTOGRAFICA DEL MEGABENTHOS IN TRE AFFIORAMENTI ROCCIOSI (TEGNÙE) DEL GOLFO DI VENEZIA (NORD ADRIATICO)

PHOTOGRAPHIC ANALYSIS OF MEGABENTHOS IN THREE ROCKY OUTCROPS OF THE VENICE GULF (NORTH ADRIATIC SEA)

Abstract – In the framework of the “Progetto Integrato Fusina” a survey of a marine area in front of the Venice coast was performed. The megafauna was studied in three rocky outcrops (D’Ancona, Venezia and Chioggia) at different distance from the coast, and with a photographic method. The communities were dominated by different species of Porifera and Ascidiace, and those of the offshore stations resulted more diversified than the more coastal ones (Venezia outcrop).

Key-words: megabenthos, “tegnùe”, photographic survey, Gulf of Venice.

Introduzione – Nell’ambito del “Progetto Integrato Fusina”, Thetis ha ricevuto l’incarico dalla società di ingegneria PMSI (Porto Marghera Servizi Ingegneria) per la predisposizione ed esecuzione del piano di monitoraggio che caratterizza *ante operam* l’area marina interessata alla costruzione del futuro scarico a mare del depuratore di Fusina (Venezia). È stata prevista un’attività di monitoraggio fotografico della megafauna, così come definita da Gage and Tyler (1991), in tre aree marine caratterizzate dalla presenza di affioramenti rocciosi, tipo *tegnùe*, limitrofi all’area di progetto. Tali habitat, infatti, rappresentano aree ad elevata biodiversità nell’ambito del Nord Adriatico (Casellato & Stefanon, 2008) e potrebbero subire impatti di vario tipo dalle future opere a mare.

Materiali e metodi - Il campionamento ha previsto il rilievo fotografico in tre *tegnùe* denominate “D’Ancona”, “Venezia”, “Chioggia”, localizzate di fronte alla costa veneziana. Il rilievo fotografico è stato eseguito nella sommità degli affioramenti, lungo un transetto orizzontale nella parte più elevata dal circostante fondale sabbioso. Sono stati effettuati 22 rilievi fotografici nelle *tegnùe* Venezia e Chioggia, e 15 nella *tegnùe* D’Ancona ciascuno su un’area standard di 37×26,5 cm, lungo l’asse longitudinale di massimo sviluppo degli affioramenti. Sono stati inoltre raccolti alcuni campioni di organismi, correlati alle immagini scattate, per facilitare la determinazione tassonomica.

Risultati e conclusioni - Dall’analisi delle fotografie scattate sulle tre *tegnùe* è stato possibile documentare la presenza di 14 taxa di Porifera, 3 di Ascidiacea, 1 di Anthozoa (Tab. 1). Nelle *tegnùe* di Chioggia e Venezia, più lontane dalla costa, sono state rinvenute più specie rispetto alla *tegnùe* D’Ancona (Tab. 1).

I dati di presenza/assenza dei diversi taxa sono stati utilizzati per il calcolo della similarità di Sorensen su cui è stata eseguita la cluster analisi ed il test ANOSIM. Tale analisi ha evidenziato la presenza di differenze significative tra i campioni fotografici dei tre affioramenti ($R=0,562$, $P=0,01\%$). L’analisi dei cluster ha evidenziato come i campioni della *tegnùe* Chioggia assomiglino meno a quelli degli altri affioramenti con una similarità tra i due gruppi pari solo al 2,56%, mentre i due principali gruppi di campioni raccolti nelle *tegnùe* D’Ancona e Venezia hanno un grado di similarità del 10,7%.

Tra i poriferi *Chondrosia reniformis* è stata identificata solamente negli affioramenti D’Ancona e Venezia mentre *Clathria* sp. e *Tethya* sp., specie presenti anche

Tab. 1 - Elenco dei taxa identificati nelle tre *tegnùe*, profondità e distanza dalla costa degli affioramenti.List of taxa present in the three outcrops (*tegnùe*), depth and distance of the outcrops from the coast.

	D'Ancona	Venezia	Chioggia
Profondità affioramento	-16,1 ± 20,6	-15,5 ± 20,5	-20,6 ± 22,2
Distanza dalla costa	4,2 NM	8,85 NM	5,1 NM
Taxa			
<i>Ocnus pianci</i> (Panning, 1962)			x
<i>Aplidium conicum</i> (Olivi, 1792)		x	
<i>Polycitor adriaticus</i> (Drasche, 1883)	x	x	
Asciidiacea indet.			x
<i>Mimachlamys</i> sp. (Linnaeus, 1758)		x	x
<i>Cereus pedunculatus</i> (Pennat, 1777)			x
<i>Cerianthus membranaceus</i> (Spallanzani, 1784)		x	
<i>Chondrosia reniformis</i> Nardo, 1847	x	x	
<i>Aplysina aerophoba</i> Schmidt, 1862	x	x	
<i>Cliona viridis</i> Schmidt, 1862	x		x
<i>Hippospongia communis</i> (Lamarck, 1813)	x	x	
<i>Haliclona</i> sp. Grant, 1836)	x		
<i>Dysidea avara</i> (Schmidt, 1862)	x	x	x
<i>Ircinia variabilis</i> (Schmidt, 1862)		x	
<i>Tethya</i> sp. Lamarck, 1814			x
<i>Clatrhia</i> sp. Schmidt, 1862			x
<i>Hymeniacion pedrlevis</i> (Montagu, 1818)		x	x
<i>Crambe crambe</i> (Schmidt, 1862)			x
Porifera sp. 1	x	x	x
Porifera sp. 2			x
Porifera sp. 3		x	x

lungo i moli foranei e in laguna di Venezia, sono state rinvenute nella sola *tegnù*a di Chioggia. Sugli affioramenti D'Ancona e Venezia è stato possibile osservare una forte presenza di *Polycitor adriaticus* (Asciidiacea), mentre *Aplidium conicum* (Asciidiacea) è stato rilevato solamente nella *tegnù*a Venezia, più lontana dalla costa. Tale specie, pur essendo stata rilevata nell'ambito di altri studi negli affioramenti di Chioggia e D'Ancona (Ponti e Mastrototaro, 2006), potrebbe avere una minore abbondanza nelle zone più prossime alla costa. Secondo alcuni autori, infatti, questa specie sarebbe più vulnerabile rispetto ad altre forme coloniali e solitarie di Asciidiacei agli apporti di materiale in sospensione proveniente dalla costa (Gabriele *et al.*, 1999; Molin *et al.*, 2003).

Bibliografia

- CASELLATO S., STEFANON A. (2008) – Coralligenous habitat in the Northern Adriatic Sea: an overview. *Mar. Ecol. Evolut. Persp.*, **29** (3): 321-341.
- GABRIELE M., BELLOT A., GALLOTTI D., BRUNETTI R. (1999) – Sub-littoral hard substrate communities of the Northern Adriatic Sea. *Cah. Biol. Mar.*, **40**: 65-76.
- GAGE J.D., TYLER P.A. (1991) - *Deep sea biology: a natural history of organisms at the deep sea floor*. Cambridge University Press, Cambridge: 522 pp.
- MOLIN E., GABRIELE M., BRUNETTI R. (2003) - Further news on hard substrate communities of the Northern Adriatic Sea with data on growth and reproduction in *Polycitor adriaticus* (von Drasche, 1883). *Boll. Mus. Civ. Nat. Ve.*, **54**: 19-28.
- PONTI M., MASTROTOTARO F. (2006) - Distribuzione dei popolamenti di Ascidi sui fondali rocciosi (*Tegnùe*) al largo di Chioggia (Venezia). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 621-624.

N. NURRA, F. ORLANDO*, D. PESSANI

Laboratorio di Zoologia e Biologia Marina, Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo,
Università di Torino, Via Accademia Albertina, 13 - 10125 Torino, Italia.
nicola.nurra@unito.it.

*Società Italiana di Malacologia, Sezione Piemonte, Italia.

**GIBBERULA ORYZA (LAMARCK, 1822)
(PROSOBRANCHIA CAENOGASTROPODA):
PRIMA SEGNALAZIONE PER I MARI ITALIANI**

**GIBBERULA ORYZA (LAMARCK, 1822) (PROSOBRANCHIA
CAENOGASTROPODA): FIRST RECORD FOR THE ITALIAN SEAS**

Abstract – Among sandy organogenic sediment off Lampione Island (Pelagic Archipelago - Strait of Sicily), at 42 m of depth, two specimens belonging to *Gibberula* genus (Prosobranchia Caenogastropoda) were collected. The shell characters allow to identify them as *G. oryza*, not yet recorded in the Italian Seas.

Key-words: macrobenthos, Marginellidae, Strait of Sicily, Mediterranean Sea.

Introduzione - Il Genere *Gibberula* (Swainson, 1840), Famiglia Marginellidae è rappresentato nel Mar Mediterraneo da 10 specie (Gofas, 1990; Giannuzzi-Sabelli *et al.*, 2003). La maggior parte di esse ha spiccata affinità atlantica: la presenza, limitata all'area occidentale del bacino (Mare di Alboran), lo conferma. Nelle acque italiane, fino ad oggi, è stata segnalata la presenza di 5 specie (Oliverio, 2005) delle quali solo *Gibberula philippii* (Monterosato, 1878) e *G. miliaria* (Linnaeus, 1758) sono presenti in tutti i settori biogeografici dei mari italiani (Fig. 1).

Distribuzione più limitata (Fig. 1) hanno invece *G. caelata* (Monterosato, 1877), *G.*

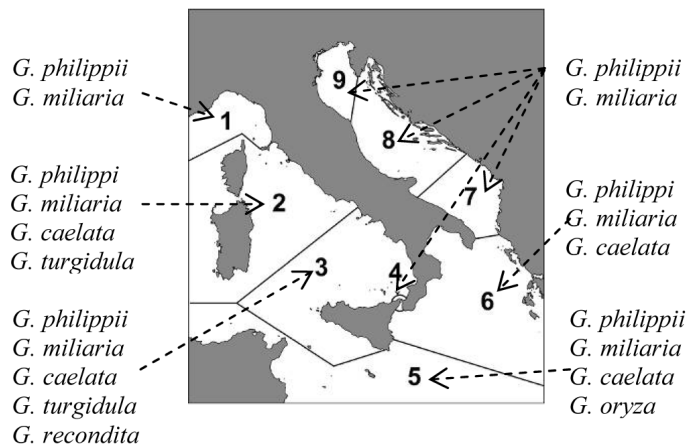


Fig. 1 - Distribuzione del genus *Gibberula* nei settori biogeografici dei Mari italiani.

Distribution of Gibberula genus in biogeographical areas of the Italian seas.

turgidula (Locard e Caziot, 1900) e *G. recondita* (Monterosato, 1884), mentre *G. oryza* (Lamarck, 1822; attribuita dall'Autore al genere: *Volvaria*) non è mai stata segnalata.

Materiali e metodi - L'isolotto di Lampione (35°37'30"N, 12°18'57"E) fa parte, con le Isole di Lampedusa e Linosa, dell'Area Marina Protetta "Isole Pelagie" (settore biogeografico 5). L'isolotto, lungo 700 m e largo 180 m, è caratterizzato nel versante occidentale da falesia calcarea e in quello meridionale da un versante degradante a mare. L'immersione è stata effettuata nell'ottobre 2003 nel settore nord-orientale ove è presente l'unica insenatura naturale dell'isola. Due campioni di sedimento (500 g ciascuno) sono stati prelevati, in immersione subacquea, a -42 m, alla base di una parete rocciosa calcarea subverticale su un fondale caratterizzato da sedimento organogeno grossolano. Gli esemplari di Gasteropodi e Bivalvi presenti nei campioni sono stati sottoposti a lavaggio in soluzione blandamente acida, trattati con olio di paraffina, identificati a livello specifico e conservati a secco.

Risultati - Sono stati rinvenuti due esemplari del genere *Gibberula*, identificati come appartenenti alla specie *G. oryza* (Fig. 2a) dopo averne confrontato le caratteristiche con quelle del neotipo (Fig. 2b) presente nella collezione Delessert, Museo di Storia Naturale di Ginevra (MHNG). La presenza di un'unica banda spirale di colore arancio su fondo chiaro sembra indicare, come suggerito da Gofas (1990), l'appartenenza alla popolazione proveniente da Tangeri e/o Getares. Gli individui raccolti nei pressi di Ceuta infatti presentano la conchiglia uniformemente colorata (Gofas, 1990; Giannuzzi-Savelli *et al.*, 2003) e sembra quindi non costituiscano popolazioni panmitiche (Gofas, 1990). L'altezza dei due esemplari raccolti presso l'isolotto di Lampione è di 5.2 e 4.8 mm, misure che rientrano ampiamente nella media della specie (minimo 4, massimo 8 mm).

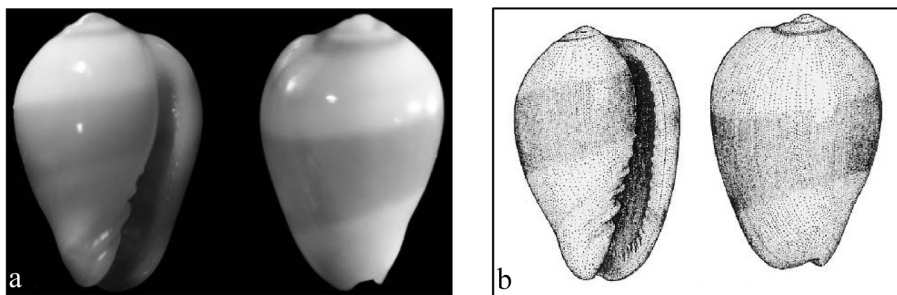


Fig. 2 - a) *Gibberula oryza*: esemplare raccolto nelle acque di Lampione, altezza: 5.2 mm; b) *G. oryza*: neotipo (coll. Delessert MHNG 989.104/1), Senegal, altezza: 6.5 mm.

a) *Gibberula oryza*: specimen collected off Lampione Island, height: 5.2 mm, b) *G. oryza*: neotype (Delessert collection MHNG 989.104/1), Senegal, height: 6.5 mm.

Conclusioni - Il presente lavoro offre un contributo alla checklist della fauna marina italiana (<http://www.sibm.it/CHECKLIST/principalechecklist.htm>), strumento indispensabile per coloro che si occupano di tassonomia e bionomia bentica.

Bibliografia

- GOFAS S. (1990) - Le genre *Gibberula* (Marginellidae) en Méditerranée. *Lavori S.I.M.*, **23**: 113-139.
 GIANNUZZI-SAVELLI R., PUSATERI F., PALMERI A., EBREO C. (2003) - *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo*. Ed. Evolver, **4**: 298 pp.
 LAMARCK J.B. DE (1822) - *Histoire Naturelle des Animaux sans vertèbre*. Paris, **1-7**.
 OLIVERIO M. (2005) - Fasc. 14 . *Gastropoda*.
<http://www.sibm.it/CHECKLIST/14%20GASTROPODA%20PROSOBRANCHIA/Gastropoda%20prosobranchia%20caenogastropoda.pdf>

D. PAGANELLI, G. FORNI

Dipartimento di Ecologia del Territorio, Sezione di Ecologia, Università di Pavia
Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.
daniele.paganelli@unipv.it

INDAGINI SUL MACROBENTHOS DI FONDO INCOERENTE A 10 KM DALLA COSTA DELL'EMILIA ROMAGNA

STUDY OF THE SOFT BOTTOM MACROBENTHOS AT 10 KM OFF THE EMILIA-ROMAGNA COAST

Abstract – *Soft bottom macrobenthos was investigated from June to October 2007 in four stations located 10 km off the Emilia-Romagna coast. Univariate and multivariate analyses show that the changes in the community structure and composition are driven by hydrographical conditions and sediment texture patterns.*

Key-words: *benthos, community composition, sediment texture, Northern Adriatic Sea.*

Introduzione – La Sezione di Ecologia dell'Università di Pavia, in collaborazione con la Struttura Oceanografica Daphne di Cesenatico, studia da diversi anni l'evoluzione del benthos di fondo incoerente in siti a differente profondità lungo le coste dell'Emilia-Romagna (Occhipinti Ambrogi *et al.*, 2005). Lo scopo del presente lavoro è quello di verificare se la struttura della comunità macrobentonica a 10 km dalla linea di costa presenti un progressivo miglioramento all'aumentare della distanza dalla foce del Po, i cui apporti dulciacquicoli causano una forte variabilità ambientale; l'esistenza di tale gradiente è stata precedentemente accertata per le stazioni a 3 km dalla costa (Forni *et al.*, 2007).

Materiali e metodi – Sono stati effettuati campionamenti stagionali di macrobenthos (Giugno, Luglio e Ottobre 2007) in quattro stazioni, disposte lungo un transetto parallelo alla linea di costa: Porto Garibaldi, Lido Adriano, Cesenatico e Cattolica. In ogni stazione sono state effettuate quattro repliche per il prelievo di materiale biologico con benna Van Veen (0,06 m²) e una quinta replica per la determinazione della percentuale di sostanza organica e della granulometria del sedimento. L'analisi statistica uni e multivariata è stata eseguita tramite il software PRIMER 5.0 (Clarke e Warwick, 1994).

Risultati - Valori medi più elevati di diversità (H') ed equiripartizione (J') e minori di dominanza (c) sono stati registrati nelle stazioni di Cesenatico ($H'=2,71$, $J'=0,62$, $c=0,29$) e Cattolica ($H'=2,69$; $J'=0,61$; $c=0,31$), rispetto a Porto Garibaldi ($H'=2,03$; $J'=0,44$; $c=0,45$) e Lido Adriano ($H'=1,93$; $J'=0,41$; $c=0,34$). In tutte le stazioni le specie dominanti sono il mollusco bivalve *Corbula gibba* e l'anfipode *Ampelisca diadema*. La percentuale più alta di *C. gibba* (64%) è stata rilevata nel mese di Luglio a Porto Garibaldi, mentre *A. diadema* raggiunge la massima abbondanza (78%) a Lido Adriano nel mese di Giugno; complessivamente si osserva una riduzione di *C. gibba* da nord verso sud. Le altre specie che caratterizzano la comunità macrobentonica con percentuali minori sono: i policheti *Lumbrineris latreilli* e *Nephtys hystricis* e i bivalvi *Nucula nitidosa* e *Scapharca demiri*. Dall'analisi MDS (stress: 0,11) sull'insieme dei dati biologici, i gruppi di campioni relativi ai quattro siti di campionamento (gruppo 1 Porto Garibaldi, 2 Lido Adriano, 3 Cesenatico, 4 Cattolica) non si separano nettamente, ad eccezione di Porto Garibaldi, ed infatti; la differenza tra i gruppi non è altamente significativa (test ANOSIM $R=0,407$; $p: 4,3\%$).

La composizione in specie dei diversi gruppi è stata analizzata attraverso il test SIMPER. In tutti i casi, un contributo percentuale maggiore del 50% è imputabile a due specie: *C. gibba* per i gruppi 1 (similarità media pari a 57,07) e 2 (similarità media pari a 48,23) e *A. diadema* per il gruppo 3 (similarità media pari a 48,37). Il gruppo 4 è sempre caratterizzato dalla specie dominante *C. gibba* (61,68%), mentre la percentuale di *A. diadema* si riduce al 4,43%. Altre specie che presentano un contributo percentuale maggiore del 1,5% sono: il bivalve *Nucula nitidosa* l'echinoderma *Amphiura chiajei* (1,6%) per il gruppo 1; il polichete *L. latreilli* (12,57%) insieme ai bivalvi *N. nitidosa* (9,31%), *Scapharca demiri* (7,99%) e al polichete *Nephtys hystrix* (2,58%) per il gruppo 2; per il gruppo 3 ancora *L. latreilli* (6,06%), mentre per le stazioni di Cattolica (gruppo 4) sono il polichete *Nephtys hystrix* (3,81%) e il bivalve *N. nitidosa* (3,53%). Relativamente alla composizione granulometrica dei sedimenti, nelle stazioni di Porto Garibaldi, Lido Adriano e Cesenatico la percentuale media di limo e argilla (33,80%) è più elevata rispetto a Cattolica (23,95%), dove invece prevale la componente sabbiosa (26,05%). La stima della percentuale di sostanza organica presente nei sedimenti secchi è più elevata nelle stazioni vicine al delta del Po (Porto Garibaldi e Lido Adriano).

Conclusioni – I principali parametri strutturali che descrivono la comunità macrobentonica migliorano nelle stazioni più a sud (Cesenatico e Cattolica). L'elevata abbondanza di *C. gibba*, specie indicatrice di instabilità sedimentaria (Aleffi, 1995), soprattutto a Porto Garibaldi, sembra indicare l'influsso degli apporti fluviali anche a questa distanza dalla costa. Ciò è confermato dalla composizione granulometrica del substrato, in media più ricco di sedimenti fini a nord e più sabbioso a Cattolica, e dalla maggiore percentuale di sostanza organica nei sedimenti di Porto Garibaldi e Lido Adriano. L'analisi multivariata conferma solo in parte la differenza esistente tra i siti: ad eccezione di Porto Garibaldi, gli altri gruppi di stazioni non si distinguono nettamente. Si può quindi affermare che il gradiente nord-sud di variazione della struttura della comunità macrobentonica e delle caratteristiche dei sedimenti, è meno evidente rispetto a quello esistente più sotto costa (Forni *et al.*, 2007), a riprova che la comunità a 10 km dalla riva e ad una maggior profondità è più stabile e meno soggetta alla variabilità ambientale tipica dell'area di studio.

Bibliografia

- ALEFFI F., BRIZZI G., DEL PIERO D., GORIUP F., LANDRI P., OREL G., VIO E. (1995) - Prime osservazioni sull'accrescimento di *Corbula gibba* (Mollusca, Bivalvia) nel golfo di Trieste (Nord Adriatico). *Biologia Marina*, Suppl. al Notiziario S.I.B.M., 1: 277-280.
- CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1994) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth: 144 pp.
- FORNI G., OCCHIPINTI AMBROGI A. (2007) - Daphne: a new multimetric benthic index for the quality assessment of marine coastal environment in the Northern Adriatic sea. *Chemistry and Ecology*, 23 (6): 427-442.
- OCCHIPINTI AMBROGI A., SAVINI D., FORNI G. (2005) - Macrobenthos community structural changes off Cesenatico coast (Emilia Romagna, Northern Adriatic), a six-year monitoring programme. *Science of the Total Environment*, 353: 317-328.

P. PANETTA, F. MASTROTOTARO, R. CARLUCCI, A. MATARRESE

Dipartimento di Zoologia, Università degli Studi di Bari, Via Orabona, 4 - 70125 Bari, Italia.
f.mastrototaro@biologia.uniba.it

TANATOCENOSI A MOLLUSCHI DEI FONDALI INCOERENTI AL LARGO DELL'AREA MARINA PROTETTA DI TORRE GUACETO (BRINDISI)

MOLLUSC THANATOCOENOSIS OFF MARINE PROTECTED AREA OF TORRE GUACETO (ADRIATIC SEA)

Abstract – The study of mollusc thanatocoenosis of the soft bottoms off Torre Guaceto allowed two typical species associations to be recognized. The first at about 60 m depth, on terrigenous muds, characterized by the gastropod *Turritella communis* and the second, at about 130 m, on muddy costal detritic bottoms characterized by bivalves *Neopycnodonte cochlear*.

Key-words: mollusc thanatocoenosis, Adriatic Sea, Torre Guaceto Marine Park.

Introduzione - Lo studio delle tanatocenosi fornisce una serie di informazioni importanti per comprendere l'evoluzione nel tempo delle comunità bentoniche (Giacobbe e Spanò, 2001). La componente a molluschi, in particolare, ben si presta a tali studi grazie alla natura carbonatica del loro guscio che ne permette la conservazione nel tempo e permette di ottenere un repertorio faunistico ben più ampio di quello fornito dallo studio delle sole specie ritrovate vive. Ciò diventa particolarmente importante quando si analizzano campioni raccolti con un mezzo campionario come la benna (Di Geronimo e Robba, 1976).

Materiali e metodi - Nell'ambito del progetto di ricerca denominato MIGORIA P (POR Puglia 2000-2006 Misura 4.13), al fine di verificare gli effetti benefici della presenza dell'Area Marina Protetta (AMP) di Torre Guaceto (Brindisi) sui fondali limnifitici, è stato effettuato un campionamento quantitativo (marzo 2004) in 12 stazioni distribuite lungo 4 transetti paralleli alla costa a 4 differenti quote batimetriche (~60 m; ~100 m; ~130 e 250-350 m). Tale campionamento ha previsto in ogni stazione 5 benenate (van Veen 0,02 m³). In tale studio è stata analizzata soltanto la componente a molluschi considerando sia le specie vive sia i resti conchigliari recenti in buono stato di conservazione. I dati di presenza/assenza delle specie, ricavati dal ritrovamento dei loro resti, sono stati analizzati mediante MDS non parametrico utilizzando come fattore discriminante la profondità di campionamento (PRIMER 5 Clark e Warwick, 2001).

Risultati - Malgrado il cospicuo sforzo di campionamento soltanto di 10 specie sono stati trovati esemplari vivi. Al contrario la tanatocenosi a molluschi è rappresentata da 26 specie di Gasteropodi, 48 di Bivalvi e due di Scafopodi (Tab. 1). Per quanto concerne le tanatocenosi l'analisi multivariata ($R=0,69$ $p=0,001$) ha evidenziato la presenza di due tipiche *facies* a molluschi. La prima presente nelle stazioni effettuate a minori profondità (57-66 m) in cui si evidenzia una tipica *facies* dei fanghi terrigeni costieri (VTC) caratterizzati dal gasteropode *Turritella communis* accompagnato da *Aporrhais pespelecani* nonché dai Bivalvi *Azorinus chamasolen*, *Nucula nucleus* e *Myrtea spinifera*. La seconda tra i 127-147 m di profondità evidenziando una *facies* dei fondi detritici costieri infangati, costituita soprattutto da gusci del Bivalve *Neopycnodonte cochlear* con i resti dei Gasteropodi *Emarginala fissura*, *Mangelia costata* e dei Bivalvi *Nuculana commutata*, *Parvicardium minimum*, *Pitar rudis* e *Pseudamussium*

clavatum. Nelle restanti fasce batimetriche esaminate non sono state riscontrate delle particolari associazioni a molluschi.

Tab. 1 - Elenco delle specie di molluschi vivi (v) e dei resti conchigliari (+) rinvenuti sui fondali incoerenti al largo di Torre Guaceto (marzo 2004).

List of the mollusc species (v: alive, +: only shells) collected off Torre Guaceto (March 2004).

Gasteropodi	v/+	Bivalvi	v/+	<i>Neopycnodonte cochlear</i>	+
<i>Alvania cimicoides</i>	+	<i>Abra alba</i>	+	<i>Nucula nucleus</i>	v
<i>Aporrhais pespelecani</i>	v	<i>Abra longicallus</i>	+	<i>Nucula sulcata</i>	v
<i>Calyptrea chinensis</i>	+	<i>Abra prismatica</i>	+	<i>Nuculana commutata</i>	v
<i>Capulus ungaricus</i>	+	<i>Acanthocardia echinata</i>	+	<i>Nuculana pella</i>	+
<i>Cylichna cylindracea</i>	+	<i>Acanthocardia paucicostata</i>	+	<i>Palliohum incomparabile</i>	+
<i>Diodora gibberula</i>	+	<i>Aequipecten opercularis</i>	+	<i>Paphia textilis</i>	+
<i>Emarginula adriatica</i>	+	<i>Anomia ephippium</i>	+	<i>Parvicardium minimum</i>	+
<i>Emarginula fissura</i>	+	<i>Arca tetragona</i>	+	<i>Phaxas adriaticus</i>	+
<i>Epitonium commune</i>	+	<i>Astarte fusca</i>	+	<i>Pitar rudis</i>	+
<i>Eulimella scillae</i>	+	<i>Azorinus chamasolen</i>	v	<i>Plagiocardium papillosum</i>	+
<i>Euspira macilenta</i>	+	<i>Cardomya costellata</i>	+	<i>Poromya granulata</i>	+
<i>Euspira pulchella</i>	+	<i>Chlamys multistriata</i>	+	<i>Pseudamussium clavatum</i>	+
<i>Fusinus sanctaeluciae</i>	+	<i>Chlamys varia</i>	+	<i>Pseudamussium septemradiatum</i>	+
<i>Mangelia costata</i>	+	<i>Corbula gibba</i>	+	<i>Pteria hirundo</i>	+
<i>Mangelia nuperrima</i>	+	<i>Cuspidaria abbreviata</i>	+	<i>Stiarca lactea</i>	+
<i>Microdrillia loprestiana</i>	+	<i>Cuspidaria cuspidata</i>	+	<i>Tellina balaustina</i>	+
<i>Mitrella minor</i>	+	<i>Dosinia lupinus</i>	+	<i>Tellina distorta</i>	+
<i>Muricopsis cristata</i>	+	<i>Gari fervensis</i>	v	<i>Tellina serrata</i>	+
<i>Nassarius lima</i>	+	<i>Glans elegans</i>	+	<i>Thyasira biplicata</i>	v
<i>Nassarius pygmaeus</i>	+	<i>Hyalopecten similis</i>	+	<i>Thyasira granulosa</i>	+
<i>Raphitoma linearis</i>	+	<i>Karnekaemia bruei</i>	+	<i>Timoclea ovata</i>	v
<i>Roxania utriculus</i>	+	<i>Laevicardium crassum</i>	+	<i>Venus casina</i>	+
<i>Trivia arctica</i>	+	<i>Limatula subauriculata</i>	+	Scaphopoda	+
<i>Trophon echinatus</i>	+	<i>Myrtea spinifera</i>	v	<i>Dentalium inaequicostatum</i>	+
<i>Trophon muricatus</i>	+	<i>Mysia undata</i>	+	<i>Entalina tetragona</i>	+
<i>Turritella communis</i>	v				

Conclusioni – Le molteplici e intense attività di pesca commerciale a strascico effettuate nell'area di studio determinano una continua instabilità dei fondali dove riescono a sopravvivere soltanto specie ad ampia valenza ecologica come *T. communis* e specie vasicole quali *Nucula sulcata*, *Thyasira biplicata* e *Timoclea ovata* (Picard, 1965), capaci di tollerare il continuo rimescolamento dei fondali e gli elevati livelli di torbidità presenti nell'area. L'analisi delle tanatocenosi evidenzia comunque la presenza di tipiche associazioni a molluschi la cui stabilità è fortemente compromessa dai continui prelievi e rimescolamento dei fondali.

Bibliografia

- CLARKE K.R., WARWICK R.M. (2001) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. 2nd Ed. PRIMER-E: Plymouth.
- DI GERONIMO I., ROBBA E. (1976) - Metodiche qualitative e quantitative per lo studio delle biocenosi e paleocomunità marine bentoniche. Rapporto di lavoro n.1. Il paleobenthos in una prospettiva paleoecologica. CNR, Gruppo Informale di Ricerca Coordinata: 36 pp.
- GIACOBBE S., SPANÒ N. (2001) – Tanatocenosi di comunità bentoniche del Medio Adriatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **8** (1): 826-828.
- PICARD J. (1965) - Recherches qualitatives sur les biocoenoses marines des substrats meubles dragables de la région marseillaise. *Rec. Trav. St. mar. Endoume*, **36** (52): 1-159.

E. PORPORATO, M.C. MANGANO, F. DE DOMENICO, S. GIACOBBE, N. SPANÒ

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina
Salita Sperone, 31 – 98166 Messina, Italia.
dedomenicof@unime.it

ADDENSAMENTI DI PENNATULACEI NELLO STRETTO DI MESSINA

THE SEA PENS FIELDS OF THE STRAIT OF MESSINA

Abstract - *Wide sea pens fields were found in different sites of the Strait of Messina. Data were collected by ROV and direct sampling also. The presence of three species was recorded, mainly on sandy and silty- muddy bottoms. The observed distribution agrees with peculiar hydrologic regime of the Strait of Messina.*

Key-words: *Strait of Messina, Pennatulidae, Pteroeididae.*

Introduzione - Nell'ambito di differenti programmi di ricerca condotti tra il 1992 ed il 2007, è stata messa in luce la presenza di estesi addensamenti di pennatulacei nell'area dello Stretto di Messina. Sebbene non siano rare segnalazioni ufficiose di tali organismi relativamente a quest'area, risultano ad oggi del tutto assenti informazioni ufficiali in letteratura sull'argomento. Pertanto si provvede, in questa sede, a segnalare la presenza delle specie *Pennatula rubra* Ellis 1761, *Pennatula phosphorea* Linnaeus 1758 e *Pteroeides spinosum* (Ellis, 1764) con alcune note in merito alla loro distribuzione. La presenza di questi organismi nello Stretto di Messina acquista ulteriore importanza alla luce della recente proposta che quest'area venga considerata un settore biogeografico a sé stante (Bianchi, 2004).

Materiali e metodi - I campi a pennatulacei oggetto di studio, sono stati osservati mediante filmati ROV in quattro diverse località (Fig. 1), durante distinti programmi di ricerca: Palmi e Mortelle (SNAM 1992-1994); Catona (Forgepam, 1999-2000); Giardini Naxos (SFOP-POR Sicilia 2000-2006- Ge.In.Fa.Co). Laddove la nitidezza dell'immagine lo ha consentito, gli esemplari osservati sono stati identificati a livello specifico. A corredo dei filmati sono state raccolte 3 pennatule a Mortelle e Palmi con benna Van Veen, 20 esemplari a Giardini Naxos mediante tremaglio, mentre a Catona, a seguito dei campionamenti diretti (benna e draga epibentonica), è stato rinvenuto un solo esemplare di *P. phosphorea*. Gli esemplari sono stati classificati considerando, come principale carattere diagnostico, la presenza di solchi longitudinali lungo gli scleriti (Riedl, 1991 e Williams, 1995).

Risultati - Un'attenta analisi delle prospezioni ROV ha permesso di evidenziare presso le località di Palmi e Mortelle la presenza di vere e proprie *facies* a *Pennatula rubra*, che in entrambe le località, occupano le zone a sedimentazione più fine, tra -30 e -80 m, generalmente addensandosi in profondità. Benché sia piuttosto difficile distinguere le due specie del genere *Pennatula* con filmati ROV, la buona qualità delle immagini e l'osservazione di campioni, raccolti contestualmente (2 presso Mortelle a 45 m ed uno presso Palmi 50 m), ci ha permesso di concludere che si trattasse unicamente di *P. rubra*. È opportuno, però, menzionare il recente (2007) ritrovamento di un esemplare di *Pteroeides spinosum* in campioni di macrobenthos provenienti da Palmi. Le osservazioni presso Catona (tra 20 e 100 metri di profondità), a causa della scarsa qualità dei filmati, non hanno permesso un'attendibile determinazione degli esemplari a livello specifico, suggerendo si tratti di *facies* a *Pennatula* spp. In questa località l'unico esemplare osservato dal vero, appartiene alla specie *P. phosphorea*. Infine,

recentemente, sono stati registrati presso Giardini Naxos estesi addensamenti di questi organismi tra i quali sembrerebbero ricorrere sia la specie *Pteroeides spinosum* che *Pennatula phosphorea* (con un intervallo di distribuzione batimetrica tra 30 e 158 m), la prima facilmente distinguibile in quanto di colore variabile dal giallo al grigio-brunastro spesso con evidenti lunghe spicole. La conferma della presenza di entrambe le specie è stata fornita dai campionamenti diretti (tremaglio a -70 m) grazie ai quali sono stati osservati dal vero 20 esemplari, rispettivamente 17 di *P. spinosum* e 3 di *P. phosphorea*. Indipendentemente dalla specie, tutti gli esemplari osservati, si ritrovano su fondi sabbioso-siltosi talvolta frammisti a componente biodetritica più grossolana, in aree caratterizzate da apporti continentali più o meno diretti.

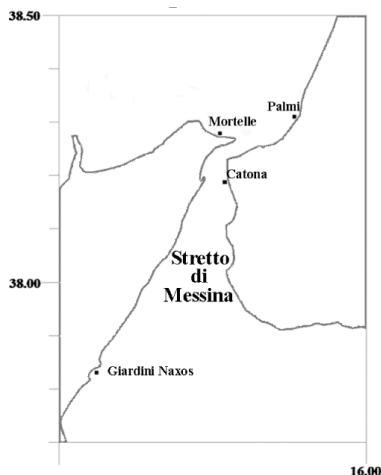


Fig. 1 - Località indagate.
Investigated sites.

Conclusioni - La segnalazione di campi a pennatulacei nello Stretto di Messina riveste particolare interesse, soprattutto se rapportata al peculiare regime idrologico-sedimentario che caratterizza tale area. Le *facies* a pennatulacei sembrano, infatti, localizzate ai margini delle zone con più intenso idrodinamismo dove è maggiore la presenza di particellato organico in sospensione. La loro presenza e ubicazione è in accordo con quanto noto sulla distribuzione di addensamenti di altri organismi sospensivori nell'area dello Stretto (Giacobbe *et al.*, 1996; Mistri *et al.*, 2000). I campionamenti effettuati contestualmente alle riprese ROV hanno evidenziato come tali *facies*, siano difficilmente individuabili con metodologie dirette, anche a motivo della loro caratteristica distribuzione aggregata.

Bibliografia

- BIANCHI (2004) – Proposta di suddivisione dei mari italiani in settori biogeografici. *Notiziario S.I.B.M.* **46**: 57-59.
- GIACOBBE S., RINELLI P., SPANÒ N. (1996) – Echinodermi e crostacei decapodi in fondi mobili litorali del versante calabro dello Stretto di Messina. *Biol. Mar. Mediterr.*, **3** (1): 72-77.
- MISTRI M., ROSSI R. (2000) - Productivity assessment of a benthic macroinvertebrate assemblage in the Southern Tyrrhenian sea. *Riv. Idrobiol.*, **39** (1/2/3): 49-56.
- RIEDL R. (1991) - *Fauna e flora del Mediterraneo. Dalle alghe ai mammiferi: una guida sistematica alle specie che vivono nel mar Mediterraneo*. Franco Muzzio Ed., Padova: 777 pp.
- WILLIAMS G.C. (1995) - Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **113**: 93-140.

Risultati - Sono stati rinvenuti 73 taxa (Cossu *et al.*, 1992) di cui 54 (74%) Rhodophyta, 10 (14%) Phaeophyta e 9 (12%) Chlorophyta. Il rapporto medio R/P (3,78) risulta essere nella media rispetto ai dati riportati in letteratura per il Mediterraneo. L'analisi fitosociologica evidenzia come le stazioni a profondità -10 m e -16 m risultino significativamente diverse tra loro. La Cluster analysis della copertura delle singole specie presenti nelle stazioni separa due gruppi in relazione alla loro profondità. Le Phaeophyta costituiscono in genere lo stato arborecente, si evidenzia come il gruppo più superficiale sia caratterizzato dalla pressochè totale copertura di *Padina pavonica*. Si rileva anche una buona presenza di *Ceramium diaphanum* e *Haliptylon virgatum*. I rilievi più superficiali mostrano come specie strutturante *Stypocaulon scoparium* con una copertura sempre superiore a 90%, a delineare il carattere fotofilo e reofilo del sito; la specie inoltre essendo arborecente favorisce lo sviluppo di specie sciafile di sottostrato come ad esempio *Peyssonnelia squamaria*.

Le associazioni caratteristiche (Giaccone *el al.*, 1994a,b) della secca sono per il piano infralitorale superiore :

- Associazione *Cystiseiretum crinitae* Sub-associazione *Halopteretosum scoparie* Boudouresque 1971 che si afferma nella parte più superficiale ad elevata instabilità sedimentaria.
- Associazione *Flabellio - peyssonnelietum squamariae* Molinier 1958, sciafila, caratteristica del piano infralitorale inferiore presente alla base della secca che include la facies a *Caulerpa racemosa*, in rapida espansione in tutto l'arcipelago.

I bassi valori di Equitabilità dei campioni superficiali ($E=0.36$) rimarcano lo scarso numero di specie e la pressochè totale copertura soltanto a carico di poche strutturanti. Più alta invece risulta quella più profonda ($E=0.54$) ad indicarne una migliore stabilità.

Negli anfratti e nelle grotte si afferma l'aggruppamento dell'infralitorale inferiore *Flabellio-Peyssonnelietum squamariae* Molinier 1958 con ingressioni circalitorali del *Lithophyllo-Halimedetum tunae* Giaccone 1965.

Conclusioni - Nel complesso la secca appare adatta per il *restocking* di *Palinurus elephas* sia per la particolare geomorfologia con presenza di anfratti, spacchi e perforazioni della roccia sia per le indicazioni evidenziate dall'analisi fitosociologica dove le specie a maggiore copertura indicano una buona reofilia in relazione ai flussi idrici e buona ossigenazione.

Bibliografia

- COSSU A., GAZALE V., BAROLI M. (1992) – La flora marina della Sardegna: inventario delle alghe bentoniche. *Giornale Botanico Italiano*, **126** (5): 651-707.
- GIACCONE G., ALONGI G., PIZZUTO F., COSSU A. (1994a) – La vegetazione marina bentonica sciafila del Mediterraneo:III Infralitorale e circalitorale. Proposte di aggiornamento. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **27** (346): 201-227.
- GIACCONE G., ALONGI G., PIZZUTO F., COSSU A. (1994b) – La vegetazione marina bentonica sciafila del Mediterraneo:II Infralitorale e circalitorale. Proposte di aggiornamento. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.*, **27** (346): 111-157.

F. SEMPRUCCI, M. MORENO*, M. FABIANO*, M. BALSAMO

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e della Natura (Dip.SUN), Università di Urbino 'Carlo Bo'
Loc. Crocicchia - 61029 Urbino, Italia.
federica.semprucci@unirb.it

*Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova, Italia.

NEMATODE MATURITY INDEX APPLIED TO DIFFERENT COASTAL AREAS OF THE MEDITERRANEAN SEA

INDICE DI MATURITÀ DEI NEMATODI APPLICATO A DIVERSE AREE COSTIERE DEL MAR MEDITERRANEO

Abstract – *Maturity Index, calculated on nematode assemblage, is an important indicator of stress in terrestrial habitat, however, its application in the marine ecosystem is limited. In order to evaluate the usefulness of this index in the marine ecosystem, 7 independent data sets of Mediterranean coastal areas, differing in their level of disturbance, were used. Results showed the Maturity Index as a valid tool in the environmental assessment at large scale identifying sites less disturbed from sites very stressed. In contrast, it did not seem very sensitive at a smaller local scale. However, a revision of the c-p list should be made considering the actual knowledge on marine nematode ecology.*

Key-words: *Maturity Index, Nematodes, Mediterranean Sea.*

Introduction - Bongers (1990) proposed the Maturity Index (MI) to assess the effects of pollution on nematode communities in freshwater and terrestrial habitats. The coloniser-persister scale, the basis for the MI, is composed of five classes, ranging from 1 (extreme colonisers or *r*-strategists, e.g. Monhysteridae having generation time of only few days) to 5 (extreme persisters or *k*-strategists, e.g. Enoplidae having a generation time of one year). Subsequently, its application was extended to the marine ecosystem and even if good results were reported, its use is rather scanty (Bongers *et al.*, 1991; Neilson *et al.*, 1996; Essink and Keidel, 1998; Mirto *et al.*, 2002). The main objective of this study was to assess the efficiency of this index comparing different typologies of habitats and disturbances.

Materials and methods – We used a combined analysis of 7 independent data sets from different coastal sites of the Mediterranean Sea, differing in the level and typology of environmental disturbance, in order to investigate the efficiency of Nematode Maturity Index. The highly disturbed sites were: AR and P (Marina degli Aregai and Portosole, IM), two tourist marinas located in the Ligurian Sea; V (Voltri, GE), a commercial harbour in the Ligurian Sea; FO and M (Foglia and Metauro, PU), two river mouths in the Central Adriatic Sea. The poorly disturbed sites were: Fli and FIo (Fiorenzuola di Focara, PU), an artificial reef inside and outside respectively, in the Central Adriatic Sea, and C (Vibo Valentia, VV) an undisturbed coastal site in the South Tyrrhenian Sea. The significant differences of the index and c-p classes among the sites were investigated performing an one-way analysis of variance (ANOVA). Paired *a posteriori* comparisons of the indices were carried out with Tukey test, using 95% confidence limits.

Results – The Maturity Index (MI) resulted significantly different among the sites (1-way ANOVA $p < 0.001$). In particular, it was possible to detect three separated site groups: C and FIo (group I), P, V, Fli (group II) and FO, M, AR (group III). The group I was represented by sites with the significant highest values of the MI, mainly if compared with the sites belonging to group III (Tukey test $p < 0.001$ for FO and M, $p < 0.01$ for AR). This observation was in agreement with the environmental condi-

tions of these areas. Sites of the group I were, in fact, the less disturbed, compared with those of group III, characterised by higher organic and heavy metal concentrations. Instead, the high disturbed sites of the group II (P and V harbours), even if characterised by high organic contents, did not show significant differences respect the poorly disturbed areas. The use of the c-p value percentages may also represent an important tool in order to highlight the ecological status of various sites. The c-p values resulted significantly different among the considered sites (1-way ANOVA c-p 2 $p < 0.01$, c-p 3 and c-p 4 $p < 0.001$). In particular, the c-p 2 group (general opportunistic nematodes) was dominant at all sites, but significantly more abundant at AR. The c-p 3 group, relatively sensitive to disturbances (i.e. *Paralongicyatholaimus* and *Terschellingia*) resulted more important at P; while the c-p 4 group, more sensitive to stress, resulted more abundant at FIo, so implying a better environmental quality of this site, followed by C, FIi and V. In particular, the relatively high presence of c-p 4 at V was due to the abundance of *Halalaimus* and *Metoncholaimus*.

Conclusions – The Maturity Index is not always able to discriminate the different stress intensities. A limit of its application is likely due to the poor knowledge about the marine nematode ecology and the regulation mechanisms of the marine communities with respect to terrestrial communities (Guerrini, 1997). In fact, Bongers *et al.* (1991) presented a provisional c-p list, which had to be validated through further data. However, it was observed that MI, if used with c-p classes, could be an important indicator in the environmental assessment especially identifying sites with a low level of disturbance (C and FIo) from others more stressed. In contrast, its use was less efficient at local scale (e.g. between sites with similar environmental conditions, such as harbours).

References

- BONGERS T. (1990) - The maturity index: an ecological measure of 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. *Marine Ecology Progress Series*, **76**: 135-142.
- ESSINK K., KEIDEL H. (1998) – Changes in estuarine nematode communities following a decrease of organic pollution. *Aquatic Ecology*, **32**: 195-202.
- GUERRINI A. (1997) – Resistenza all'anossia e processi di ricolonizzazione della meiofauna nella rizosfera di *Ruppia cirrhosa* in un sistema lagunare eutrofico. Tesi Dottorato X Ciclo, Università di Parma: 73 pp.
- MIRTO S., LA ROSA T., GAMBI C., DANOVARO R., MAZZOLA A. (2002) – Nematode community response to fish-farm impact in the western Mediterranean. *Environmental Pollution*, **116**: 203-214.
- NEILSON R., BOAG B., PALMER L.F. (1996) – The effect of environment on marine nematode assemblages as indicated by the maturity index. *Nematologica*, **42**: 232-242.

F. SEMPRUCCI, C. SBROCCA, G. BALDELLI*, P. COLANTONI, M. BALSAMO

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e della Natura (Dip.SUN), Università di Urbino 'Carlo Bo'
Loc. Crocicchia - 61029 Urbino, Italia.
maria.balsamo@uniurb.it

*Istituto di Scienze della Terra, Università di Urbino 'Carlo Bo', Italia.

MEIOFAUNA BIODIVERSITY AND ECOLOGY OF SOME MALDIVE LAGOONS

BIODIVERSITÀ ED ECOLOGIA DELLA MEIOFAUNA DI ALCUNE LAGUNE DELLE MALDIVE

Abstract – An investigation on meiobenthic diversity has been carried out in Maldive Islands since 2005. Overall, a well diversified meiobenthic community was found with a total of 21 major taxa. Nematode and gastrotrich communities appeared rich with a total of 124 and 17 genera respectively, some of which new for Maldives. The relations between meiofauna and sediment were investigated, and the use of granulometric classes resulted more informative than that of the single sediment parameters.

Key-words: *Meiobenthos, Nematoda, Gastrotricha, sediments, Maldive Islands.*

Introduction – Tropical regions are important hot spots of biodiversity: for this reason a research on the meiobenthic community has been carried out in Maldive lagoons since 2005. The study aimed to analyse the composition and biodiversity of meiofauna, in particular of nematodes and gastrotrichs, in order to widen the scanty and fragmentary current knowledge (Gerlach, 1961-1964; Sandulli *et al.*, 2006; Semprucci *et al.*, 2006), and also to evaluate the relation between meiofauna and sediment. The results of the first sampling performed in April 2005, in collaboration with Albatros Top Boat, are reported here.

Materials and methods – Samplings were carried out in a lagoon of South Malé Atoll (Maadhoo Island, T1) and in two lagoons of Felidhoo Atoll (Kudadhiggaru Falu, T2 and Fotteyo Finolhu, T3). Samples were collected by Scuba diving at different depths (0,40-5 m), in three replicates. Animals were narcotized with 7% MgCl₂ and fixed in 10% formalin. Meiofauna was extracted from the sediment by flotation and multiple decantation, in some cases by centrifugation in silica-gel gradient (Ludox HS 30, density 1.18 g/cm³). All animals were sorted per taxa and counted. About 100 nematodes and all the gastrotrich specimens found were observed under microscope for the taxonomical identification. Significant differences among the lagoons were investigated by means of one-way analysis of variance (ANOVA). When significant differences were observed ($p < 0,05$), a LSD (least significant difference) test was also performed.

Results – The total density of the meiofauna ranged between $823,43 \pm 164$ ind. 10 cm^{-2} (T1) and $3416,05 \pm 245$ ind. 10 cm^{-2} (T2). The meiofaunal community, made up of 21 major taxa, appeared highly diversified ($H' 0,77-2,62$; $J 0,20-0,71$). Copepods and nematodes were generally dominant (45% and 37%, respectively), making together the 68% of the whole community. Turbellarians, polychaetes and ostracods were well represented, while all the other taxa composed less than 3% of the total meiofauna. Nematodes counted 124 genera in 36 families, showing an overall great diversity ($H' 1,93-4,62$; $J 0,58-0,95$). Chromadoridae and Desmodoridae were the richest families (16 genera each). The most abundant taxa were the families Desmodoridae (26%), Chromadoridae (13%), Xyalidae (12%), and Draconematidae (7%), and the genera *Dracognomus*, *Microlaimus*, *Spirinia* (6% each), and *Paradesmodora* (5%). Gastrotrichs

were present with 17 genera in 6 families of both Macrotrichida and Chaetonotida. Macrotrichidae and Thaumastodermatidae appeared the dominant families. *Mesodasys*, *Macrodasys* and *Paraturbanella* were the most widespread genera, followed by *Tetranchyroderma* and *Urodasys*; records of *Crasiella* and *Diplodasys* were rare. *Macrodasys caudatus*, *Platydasys maximus*, *Paraturbanella pallida*, and *Aspidiophorus tentaculatus* are reported for the first time from Maldives. The analysis of the variance showed significant differences among the meiobenthic communities of the various transects (1-way ANOVA, $p < 0,01$). In particular, the structure of meiofaunal and nematode communities in the site T2 reflected the instability of the heterogeneous and poorly sorted sediments subject to an active hydrodynamism. Here meiofauna showed significantly low diversity and evenness (LSD test, T1 and T3 > T2, $p < 0,01$). Nematode indices of the lagoons are not significantly different, even if the Shannon index showed a lower values in T2. The use of granulometric classes rather than common sedimentological parameters seems to be more valid for the study of the relations among meiofauna-nematodes-sediment. In particular, the nematode diversity appears significantly related to 250 μm ($r_s = 0,64$; $p < 0,001$), while the evenness to 2000 μm and to 62 μm ($r_s = 0,42$ and $r_s = -0,40$; $p < 0,01$ respectively). Furthermore, it could allow to identify a particular granulometric range for each meiobenthic taxon (e.g. among nematodes the genus *Prochromadorella* is preferably present in sediments from 500 to 2000 μm in grain size and *Daptonema* around 62 μm).

Conclusions - This first study reveals a well diversified meiofauna in the Maldivian lagoons, and quite rich communities of nematodes and gastrotrichs. New faunistic records for the islands are reported. The diversity and the distribution of the meiobenthic and nematode communities appear related both to hydrodynamism and sediment typology. The use of granulometric classes appears to be more informative in analyzing the relations between meiofauna and sediment than the current use of sedimentological parameters.

References

- GERLACH S. (1961) – Über Gastrotrichen aus dem Meeressand der Malediven (Indischer Ozean). *Zool. Anz.*, **167**: 471-475.
- GERLACH S. (1962) – Freilebende Meeresnematoden von den Malediven. *Kieler Meeresforschungen*, **18**: 81-108.
- GERLACH S. (1963a) - Freilebende Meeresnematoden von den Malediven II. *Kieler Meeresforschungen*, **19**: 67-103.
- GERLACH S. (1963b) – *Robbea tenax* sp. n., ein merkwürdiger mariner Nematode von den Malediven. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, **48**: 153-158.
- GERLACH S. (1964) – Neue Cyatholaimidae (Nematoda Chromadorida) von den Malediven. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.*, **9**: 70-78.
- SANDULLI R., GALLO D'ADDABBO M., PARISI C., PENTASSUGLIA A., DE ZIO GRIMALDI S. (2006) – Biodiversity of meiobenthic communities in some Maldivian Atolls (VIII Scientific cruise, 2004). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 633-635.
- SEMPRUCCI F., GIULIANELLI R., BALDELLI G., BALSAMO M. (2006) – Osservazioni sulla nematofauna delle isole Maldive. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 650-651.

C. VASAPOLLO, M.A. IANNOTTA, B. VAN TUSSENBROEK*, M.C. GAMBI

Stazione Zoologica 'Anton Dohrn', Napoli, Italy.
claudio.vasapollo@szn.it

*Unidad Académica Puerto Morelos, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM,
Puerto Morelos, Quintana-Roo, Mexico.

FIRST DATA ON FREQUENCY AND SPATIAL DISTRIBUTION OF BORER POLYCHAETES IN *THALASSIA TESTUDINUM* SEAGRASS MEADOWS OFF THE WESTERN CARIBBEAN

PRIMI DATI SU FREQUENZA E DISTRIBUZIONE SPAZIALE DEI POLICHETI PERFORATORI NEI SISTEMI A THALASSIA TESTUDINUM DEL MAR DEI CARAIBI

Abstract – Frequency and spatial distribution of polychaete borers associated with *Thalassia testudinum*, the dominant seagrass of the Caribbean Sea, were analysed in two meadows off Puerto Morelos, Mexico and two beds off Carrie Bow Cay, Belize. In each of the studied meadow the sampling design included different spatial scales from a few meters to hundred meters. Polychaetes showed frequency values that varied significantly between and within the studied meadows (at different spatial scale), with abundances higher in Puerto Morelos. Further studies are necessary to determine whether these variations are due to local differences in physical and biological factors, between meadows, and/or are influenced by species features at metapopulation level.

Key-words: polychaetes, borers, *Thalassia testudinum*, seagrass, Caribbean Sea, Mexico, Belize.

Introduction – The Caribbean Sea is characterized by seagrass systems dominated by *Thalassia testudinum* (Creed *et al.*, 2003). A peculiar group of polychaetes, boring sinuous galleries in its dead sheath tissue at the base of the foliar shoots on the vertical rhizomes, has been recently described by Gambi *et al.* (2003). Their ecological role can be considered to be similar to that of borers observed in sheaths of *Posidonia oceanica* from the Mediterranean Sea (Guidetti *et al.*, 1997). The aim of this study is to report first quantitative data on the frequency and distribution at different spatial scales of these organisms in *T. testudinum* meadows off the Western Caribbean Sea, studied in the frame of a CONACYT (Mexico)-CNR research grant, and of the Caribbean Coral Reef Ecosystem (CCRE) program funded by the Smithsonian Institution (USA).

Materials and methods – Borer organisms were studied in four *T. testudinum* meadows (locations) off the Caribbean Mexican and Belizean coast. Two meadows were located in Puerto Morelos reef lagoon (Quintana Roo, Mexico) at ~1 km from the coastline, and between ~0.5-1 km from the fringing reef tract: Caracol and E11. The distance between the two beds to station was ~5 km. The other two meadows were located at Carrie Bow Cay (Belize; ~1000 km south of Puerto Morelos). These stations were: Carrie Bow and Twin Cays, situated ~25 km off the coast and between, ~1-5 km from near the great barrier reef. The distance between these locations was also ~5 km. In all studied meadows *T. testudinum* co-occurred with the seagrass, *Syringodium filiforme* and rhizophytic algae. The sampling depth was at 3-4 m depth and was realized according to a nested, hierarchic design at various spatial scales: a. At each location (meadow) two sub-sites (A and B) were identified ~150-180 m apart, and in each sub-site, two stations (1 and 2) were established ~20-25 m apart; in each station s. Sampling occurred in 3 randomly selected plot replicates of 90×90 cm located ~3 m apart. Within each sampling plot, 30-40 live shoots of *T. testudinum* were collected by cutting the vertical rhizome below substratum level with a long knife, thus collecting the live shoots with attached dead sheath tissues, and. The collected shoots

were analyzed in laboratory under the dissecting microscope under a dissecting microscope, for the presence of boring polychaetes in dead and live sheath tissue. Sampling was performed in January 2007 in Mexico and in October 2007 in Belize. For each sample the index of borer (% IB) was calculated as: n. of shoots hosting borers/total shoots examined $\times 100$. Differences between locations (beds), sub-sites and stations were performed with the ANOVA.

Results – Three species of borer polychaetes were reported as borers in *T. testudinum*, all belonging to the family Eunicidae, and all being new species records actually being under description. These species were: *Lysidice* sp. a, *Lysidice* sp. c and *Nematonereis* sp. (Gambi *et al.*, 2003; Carrera-Parra *et al.*, 2007). *Lysidice* sp. a is the largely dominant species in all studied beds and seems to present a strong association with *T. testudinum*. *Nematonereis* sp. is the second abundant species, while *Lysidice* sp. c was rarely only recorded. Frequency (IB) pattern was different in the four studied beds, showing higher values in both meadows off Puerto Morelos than off Carrie Bow Cay. At Caracol (Mexico), the IB varied between 60% and 35% (mean = 50.2%), and the frequency of borers differed significantly only between sub-sites (differed significantly $p < 0.05$). At the E11 bed, the IB values ranged from 48% to 14% (mean = 27.4%), being significantly lower than at the values reported for the Caracol station ($p < 0.05$). In this bed, the variability was higher at smaller spatial scale, among stations. At Twin Cays (Belize), the IB values ranged between 16.1% and 51.5% (mean = 29.4%), while at Carrie Bow they were significantly lower ($p < 0.05$), ranging between 28.5% and 3.1% (mean 17.5%). Variability among sub-sites and stations was evident in both meadows, but was larger at Carrie Bow, possibly related due to the higher patchiness present in of the this *T. testudinum* bedmeadow.

Conclusions - This preliminary study showed that frequency (IB) of borer polychaetes in *T. testudinum* varied both between and within the studied meadows. The highest differences were observed at location level (between beds a few km apart), while within each meadow, some degree of variability was observed at smaller spatial level, among sub-site (~150-180 m apart) or station (~20-25 m apart). Further studies are necessary to determine whether these variations are due to local differences between sites, such as nutrient input, hydrodynamics, degree of patchiness of the meadow, shoot density pattern, or whether they can be attributed also to processes and features of the life history of the borer polychaete species at metapopulation level.

Acknowledgement - Our thanks to the Italian CNR, the Mexican CONACYT, the Smithsonian Institution (USA), Maria Guadalupe (Lupita) Barba-Santos, Kristian Fauchald, Geoff W. Keel, Daniel Miller, Klaus Ruetzler.

References

- CARRERA-PARRA L., FAUCHALD K., GAMBI M.C. (2007) - Revision of the taxonomic status of *Lysidice* Savigny (Polychaeta, Eunicidae) in the Western Caribbean Sea with observations on reproductive features and habitat preference of different species. Smithsonian Marine Science Symposium (Abstract). www.si.edu/marinescience/symposium/speakers/fauchald_ab.htm
- CREED J.C., PHILLIPS R.C., VAN TUSSENBROEK B.I. (2003) - *The seagrasses of the Caribbean*. In: Green E.P., Short F.T. (eds), World Atlas of Seagrasses. UNEP-WCMC: 234-242.
- GAMBI M.C., VAN TUSSENBROEK B., BREARLEY A. (2003) - Mesofaunal borers in seagrasses: world-wide occurrence and a new record of boring polychaetes in the Mexican Caribbean. *Aquat. Bot.*, **76**: 65-77.
- GUIDETTI P., BUSSOTTI S., GAMBI M.C., LORENTI M. (1997) - Invertebrate borers in *Posidonia oceanica* scales: relationships between their distribution and lepidochronological parameters. *Aquat. Bot.*, **58**: 151-164.

D. ZEPELLI, R. DANOVARO

Polytechnic University of Marche, Department of Marine Sciences,
Via Breccie Bianche - 60131 Ancona, Italy.
d.zeppilli@univpm.it

MEIOBENTHIC DIVERSITY IN A SHALLOW HYDROTHERMAL VENT OF THE PACIFIC OCEAN: PRELIMINARY RESULTS

BIODIVERSITÀ E STRUTTURA DELLA COMUNITÀ MEIOBENTONICA IN AREA DI HYDROTHERMAL VENTS COSTIERI (OCEANO PACIFICO)

Abstract - In order to investigate the effects of hydrothermal activity on benthic biodiversity, we investigated meiofaunal abundance, biomass, community structure, richness of higher taxa and nematode biodiversity in relation with the potential food sources along at increasing distance from the fluid emissions of a shallow-water vent in North Sulawesi, Indonesia, Pacific Ocean.

Key-words: *meiobenthos, hydrothermal vent, extreme environments, diversity.*

Introduction - Despite their ubiquitous distribution and the biota found around them, shallow-water hydrothermal vents are poorly known compared with those found at deep-sea vents. Previously studies suggest that shallow-water hot vent communities have striking differences from their deep-sea counterparts maintain at the same time communities based on photosynthetic and chemosynthetic primary production (Tarasov *et al.*, 2005). The aim of present study, carried out in a shallow vent of Strait of Lembeh, in the Northern region of the Sulawesi Island (Indonesia), is to investigate the effects of hydrothermal activity on benthic biodiversity and ecosystem functioning, highlighting the unique features of the meiobenthic adaptations in this extreme environment.

Materials and methods - The investigated area was located in the Strait of Lembeh, in the Northern region of the Sulawesi Island (123°48'19.45"E and 1°20'22.18"N; 3 m depth; fluid temperature 90 °C, gas flux intensity 809 L min⁻¹ m⁻²). Sampling strategy was designed to investigate the influence of the vent system on the surrounding sediments, we selected station at 10, 100 and 200 cm from the vent. Three independent replicates were collected for each station. The cores for each station were sectioned into different layers (0-1, 1-3, 3-5, 5-10, 10-15 cm). All meiobenthic animals were counted and classified per taxon. Nematodes were identified to species level.

Results - Meiofaunal abundance (range from 67.9 ± 27.6 to 3220.6 ± 1179.6 ind 10 cm⁻²) increased moving from the vent to the periphery and displayed values in 200 cm station significantly higher than in the 10 cm (ANOVA, p<0.01). Also taxon richness showed the same pattern, with 8 taxa reported at 10 cm station, 11 taxa at 100 cm station and 16 taxa at 200 cm station. In all stations nematodes, copepods, polychaetes, bivalves, gastrotricha and nemertea were encountered. Ostracods and isopods were present only at 10 and 100 cm stations; turbellaria, oligochaetes, tardigrades, tanaidacea and acareae were encountered at 100 and 200 cm stations, while kinorhyncha, cumacea and amphipods were exclusively at 200 cm station. Overall, 36 nematode species were identified. The highest number of families (9) and species (23) was found in the sediments 200 cm far from vent, whereas the lowest values were observed at 10-cm distance from the vent (6 families and 11 species). Among all identified families Enchelidiidae and Ethmolaimidae were encountered only in the 200 cm station. Among the identified nematode species at 10 cm station all the species weren't exclusive, but

present also in the other stations. The species *Acanthonchus* sp. 1 e sp. 2, *Actinonema* sp. 1, *Comesoma* sp. 1, *Eurystomina ornata*, *Parachromadorita* sp. 1, *Paracyatholaimus* sp. 1, *Poligastrophora* sp. 1, *Pomponema* sp. 2, *Prochromadorella* sp. 1 and *Spiliphera* sp. 1 were exclusive of 100 cm station, whereas in the 200 cm station were encountered like exclusive species *Desmodora* sp. 1, *Doliolaimus* sp. 1, *Euchromadora* sp. 1, *Metadesmolaimus* sp. 1, *Metalinhomoleus* sp. 1, *Paradesmodora* sp. 1, *Prooncholaimus* sp. 1 and sp. 2, *Theristus* sp. 1 and *Wieseria* sp. 1 and sp. 2. The trophic structure of nematode assemblages was dominated by epistrate feeders (2A) in the sites nearest the vent (range 45-61%) while deposit feeders (1A and 1B) dominated station at 200 cm from the vent (55,1%). Predator-omnivores (2B) displayed highest contribution near the vent (42,5%). For all the calculated indexes, the analysis of variance revealed no significant differences among the three stations.

Conclusions - Despite the extreme conditions shallow hydrothermal vents support the presence of meiobenthic community. No specialized hydrothermal fauna (i.e. species known strictly from the hydrothermal vent environment and characterized by specific adaptations to this environment, e.g. symbio-trophic feeding) occur there, like in the deep-sea vent. Gasohydrothermal vents and methane seepage zones in shallow water are usually invaders from the surrounding faunas, in addition to some animals with specific adaptations. The presence of nematode *Oncholaimus campylocercoides*, was previously reported as a dominant form around the periphery of shallow-water hydrothermal vents in the Mediterranean Sea (Thiermann *et al.*, 1994, 2000; Dando *et al.*, 2000).

References

- DANDO P.R., HUGHES J.A., LEATHY Y., NIVEN S.J., SMITH C. (2000) - Hydrothermal studies in Aegean Sea” *Physics, Chemistry and Earth Sciences*, **25**: 1-8.
- TARASOV V.G., GEBRUK A.V., MIRONOV A.N., MOSKALEV L.I. (2005) - Deep-sea and shallow-water hydrothermal vent communities: Two different phenomena? *Chemical Geology*, **224**: 5-39.
- THIERMANN F., WINDOFFER R., GIÉRE O. (1994) - Selected meiofauna around shallow-water hydrothermal vents off Milos (Greece): ecological and ultrastructural aspects. *Vie Milieu*. **44**: 215-226.
- THIERMANN F., VISMANN B., GIÉRE O. (2000) - Sulphide tolerance of the marine nematode *Oncholaimus campylocercoides* – a result of internal sulphur formation? *Marine Ecology Progress Series*, **193**: 251-259.

S. AGNESI, M.L. CASSESE, G. MO, L. TUNESI

ICRAM, Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.
s.agnesi@icram.org

SITES OF COMMUNITY IMPORTANCE FOR
POSIDONIA OCEANICA: TOOLS FOR CONSERVATION IN ITALY
SITI DI IMPORTANZA COMUNITARIA PER POSIDONIA OCEANICA:
STRUMENTI DI CONSERVAZIONE IN ITALIA

Abstract - The present work quantifies *P. oceanica* occurrence within existing Italian SCIs with respect to this habitat's range throughout Italy. The results highlight a substantially different approach used by the Italian regions in protecting *P. oceanica* meadows through the Natura 2000 network.

Key-words: *Posidonia oceanica*, regional planning, conservation principles.

Introduction - The protection of biodiversity at a European Community level, finds its primary application through the implementation of the EC Directives 79/409 and 92/43 respectively known as the “Birds” and “Habitats” Directives. These two complementary Directives foresee the creation of a network of protected sites called Natura 2000 whose objective is the conservation of European threatened species and habitats. In this framework it is important that each Country create a homogenous system of Sites of Community Importance (SCIs) also in its marine environment. The Habitats Directive requires that each EU Country identify a specific list of SCIs for selected species and habitat types listed in its Annex I and II, some of which are regarded as priority. Annex I and II of the Habitats Directive list 9 marine habitats (2 of priority) and 17 marine species (6 of priority) for which SCIs can be designated in Mediterranean Member States. The *Posidonia oceanica* seagrass meadow is the principal marine priority habitat for which SCIs were proposed in the Mediterranean Countries. The objective of the present work is to quantify the extent of *P. oceanica* occurrence within existing Italian SCIs with respect to this habitat's range throughout Italy so as to compare the regional efforts, evaluate possible gaps, and identify potential areas for future marine SCIs.

Materials and methods - The Italian marine SCIs occurring within the Natura 2000 network were identified by considering the official list of SCIs approved by the EC decisions for the Italian Continental and Mediterranean biogeographic regions. The information contained in the Natura 2000 Standard Data Forms compiled for each SCI (<http://www.minambiente.it>) was screened and *P. oceanica* coverage within each site was calculated by considering each SCI's total surface area and the declared percentage of respective coverage. The overall distribution of *P. oceanica* meadows and their relative surfaces inside the SCIs of each Italian region was calculated using GIS by considering the layers of *P. oceanica* and SCIs accessible in the GIS Natura database edited by the Italian Ministry of the Environment (AA.VV., 2005). *P. oceanica* coverage is intended as the sum of all the features containing information regarding live *P. oceanica*. The regional surface values obtained from the two sources were compared.

Results - The total number of screened marine SCIs is 239 of which 159 are characterised by the presence of the habitat “Seagrass meadows *Posidonium oceanicae*”. Surface estimates obtained using the Natura 2000 Standard Data Forms resulted in unrealistic values given that, in some cases, the area of *P. oceanica* included in SCIs is

greater than the total habitat's surface area for that region. Fig. 1 therefore presents the values obtained through GIS. Some regions, such as Puglia, Liguria and Lazio have a large proportion of *P. oceanica* included in SCIs as opposed to Toscana where the inclusion of *P. oceanica* is nil. Fig. 1 does not report values for Basilicata (approximately 500 ha of *P. oceanica* in the whole region, and 176 ha in the respective regional SCIs) because such values are too low for the visual representation.

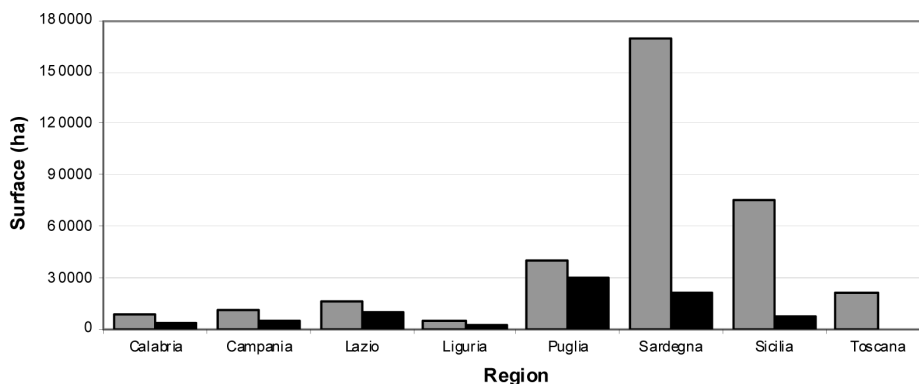


Fig. 1 - Total surface of *P. oceanica* (grey) and surface of *P. oceanica* enclosed in SCIs (black) per Italian region. The Tuscan value is only for the continental part of this region.

Superficie totale di Posidonia (grigio) e di Posidonia presente nei SIC (nero) nelle diverse regioni italiane. Il valore fornito per la Toscana è relativo alla sola parte continentale della Regione.

Conclusions – The results highlight a substantially different regional effort applied by the Italian regions in protecting *P. oceanica* meadows through the Natura 2000 network. The goal of Natura 2000 is to link natural areas across Europe so as to form an ecological coherent network capable of combating habitat fragmentation which is a known threat to species survival. The presence of priority habitats or species entails particular attention on behalf of the EC in the identification of SCIs, and also entails specific responsibilities by Member States in monitoring the conservation status of these habitats and species (Verschuren, 2004). The presently outlined results highlight the need for a national review and integration of the Italian marine SCIs, geared at harmonising their distribution so as to guarantee a consistent approach for their establishment across Italian regions.

References

- AA.VV. (2005) - *GIS Natura: il GIS delle conoscenze naturalistiche in Italia*. DVD. Politecnico di Milano – Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio, Direzione Protezione della Natura.
- VERSCHUUREN J. (2004) - Effectiveness of nature protection legislation in the European union and the United States: the Habitats directive and the Endangered Species Act. In: Dieterich M., van der Straaten J. (eds), *Cultural landscapes and land use. The nature conservation – society interface*. Kluwer Academic Publishers: 39-68.

S. CARONNI, B. CRISTO¹, A. TORELLI²

Dip.to di Ecologia del Territorio, Sezione di Ecologia, Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.
sarah.caronni@unipv.it

¹Istituto di Scienze Naturali e Biologia marina, Olbia, Italia.

²Dip. Biologia Animale, Università di Pavia, Pavia, Italia.

OSSERVAZIONI SUL REIMPIANTO DI ESEMPLARI DI *PINNA NOBILIS* (LINNEO, 1758) RITROVATI STACCATI E PRIVI DI BISSO

OBSERVATIONS ON THE TRANSPLANT OF PINNA NOBILIS (LINNEO, 1758) SPECIMENS FOUND PULLED OUT WITHOUT BYSSUS

Abstract – In the summer months of 2006 a few individuals of the endangered endemic bivalve *Pinna nobilis* (Linneus, 1758) (*Mollusca: Bivalvia*) found pulled out without their byssus in the C area of the AMP Tavolara-Punta Coda Cavallo (N-E Sardinia) were transplanted to verify if transplant, one of the methods proposed to protect this species, can be effective even if transplanted specimens have no byssus.

Key-words: rare species, marine molluscs, transplantation, byssus, biometrics.

Introduzione – Il bivalve *Pinna nobilis* (Linneo, 1758) è incluso nell'elenco delle specie a rischio di estinzione della Direttiva Habitat. Negli ultimi anni, infatti, le frequenti alterazioni antropogeniche della fascia costiera, responsabili della riduzione delle praterie di *Posidonia oceanica* (Delile, 1813) a cui la specie si trova spesso associata, la sensibilità delle sue uova e larve agli inquinanti ed il prelievo dei collezionisti ne stanno causando la progressiva scomparsa (Shahidul e Masaru, 2004). Fino ad ora il reimpianto, ritenuto un valido strumento per contrastare il declino delle popolazioni di *P. nobilis*, ha interessato soprattutto esemplari provvisti del bisso (De Gaulejac e Vicente, 1990); in questo studio, invece, il reimpianto è stato tentato su bivalvi ritrovati sradicati sul fondale privi del bisso.

Materiali e metodi – Al momento di ciascun ritrovamento è stato verificato che il bivalve fosse vivo ed integro. In base alle dimensioni dell'esemplare è stato individuato, secondo i criteri descritti da Caronni *et al.* (2007), un luogo adatto al reimpianto. Per poter monitorare le condizioni dei bivalvi nel tempo e per verificarne l'eventuale crescita sono state annotate le coordinate dei punti di reimpianto e, tramite un calibro simile a quello descritto da García-March *et al.* (2002), sono state misurate la larghezza minima e la lunghezza della parte scoperta delle valve, sia subito dopo il reimpianto, sia a distanza di un anno. I dati ottenuti sono stati inseriti nell'equazione proposta da García-March e Ferrer (1995) per ricavare la lunghezza totale delle valve, utile anche alla stima dell'età degli esemplari (Vicente, 1984; Katsanevakis, 2005).

Risultati – In differenti zone dell'area a tutela generale dell'AMP Tavolara-Punta Coda Cavallo, nei mesi estivi dell'anno 2006, sono stati ritrovati 10 esemplari di *P. nobilis* staccati dal fondale e privi del bisso. Il reimpianto, però, è stato tentato solo su 6 bivalvi poiché, al momento del ritrovamento, 2 non davano segni di vita e 2 si presentavano con parti della conchiglia ampiamente lesionate. Sono stati considerati "riusciti" solo i reimpianti degli esemplari che si presentavano vivi, ben ancorati al substrato e con le valve integre sia nei giorni successivi al reimpianto, sia l'anno seguente. Uno degli esemplari reimpiantati, con lunghezza totale delle valve pari a 11,82 cm ed età compresa tra 8 e 11 mesi, è stato, invece, ritrovato privo di vita durante i controlli compiuti la settimana successiva al reimpianto; un secondo esemplare, con valve lunghe complessivamente 23,06 cm ed età compresa tra i 20 ed i 23 mesi, è stato rinvenuto in buone condizioni fino alla fine del primo anno di ricerca ma non è stato

individuato l'anno successivo. I dati relativi ai restanti 4 esemplari su cui il reimpianto è riuscito sono riportati in Tab. 1.

Tab. 1 - Lunghezza totale delle valve (L_t), accrescimento ed età degli esemplari reimpiantati con successo.

Total shell length (L_t), growth and age of successfully transplanted specimens.

Esemplare	L_t , 2006 (cm)	L_t , 2007 (cm)	Accrescimento (cm)	Età (mesi)
1	19,14	20,31	1,17	20-23
2	17,44	18,82	1,38	20-23
3	15,60	17,03	1,43	20-23
4	15,43	15,43	0	20-23

Conclusioni – Nonostante l'esiguo numero degli esemplari reimpiantati non abbia consentito di effettuare analisi statistiche, dalla tabella si nota che il reimpianto ha avuto successo nei casi (4) in cui i bivalvi avevano, al momento dell'esperimento, valve di lunghezza totale compresa tra i 15,00 ed i 20,00 cm. Ciò fornisce indicazioni utili ad incrementare le possibilità di successo dei futuri reimpianti, confermando la buona capacità di attecchimento dei giovani di dimensioni simili (De Gaulejac e Vicente, 1990) che, come altri bivalvi (Price, 1983), sembrano riformare i filamenti del bisso. La crescita media (~1 cm) dei bivalvi reimpiantati è risultata inferiore a quella (~1,59 cm) stimata da Katsanevakis (2005) per giovani di età tra i 20 ed i 23 mesi ma ciò è da attribuirsi, presumibilmente, allo stress a cui tali bivalvi sono stati sottoposti.

Bibliografia

- CARONNI S., CRISTO B., TORELLI A. (2007) - Tentativi di reimpianto del mollusco bivalve *Pinna nobilis* (Linneo, 1758) in una AMP della Sardegna. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 98-99.
- DE GAULEJAC B., VICENTE N. (1990) - Ecologie de *Pinna nobilis* (L.) mollusque bivalve sur les côtes de Corse. Essais de transplantation et expériences en milieu contrôlé. *Haliotis*, **20**: 83-100.
- GARCÍA-MARCH J.R., FERRER J.F. (1995) – Biomètria de *Pinna nobilis* L., 1758: una revisión de la ecuación de De Gaulejac y Vicente (1990). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, **11** (2): 175-181.
- GARCÍA-MARCH J.R., GARCÍA-CARRASCOSA A.M., PEÑA A.L. (2002) – *In situ* measurement of *Pinna nobilis* shells for age and growth studies: a new device. *Marine ecology*, **23** (3): 207-217.
- KATSANEVAKIS S. (2005) – Population ecology of the endangered fan mussel *Pinna nobilis* in a marine lake. *Endangered species research*, **1**: 1-9.
- PRICE H.A. (1983) - Structure and formation of the byssus complex in *Mytilus* (Mollusca, Bivalvia). *Journal of Molluscan Studies*, **49**: 9-17.
- SHAHIDUL I., MASARU T. (2004) – Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: A review and synthesis. *Marine pollution Bulletin*, **48**: 624-649.
- VICENTE N. (1984) - Grand coquillage plein de distinction. La grande nacre de Méditerranée *Pinna nobilis*. *Revue de la fondation océanographique Ricard*, **7**: 30-34.

B. CRISTO, S. CARONNI*

NASE Underwater Research Dpt.
Via del Macello, 31 - 06180 Perugia // Via Vulcano, 44 - 07026 Olbia (OT), Italia.
bencris@aliceposta.it

*Dip.to di Ecologia del Territorio, Sez. di Ecologia, Univ. di Pavia,
Via S. Epifanio, 14 - 27100 Pavia, Italia.

OSSERVAZIONI SULLO STATO DI CONSERVAZIONE
DI *PATELLA FERRUGINEA* (GMELIN, 1791)
NELLE VICINANZE DI CAPO CERASO
(GOLFO DI OLBIA, SARDEGNA NORD-ORIENTALE)

*OBSERVATIONS ON THE CONSERVATIONAL STATUS OF THE
LIMPET PATELLA FERRUGINEA (GMELIN, 1791) NEAR
CAPO CERASO (GULF OF OLBIA, NORTH-EASTERN SARDINIA)*

Abstract – In the year 2007 a population of the endangered Mediterranean limpet *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Gastropoda) was studied on a group of rocks near Capo Ceraso (N-E Sardinia) to verify the conservational status of this threatened gastropod. The results suggest that human harvesting has an impact on the local density of the species.

Key-words: marine molluscs, rare species, biometrics.

Introduzione – Il gasteropode proterandrico endemico del Mediterraneo, *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) è l'invertebrato marino a più alto rischio d'estinzione (Laborel-Deguen e Laborel, 1991). Le principali cause del declino di questa specie, abbondante nel passato e protetta dalla Direttiva Europea 92/43/CEE, sono il deterioramento del piano mesolitorale in cui essa vive, la sua scarsa fecondità (Laborel-Deguen e Laborel, 1991) e, soprattutto, la raccolta indiscriminata per il collezionismo e l'alimentazione (Cristo *et al.*, 2007). Per verificare lo stato di conservazione di *P. ferruginea* nel Golfo di Olbia, sono state censite, nell'agosto del 2007, le sue popolazioni su due isolotti denominati "Scogli dei Magroni" (Isole di Portolucas) che, nei mesi estivi, sono assai frequentati dai turisti.

Materiali e metodi – Il piano mesolitorale degli scogli studiati è stato diviso in 4 settori di uguali dimensioni: nord (N), sud (S), est (E) ed ovest (O) e, in base all'idrodinamismo, alla conformazione delle rocce e alla presenza di *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), *Euraphia depressa* (Poli, 1795) e *Chthamalus stellatus* (Poli, 1791), che rendono poco praticabile la superficie rocciosa, ne è stato definito il grado di accessibilità (Paracuellos *et al.*, 2003). In ciascun settore i gasteropodi sono stati contati e misurati (lunghezza e larghezza) con un calibro di precisione pari a 0,1 mm. L'analisi statistica, effettuata con l'ausilio del software *MINITAB Student Release 12*, ha permesso di confrontare il numero e le dimensioni degli esemplari appartenenti a settori con diversa accessibilità (ANOVA) e di quelli appartenenti a settori poco raggiungibili aventi differente idrodinamismo (T-test).

Risultati – I settori N ed E del primo isolotto, denominato per comodità alfa (con superficie 902 m² e perimetro 147 m), ed i settori N ed O del secondo, beta (a ovest del primo, con superficie 1128 m² e perimetro 240 m), caratterizzati da idrodinamismo moderato o intenso, rocce fortemente inclinate ed elevate densità di organismi insecchiati, sono risultati i meno accessibili all'uomo; i settori S di alfa e di beta, invece, per l'idrodinamismo moderato, le rocce meno inclinate e le minori densità di organismi, sono stati considerati mediamente accessibili; infine, i settori O di alfa ed E di beta,

caratterizzati da scarso idrodinamismo, superfici rocciose quasi orizzontali e scarsamente popolate, sono risultati facilmente accessibili. Durante i due campionamenti effettuati sono stati complessivamente ritrovati 49 esemplari di *P. ferruginea*. I dati biometrici per maschi, femmine ed individui immaturi, sono riportati in Tab. 1.

Tab. 1 - Risultati dell'analisi della popolazione di *P. ferruginea*: AS: area di studio; PA: settori poco accessibili; MA: settori mediamente accessibili; FA: settori facilmente accessibili; M: maschi; F: femmine; I: immaturi; N°: numero individui; Lu_m: lunghezza media; La_m: larghezza media.

Results of the P. ferruginea population analysis: AS: study area; PA: hardly accessible sectors; MA: fairly accessible sectors; FA: easily accessible sectors; M: males; F: females; I: juveniles; N°: number of specimens; Lu_m: mean length; La_m: mean width.

	AS				PA				MA				FA			
	M	F	I	TOT	M	F	I	TOT	M	F	I	TOT	M	F	I	TOT
N°	6	35	8	49	2	23	8	33	2	7	/	9	2	5	/	7
Lu _m (mm)	34,8	55,1	20,8	47	35,5	54,8	20,8	47,9	34,5	57,7	/	54,5	34,5	52,4	/	47,1
La _m (mm)	28,1	44	12	36,8	25,5	44	12	37,6	29,5	45,6	/	43,6	29,5	41	/	37,5

L'ANOVA test ha evidenziato che esistono differenze significative nel numero di esemplari in ciascun settore ($F=6,77$; $P=0,029$) ma non nelle loro dimensioni medie ($F=0,82$; $P=0,447$); dal T-test si rilevano, inoltre, differenze significative nelle dimensioni ($T=2,25$; $P=0,018$; $df=20$) ma non nel numero ($T=0,16$; $P=0,88$; $df=2$) degli esemplari appartenenti a settori poco raggiungibili caratterizzati da diverso idrodinamismo.

Conclusioni – La presenza di individui immaturi in alcuni settori poco accessibili evidenzia che, di recente, si sono verificati eventi riproduttivi andati a buon fine solo in tali zone. Essa, inoltre, riducendo i valori dimensionali medi, spiega l'assenza di differenze significative nelle dimensioni degli esemplari complessivamente individuati e giustifica le rilevanti differenze dimensionali tra individui dei diversi settori poco accessibili. L'intenso idrodinamismo potrebbe spiegare la densità relativamente elevata di *P. ferruginea* (Paracuellos *et al.*, 2003) in alcuni di tali settori, ma il numero di individui ritrovati in questi e negli altri settori poco accessibili non è significativamente differente, al contrario di quello tra settori con diversa accessibilità. Ciò prova che la densità di *P. ferruginea* è strettamente correlata alla pressione antropica.

Bibliografia

- CRISTO B., CARONNI S., FLORIS A. - (2007) Osservazioni su *Patella ferruginea* Gmelin 1791 (Mollusca, Gastropoda) nel Golfo di Olbia. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 344-345.
- LABOREL-DEGUEN F., LABOREL J. (1991) - Status de *Patella ferruginea* Gmelin en Méditerranée. In: Boudouresque C.F., Avon M., Gravez V. (eds), *Les espèces marines à protéger en Méditerranée*, GIS Posidonie Publishers, Marseille: 91-103.
- PARACUELLOS M., NEVADO J.C., MORENO D., GIMÉNEZ A., ALESINA J.J. (2003) - Conservation status and demographic characteristics of *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 (Mollusca, Gastropoda) on the Alboran Island (Western Mediterranean). *Animal Biodiversity and Conservation*, **26** (2): 29-37.

R. FIORIN, C. CERASUOLO¹, D. CURIEL², F. RICCATO

Dip. Scienze Ambientali, Univ. Ca' Foscari Venezia, Castello, 2737/b – 30122 Venezia, Italia.
assiram@libero.it

¹Consorzio Venezia Nuova – Servizio Ingegneria, S. Marco 2803, Venezia, Italia.

²SELC Soc. Coop. Via dell'Elettricità, 3d - 30175 Marghera-Venezia, Italia.

IL POPOLAMENTO ITTICO E MACROALGALE DELLE SCOGLIERE DEL LITORALE VENEZIANO: INTERAZIONE TRA LE ALGHE BRUNE DEL GENERE *CYSTOSEIRA* E ALCUNE SPECIE DI PESCI

FISH AND MACROALGAL COMMUNITY OF THE VENETIAN LITORAL ROCKY SHORES: INTERACTION BETWEEN MACROALGAE OF THE GENUS CYSTOSEIRA AND SOME FISH SPECIES

Abstract – Fish and macroalgal community associated with artificial hard substrate in front of Pellestrina littoral (North Adriatic Sea) were studied in order to evaluate the correlation between them. 32 species of fish and 62 species of algae were observed while two species of fish (*Symphodus roissali* and *Diplodus annularis*) show high correlation with *Cystoseira* spp.

Key-words: fish community, visual census, macroalgal community, *Cystoseira*, North Adriatic sea.

Introduzione – Le scogliere artificiali del tratto di costa compreso tra il litorale di Pellestrina e la bocca di porto di Malamocco, realizzate con lo scopo di difesa idraulica, ospitano diversificate e abbondanti comunità ittiche e macroalgali (Magistrato alle Acque *et al.*, 2007). Di interesse è risultata la presenza di macroalghe del genere *Cystoseira* che in Mediterraneo svolgono il ruolo di *habitat former* negli ecosistemi del piano infralitorale fotofilo dei substrati duri (Bulleri *et al.*, 2002). Scopo del lavoro è descrivere il popolamento ittico delle scogliere artificiali e valutarne le relazioni con la componente macroalgale, in particolare del genere *Cystoseira*.

Materiali e metodi – Le indagini sono state condotte in 5 stazioni (4 scogliera Malamocco; 1 scogliera Pellestrina) caratterizzate da diversi livelli batimetrici (-1,5 m, -3 m, -5 m e -8 m), in tre stagioni tra settembre 2006 e luglio 2007. I campionamenti della fauna ittica sono stati eseguiti mediante la tecnica del visual census su un transetto di lunghezza 50 m, identificando gli esemplari a livello di specie. I campionamenti delle macroalghe sono stati eseguiti mediante asportazione (grattaggio e sorbona) in tre repliche di 30×30 cm. In laboratorio sono poi state determinate le macroalghe appartenenti alle Rhodophyta, alle Ochrophyta e alle Chlorophyta stimandone il ricoprimento e la biomassa (peso umido).

Risultati – Sono state identificate complessivamente 32 specie di pesci ascrivibili ad 11 famiglie. La famiglia maggiormente rappresentata è quella degli Sparidae (8 specie), quindi Blennidae (7), Labridae (5), Gobidae (4), Mugilidae (2); le altre famiglie (Atherinidae, Centranchantidae, Mullidae, Pomacentridae, Serranidae, Synganthidae) compaiono ognuna con un'unica specie. Il popolamento ittico delle scogliere risulta dominato, in termini di abbondanza numerica, da due specie, *Atherina boyeri* e *Diplodus annularis* che, da sole, costituiscono oltre il 70% della comunità ittica. L'analisi temporale della comunità ittica ha rivelato come esistano delle nette differenze tra la stagione autunnale e le altre (ANOSIM; Global R: 0,73; p<0,01). Le specie che più contribuiscono alla dissimilarità tra l'autunno e la primavera sono *A. boyeri* (35,8%), *Boops boops* (11,1%) e *D. annularis* (6,4%) rinvenute con maggiori abbondanze in primavera. Le specie che maggiormente contribuiscono alla dissimilarità tra autunno e

estate sono *A. boyeri* (34,7%), *D. annularis* (10%), *Diplodus vulgaris* (9%), *B. boops* (7,7%) rinvenute con maggiori abbondanze in estate.

Per le macroalghe sono state identificate 62 specie (35 Rhodophyta, 12 Ochrophyta e 15 Chlorophyta). Il ricoprimento denota una marcata dominanza delle Ochrophyta (83%) tra cui spiccano per ricoprimento specifico le alghe brune del genere *Cystoseira* (*C. compressa* e *C. barbata*) tra i 2 e i 4 metri di profondità e da *Dictyopteris polypodioides* (4-6 m) e secondariamente nei primi 2 m dalla Chlorophyta *Ulva laetevirens*. L'analisi della biomassa in peso umido conferma la dominanza delle Ochrophyta (63%) con *C. barbata*, *C. compressa* e *D. polypodioides* e in parte anche delle Rhodophyta calcaree *Lithophyllum pustulatum* e *Corallina elongata*. Le specie esclusive ed elettive sono le Rhodophyta *Antithamnion cruciatum*, *Bangia atropurpurea*, *Lithophyllum pustulatum*, *Radicilingua thysanorizans*, le Ochrophyta *D. polypodioides*, *C. compressa* e *Dictyota* spp. e le Chlorophyta *Chaetomorpha linum* e *U. laetevirens*.

Le correlazioni (Spearman) tra le coperture di macroalghe (*Cystoseira* spp.; altre specie algali; totale) e le abbondanze delle sole specie ittiche censite in tutte le 3 date sono risultate statisticamente significative in 2 casi. *Symphodus roissali* e *D. annularis* sono risultati positivamente e significativamente correlati ($p < 0,05$) con la copertura algale di *Cystoseira* spp. e la copertura algale totale ($R = 0,97$; $R = 0,90$), mentre non lo sono con la copertura delle altre specie algali.

Conclusioni – Le scogliere artificiali del litorale veneziano ospitano una comunità ittica ricca, caratterizzata da una variabilità stagionale e confrontabile con quanto riscontrato da altri autori in habitat rocciosi mediterranei (Ruitton *et al.*, 2000; Relini *et al.*, 2002). La comunità algale caratterizzata dalle specie del genere *Cystoseira* appare ben diversificata sino a 5-6 m di profondità oltre la quale si riduce soprattutto nel ricoprimento per la ridotta trasparenza delle acque che limitano la radiazione luminosa. Le correlazioni riscontrate tra le abbondanze di *Symphodus roissali*, *Diplodus annularis* e delle due alghe brune del genere *Cystoseira* rilevano come anche in un ambiente non specificatamente fotofilo come l'Alto adriatico (Disco Secchi 3-4 m), queste macroalghe riescono a svolgere nei primi metri dell'infralitorale comunque l'importante ruolo di habitat-former per i substrati duri.

Bibliografia

- BULLERI F., BENEDETTI-CECCHI L., ACUNTO S., CINELLI C., HAWKINS S.J. (2002) - The influence of canopy algae on vertical patterns of distribution of low-shore assemblages on rocky coasts in the northwest Mediterranean. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **267**: 89-106.
- MAGISTRATO ALLE ACQUE DI VENEZIA-SELCDIPARTIMENTO SCIENZE AMBIENTALI, 2007. Studio B.6.85, "Valorizzazione ambientale e innesco di processi insediativi della lunata di Malamocco. Controlli e valutazioni dei processi insediativi delle comunità di substrato duro e della comunità ittica", Rapporto finale prodotto dal concessionario, Consorzio Venezia Nuova.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., PALANDRI G. (2002) - Ten years of censuses of fish fauna on the Loano artificial reef. *ICES Journal of Marine Science*, **59**: 132-137.
- RUITTON S., FRANCOUR P., BOUDOURESQUE C.F. (2000) - Relationship between algae, benthic herbivorous invertebrates and Fishes in rocky sublittoral communities of a temperate sea (Mediterranean). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **50**: 217-230.

O. MORDENTI, M. TRENTINI¹, G. BASTONE², L. SAVOIA², D. SCARAVELLI¹

Dip. di Morfo-Fisiologia degli Animali Domestici, Univ. di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
oliviero.mordenti@unibo.it

¹Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Univ. di Bologna, Italia.

²C.d.L. Acquacoltura e Ittiopatologia, Univ. di Bologna, Italia.

CARATTERIZZAZIONI ECOLOGICHE E MORFOLOGICHE DI UNA POPOLAZIONE DI *APHANIUS FASCIATUS* (VALENCIENNE, 1821)

ECOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC IN A POPULATION OF APHANIUS FASCIATUS (VALENCIENNE, 1821)

Abstract - The population structure of *Aphanius fasciatus* in the brackish water channels in northern Italy was studied. Differences were observed in the number of individuals of each sex and size composition. The overall males to females sex ratio was 1:1.56. The reproduction is extended and lasts from April to August. An high variability of morphological parameters were detected and the possibility to farm the species for mosquito controlled is also discussed.

Key-words: *Aphanius fasciatus*, population structure, reproduction, measurements.

Introduzione – Il Nono *Aphanius fasciatus* (Valencienne, 1821) è un piccolo pesce che abita pochi ambienti residuali delle aree costiere del Mediterraneo incluso nell'Annex II della Habitat Directive per il suo alto valore conservazionistico. Si nutre principalmente invertebrati tra cui le larve di zanzara e la sua diffusione rappresenterebbe un ottimo fattore per il loro controllo (Yildirim e Karachua, 2007). Una popolazione di *A. fasciatus* delle aree costiere della provincia di Ravenna è stata indagata al fine di identificare i principali parametri ecologici influenti sullo stato dei popolamenti e sulle fasi riproduttive. Tale studio si proponeva anche l'obiettivo di costituire uno stock di adulti da mantenere e riprodurre in cattività su larga scala per un eventuale utilizzo nelle acque libere dell'area costiera per il controllo delle zanzare.

Materiali e metodi – Il reperimento degli adulti è avvenuto a cadenza mensile (marzo-ottobre 2007) in 4 stazioni distribuite lungo canali in vicinanza delle Saline di Cervia (RA) mediante retino immanicato. In tutti gli esemplari sono stati rilevati il sesso, il peso, la lunghezza totale, l'età per scalimetria ed il fattore di condizione K. Un campione di 100 soggetti è stato sottoposto a determinazione dei parametri morfologici lunghezza totale e standard, lunghezza pinne pettorali, pelviche e anale, lunghezza raggio dorsale, altezza corpo, lunghezza capo, diametro occhio, distanza interorbitale e lunghezza prepelvica. I soggetti adulti sono stati sacrificati mediante overdose di fenossietanolo e sottoposti a biopsia ovarica per la determinazione dell'IGS. È stata infine determinata la distribuzione percentuale della popolazione in relazione al peso ed alla taglia degli animali.

Risultati – La popolazione è risultata ben distribuita lungo il canale grazie alla costante presenza di agglomerati vegetazionali di ripa determinanti per la difesa dei giovani e territorio di aggregazione sessuale negli adulti. La popolazione ha presentato le prime 4 classi di età in entrambe i sessi: l'età 0+ è risultata altamente presente soprattutto nei campionamenti estivi a riprova della buona attività riproduttiva degli adulti. Peso e lunghezza totale sono risultati direttamente proporzionali all'età ed a favore delle femmine. Il fattore di condizione k è risultato pienamente favorevole rispetto al parametro peso in entrambe i sessi ed in tutte le classi di età; i maschi

tuttavia hanno presentato valori inferiori rispetto alle femmine grazie alla conformazione più slanciata. La maggiore massa registrata nei campionamenti estivi è causata dall'attività gametogenetica degli adulti in periodo riproduttivo. La popolazione ha presentato una struttura di tipo piramidale, con una netta dominanza numerica delle prime classi di taglia rispetto ai soggetti adulti. I soggetti di sesso maschile, inoltre, sono risultati maggiormente presenti nelle classi dimensionali inferiori mentre le femmine sono risultate più equamente distribuite. La *sex ratio* ha fatto registrare uno sbilanciamento a favore dei soggetti di sesso femminile (1,56:1) risultando il 61% della popolazione contro solo il 39% dei maschi in accordo con quanto osservato da Leonardos e Sinis (1999) in popolazioni di *A. fasciatus*. L'IGS ha fatto registrare un trend crescente a partire dal mese di maggio in entrambe i sessi fino a raggiungere il valore massimo nel mese di luglio ($9,46 \pm 1,88$ in femmine e $2,57 \pm 0,76$ in maschi) ed in linea con quanto osservato da Leonardos e Sinis (1998) per la Grecia. In agosto è stata registrata una brusca diminuzione del valore causato probabilmente dal prolungarsi delle alte temperature del mese (>30 °C) che hanno presumibilmente ridotto l'attività gametogenetica. Leonardos *et al.* (1996), infatti, hanno evidenziato come nel nono condizioni ambientali non idonee alla sopravvivenza delle uova e delle larve causino un arresto della maturazione degli ovociti. La morfologia presenta una notevole variabilità nelle diverse classi dimensionali come tipico della specie come osservato da Ferrito *et al.* (2007) e da Doadrio *et al.* (2002) in una popolazione di *A. iberus*. Minore variabilità si è riscontrata nelle misure della testa e delle pinne e nel rapporto tra misura della testa e lunghezza totale. La variabilità della striatura è risultata rimarchevole, più eterogenea nei maschi che sono apparsi avere un maggior numero di righe all'incrementarsi della taglia.

Conclusioni – La popolazione è risultata numericamente e strutturalmente ben rappresentata con una prevalenza di soggetti di età medio-bassa soprattutto nei campionamenti primaverili-estivi che confermano la buona attività riproduttiva della specie, aspetto ribadito anche dal buono stato di maturazione gonadica protrattasi per un periodo di circa 5 mesi. I parametri biometrici ed i favorevoli indici di condizione hanno, inoltre, evidenziato un buono stato nutrizionale della popolazione e una buona adattabilità alle variazioni dei parametri fisico-chimici delle acque tipiche di questi ambienti. Infine, la rusticità dimostrata dalla specie associata alla prolungata attività gametogenetica fanno ben sperare per un processo produttivo di tipo acquacolturale.

Bibliografia

- DOADRIO I., CARMONA J.A., FERNANDEZ-DELGADO C. (2002) - Morphometric study of the Iberian *Aphanius* (Actinopterygii, Cyprinodontiformes), with description of a new species. *Folia Zool.*, **51** (1): 67-79.
- FERRITO V., MANNINO M.C., PAPPALARDO A.M., TIGANO C. (2007) - Morphological variation among populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae) from the Mediterranean: 1-20.
- LEONARDOS I., SINIS A. (1998) – Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, **35**: 171-181.
- LEONARDOS I., SINIS A. (1999) – Population age and sex structure of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. *Fish. Research*, **40**: 227-235.
- LEONARDOS I., SINIS A., PETRIDIS D. (1996) – Influence of environmental factor on the population dynamics of *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827) (Pisces: Cyprinodontidae) in the lagoons Mesolongi and Etolikon. *Isr. J. Zool.*, **42**: 231-249.
- YILDIRIM O., KARAKUHA A. (2007) - A preliminary study on determination of *Aphanius chantréi*'s feeding behaviour on mosquito larvae. *Acta Tropica*, **102**: 172-175.

N. UNGARO, A.M. PASTORELLI, M. BLONDA, F. GIOVANARDI*

ARPA Puglia, Corso Trieste, 27 – 70126 Bari, Italia.

n.ungaro@arpa.puglia.it

*ICRAM, Via di Casalotti 300 - 00166 Roma, Italia.

LA TIPIZZAZIONE DELLE AREE MARINO-COSTIERE NELL'AMBITO DELLA DIRETTIVA 2000/60/CE: UN ESEMPIO APPLICATIVO PER LA REGIONE PUGLIA

MARINE COASTAL AREAS TYPING ACCORDING TO THE 2000/60/EC DIRECTIVE: A TRIAL FOR THE PUGLIA REGION

Abstract – *The preliminary typing of the marine coastal waters all along the Puglia Region has been carried out in compliance with the 2000/60/ EC Directive. Data from the coastal waters monitoring programmes as well as from literature were utilised in order to define the different regional marine waters types. The data analysis and the collected additional information allowed to define a number of types from three to fourteen according to the chosen affinity levels.*

Key-words: *2000/60 EC Directive, Coastal area, Adriatic Sea, Ionian Sea.*

Introduzione – La Direttiva 2000/60/CE (Water Framework Directive) regola in maniera puntuale tutti gli aspetti relativi alla gestione sostenibile della risorsa “acqua”, considerata in tutte le sue categorie (fiumi, laghi, acque di transizione, marino-costiere, potabili, ecc.). Il fulcro della Direttiva è il “Corpo Idrico”, inteso come un’area in cui è presente la risorsa idrica ed in cui sono definibili dei confini sulla base di caratteristiche ambientali e pressioni antropiche.

La definizione delle aree omogenee sulla base delle caratteristiche ambientali si sviluppa attraverso un processo di tipizzazione, per il quale sono stati previsti dei criteri specifici scelti a livello dei Governi Nazionali; nel caso delle acque marino-costiere italiane i criteri scelti sono relativi ad aspetti geomorfologici (morfologia dell’area costiera sommersa, natura del substrato) e ad aspetti talassografici (stabilità verticale della colonna d’acqua).

In accordo a tali criteri, e con l’ausilio di altre informazioni utili, di seguito si illustreranno i risultati relativi ad un primo tentativo di tipizzazione delle aree marino-costiere della Regione Puglia.

Materiali e metodi – I dati e le informazioni necessarie per la fase di tipizzazione sono stati tratti, per gli aspetti geomorfologici ed ecotipologici, da lavori pubblicati (Damiani *et al.*, 1988; Brondi *et al.*, 2003; Regione Puglia, 2007). Per quanto riguarda gli aspetti oceanografici, si sono presi in considerazione i dati risultanti dal monitoraggio degli ecosistemi marino-costieri pugliesi (MATTM-DPN. Monitoraggio ex legge 979/82). Tali dati, ed in particolare quelli relativi alle variabili idrologiche e di qualità (temperatura, salinità, trasparenza, ossigeno, concentrazione di azoto, fosforo, silicio, clorofilla “a”), nonché alcuni indici derivati quali l’anomalia di densità, il rapporto azoto/fosforo, l’indice TRIX, ecc. allo scopo di individuare tratti costieri omogenei dal punto di vista qualitativo. In questa procedura sono state impiegate tecniche di analisi statistica multivariata (Analisi dei Cluster).

L’incrocio tra i dati e le informazioni derivanti dalle varie fonti e per le diverse matrici ha infine consentito una prima definizione dei tipi ambientali principali.

Risultati – La procedura seguita per la tipizzazione ha consentito di separare strutturalmente, sulla base dei tre ecotipi costieri prevalenti in Puglia (Damiani *et al.*, 1988), almeno quattro tipologie differenti di costa (Brondi *et al.*, 2003), che danno luogo a

cinque ambiti omogenei: “Gargano”, “Subappennino dauno”, “Litorale Adriatico”, “Salento”, “Arco Jonico” (Regione Puglia, 2007). L’analisi dei dati talassografici ha consentito di ottenere dai 3 (nella situazione più conservativa) ai 6 gruppi omogenei in merito alle caratteristiche della colonna d’acqua; inoltre, i tre gruppi più conservati (Manfredonia-Bari; Tremiti; Brindisi-Taranto) risultano significativamente differenti per quanto riguarda la relazione tra clorofilla e stabilità della colonna d’acqua, e per il valore mediano dell’indice Trix.

Le informazioni aggiuntive sia in relazione alla componente abiotica (sedimentologia e morfobatimetria dei fondali, correntometria dominante, esposizione geografica) che a quella biotica (distribuzione delle biocenosi e *facies* bentoniche, ecc.) ha permesso una ulteriore suddivisione del territorio pugliese, sino ad arrivare a 13 zone costiere omogenee (14 se si considera a parte l’arcipelago delle isole Tremiti).

Conclusioni - L’analisi preliminare dei dati e delle informazioni disponibili circa le caratteristiche geomorfologiche e talassografiche delle aree marino-costiere pugliesi ha permesso una prima definizione delle eventuali “zone omogenee” a scala più o meno ampia. In definitiva, è possibile identificare dalle tre (nel caso degli ecotipi e dei gruppi principali sulla base delle caratteristiche oceanografiche) alle quattordici macroaree (considerando l’omogeneità anche in base agli aspetti fisiografici e dei principali biotopi a livello locale) lungo tutta l’area costiera pugliese. Questo primo screening potrebbe essere propedeutico per la definitiva procedura di tipizzazione e la successiva identificazione dei corpi idrici richiesta nell’ambito dell’applicazione della Direttiva 2000/60.

Bibliografia

- BRONDI A., CICERO A.M., MAGALETTI E., GIOVANARDI F., SCARPATO A., SILVESTRI C., SPADA E., CASAZZA G. (2003) - Italian Coastal Typology for the European Water Framework Directive. In: E. Özhan (ed), *Proceedings of the Sixth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment*. MEDCOAST 03, 7-11 October 2003, Ravenna, Italy.
- DAMIANI V., BIANCHI C.N., FERRETTI O., BEDULLI D., MORRI C., VIEL M., ZURLINI G. (1988) - Risultati di una ricerca ecologica sul sistema marino costiero pugliese. *Thalassia Salentina*, **18**: 153-169.
- REGIONE PUGLIA (2007) – Piano di Tutela delle Acque della Regione Puglia. Regione Puglia, Commissario Delegato per l’Emergenza Ambientale.

S. ANDREOTTI, P. MICARELLI¹, S. SPINETTI¹, G. CAMIGLIANO²,
E. FERRERO, S. TRIPEPI², E. SPERONE²

CSEE, Dip. di Biologia, Università di Trieste, Via L. Giorgieri, 10 - 34127 Trieste, Italia.
andreottisara@libero.it

¹Acquario Lagunare di Orbetello-Talamone, Italia.

²Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria, Italia.

CURIOSITÀ O AGGRESSIVITÀ? COMPORTAMENTO PREDATORIO DI SUPERFICIE DI *CARCHARODON CARCHARIAS* L. (LAMNIDAE)

CURIOSITY OR AGGRESSIVITY? SURFACE PREDATORY BEHAVIOR OF CARCHARODON CARCHARIAS L. (LAMNIDAE)

Abstract – *The Great White Shark (Carcharodon carcharias) is an important top predator; however a little is known about its behaviour. During five study expeditions surface behaviour of Great White Sharks living in Dyer Island (South Africa) was observed. Aims of the research were to give more data in order to confirm the hypothesis that this area could be considered as a “training place”, where young sharks can learn new predator techniques, and to understand what is shark approach to an unnatural, floating and passive prey. By comparing behaviours performed by young and mature specimens, our data showed that latters exhibited more complex ethograms. Sharks showed also a curiosity approach to passive preys employed for this study, with a strong predominance of the parading.*

Key-words: *Carcharodon carcharias, behaviour, field observations, South Africa.*

Introduzione - Popolazioni di *Carcharodon carcharias* sono presenti pressoché in tutto il mondo, nelle fasce temperate e temperate-fredde tra i 25 e gli 8 °C (Martin, 2003). Osservando puntualmente alcune di esse si può notare come sia presente una segregazione dimensionale relativa all'area studio: la popolazione di Dyer Island (34°40'00"S-19°26'00"E) è caratterizzata da individui le cui dimensioni variano dai 2 ai 5 m. L'ipotesi formulata (Micarelli *et al.*, 2006) è che la zona prospiciente a Dyer Island, grazie all'elevata biodiversità, possa essere utilizzata dai giovani squali bianchi come area di apprendimento di nuove tecniche di caccia, necessarie per compiere il passo da una dieta prettamente ittiofaga ad una che preveda mammiferi marini, predati solitamente quando si trovano in superficie (Hammerschlag *et al.*, 2006). L'analisi del comportamento d'attacco su prede passive potrebbe confermare o no questa ipotesi. Lo squalo bianco, infatti, come grande predatore all'apice della rete trofica, anche in condizioni di abbondanza di risorse alimentari tende ad essere estremamente selettivo (Elfman *et al.*, 1997). Il presente lavoro ha lo scopo di analizzare il comportamento di superficie di questa specie in presenza di prede passive, per evidenziare una continuità comportamentale nell'azione d'attacco, e codificare l'approccio verso una preda non conosciuta.

Materiali e metodi – I dati utilizzati nel presente lavoro sono stati raccolti nel corso di 5 spedizioni di studio condotte in Sudafrica tra il 2000 ed il 2007. Le osservazioni sono state effettuate da una barca ancorata a 100-150 m al largo di Dyer Island ed integrate con altre condotte in una gabbia antisqualo. I moduli comportamentali di attacco sono stati indotti negli squali con una preda passiva costituita da 2-3 kg di tonno legati ad una boa. Giornalmente sono state effettuate in media 4-8 ore di osservazione, durante le quali sono stati realizzati foto e filmati ed annotate, su schede apposite, le caratteristiche bio-morfometriche e le esibizioni comportamentali dei singoli animali. I dati dei comportamenti d'attacco su preda passiva sono stati analizzati per ricercare la presenza di differenze significative tra i comportamenti degli individui

maturi e immaturi. Per stabilire la significatività nella comparazione dei dati è stato utilizzato il test del χ^2 ricavando i valori attesi con il metodo proposto da Altmann e Altmann (1977). Gli etogrammi dei singoli animali sono stati analizzati per trovare la presenza di una sequenzialità nei comportamenti d'attacco, tramite due tipi di matrici: matrici di transizione (sui singoli individui e totale) e una matrice di sequenza temporale per evidenziare delle continuità comportamentali nell'azione di attacco. I dati sono stati analizzati mediante due programmi per l'analisi statistica: "R" ed "Etholog".

Risultati – Gli eventi comportamentali analizzati ai fini del presente lavoro sono stati 476. I moduli comportamentali in presenza di preda passiva sono stati 8: *parading* (210 volte), *bait follow* (171 volte) *visual inspection* (46 volte), *breach* (16 volte), *tail slap* (3 volte), *tail stand* (26 volte), *spy hop* (2 volte) e *repetitive aerial gaping* (2 volte). I comportamenti degli individui maturi ed immaturi differiscono nel caso del *breach*, che viene effettuato molto più frequentemente dagli squali maturi ($\chi^2=6,68$; $P<0,01$), e del *tail slap* ($\chi^2=16,41$; $P<0,005$). Il comportamento più frequente è il *parading* (44,12%), modulo che consiste nel nuotare in cerchio attorno ad un punto di interesse, che risulta essere eseguito dall'animale per una media di almeno 5 minuti prima di avvicinarsi alla preda, seguito dal *bait follow* (35,92%).

Conclusioni – L'utilizzo più frequente da parte degli individui maturi del *breach*, strategia tipicamente utilizzata per la caccia dei mammiferi marini, sembrerebbe confermare l'ipotesi che i giovani squali bianchi osservati siano ancora in una fase di "messa a punto" delle tecniche predatorie. L'elevata frequenza del *parading* indica la circospezione dell'animale rispetto ad una preda non naturale. Le matrici di transizione evidenziano inoltre una sequenzialità dei comportamenti nell'alternanza *parading-bait follow-parading*, che si ritrova in particolare all'inizio del comportamento d'attacco, quando si presume che l'animale stia indagando la situazione presentatagli, ma anche in seguito ad un attacco andato a vuoto, forse nel tentativo di ristudiare il contesto e preparare meglio l'attacco successivo.

Bibliografia

- ALTMANN S.A., ALTMANN S.H.(1977) - On the analysis of rates behaviour. *Animal Behaviour*, **25** (2): 364-372.
- ELFMAN G.S., COLLETTE B.B., FACEY D.E. (1997) - *The diversity of fishes*. London: Blackwell Science: 257 pp.
- HAMMERSCHLAG N., AIDAN MARTIN R., FALLOWS C. (2006) - Effects of environmental conditions on predator-prey interactions between white sharks (*Carcharodon carcharias*) and Cape fur seals (*Arctocephalus pusillus pusillus*) at Seal Island, South Africa. *Environ. Biol. Fish.* **76**: 341-350.
- MARTIN R.A. (2003) - Field guide to the Great White Shark. Vancouver (Canada): Reef Quest Center for Shark Research. Special Publication No. 1: 185 pp.
- MICARELLI P., SPINETTI S., TRIPEPI S., SPERONE E. (2006) - Observations about surface behaviour of the great white shark *Carcharodon carcharias* (L.) versus passive preys in Dyer Island (Southafrica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 278-279.

V. BARTOLINO, F. COLLOCA, L. MAIORANO, P. CARPENTIERI, A. CRISCOLI,
A. BELLUSCIO, A. MANNINI², B. REALE³, F. PRANOVI⁴, A. ABELLA¹, G.D. ARDIZZONE

Dip. di Biologia Animale e dell'Uomo, Univ. 'La Sapienza' di Roma,
Viale Università, 32 - 00185 Roma, Italia.
valerio.bartolino@uniroma1.it

¹Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana (ARPAT-GEA), Livorno, Italia.

²Lab. di Biologia Marina ed Ecologia Animale, Dip.Te.Ris., Università di Genova, Italia.

³Centro Interuniversitario di Biologia Marina (CIBM), Livorno, Italia.

⁴Università di Venezia 'Ca Foscari', Venezia, Italia.

SYSTEMATIC CONSERVATION PLANNING: UN APPROCCIO PER L'IDENTIFICAZIONE DI AREE DI CHIUSURA ALLA PESCA IN MEDITERRANEO

A SYSTEMATIC CONSERVATION PLANNING FOR THE IDENTIFICATION OF NO-TAKE AREAS IN THE MEDITERRANEAN

Abstract - A methodology for the identification of closed areas for multi-species fishery management in the Mediterranean based on trawl survey data was proposed. Geostatistic was used as a tool for the estimation of distribution for fish abundance and fishing effort. The achievement of conservation targets passed through irreplaceability calculation. Several scenarios have been obtained and discussed following different management targets.

Key-words: conservation, irreplaceability, Mediterranean Sea, closed areas.

Introduzione - Numerosi studi in tutti i mari del mondo hanno dimostrato che la riduzione nell'intensità di sfruttamento da parte della pesca porta ad un aumento delle biomasse, delle abbondanze e delle dimensioni medie delle specie sfruttate e ad un incremento della diversità biologica (Halpern e Warner, 2002). In questo studio, piuttosto che definire per ogni singola specie considerata le aree di chiusura alla pesca, sono state selezionate delle unità di pianificazione (UP) necessarie per la conservazione simultanea di tutte queste specie. A tale scopo è stato adottato un approccio multispecifico basato sul concetto di *irreplaceability* (la probabilità che un'area sia necessaria per il raggiungimento di uno specifico obiettivo di conservazione; Pressey *et al.*, 1994) e sulla definizione di obiettivi di gestione specie-specifici. L'*irreplaceability* può ottenere valori compresi tra 1 (per aree insostituibili per il raggiungimento dell'obiettivo) e 0 (per aree con densità di specie tanto basse da non essere in alcun modo necessarie nello schema di conservazione). In questo studio si vuole identificare la minima area richiesta per il raggiungimento di un qualsivoglia obiettivo di conservazione basato su criteri multispecifici.

Materiali e metodi - Sono state considerate 10 tra le principali specie demersali del Tirreno centro-settentrionale e del Mar Ligure (GSA 9) e per ciascuna specie sono stati analizzati particolari gruppi di taglie. L'area di studio è stata divisa in 78 quadrati UP (20×20 km), in modo che ogni UP includesse almeno 2 punti di campionamento (mean=10; SD=6.2). Per ogni UP e per ogni specie sono state calcolate le densità medie sulla base dei 778 punti cala ottenuti dal 2000 al 2005 durante la campagna sperimentale di pesca a strascico MEDITS. Il numero medio di pescherecci a strascico commerciali che ha visitato ogni UP è stato calcolato dai dati provenienti dal sistema di monitoraggio satellitare, obbligatorio per barche sopra i 18 m, per diversi mesi del 2006 e 2007. Due diversi obiettivi di conservazione sono stati simulati: 20% e 40% degli individui di ogni specie. Per ogni obiettivo sono state selezionate le UP con i più elevati valori di *irreplaceability*. Per il calcolo dell'*irreplaceability* è stato utilizzato

l'algoritmo di stima *annealing*, che permette di risolvere il problema di massimizzare il contributo di ogni UP attraverso un'attenta selezione delle aree in modo che le risorse possano essere meglio conservate (Pressey *et al.*, 1994) a costo di un'area di chiusura minima che riduca il conflitto con le attività di pesca.

Risultati - La flotta da pesca risulta maggiormente concentrata lungo la scarpata continentale del Mar Tirreno e del Mar Ligure, in particolare al largo di Livorno, Viareggio, a sud dell'Isola d'Elba e lungo le coste laziali. Le UP con elevati valori di *irreplaceability* sono distribuite su tutta l'area di studio per entrambe gli scenari di conservazione al 20% e 40%. Per il raggiungimento del target al 40% sono state selezionate 22 UP (Fig. 1B), mentre solo 11 sono necessarie per il target al 20% (Fig. 1A). 3 UP di particolare rilevanza a scopi di conservazione (perché sia selezionate per il target che altamente visitate dalla flotta) sono state identificate, 1 UP al largo di Livorno e 2 UP nei pressi dell'Argentario.

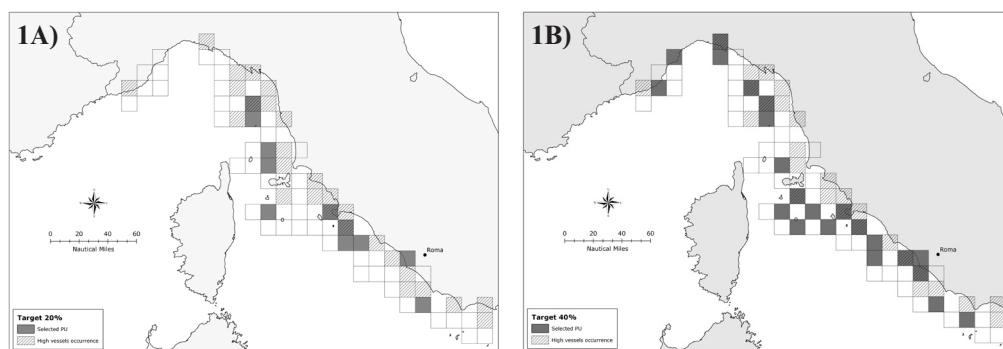


Fig. 1 - Unità di Pianificazione, selezionate con il target al 20% (1A) e al 40% (1B) e aree con elevato sforzo di pesca.

High fishing vessels frequency occurrence with selected planning units for target 20% (1A) and 40% (1B).

Conclusioni - Il presente studio mostra l'importanza e l'utilità dell'impiego di concetti come quello di *irreplaceability*, e più in generale degli approcci propri del *systematic conservation planning* per una gestione sostenibile della pesca e ai fini della conservazione nel Mediterraneo. Tra i vantaggi offerti dall'approccio qui presentato ci sono la rapidità di computazione e le grandi potenzialità di implementazione legate alla possibilità di includere un numero pressoché illimitato di specie all'interno della stessa analisi di compromesso. Una migliore comprensione di specifici *biological reference point* potrà permettere lo sviluppo di piani di gestione con target di conservazione specie-specifici. La prospettiva di uno sfruttamento sostenibile e duraturo nel tempo delle risorse marine dipende dalla conservazione degli habitat marini; la loro protezione, infatti, permetterà di sostenere le comunità marine oggi come in futuro.

Bibliografia

- HALPERN B.S., WARNER R.R. (2002) - Marine reserves have rapid and lasting effects. *Ecol. Lett.*, **5**: 361-367.
- PRESSEY R.L., JOHNSON I.R., WILSON P.D. (1994) - Shades of irreplaceability: towards a measure of the contribution of sites to a reservation goal. *Biodiversity and Conservation*, **3**: 242-262.

A. BELLANTE^{1,2}, G. BUSCAINO¹, G. BUFFA^{1,3}, V. DI STEFANO¹, A. CUTTITTA¹,
G. BASILONE¹, B. PATTI¹, A. BONANNO¹, S. MAZZOLA¹

¹Istituto per l'Ambiente Marino Costiero, UOD di Mazara del Vallo (IAMC-CNR),
Via L. Vaccara, 61 – 91026 Mazara del Vallo (TP), Italia.
anto.bellante@gmail.com

²Dip. di Biologia Animale e dell'Uomo, Univ. di Torino, Via Accademia Albertina, 16, Torino, Italia.

³Dip. Scienze Ambientali, Università Cà Foscari di Venezia, Italia.

REPORT SUGLI SPIAGGIAMENTI DI CETACEI LUNGO LA COSTA DELLA SICILIA SUD-OCCIDENTALE DAL 1999 AD OGGI

REPORT ON CETACEAN STRANDINGS IN THE COAST OF SOUTH-WESTERN SICILY FROM 1999 UNTIL TODAY

Abstract - Twenty-three single stranding events of cetaceans were recorded from 1999 until today in the coast of south-western Sicily. Seven different species were represented in this count. In the 50% of *Tursiops truncatus* specimens the death have human cause. Because the last five stranding concern exclusively *Stenella coeruleoalba* an epidemic form can be assumable.

Key-words: marine mammals, stranding, carcasses, interactions.

Introduzione - Il ritrovamento di cetacei spiaggiati lungo la costa rappresenta un importante fonte di dati per il loro studio. Essi infatti possono essere impiegati per differenti obiettivi: 1) raccolta di campioni di tessuti e di organi interni per future analisi chimiche per individuare la presenza di sostanze inquinanti 2) studio dell'interazione con le attività umane (tramite l'analisi delle cause di morte); 3) informazioni riguardanti la distribuzione spaziale e temporale di diverse specie. Nel presente lavoro si riportano le informazioni principali riguardanti il ritrovamento di cetacei spiaggiati dal 1999 fino ad oggi lungo la costa della Sicilia sud-occidentale, un'area in cui gli spiaggiamenti documentati risultano essere meno frequenti rispetto ad altri tratti di costa italiani (solo 14 segnalazioni dal 1996 al 2001) (SIDIMAR, 2001).

Materiali e metodi - Il ritrovamento delle carcasse di cetacei lungo la costa è stato possibile grazie alle segnalazioni della capitaneria di porto di Mazara del Vallo e di Marsala (TP). Il campionamento ha coperto un tratto di costa di circa 80 km compreso tra Marsala e Sciacca (AG). Per ogni esemplare il protocollo di campionamento prevedeva: l'identificazione della specie (Wurtz e Repetto, 2004); riconoscimento della classe d'età (adulto, giovane, piccolo) (Shane, 1990); misure morfometriche esterne; identificazione del sesso; raccolta di campioni di tessuti e di organi interni per future analisi di sostanze inquinanti; raccolta di parassiti. Segni particolari sul corpo hanno permesso di identificare la causa di morte di alcuni esemplari.

Risultati - Nell'area di studio si sono verificati dal 1999 fino ad oggi trentatré spiaggiamenti singoli di cetacei. Sono state identificate sette specie diverse che includono il tursiopo, *Tursiops truncatus* (n=10), la stenella striata, *Stenella coeruleoalba* (n=12), il delfino comune, *Delphinus delphis* (n=4), il grampo, *Grampus griseus* (n=1), il globicefalo, *Globicephala melas* (n=1), il capodoglio, *Physeter macrocephalus* (n=1), lo zifio, *Ziphius cavirostris* (n=1) e tre individui la cui specie non è stata identificata. Gli spiaggiamenti delle specie *T. truncatus* e *S. coeruleoalba* sono stati i più frequenti. Durante il periodo di studio non si è verificato nessuno spiaggiamento di massa. Il più alto numero di spiaggiamenti si è verificato nel 2003 (n=7) e nel 2007 (n=7). Dal 2007 fino ad oggi il 67% degli individui spiaggiati appartiene alla specie *S. coeruleoalba*. Un giovane individuo appartenente a questa specie è stato ritrovato ancora vivo, mentre

le carcasse di altri cinque esemplari sono state ritrovate in buone condizioni (non ancora in stato di decomposizione). Cinque esemplari (50%) di *T. truncatus* sono stati ritrovati senza la pinna dorsale e la pinna caudale (i pescatori solitamente tagliano questa parte del corpo per liberare i cetacei rimasti impigliati nelle reti). L'esemplare di *P. macrocephalus* presentava all'altezza dello sfiatatoio un taglio netto e profondo causato probabilmente dall'elica di una nave. Dalle carcasse sono stati prelevati 33 campioni di tessuto (muscolo, grasso e pelle) e 42 campioni di organi interni.

Conclusioni - Gli spiaggiamenti delle specie *T. truncatus* e *S. coeruleoalba* sono stati i più frequenti. In accordo con questo risultato queste sono le due specie di cetacei maggiormente avvistate nel Canale di Sicilia (Buscaino *et al.*, 2007). L'alto numero di spiaggiamenti di *S. coeruleoalba* nel 2007, e l'assenza di segni riconducibili a cause umane di mortalità, potrebbe essere riconducibile ad un'infezione virale, già testimoniata in Italia tra il 1990 e il 1992 (Aguilar e Raga, 1993). Inoltre, riscontrando un livello poco avanzato di decomposizione, si deduce che le morti siano avvenute vicino la costa. È noto che le stenelle durante la notte si avvicinano alla costa per cacciare (Gannier, 1999) ma anche che un alta percentuale di cetacei spiaggiati vivi risultano essere gravemente malati. Infine, l'elevato numero di esemplari di *T. truncatus* (50%) morti non per cause naturali, dimostra che l'interazione tra questa specie e le attività di pesca, già documentata in questo tratto di mare (Buscaino *et al.*, 2007; Bellante *et al.*, 2007), rappresenta un importante fattore di mortalità, il cui impatto sulle popolazioni resta ancora da valutare.

Ringraziamenti - Si ringraziano le Capitanerie di porto di Mazara del Vallo (TP) e di Marsala (TP) ed il comune di Mazara del Vallo (TP) per la loro disponibilità ed il loro costante supporto.

Bibliografia

- AGUILAR A., RAGA J.A. (1993) - The striped dolphin epizootic in the Mediterranean Sea. *Ambio*, **22** (8): 524-528.
- BELLANTE A., BUSCAINO G., BUFFA G., GENOVESE S., BONANNO A., PATTI B., MAZZOLA S. - Report on the sightings of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in coastal waters of south-western Sicily during surveys carried out between 2003 and 2006. *Annual meeting of the European Cetacean Society*. San Sebastian, Spain, 22-25/04/07.
- BUSCAINO G., BUFFA G., SARÀ G., BELLANTE A., TONELLO J.A., HARDT F.A.S., CUTTITTA A., MAZZOLA S. - Acoustic device reduce negative interaction between fishing activities and *Tursiops truncatus*. *Annual meeting of the European Cetacean Society*. San Sebastian, Spain, 22-25/04/07.
- GANNIER A. (1999) - Diel variations of the striped dolphin distribution off the French Riviera (north-western Mediterranean Sea). *Aquatic Mammals*, **3** (25): 123-134.
- SHANE S.H. (1990) - Comparison of bottlenose dolphin behaviour in Texas and Florida, with a critique of methods for studying dolphin behaviour. In: Leatherwood S., Reeves R.R. (eds), *The Bottlenose Dolphin*. Academic Press, San Diego: 541-558.
- WURTZ M., REPETTO N. (2004) - *Guida al riconoscimento di balene e delfini del Mediterraneo*. Auriga Publishing Int.: 68 pp.
- SIDIMAR (2001) - Sito del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio. www.sidimar.ipzs.it

D. BORME¹, S. LEGOVINI^{1,2}, A. DE OLAZABAL¹, S. FONDA UMANI², V. TIRELLI¹

¹Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale-OGS, Dip. di Oceanografia Biologica,
Via A. Piccard, 54 S. Croce - 34014 Trieste, Italia.
vtirelli@ogs.trieste.it

²Università di Trieste, Dipartimento di Biologia, Via Giorgieri, 10 - 34127 Trieste, Italia.

ALIMENTAZIONE DI *SARDINA PILCHARDUS*
NEL GOLFO DI TRIESTE (ADRIATICO SETTENTRIONALE):
PRIMA STIMA DEL FABBISOGNO ALIMENTARE
E DESCRIZIONE DELLA DIETA

FEEDING OF SARDINA PILCHARDUS
IN THE GULF OF TRIESTE (NORTHERN ADRIATIC):
FIRST EVALUATION OF DAILY RATION AND DIET DESCRIPTION

Abstract - Daily ration and diet of the European sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) was investigated in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). Sardine showed a diurnal feeding periodicity with a peak around sunset. Estimated daily ration was 3.739 g DW/100gTWW. Microscopic examination of stomach content revealed a diet dominated by teleostean eggs and decapods larvae, followed by copepods. Also tintinnids of the species *Tintinnopsis radix* were numerically important.

Key-words: small pelagic fish, zooplankton, feeding intensity.

Introduzione - Il piccolo pesce pelagico deve la sua importanza nell'ecosistema marino alla sua abbondanza ed alla sua posizione intermedia nella rete trofica, che lo rendono fondamentale nella canalizzazione d'energia dalla produzione planctonica ai predatori di ordine superiore. Si comprende quindi quanto studi sul fabbisogno energetico e sulle preferenze alimentari dei piccoli pesci pelagici siano strumenti basilari per la comprensione del funzionamento dell'ecosistema marino. Nonostante ciò, le conoscenze riguardanti l'alimentazione di sardine ed acciughe sono a tutt'oggi piuttosto carenti, soprattutto nel Mar Adriatico, che pur spicca, nel contesto mediterraneo, per la produzione di tali specie. Per quanto riguarda la sardina, l'unico studio dedicato alla sua alimentazione in quest'area risale alla metà del secolo scorso (Vučetić, 1963). Obiettivo di questo lavoro è quello di stimare il fabbisogno energetico di *Sardina pilchardus* ed identificarne le principali prede nel Golfo di Trieste.

Materiali e metodi - Il campionamento è stato condotto il 20 giugno 2006 nel Golfo di Trieste. Sono state eseguite 7 cale, compiute con un intervallo di 3-4 ore l'una dall'altra. Per stimare il fabbisogno alimentare, ad ogni cala sono stati considerati almeno 20 individui, immediatamente congelati a bordo a -20 °C. I contenuti stomacali sono stati filtrati singolarmente su filtri Whatman GF/F ed essiccati a 70 °C per 48 h. Il fabbisogno alimentare giornaliero è stato calcolato applicando il modello di Eggers (1979) ed espresso in termini energetici tramite l'analisi calorimetrica dei contenuti stomacali. La dieta è stata analizzata su un subcampione tratto dall'omogenato di 8 stomaci, appartenenti a pesci catturati nel momento di massima alimentazione. Le prede sono state osservate allo stereomicroscopio ad ingrandimento 40-90× e determinate al minimo livello tassonomico possibile.

Risultati - Il fabbisogno alimentare è stato calcolato su un totale di 142 esemplari adulti di *S. pilchardus* di lunghezza totale pari a 172.3±0.8 mm e 44.4±0.5 g di peso umido. L'attività alimentare della sardina nell'area di studio si svolge prevalentemente nelle ore diurne presentando un picco massimo durante il tramonto. Il tasso di evacuazione gastrica istantanea calcolato è risultato di 0.408 h⁻¹, quando in mare, alla

profondità di campionamento, la temperatura media era di 17.4 °C. Il fabbisogno alimentare è stato calcolato considerando la parte del ciclo giornaliero in cui gli individui si alimentavano: dalla cala 1 delle ore 3:00 alla cala 7 delle 20:30, effettuata durante il crepuscolo. La stima così ottenuta è di: 4.103 gDW/1000gSWW. Considerando il peso umido totale della sardina (TWW), si ottiene un fabbisogno alimentare pari a 3.739 g DW/1000gTWW. La densità energetica del contenuto stomacale misurato su un pool di 10 stomaci è risultata di 5.23 cal/mg. Utilizzando tale valore, è stato possibile esprimere il fabbisogno alimentare in termini di energia: 19,056 Kcal/1000gTWW. Per l'analisi della dieta sono state contate e determinate 1875 prede appartenenti a 45 taxa differenti. Nel Golfo di Trieste la dieta della specie è costituita principalmente da organismi zooplanctonici (meso e microzooplancton) mentre cellule fitoplanctoniche sono state osservate solo in tracce (dinoflagellati e diatomee: 46 cellule per stomaco). Il microzooplancton, rappresentato quasi unicamente da tintinnidi (*Tintinnopsis radix*), è risultato numericamente importante, sebbene le sue piccole dimensioni ne riducano il contributo in termini di massa. Nell'ambito delle prede mesozooplanctoniche, in termini numerici, le categorie alimentari prevalenti sono: copepodi (essenzialmente appartenenti alla famiglia Clauso-Paracalanidae ed al genere *Oncaea*) (42.12%), uova di teleostei (29.35%), larve di decapodi (19.57%) e cladoceri (4.81%).

Conclusioni - I risultati ottenuti descrivono per la prima volta il fabbisogno energetico e la dieta della sardina nell'Adriatico settentrionale. Il valore ottenuto è pari a 2.88% TWW, in accordo con lo 0.99-2.52% TWW trovato da van der Lingen (1998) per la sardina del Pacifico, *Sardinops sagax*, mantenuta in laboratorio alimentandola con zooplancton. Anche il ritmo d'alimentazione osservato, prevalentemente diurno, è stato già descritto come caratteristico per le sardine (van der Lingen, 2006). L'analisi dei contenuti stomacali ha evidenziato che *S. pilchardus* nel Golfo di Trieste, è una specie prettamente zooplanctivora, che si nutre in prevalenza di copepodi. Sebbene lo studio della dieta di questa specie necessiti di un più ampio studio sia su scala spaziale che temporale, i risultati ottenuti contrastano con quanto osservato in altre aree geografiche (Sud Africa, Portogallo), dove la sardina è stata indicata come specie onnivora, capace di alimentarsi anche in modo cospicuo di fitoplancton (Garrido *et al.*, 2008; van der Lingen, 2006).

Bibliografia

- GARRIDO S., BEN-HAMADOU R., OLIVEIRA P.B., CUNHA M.E., CHÍCHARO M.A., VAN DER LINGEN C.D. (2008) - Diet and feeding intensity of sardine *Sardina pilchardus*: correlation with satellite-derived chlorophyll data. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **354**: 245-256.
- VAN DER LINGEN C.D. (1998) - Gastric evacuation, feeding periodicity and daily ration of sardine *Sardinops sagax* in the southern Benguela upwelling ecosystem. *S. Afr. J. mar. Sci.*, **19**: 305-316.
- VAN DER LINGEN C.D., HUTCHINGS L., FIELD J.C. (2006) - Comparative trophodynamics of anchovy *Engraulis encrasicolus* and sardine *Sardinops sagax* in the southern Benguela: are species alternations between small pelagic fish trophodynamically mediated? *Afr. J. mar. Sci.*, **28** (3-4): 456-477.
- VUČETIĆ T. (1963) - Ishrana odrasle srdele (*Sardina pilchardus* Walb.) u srednjem Jadranu. *Acta Adriat.*, **10** (2): 3-43.

Le sardine analizzate in questo studio sono state ottenute durante i campionamenti condotti nell'ambito del progetto EcoMADR (Progetto INTERREG IIIA Italia-Slovenia).

P. CAVANNA, L. LANTERI, E. BECCORNIA, G. RELINI

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
biolmar@unige.it

ACCRESIMENTO DI *ILLEX COINDETII* (VERANY, 1839) E *TODAROPSIS EBLANAE* (BALL, 1841) IN MAR LIGURE

GROWTH OF ILLEX COINDETII (VERANY, 1839) AND TODAROPSIS EBLANAE (BALL, 1841) IN THE LIGURIAN SEA

Abstract – Age and growth of two species of Ommastrephidae, *Illex coindetii* (Verany, 1839) and *Todaropsis eblanae* (Ball, 1841), were studied in the Ligurian Sea, mainly using statoliths. For *I. coindetii* a longevity of 1 year for males and 1.5 years for females was estimated while for *T. eblanae* 1 year longevity for both sexes was estimated.

Key-words: *Illex coindetii*, *Todaropsis eblanae*, growth, Mediterranean Sea.

Introduzione – La stima dell'età e dell'accrescimento nei Cefalopodi è ancora argomento di ampio dibattito anche se l'utilizzo degli statoliti ha consentito un indubbio progresso. Vengono riportate alcune osservazioni su *Illex coindetii* (Verany, 1839) e *Todaropsis eblanae* (Ball, 1841), comuni nel pescato del Mar Ligure. Per una corretta gestione di questi cefalopodi di discreto interesse commerciale, risulta importante una buona conoscenza della struttura in età, del ritmo di accrescimento, della longevità.

Materiali e metodi - Gli statoliti prelevati da individui raccolti in Mar Ligure durante le campagne MEDITS e GRUND dal 2005 al 2007, sono stati lavorati secondo la metodologia di Arkhipkin (1991). Per la lettura delle tracce giornaliere sono state utilizzate foto al microscopio (100-200 ingrandimenti in luce trasmessa). Con il supporto di un programma di analisi grafica IMAGE TOOL, è stata misurata la lunghezza totale dello statolite e del raggio (μm) ed effettuato un conteggio del numero di accrescimenti.

Poiché l'accrescimento di queste specie è abbastanza regolare, sono state contate le bande di accrescimento in un tratto ben definito, quindi, si è risaliti al numero totale in proporzione alla lunghezza del raggio maggiore. Sono stati misurati 95 esemplari di *Illex coindetii* con lunghezza del mantello compresa tra 7 e 20 cm per le femmine tra 7,5 e 18 cm per i maschi. Per *Todaropsis eblanae*, sono stati utilizzati 101 esemplari con LDM tra 7 cm e 17 cm per le femmine e tra 5 ed 20 cm per i maschi.

Risultati e conclusioni – Tra il numero di incrementi giornalieri e la lunghezza del mantello esiste una relazione lineare significativa. Per i maschi e le femmine di *Illex* le taglie massime corrispondono a circa un anno (Fig. 1A).

Il numero di incrementi osservati variava, nei maschi, da 75 gg corrispondenti ad un animale di 7,5 cm a 250 gg per un esemplare di 18 cm. Per le femmine, 90 gg e 350 gg corrispondono rispettivamente a esemplari di 7 cm e 20 cm LDM. Per le femmine di *I. coindetii* di 30 cm LDM (Relini *et al.*, 1999) è stata ipotizzata una longevità massima di circa 18 mesi.

Anche in *T. eblanae*, la relazione tra il numero di incrementi e la lunghezza del mantello è risultata di tipo lineare (Fig. 1B). Il numero di incrementi giornalieri variava da 70 gg pari a 5 cm LDM ad 340 gg (20 cm LDM) per i maschi e da 90 gg (7 cm LDM) a 298 gg (17 cm LDM) per le femmine. In *T. eblanae*, per i mari italiani sono segnalate come lunghezze massime, 20 cm per i maschi e 21 cm per le femmine (Jereb e Ragonese, 1990). Con queste dimensioni si stima una longevità di 12 mesi.

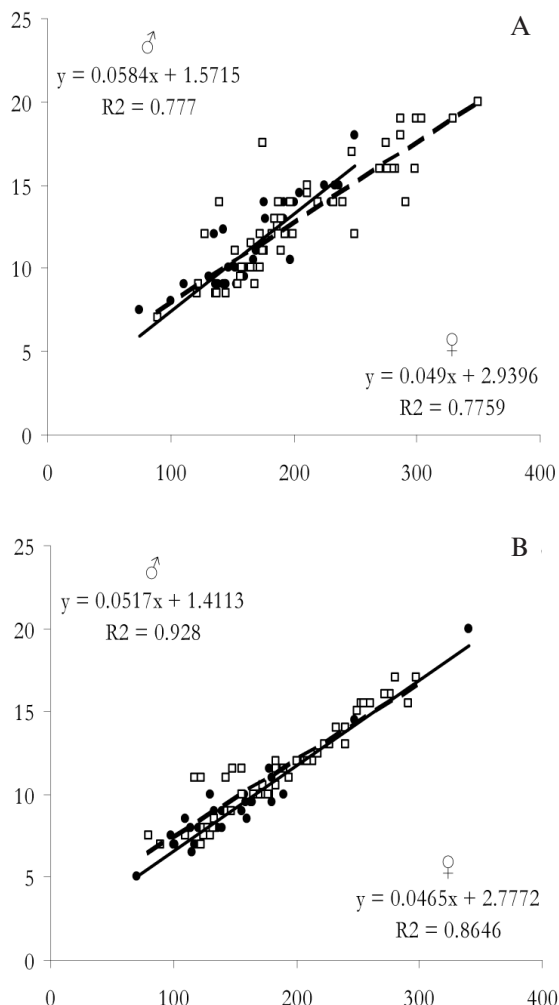


Fig. 1 - Relazione tra gli incrementi giornalieri e la lunghezza dorsale del mantello (LDM) separata per sesso in *Illex coindetii* (A) e *Todaropsis eblanae* (B) (Maschi: linea continua e punti neri; Femmine: linea tratteggiata e quadratini bianchi).

Daily increments/dorsal mantle length (DML) relationship by sex in Illex coindetii (A) and Todaropsis eblanae (B) (Males: solid line and black spots; Females: dotted line and white squares).

Bibliografia

- ARKHIPKIN A. (1991) - Methods for cephalopod age and growth studies with emphasis on statolith ageing techniques. In: Jereb P., Ragonese S., Boletzky S.V. (eds), *Squid age determination using statoliths*. Proceedings of the international workshop held in the Istituto di Tecnologia della pesca e del pescato (ITPP-CNR), Mazara del Vallo. N.T.R.-I.T.P.P. Special Publications, **1**: 11-17.
- JEREB P., RAGONESE S. (1990) - Sulla teutofauna di interesse commerciale del Canale di Sicilia. Cephalopod Bibliography. *Oebalia*, **16** (2): 745-748.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) - Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.

M.C. FOLLESA, P. MERELLA¹, C. PORCU, A. PAIS², A. CAU

Dipartimento Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Viale Poetto, 1 – 09126 Cagliari, Italia.
follesac@unica.it

¹Sez. di Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dip. Biologia Animale, Univ. di Sassari, Italia.

²Sez. di Acquacoltura ed Ecologia Marina, Dip. di Scienze Zootecniche, Univ. di Sassari, Italia.

CONSIDERATIONS ON RECENT FINDINGS OF *FISTULARIA COMMERSONII* RÜPPELL, 1838 OFF SARDINIAN COASTS (CENTRAL-WESTERN MEDITERRANEAN)

CONSIDERAZIONI SU RECENTI RITROVAMENTI DI *FISTULARIA COMMERSONII* RÜPPELL, 1838 LUNGO LE COSTE SARDE (MEDITERRANEO CENTRO-OCCIDENTALE)

Abstract - Fifteen specimens of *Fistularia commersonii* (Syngnathiformes: Fistulariidae) were captured off Sardinian coasts from September 2007 to January 2008. Although reproductive data cannot confirm this species as a resident in these waters, the results presented indicate a sudden and significant diffusion of this Lessepsian migrant also in the western part of the Mediterranean Sea.

Key-words: *Fistularia commersonii*, alien species, biological invasions, Lessepsian migration.

Introduction - The number of alien fish entering the Mediterranean Sea has been growing continuously. According to Golani (2006), 65 species are currently documented from the Red Sea (the so-called “Lessepsian migrants”), and new records are constantly added. In particular, the geographical distribution of the bluespotted cornetfish (*Fistularia commersonii* Rüppell, 1838), recorded for the first time off the coast of the Middle East (Golani, 2000), has rapidly and progressively extended towards the Italian waters (Azzurro *et al.*, 2004 and references therein). Recently, Pais *et al.* (2007) documented the occurrence of a single specimen off the eastern coast of Sardinia, thus pointing out the presence of a Lessepsian fish species also in the western part of the Mediterranean basin.

Materials and methods - From September 2007 to January 2008, 15 adult specimens of *F. commersonii* were captured off Sardinian coasts. Except for 2 individuals captured by spearfishing, all the cornetfish investigated were caught by trawl and trammel nets from the surface to 50 m depth. The specimens were photographed, immediately frozen at -20 °C and, subsequently, identified to species. Their main morphometric characters were recorded and then the fish were dissected and sexed. The gonadal maturity stage of each specimen was assessed macroscopically according to structure, shape and size (Holden & Raitt, 1974). Furthermore, developmental stages of oocytes and spermatozoa were evaluated microscopically using the scales proposed by Forberg (1982) and Grier (1981), respectively.

Results - The cornetfish examined (10 females, 2 males and 3 unsexed) were caught all around Sardinia, mostly in its southern coast but also in the North-eastern (1 specimen) and in Central-western (3 specimens) coasts. The standard length (SL) of females ranged between 740 and 877 mm, while the 2 males had SL of 700 and 740 mm, respectively. The unsexed individuals were from 775 and 840 mm of SL. The specimens captured by trammel net were mainly found in *Posidonia oceanica* seagrass meadows. Macroscopically, all specimens showed post-spawning gonads (stage 8 of Holden & Raitt scale). Subsequent histological analyses highlighted a synchronous oogenetic development in bi-lobe gonad of females with the presence of few translucent oocytes in atresic stage. Most part of the oocytes were basophile and post ovula-

tory follicles (POF) were also present. The stomach contents were mainly composed by small teleosts as already reported from other authors (Pais *et al.*, 2007 and references therein).

Conclusions - A widespread progressive expansion of *Fistularia commersonii* in seas around Sardinia has been documented between 2007 and 2008, and new reports of this species seem to be more frequent and in continuous increase. Although reproductive data do not allow to consider at present this fish as a resident, the results presented indicate a sudden and significant diffusion of this Lessepsian migrant also in the western part of the Mediterranean basin. Once more, the likely increase of temperature of Mediterranean waters could be considered as one of the most probable causes of the widening of biogeographical distribution and of a westward range extension of some species common in southern and eastern Mediterranean (Francour *et al.*, 1994).

References

- AZZURRO E., PIZZICORI P., ANDALORO F. (2004) - First record of *Fistularia commersonii* (Fistulariidae) from the central Mediterranean. *Cybium*, **28** (1): 72-74.
- FORBERG K.G. (1982) - A histological study of development of oocytes in capelin, *Mallotus villosus* (Müller). *J. Fish Biol.*, **20** (2): 143-154.
- FRANCOUR P., BOUDOURESQUE C.F., HARMELIN J.G., HARMELIN-VIVIEN M., QUIGNARD J.P. (1994) - Are the Mediterranean waters becoming warmer? Information from biological indicators. *Mar. Pollut. Bull.*, **28** (9): 523-526.
- GOLANI D. (2000) - First record of the bluespotted cornetfish from the Mediterranean Sea. *J. Fish Biol.*, **56** (6): 1545-1547.
- GOLANI D. (2006) - The Indian scad (*Decapterus russelli*), (Osteichthyes: Carangidae), a new Indo-Pacific invader of the eastern Mediterranean. *Sci. Mar.*, **70** (4): 603-605.
- GRIER H.J. (1981) - Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Amer. Zool.*, **21** (2): 345-357.
- HOLDEN M.J., RAITT D.F.S. (1974) - Manual of Fisheries Science. Part 2. Methods of resource investigation and their application. *FAO Fish. Tech. Pap.*, **115**: 1-255.
- PAIS A., MERELLA P., FOLLESA M.C., GARIPPA G. (2007) - Westward range expansion of the Lessepsian migrant *Fistularia commersonii* (Fistulariidae) in the Mediterranean Sea, with notes on its parasites. *J. Fish Biol.*, **70** (1): 269-277.

V. GANCITANO, C. BADALUCCO, S. GANCITANO, M. GRISTINA,
P. RIZZO, G. SINACORI, L. LABANCHI*, F. FIORENTINO

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC)
Mazara del Vallo, Via Luigi Vaccara, 61 – 91026 Mazara del Vallo (TP), Italia.
vitagan@libero.it

*IREPA onlus, Via S. Leonardo, Trav. Migliaro - 84131 Salerno, Italia.

POTENZIALITÀ PRODUTTIVE E STATO DI SFRUTTAMENTO
DI *PARAPENAEUS LONGIROSTRIS* (LUCAS, 1846)
(CRUSTACEA; DECAPODA) NELLO STRETTO DI SICILIA (GSA 16)

POTENTIAL YIELD AND CURRENT EXPLOITATION
OF *PARAPENAEUS LONGIROSTRIS* (LUCAS, 1846)
(CRUSTACEA; DECAPODA) IN THE STRAIT OF SICILY (GSA16)

Abstract – Potential yield of deep water pink shrimp in the Strait of Sicily (GSA 16) was assessed by *Y* and *B* per recruit analyses. Current exploitation was within the limit reference point F_{max} , although some differences in assessing the current status vs. an optimal one resulted if length cohort analysis (LCA) on commercial catches or mortality estimates from trawl surveys were used.

Key-words: deep water pink shrimp, stock assessment, BRP, fishing mortalities, Strait of Sicily.

Introduzione - Il gambero rosa, *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) (Crustacea, Decapoda), rappresenta la principale specie bersaglio delle strascicanti nello Stretto di Sicilia con oltre il 30% dell'intera produzione della pesca nella GSA 16. I valori recenti di produzione annuale variano tra le 6600 (2004) e le 8400 (2006) tonnellate (fonte IREPA). In questo lavoro sono valutate le potenzialità produttive dello stock di gambero rosa e la sostenibilità dell'attuale modalità di sfruttamento, sulla base del confronto delle stime di mortalità corrente sulla popolazione con i Biological Reference Points (BRP) più usati in letteratura.

Materiali e metodi - Le potenzialità produttive della frazione femminile della popolazione, pari a circa il 65% delle catture, sono state valutate mediante i modelli all'equilibrio di produzione, biomassa e biomassa parentale per recluta (*Y*, *B* & *SSB/R*) che includono l'incertezza nella stima dei parametri, come implementati nel pacchetto "Yield" (Branch *et al.*, 2000). I campioni commerciali sono stati raccolti mensilmente tra Gennaio e Dicembre 2006 da un set di imbarcazioni operanti nei porti di Mazara del Vallo e Sciacca e rappresentative della pesca a strascico nella GSA 16. Le distribuzioni lunghezza-frequenza dei trawl surveys derivano dalle campagne Medits (2005-2006-2007) e Grund (2004-2005-2006). Per maggiori dettagli sui programmi si rimanda a SIBM (2005). La stima di produzione annuale del gambero rosa relativa al 2006 (fonte IREPA), è stata ripartita per sesso sulla base della sex ratio in peso osservata nei campioni, risultando circa 5579 t di femmine e 2986 t di maschi. Lo stato corrente di sfruttamento è stato valutato sulla base della stima della mortalità da pesca (*F*) ricavata dall' "analisi di coorte in lunghezza" (LCA) - pacchetto "VIT4WIN" (Leonart e Salat, 2000) della cattura commerciale del 2006 e di quella ricavata dallo stimatore di mortalità totale (*Z*) di Beverton e Holt - pacchetto LFDA (Kirkwood *et al.*, 2001), impiegato sulle strutture di lunghezza all' "equilibrio" dei trawl surveys e la "prima lunghezza di pieno reclutamento all'attrezzo" (*L'*) pari a 20 mm LC.

Risultati e conclusioni - Le potenzialità produttive della popolazione (Fig. 1), possono essere espresse in termini di Limit Reference Point (LRP; $F_{max}=1.98$ e $Y/R_{max}=2.44$) e Target Reference Point (TRP; $F_{0.1}=0.88$, $Y_{0.1}=2.19$, $F_{ssb0.3}=0.91$ e $Y_{ssb0.3}^{max}=2.23$). Le stime dei valori correnti di *F* variano tra 0.88 ± 0.17 per le classi di lunghezza che contribuiscono a più del 2.5% della produzione se si considera la LCA assumendo un equilibrio

“stretto” (soltanto il 2006) (Fig. 2), 1.15 (Meditis 2005-07) e 1.56 (Grund 2005-2006) se si considera lo stimatore di Beverton e Holt. Sebbene le condizioni di sfruttamento rientrino entro un quadro di sostenibilità biologica, sono evidenti differenze nella valutazione delle condizioni ottimali di prelievo impiegando le diverse stime di mortalità. Tali differenze potrebbero essere dovute a una distribuzione non omogenea dello sforzo di pesca nell’area, la diversa stagionalità dei trawl surveys e/o variazioni interannuali del reclutamento che condizionano le strutture di lunghezza delle catture commerciali.

Tab. 1 - Parametri biologici di gambero rosa impiegati e principali BRP stimati.

Biological parameters of deep water pink shrimp and main BRPs.

Parametri		Biological Reference Points					
L_{∞} inmm	43,0	L50%	24,0	Y/Rmax	2,44	Fmax	1,98
k	0,68	g	0,25	Y _{0,1} /R	2,19	F _{0,1}	0,88
to	-0,2	M	1,04	YSPR _{0,3} /R _{2,23}		FSPR _{0,3}	0,91
a	0,0033	Fterm	1,04				
b	2,4622						

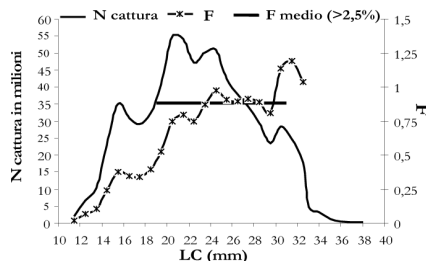


Fig. 1 - Distribuzione di lunghezza-frequenza e mortalità da pesca di gambero rosa (*P. longirostris*).

*Length frequency distribution and fishing mortality of deep water pink shrimp (*P. longirostris*).*

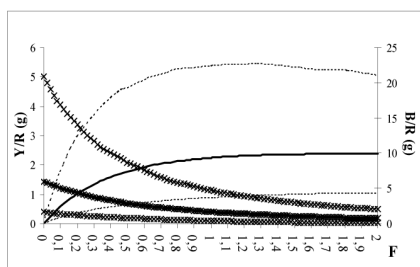


Fig. 2 - Y/R e SSB/R di gambero rosa al variare di F. Sono indicate le curve corrispondenti alla mediana ed al maggiore e minore 2,5 percentile.

Y/R and SSB/R analysis of deep water pink shrimp. Curves at median, upper and lower 2,5 percentiles are shown.

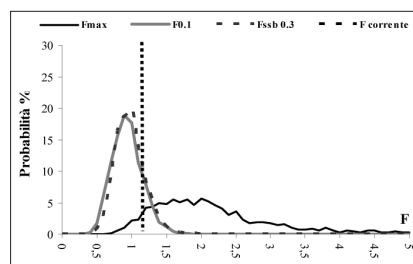


Fig. 3 - Distribuzione di F_{MSY} , $F_{0,1}$ e $F_{SSB0,3}$ ricavata da 2000 simulazioni del pacchetto Yield. È riportato il valore di F corrente pari a 1,15 (Meditis 2005–2007).

F_{MSY} , $F_{0,1}$ and $F_{SSB0,3}$ values obtained in 2000 runs of Yield package. The current value $F=1,15$ is reported.

Bibliografia

BRANCH T.A., KIRKWOOD G.P., NICHOLSON S.A., LAWLOR B., ZARA S.J. (2000) - Yield version 1.0, MRAG Ltd, London, U.K.
 KIRKWOOD G.P., AUKLAND R., ZARA S.J. (2001) – Length Frequency Distribution Analysis (LFDA), version 5.0. MRAG Ltd, London, U.K.
 LLEONART J., SALAT J. (2000) - Vit4winVersion 1.1. www.faocopemed.org/es/activ/infodif.htm
 SIBM (2005) – Istituzione di un programma di raccolta dati nel settore della pesca. Linee guida Inquadramento generale e metodologie. Società Italiana di Biologia Marina: 101 pp.

I dati sono stati raccolti nell’ambito del programma nazionale italiano per la raccolta dei dati alienitici, modulo H - “campionamento biologico dello catture (CAMPBIOL)” e “campionamento biologico degli scarti”, modulo G – “trawl surveys MEDITS e GRUND”, coordinati dalla SIBM e finanziati dal MiPAAF e dalla CE.

V. GANCITANO, S. CUSUMANO, G.B. GIUSTO, G. GAROFALO, G. INGRANDE,
E. SABATELLA*, S. RAGONESE, F. FIORENTINO

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC)
Mazara del Vallo, Via Luigi Vaccara, 61 – 91026 Mazara del Vallo (TP), Italia.
fabio.fiorentino@iamc.cnr.it

*IREPA onlus, Via S. Leonardo, Trav. Migliaro – 84131 Salerno, Italia.

VALUTAZIONE DELLO STATO DI SFRUTTAMENTO DEL GAMBERO ROSSO *ARISTAEOMORPHA FOLIACEA* (RISSO, 1827) (CRUSTACEA; DECAPODA) NELLO STRETTO DI SICILIA

STOCK ASSESSMENT OF GIANT RED SHRIMP ARISTAEOMORPHA FOLIACEA (RISSO, 1827) (CRUSTACEA; DECAPODA) IN THE STRAIT OF SICILY

Abstract – *The exploitation state of the giant red shrimp in the Strait of Sicily (GSA 16) was assessed by length cohort and yield per recruit analyses. Current exploitation resulted near to F_{max} , being a 36% reduction of fishing mortality required to reach a more sustainable harvesting.*

Key-words: *giant red shrimp, exploitation state, landings, biological samplings, Strait of Sicily.*

Introduzione - Lungo la costa siciliana meridionale il gambero rosso è catturato esclusivamente con reti a strascico con il picco di cattura nella tarda primavera-estate (Fig. 1). In questa nota viene fornita la prima valutazione dello stato di sfruttamento dello stock condotta sulla base delle informazioni raccolte dalla pesca commerciale nello Stretto di Sicilia (GSA 16).

Materiali e metodi - I campioni sono stati raccolti mensilmente tra Gennaio e Dicembre del 2006 durante il campionamento biologico dello sbarcato commerciale nello Stretto di Sicilia (modulo H del programma nazionale italiano di raccolta dei dati alieutici - CE 1534/2000). Per ognuna delle categorie commerciali delle specie bersaglio presenti è stata campionata casualmente una cassa di sbarcato (SIBM, 2005). La produzione annuale del gambero rosso (fonte IREPA) è stata ripartita per sesso sulla base della sex ratio in peso osservata nei campioni dello sbarcato, risultando pari a circa 1069 t di femmine e 357 t di maschi. Lo stato di sfruttamento della frazione femminile che rappresenta circa il 75% in peso degli sbarcati è stato valutato mediante l'uso combinato dell'analisi di coorte in lunghezza (LCA) - pacchetto "VIT4WIN" (Leonart e Salat, 2000) e di produzione per recluta (Y/R) - pacchetto "Yield" (Branch *et al.*, 2000). La relazione lunghezza-peso è stata espressa tramite la relazione allometrica, la crescita mediante il modello di von Bertalanffy e la taglia alla maturità sessuale ($L_{50\%}$) tramite ogiva di maturità (Tab. 1). Per la mortalità naturale sono stati utilizzati i valori stimati nel lavoro Ragonese *et al.* (1995), mentre per la mortalità da pesca terminale è stato utilizzato un valore pari ad M (Jones, 1981).

Risultati e conclusioni - Il confronto tra la mortalità da pesca corrente ($F=0,44$) ed i "biological reference points (BRP)" maggiormente accettati mostra una condizione di pesca vicina ai limiti di sicurezza biologica ($F_{max}=0,47$) (Tab. 1 e Fig. 2). Si valuta, inoltre, che una riduzione della mortalità da pesca del 36% ($F_{0,1}=0,28$ e $F_{ssb0,3}=0,29$) (Tab.1 e Fig. 2) consentirebbe di far rientrare la pesca entro condizioni di maggiore redditività e sostenibilità di medio-lungo periodo (Fig. 3).

Tab. 1 - Parametri biologici e principali risultati della LCA e Y/R.

Biological parameters and main results of LCA and Y/R analysis.

Input	Output				
	LCA		Yield		
Produzione in t	1069	R in milioni	94,9	Y/Rc	10,13
L_{∞} inmm	66,94	Z medio	94,9	Y/Rmax	10,49
K	0,44	F medio	0,33	Fmax	0,47
t0	-0,32	F medio(>2,5%)	0,44	Y0.1/R	9,82
a	0,0016	E	0,43	F0,1	0,28
b	2,5956			YSPR 0.3/R	9,92
L50%	42,0			FSPR 0.3	0,29
ig	0,43				
M	0,42				
Fterm	0,42				

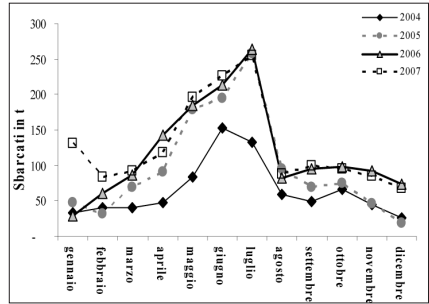


Fig. 1 - Produzione mensile di gambero rosso (*A. foliacea*) nello Stretto di Sicilia (fonte IREPA).

Yield by month of giant red shrimp (*A. foliacea*) in the Strait of Sicily (IREPA source).

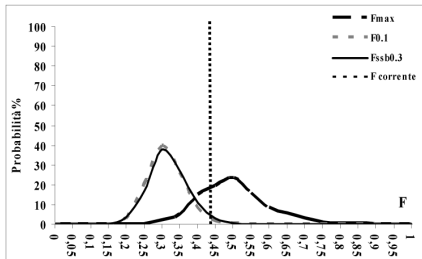


Fig. 2 - Distribuzione di F_{MSY} , $F_{0.1}$ e $F_{SPR,0.3}$ ricavata da 1000 simulazioni del pacchetto Yield. È riportato il valore corrente di F pari a 0,44.

F_{MSY} , $F_{0.1}$ and $F_{SPR,0.3}$ values obtained in 1000 runs of Yield package. The current value of $F = 0,44$ is reported.

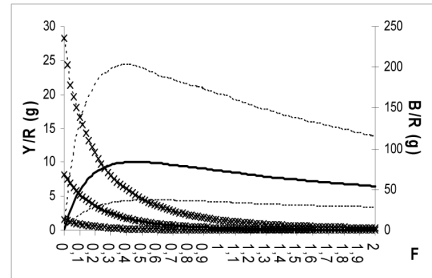


Fig. 3 - Y/R e SSB/R di gambero rosso al variare di F. Sono indicati le curve corrispondenti alla mediana e al maggiore e minore 2,5 percentile.

Y/R and SSB/R analysis of giant red shrimp. Curves at median, upper and lower 2,5 percentiles are shown.

Bibliografia

BRANCH T.A., KIRKWOOD G.P., NICHOLSON S.A., LAWLOR B., ZARA S.J. (2000) - Yield version 1.0, MRAG Ltd, London, U.K.
 JONES R. (1981) – The use of length composition data in fish assessment with notes on VPA and Cohorts analysis. FAO Fisheries Circular n°734.
 LLEONART J., SALAT J. (2000) - Vit4winVersion 1.1. www.faocopemed.org/es/activ/infodif.htm
 RAGONESE S., BIANCHINI L.M., GALLUCCI V.F. (1994) – Growth and mortality of the red shrimp *Aristaeomorpha foliacea* in the Sicilian Channel (Mediterranean Sea). *Crustaceana*, **67** (3): 349-361.
 SAMED (2002) - Stock Assessment in the Mediterranean. European Commission - DG XIV, Project 99/047-Draft final Report.
 SIBM (2005) - Istituzione di un programma di raccolta dati nel settore della pesca. Linee guida Inquadramento generale e metodologie. Società Italiana di Biologia Marina: 101 pp.

I dati sono stati raccolti nell’ambito del programma nazionale italiano per la raccolta dei dati alieutici, modulo H “campionamento biologico dello catture (CAMPBIOL)”, coordinato dalla SIBM e finanziato dal MiPAF - anno 2006.

S. GENOVESE, S. GANCITANO, G. BUSCAINO, G. BUFFA,
A. CUTTITTA, B. PATTI, A. TRAINA, S. MAZZOLA

Istituto Ambiente Marino Costiero – CNR, U.O. di Capo Granitola, Torretta Granitola,
Via del Faro, 3- 91021 Frazione di Campobello di Mazara (TP), Italia.
s.genovese@irma.pa.cnr.it

PRIME OSSERVAZIONI BIOMETRICHE SUI TONNI
(*THUNNUS THYNNUS* L., 1758) CATTURATI
NELLE STAGIONI DI PESCA 2005 E 2006
PRESSO LA TONNARA A RETE FISSA DI FAVIGNANA (SICILIA)

*PRELIMINARY OBSERVATIONS OF BLUEFIN TUNA
(THUNNUS THYNNUS, L., 1758)
CAUGHT BY THE TRAP OF FAVIGNANA (SICILY)*

Abstract - *In this paper we present some ecological and biometrical observations of Bluefin tunas aging between 9 and 15 years caught in the Favignana traditional tuna trap, which is one of the last still-operative tuna net in the Mediterranean.*

Key-words: *Bluefin tuna, Thunnus thynnus, tuna trap, biometry.*

Introduzione - *Thunnus thynnus* è una specie altamente migratoria che vive nelle acque temperate e subtropicali nell’oceano Atlantico e Pacifico, così come nel Bacino Mediterraneo e nel Golfo del Messico, che rappresentano le aree di maggiore spawning (Gibbs *et al.*, 1967; Magnuson *et al.*, 1994; Mather *et al.*, 1960). Ad oggi, la consistente diminuzione degli stock di tonno rosso nel bacino mediterraneo è da attribuire prevalentemente all’ausilio di nuove tecnologie, sistemi di rilevamento elettronico e moderne attività di pesca da parte di marinerie extramediterranee e non che si stanno sostituendo a partire dagli anni 70 alle attività di pesca artigianali. In questo lavoro vengono presentate delle prime osservazioni morfologiche sui tonni catturati nelle stagioni di pesca 2005/06 presso la tonnara a rete fissa di Favignana, al fine di ricostruire le dinamiche ecologiche di questo grande migratore pelagico.

Materiali e metodi - Su ogni individuo sono state opportunamente registrate la lunghezza alla forca e totale al centimetro, peso al grammo, ed infine identificato macroscopicamente il sesso e la maturità sessuale, ed estratto gli otoliti. Su ogni otolite intero è stato acquisito il raggio maggiore (nucleo-rostro), ed inoltre, è stata calcolata l’età attraverso il conteggio delle bande annuali di accrescimento, e infine confermata dalla lettura sulla sezione.

Risultati - Nelle stagioni di pesca 2005/06 sono stati campionati complessivamente 167 individui, di cui 91 nel 2005 e 76 nel 2006. Dalla lettura eseguita sulle sezioni di otoliti si evince che gli individui campionati nel 2005 avevano un’età compresa fra i 3 e i 15 anni con una lunghezza media alla forca di 128,5 cm, e nel 2006 gli individui catturati avevano un’età compresa fra i 3 e i 14 anni con una lunghezza alla forca di 123,25 cm (Fig. 1). Inoltre, è stata calcolata la relazione fra i raggi degli otoliti e le lunghezze alla forca (Fig. 2) al fine di retro calcolare le lunghezze alla forca degli individui campionati.

Conclusioni - L’Iccat (*International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas*) per tutelare la “risorsa tonno” ha “amministrativamente” suddiviso quest’ultima in 2 stock: uno atlantico- occidentale, e uno atlantico- orientale di cui fa parte il bacino mediterraneo (ICCAT,2003). A corroborare la veridicità delle “2 popolazioni” sono stati eseguiti numerosi studi che hanno evidenziato due distinti periodi di maturazione

sessuale a diversa taglia e diverso peso. Infatti, gli individui campionati nell'area atlantica orientale e in Mediterraneo hanno la prima maturazione sessuale a circa 4 anni, mentre quelli che vivono nell'Atlantico occidentale a 8 anni: i primi hanno una misura di 120-130 cm (30-35 kg) e i secondi di 200 cm (150 kg) (Matther, 1995). Considerando che i tonni catturati nelle stagioni di pesca 2005/06 avevano in prevalenza 4 anni, lunghezza alla forca media di 126 centimetri e un peso medio di 36,98 chilogrammi, ed ancora che sono stati catturati nel periodo in cui si riproducono (Corriero *et al.*, 2003), si può dedurre che questi dati sono in accordo con l'ipotesi delle "2 popolazioni".

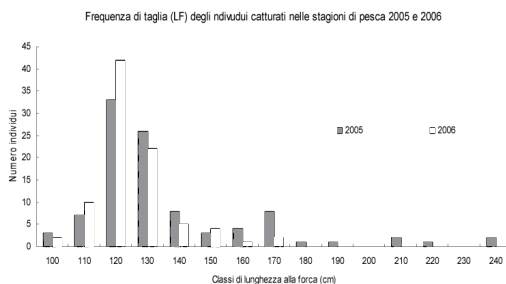


Fig. 1 - Frequenza di taglia (cm) degli campioni catturati nelle stagioni di pesca 2005/06.
Size Frequency of samples caught in 2005/06 season fish.

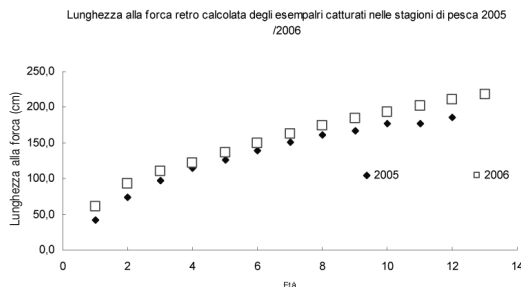


Fig. 2 - Lunghezza alla forca retro-calcolata degli esemplari catturati nelle stagioni di pesca 2005/06.
Length forkback calculated of samples caught in the seasons fish 2005/06.

Bibliografia

- CORRIERO A, DESANTIS S., DEFLORIO M., ACONE F., BRIDGES C.R., DE LA SERNA J.M., MEGALOFONOU P., DE METRIO G. (2003) - Histological investigation on the ovarian cycle of the eastern Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.). *J Fish. Biol.*, **63**: 108-119.
- GIBBS R.H., COLLETTE B.B. (1967) - Comparative anatomy and systematic of the tunas, genus *Thunus*. *Fish. Bull.*, **66**: 65-130.
- BLOCK B.A., DERISO R.B., GOLD J.R., GRANT W.S., QUINN T.J., SAILA S.B., SHAPIRO L., STEVENS E.D. (1994) - *An Assessment of Atlantic Bluefin Tuna*. National Research Council. National Academy Press, Wash. D.C.: 148 pp.
- MATHER F.J., SCHUCK H.A. (1960) - Growth of bluefin of the western North Atlantic. *U.S. Fish Wildl. Serv., Fish. Bull.*, **61**: 39-52.
- ICCAT (2003) - *Report of the Standing on Research and Statistics 2002-2003*. Madrid.
- MATHER F.J., MASON J.M., JONES A.C. (1995) - *Historical document. Life history and fisheries of Atlantic bluefin tuna*. NOAA Technical Memorandum, NMFS, Miami.

D. IRACI SARERI, A. TUDISCO, M. VACCHI*, G. CANTONE

Dipartimento di Biologia Animale "M. La Greca", Università di Catania,
Via Androne, 81 – 95124 Catania, Italia.
diraci@unict.it

*ICRAM, Via Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

VARIABILITÀ DEGLI OCELLI DI *RAJA RADULA* DEL MAR IONIO

'OCELLI PATTERNS' IN IONIAN *RAJA RADULA* SPECIMENS

Abstract - *Raja radula* Delaroche, 1809 (Chondrichthyes: Rajidae) is an endemic Mediterranean skate rather common along the southernmost districts of the sicilian coasts. Authors list and describe the results of the somato-chromatic analysis of the dorsal livery characteristics of 43 juvenile specimens fished at Portopalo di Capo Passero (S-W Ionian Sea) which set five distinct chromatic patterns of ocelli.

Key-words: *Raja radula*, chromatic patterns, Ionian Sea.

Introduzione – *Raja radula* è una delle 8 specie di *Raja* presenti nelle acque mediterranee e, ad oggi, è considerata una specie occasionale o rara nella maggior parte dei distretti del *mare nostrum* anche se risulta essere abbastanza comune lungo le coste più meridionali della Sicilia. La sua biologia è tutt'ora poco nota ed il repentino calo delle abbondanze degli stock di numerose specie di Elasmobranchi registratosi negli ultimi anni (Vacchi e Notarbartolo di Sciarra, 2000) è motivo di recenti studi aventi come obiettivo una migliore conoscenza dell'ecologia di questa specie e la sua caratterizzazione.

Materiali e metodi – Tutti gli esemplari sono stati raccolti nel trimestre maggio-luglio 2005 tramite alcune reti a strascico facenti parte degli usuali mezzi della piccola pesca costiera artigianale ad una profondità compresa tra 4 e 20 metri nelle acque prospicienti la località di Portopalo di Capo Passero (SR). Per acquisire tutte le informazioni necessarie per lo studio è stato seguito il protocollo di lavoro e di schedatura proposto dai Comitati Necton e Pesca Gruppo Nazionale Risorse Demersali (2006). Tutti gli esemplari sono stati fotografati tramite l'ausilio di una macchina digitale Pentax 330×. Alla fase dell'acquisizione dei principali parametri morfometrici ha fatto seguito la caratterizzazione dei contenuti stomacali (Consalvo *et al.*, submitted) e la determinazione della maturità sessuale dei singoli individui.

Risultati - Sono stati raccolti e studiati 43 esemplari di *R. radula* di cui 20 maschi e 23 femmine. Tutti gli individui risultano essere giovani di taglia modesta con una lunghezza totale del disco compresa tra 139 e 380 mm ed una larghezza del disco compresa tra 89 e 250 mm. La schedatura dei *patterns* cromatici rinvenuti ha consentito di mettere in evidenza 5 gruppi di individui che mostravano differenze nei principali motivi ornamentali della livrea dorsale tipicamente caratterizzata dalla presenza di una coppia di ocelli simmetrici dai margini irregolari il cui centro può essere di colore giallo o nero; talvolta sono presenti altri due ocelli, generalmente dal colore più sbiadito, con margine irregolare e nero, e centro giallo. In base ai dati ottenuti è stato possibile stabilire, inoltre, le frequenze relative dei cinque gruppi (Fig. 1).

- Gruppo A: 30 individui, 15 maschi e 15 femmine. I due ocelli, posti a metà del disco, presentano un centro nero circondato da un anello giallastro i cui margini esterni sono delimitati da punti e/o linee nere.
- Gruppo B: 4 individui, 3 femmine e 1 maschio. In questo gruppo, gli ocelli presenti sono quattro, di cui i due più grandi posti a metà del disco sono di

tipo A, mentre quelli posti posteriormente ai primi, più piccoli e più sbiaditi, sono privi del centro nero.

- Gruppo C: 1 individuo femmina. Si caratterizza per avere ocelli asimmetrici e presenti in numero dispari. I due centrali più grandi e più evidenti sono di tipo A; mentre i 3 rimanenti, di cui 1 sull'ala destra e 2 sull'ala sinistra sono riconducibili agli ocelli secondari del gruppo B.
- Gruppo D: 6 individui, 3 maschi e 3 femmine. Si distingue dai precedenti gruppi (A, B e C) per avere ocelli dal centro giallastro bordato da una linea nera non perfettamente continua.
- Gruppo E: 2 individui, 1 maschio e 1 femmina. Gli ocelli sono quattro e divisi in coppie dalle dimensioni diverse; tutti uguali al tipo precedente.

Conclusioni – Dall'investigazione di 43 esemplari giovanili di *R. radula* è emersa una sensibile variabilità riguardante le varietà cromatiche della livrea dorsale di questa specie. I dati ottenuti hanno consentito la distinzione di 5 gruppi in base alle caratteristiche degli ocelli ed il calcolo delle rispettive abbondanze ma non hanno suffragato alcuna correlazione tra i singoli *patterns* e qualche altra caratteristica degli individui quali, per esempio, sesso, lunghezza totale e/o larghezza del disco.

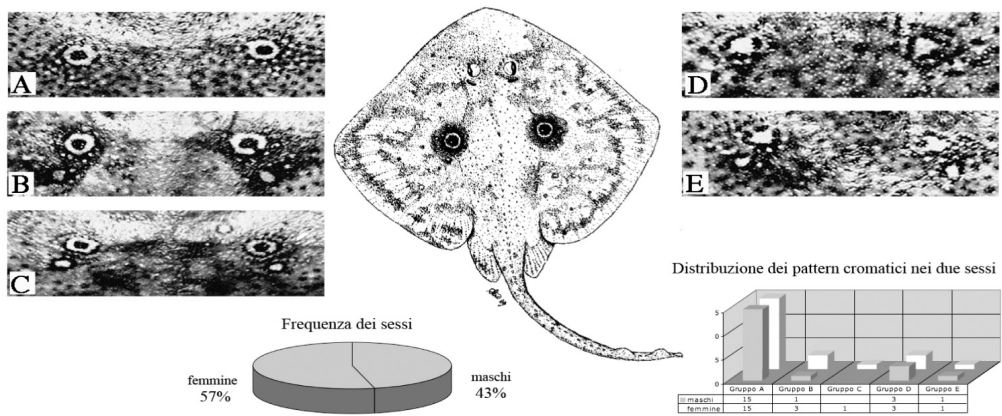


Fig. 1 - Vengono raffigurati la distribuzione dei sessi, i vari *patterns* cromatici e le frequenze relative dei motivi ocellari rilevati sulla livrea dorsale degli esemplari di *Raja radula*.

Distribution of sexes, sets of ocelli patterns and respective frequencies in Raja radula.

Bibliografia

- A.A.V.V. SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA MARINA – COMITATO NECTON E PESCA GRUPPO NAZIONALE RISORSE DEMERSALI (2006) – Standardizzazione delle metodiche di determinazione specifica e valutazione degli stocks delle razze. <http://www.sibm.it/file%20doc/ray.pdf>
- CONSALVO I., IRACI SARERI D., BOTTARO M., TUDISCO A. CANTONE G, VACCHI M. - Preliminary data on diet of juvenile of *Raja radula* Delaroché, 1809 in the Ionian Sea. *Italian Journal of Zoology*, (submitted).
- VACCHI M., NOTARBARTOLO DI SCIARA G. (2000) - I pesci cartilaginei nei mari italiani, una risorsa che richiede urgenti misure di tutela. *Biol. Mar. Mediterr.*, 7: 296-311.

S. LEGOVINI^{1,2}, D. BORME¹, F. TULLI³, A. DE OLAZABAL¹, V. TIRELLI¹

¹Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale, Dipartimento di Oceanografia Biologica,
Via A. Piccard, 54 S. Croce - 34014 Trieste, Italia.
vtirelli@ogs.trieste.it

²Dipartimento di Biologia, Università di Trieste, Via Giorgieri, 10 - 34127 Trieste, Italia.

³Dipartimento di Scienze Animali, Università di Udine, Via S. Mauro, 2 - 33010 Pagnacco (UD), Italia.

RISULTATI PRELIMINARI SUL CONTENUTO ENERGETICO DI *SARDINA PILCHARDUS* NEL GOLFO DI TRIESTE (ADRIATICO SETTENTRIONALE)

PRELIMINARY RESULTS ON THE ENERGY DENSITY OF SARDINA PILCHARDUS IN THE GULF OF TRIESTE (NORTHERN ADRIATIC)

Abstract - *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) were monthly sampled during May-October 2006 in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) in order to estimate their energy density (ED). A highly significant relationship between per cent dry weight (x) and ED (y) ($J g^{-1}$ wet weight) was found: $y=375.2x-4189.9$ ($n=50$ $r^2=0.97$ $p<0.001$).

Key-words: *Sardine, energy content, dry weight.*

Introduzione - La densità energetica di predatori e prede è un dato fondamentale per stabilire le relazioni bioenergetiche dei pesci ed in particolare risulta indispensabile per l'applicazione di modelli bioenergetici all'ecologia e alla gestione della pesca. Il contenuto energetico dei pesci si modifica con l'ontogenesi, la stagione, la distribuzione geografica e il contenuto d'acqua del corpo (Hislop *et al.*, 1991; Arrhenius, 1998; Paul e Paul, 1999; Tirelli *et al.*, 2006). Hartman e Brandt (1995) hanno presentato una serie di modelli generali che permettono di risalire alla densità energetica di diverse specie, famiglie ed ordini di pesci, conoscendone il peso secco percentuale, risparmiando quindi tempo e costi d'analisi. Tali modelli diminuiscono d'affidabilità ove applicati a livelli superiori alla specie. Questo lavoro è stato dedicato alla valutazione della densità energetica di *Sardina pilchardus*, sinora mai studiata.

Materiali e metodi - I campioni di sardina analizzati sono relativi al periodo maggio-ottobre 2006, ad esclusione del mese di agosto in cui non è stato possibile effettuare il campionamento. I campioni di pesce congelati sono stati immediatamente congelati a -20 °C in acqua di mare fino alle analisi successive. Per ogni pesce è stata rilevata la lunghezza totale ($LT \pm 0.1$ mm) e il peso umido (± 0.1 g). In seguito i pesci sono stati essiccati a 70 °C per 48 h (Hartman e Brandt, 1995) e pesati per calcolare la percentuale di sostanza secca ($SS\% = [\text{peso dopo essiccazione} / \text{Peso umido}] * 100$). La determinazione del contenuto energetico è stata realizzata mediante calorimetro adiabatico (Ika C7000, Ika Werke GMBH & Co. KG, Stanfen, Germania). Ogni campione è stato analizzato in doppio. Su un subcampione di almeno 10 pesci per ogni data di campionamento è stato rilevato individualmente il peso del grasso presente nella cavità addominale e delle gonadi con cui sono stati calcolati i relativi indici:

indice del grasso mesenterico (IGM %) = (peso grasso periviscerale / peso totale) * 100

indice gonadosomatico (IGS %) = (peso gonadi / peso totale) * 100.

Risultati - Il contenuto energetico è stato misurato su un totale di 50 sardine. Le sardine analizzate avevano una lunghezza compresa tra 140 e 208 mm e un peso compreso tra 23.1 e 65.8 g. Il contenuto energetico delle sardine è variato da un minimo di 4054.31 J/g ad un massimo di 13058.55 J/g. Sulla base dei dati ottenuti è stato calcolato un modello di regressione lineare utilizzando la densità energetico (DE) come varia-

bile dipendente e la percentuale di sostanza secca (SS%) come variabile indipendente.

La relazione così ottenuta è espressa dalla seguente equazione:

$$DE = 375.2 \text{ SS} \% - 4189.9 \quad (n=50; r^2=0.97; p<0.001)$$

Osservando i valori medi mensili di densità energetica, si nota come questa aumenti nel corso dell'estate da un minimo di 6811.15 J/g misurato nel mese maggio ad un massimo di 9909.12 J/g ottenuto per le sardine catturate in luglio, mentre diminuisce nuovamente alla fine di ottobre (6452.2 J/g). Le variazioni di DE osservate hanno corrisposto alla variabilità delle masse adipose ritrovate nella cavità addominale rapportate al peso umido del pesce, mentre si sono contrapposte specularmente a quella dell'indice gonado-somatico (Fig. 1).

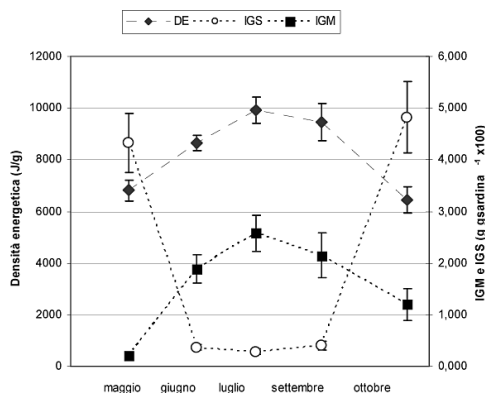


Fig. 1 - Densità energetica, indice gonadosomatico ed indice grasso mesenterico di *S. pilchardus*.
Energy density, gonadosomatic index and mesenteric fat index of *S. pilchardus*.

Conclusioni - In questo studio è stata misurata per la prima volta la densità energetica di sardina nell'Adriatico settentrionale. I risultati ottenuti hanno permesso di individuare un modello lineare altamente significativo tra il contenuto energetico di sardina ed la percentuale di sostanza secca. Sebbene i risultati presentati siano solo preliminari, il confronto tra l'andamento mensile della densità energetica, l'indice gonadosomatico e la quantità di grasso periviscerale sembra confermare che questa specie nel periodo estivo trovi nel Golfo di Trieste un'area di foraggiamento dove accumulare riserve in previsione della futura stagione riproduttiva invernale.

Bibliografia

- ARRHENIUS F. (1998) - Food intake and seasonal changes in energy content of young Baltic Sea sprat (*Sprattus sprattus* L.). *ICES J. Mar. Sc.*, **55**: 319-324.
- HARTMAN K.J., BRANDT S.B. (1995) - Estimating energy density of fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **124**: 347-355.
- HISLOP J.R.G., HARRIS M.P., SMITH J.G.M. (1991) - Variations in calorific value and total energy content of the lesser sandeel (*Ammodytes marinus*) and other fish preyed on by seabirds. *J. Zool.*, London, **224**: 501-517.
- PAUL A.J., PAUL J.M. (1999) - Interannual and regional variations in body length, weight and energy content of age-0 Pacific herring from Prince William Sound, Alaska. *J. Fish Biol.*, **54**: 996-1001.
- TIRELLI V., BORME D., TULLI F., CIGAR M., FONDA UMANI S., BRANDT S.B. (2006) - Energy density of anchovy *engraulis encrasicolus* L. in the Adriatic Sea. *J. Fish Biol.*, **68**: 982-989.

Le sardine analizzate in questo studio sono state ottenute durante i campionamenti condotti nell'ambito del progetto EcoMADR (Progetto INTERREG IIIA Italia-Slovenia).

A. LIGAS, P. BELCARI, D. BERTOLINI, D. MICHELI, B. REALE*, P. SARTOR*

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Via A. Volta, 6 - 56126 Pisa, Italia.
ligas@discat.unipi.it

*Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata, Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.

ANALISI DI SERIE TEMPORALI DI SBARCATO COMMERCIALE NEL MAR TIRRENO SETTENTRIONALE

ANALYSIS OF TIME SERIES OF COMMERCIAL LANDINGS IN THE NORTHERN TYRRHENIAN SEA

Abstract – *Time series of landings per unit effort of five demersal species (Merluccius merluccius, Mullus barbatus, Eledone cirrhosa, Nephrops norvegicus, Parapenaeus longirostris) were analysed using Min/Max Autocorrelation Factor Analysis (MAFA). The data come from the monitoring activity carried out at the auction of Porto Santo Stefano (GR), from 1991 to 2006. The effects of some environmental variables and fishing effort indices on the trends shown by the species were evaluated.*

Key-words: *time series, landing statistics, autocorrelation, Tyrrhenian Sea.*

Introduzione - L'analisi dei dati di sbarcato commerciale fornisce stime di abbondanza relativa, di struttura demografica, di reclutamento delle risorse sfruttate dalla pesca, sebbene tali stime siano influenzate dalla distribuzione spaziale dello sforzo di pesca, dalla selettività degli attrezzi e dalle pratiche di scarto (Sartor *et al.*, 2006). Disporre di serie storiche di dati di sbarcato consente di analizzare la dinamica delle popolazioni sfruttate (Zuur e Pierce, 2004) e di produrre previsioni sulla futura evoluzione degli stock (Abella *et al.*, 2006). Nel presente lavoro è stata analizzata la serie storica dei dati di sbarcato di Porto Santo Stefano (GR), il principale porto peschereccio nel Mar Tirreno Settentrionale; le dinamiche osservate sono state messe in relazione con parametri abiotici e con indici di attività e di capacità di pesca.

Materiali e metodi - Serie storiche di dati di sbarcato (kg/giorno/barca) sono state ottenute attraverso il monitoraggio (3 osservazioni al mese) svolto presso il mercato ittico di Porto Santo Stefano dal 1991 al 2006. Sono stati utilizzati i dati di cinque specie demersali: *Merluccius merluccius*, *Mullus barbatus*, *Eledone cirrhosa*, *Nephrops norvegicus* e *Parapenaeus longirostris*. Come indice di attività di pesca è stato scelto il numero di giornate mensili effettuate dalla flottiglia a strascico, come indice di capacità la stazza lorda media per barca e per mese. Le serie storiche di valori mensili di temperatura superficiale del Mar Tirreno Settentrionale (°C) e di velocità del vento ($m s^{-1}$) sono state acquisite dagli archivi NASA e NOAA (<http://podaac.jpl.nasa.gov/index.html> e <http://www.pfeg.noaa.gov/>). Le serie temporali sono state analizzate attraverso la funzione di autocorrelazione per valutare la presenza di componenti stagionali. Tali componenti sono state, quindi, rimosse attraverso la funzione di decomposizione stagionale di Loess. Le serie temporali sono state quindi analizzate usando la Min/Max Autocorrelation Factor Analysis (MAFA) (Solow, 1994) effettuata dal programma Brodgar 2.5.1. Questa tecnica ha permesso di evidenziare la presenza di tendenze comuni all'interno del set multiplo di dati costituito dalle serie temporali delle cinque specie. Le cross-correlazioni tra le serie temporali, comprese quelle delle variabili abiotiche e degli indici di sforzo di pesca, e le tendenze generali stimate con MAFA sono state calcolate ed utilizzate per misurare la significatività delle relazioni (Erzini *et al.*, 2005).

Risultati e conclusioni - In Fig. 1 sono mostrati i due Assi principali di tendenza estrapolati dal set di serie temporali. Al primo Asse, con evidente tendenza all'au-

mento, si correlano significativamente le serie temporali di triglia di fango, moscardino e gambero rosa. Le serie di nasello e scampo si correlano al secondo Asse, caratterizzato da due ampie fluttuazioni. Il primo Asse è correlato negativamente con il numero di giornate di pesca mensili e con il vento. Quindi, una riduzione di questi parametri determina un aumento delle catture per unità di sforzo. La serie temporale relativa alla stazza lorda si correla al secondo Asse. La temperatura superficiale non mostra correlazioni significative. Dai risultati ottenuti si ricava che la riduzione dell'attività di pesca, dovuta al consistente assottigliamento della flottiglia a strascico di Porto Santo Stefano, ha determinato una ripresa delle catture di tre delle cinque specie considerate. La riduzione dei fenomeni eolici registrata nel Mar Tirreno Settentrionale potrebbe aver determinato una riduzione del movimento delle masse di acqua: la conseguente persistenza dei nutrienti potrebbe aver favorito il reclutamento di alcune specie demersali (Bartolino *et al.*, 2008).

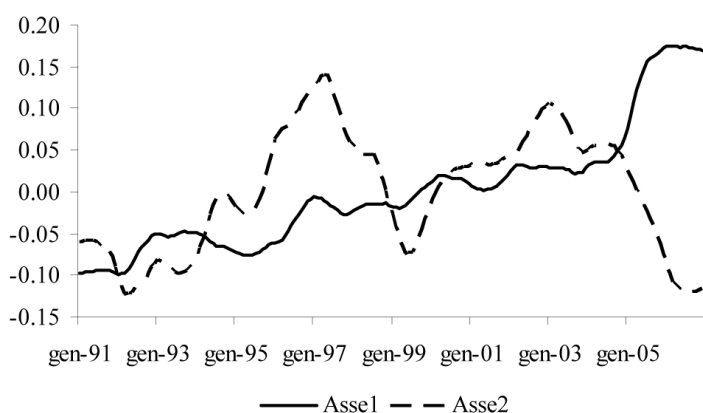


Fig. 1 - Assi stimati attraverso MAFA.

MAFA axes.

Bibliografia

- ABELLA A., RIA M., RUSTIGHI C., CECCHI E., SERENA F. (2006) – Time series analysis of commercial landings of five species in the port of Viareggio. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 19-29.
- BARTOLINO V., COLLOCA F., SARTOR P., ARDIZZONE G.D. (2008) – Modelling recruitment dynamics of hake, *Merluccius merluccius*, in the central Mediterranean in relation to key environmental variables. *Fish. Res.*, (in stampa).
- ERZINI K., INEJIH C.A.O., STOBBERUP K.A. (2005) – An application of two techniques for the analysis of short, multivariate non-stationary time-series of Mauritanian trawl survey data. *ICES J. Mar. Sci.*, **62** (3): 353-359.
- SARTOR P., ABELLA A., DE RANIERI S., LIGAS A., MANCUSI C., REALE B., RIA M. (2006) – Comparison of time series of landings per unit effort regarding commercial species exploited by two trawling fleets in Tuscany. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 167-177.
- SOLOW A.R. (1994) – Detecting changes in the composition of a multispecies community. *Biometrics*, **50**: 556-565.
- ZUUR A.F., PIERCE G.J. (2004) – Common trends in Northeast Atlantic squid time series. *Journal of Sea Research*, **52**: 57-72.

A. LUCCHETTI, V. PALUMBO, B. ANTOLINI, M. AFFRONTI¹, S. CLÒ², A. SALA

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) – Istituto di Scienze Marine (ISMAR), Sede di Ancona
Largo Fiera della Pesca – 60125 Ancona, Italia.

a.lucchetti@ismar.cnr.it

¹Fondazione Cetacea ONLUS, Riccione (RN), Italia.

²CTS – Ambiente, Roma, Italia.

REDUCTION OF LOGGERHEAD TURTLE (*CARETTA CARETTA*) BYCATCH IN MEDITERRANEAN BOTTOM TRAWL FISHERIES

RIDUZIONE DEL BYCATCH DI TARTARUGHE MARINE (CARETTA CARETTA) NELLA PESCA A STRASCICO MEDITERRANEA

Abstract - We investigated the effect of TED design on loggerhead turtle (*Caretta caretta*) bycatch of bottom trawl fisheries, frequently captured in the Adriatic fisheries. For each TED types, bycatch and debris reduction as well as commercial species losses were evaluated. The last two TED designs demonstrated to reduce debris and therefore fish quality. This also would imply reduction of additional sorting operations on board, increasing time and costs. We believe that TEDs can be properly proposed as management tool for the conservation of marine turtle population in the Italian Seas.

Key-words: Turtle Excluder Device, Mediterranean trawl fisheries, *Caretta caretta*, sea turtle, bycatch.

Introduction – Fishing-induced mortality is considered a major threat to sea turtle populations worldwide (Tudela, 2000). The Barcelona Convention adopted an Action Plan for the Conservation of Mediterranean Marine Turtles in 1989, acknowledging that trawl catches are the most serious threat to the sea turtles. It is estimated that more than 60000 turtles are incidentally caught annually as a result of the fishing practices (Tudela, 2000). Traditionally surface longline targeting swordfish, bluefin tuna and albacore is considered as the main responsible for loggerhead turtle (*Caretta caretta*) bycatch, mainly in the western and central Mediterranean Sea (Camiñas and de la Serna, 1995). Nevertheless, in the last years a growing number of sea turtles are accidentally caught by bottom trawlers in the Adriatic Sea and in the Gulf of Gabés in Tunisia. Casale *et al.* (2004) estimated that in the Adriatic Sea more than 4000 turtles per year are caught. This area is considered for its shallow waters (<100 m) and rich benthic communities as of the most important foraging areas in the whole Mediterranean for the adults and juveniles loggerheads during their demersal life phase. Few unofficial observations report that most of the incidental catches occur in late winter and spring. When captured by a trawl net, turtles may drown, becoming first comatose and eventually dying. One of the most important management measures to protect sea turtle, especially of the juveniles and subadult size class, is the use of Turtle Excluder Devices (TEDs). TEDs are actually widely employed in several areas of the World but no experiences are available for Italian waters. There are a variety of hard TED designs but generally it is very difficult to introduce new technical solutions if the economic losses are considerable.

Materials and methods – The current study has been carried out with financial support from the Commission of the European Communities, Project Life-Natura “*Tartanet*”. We projected and tested at sea five different types of low-cost TEDs. The first type of TED (TED1) was an oval rigid grid made of aluminium with removable bars. TED1 was developed with removable and adjustable bars. The second type was a semi-rigid grid (TED2), which was made of mixed cable (steel and polyethylene). The third type (TED3) was made of steel and rubber with the main characteristic to be flexible and resistant. TED3 has a single external hoop used to strength the TED

frame and to maintain the TED at a determinate angle. The hoop and the deflector grid were sewn to the trawl extension in order to “fix” the angle of the TED in the trawl. The angle at which the TED operates during tow (usually between 30-55° with the towing direction) is an important factor in preventing fish loss. The fourth type (TED4) was a typical Super-Shooter grid made of aluminium. Three fishing trips were performed between April 2007 and March 2008 in order to assess the efficacy of the different TED types.

Results – TED1 gave the worst results because it was very weak and the catch of big amount of debris (mainly stones) caused the breaking of the grid. TED2 was effective in reducing the Debris but it was not satisfying because the grid allowed the escape of many commercial species, therefore not enforceable for commercial fishing. TED3 was more efficient because allowed to avoid the catch of big quantity of debris (plastic materials, wood, stones etc). This greatly affected the fish quality of the catch in respect to the traditional codend catch. Moreover the losses of commercial species were negligible. Finally TED3 proved to be efficient in avoiding the catch of sea turtle. A simulation with a small container 40×40 cm was done and a carapace of a died turtle were ejected from the trawl. Finally a Super-Shooter TED was tested, it resulted efficient in reducing the debris in most of the hauls but it was very difficult to set the correct angle of the grid into the net.

Conclusions – Some authors (Casale *et al.*, 2004; Laurent *et al.*, 1996) believe that “...the TEDs available at present are probably not a realistic solution for reducing turtle bycatch in the Mediterranean, because they are designed for the shrimp trawl fishery and they would exclude the larger commercial specimens too...”. Nevertheless the foregoing, commercial fishermen are very keen in testing this solution. In fact TEDs demonstrated to reduce debris and therefore fish quality. This also would imply reduction of additional sorting operations on board, increasing time and costs. We believe that TEDs can be properly proposed as management tool for the conservation of marine turtle population in the Italian Seas.

References

- CAMIÑAS J.A., DE LA SERNA J.M. (1995) - The loggerhead distribution in the western Mediterranean Sea as deduced from captures by the Spanish long line fishery. *Scientia Herpetologica*, **1995**: 316-323.
- CASALE P., LAURENT L., DEMETRIO G. (2004) - Incidental capture of marine turtles by the Italian trawl fishery in the north Adriatic Sea. *Biol. Conserv.*, **119**: 287-295.
- LAURENT L., ABD EL-MAWLA E.M., BRADAI M.N., DEMIRAYAK F., ORUC A. (1996) - Reducing sea turtle mortality induced by Mediterranean fisheries: trawling activity in Egypt, Tunisia and Turkey. Report for the WWF International Mediterranean Programme. WWF Project 9E0103: 32 pp.
- TUDELA S. (2000) - Ecosystem effects of fishing in the Mediterranean: an analysis of the major threats of fishing gear and practices to biodiversity and marine habitats. FAO Project for the preparation of a Strategic Action Plan for the conservation of biological biodiversity in the Mediterranean region: 45 pp.

A. LUCCHETTI, V. PALUMBO, F. PERDICHIZZI*, P. RINELLI*, A. SALA

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Scienze Marine (ISMAR), Sede di Ancona
Largo Fiera della Pesca – 60125 Ancona, Italia.
a.sala@ismar.cnr.it

*CNR-IAMC, Sede di Messina, Italia.

EC REG. 1967/2006: IS SQUARE-MESH BETTER SELECTIVE THAN LARGER MESH-SIZE? COMPARATIVE EXPERIMENT IN SICILIAN TRAWL FISHERIES

EC REG. 1967/2006: LA MAGLIA QUADRA HA UNA MIGLIORE SELETTIVITÀ DI UNA MAGLIA A LOSANGA DI MAGGIORI DIMENSIONI? ESPERIMENTI COMPARATIVI NELLA PESCA A STRASCICO SICILIANA

Abstract - We investigated the effect of mesh configuration and mesh size on the codend selectivity of the species *Aristaeomorpha foliacea* and *Mullus barbatus*, commonly captured in the Sicilian trawl fisheries. For each mesh configuration, square- and diamond-mesh, two nominal mesh sizes of 44 mm and 54 mm were tested. For both the species, the mesh configuration plays a role which is as important as mesh size.

Key-words: codend selectivity, Sicilian trawl fisheries, diamond-mesh, square-mesh.

Introduction – Sicilian trawl fisheries are noteworthy for the large number and variety of commercially important species caught. Sicilian trawl fisheries traditionally operate using small diamond-shape meshes in the codend, which tend to retain almost all animals. At the moment, in Italy the MMS (Minimum Mesh Size) of trawl codends is 40 mm (EC Reg. 1967, 2006), resulting in the capture of many fish below the MLS (Minimum Landing Size). Improving trawl net selectivity is therefore of prime importance. Relatively little scientific work has been done to assess the selectivity of square-mesh codends in the highly variable multi-species conditions prevailing in the Sicilian trawl fisheries. This study was undertaken to analyse the effect, according to Fryer (1991), of inserting square-mesh and larger diamond-mesh codends in a commercial Sicilian trawl, on selectivity of two commercially important species.

Materials and methods – The gear employed in the sea trials was a typical Sicilian commercial trawl net. Using netting having meshes with ca. 44 and 54 mm nominal opening, two diamond- (DM44 and DM54) and two square-mesh codends (SM44 and SM54) were made. Selectivity trials were conducted on the commercial vessel “*Papà Carmelo*”. Sea trials were conducted on two different fishing grounds of the South Tyrrhenian normally exploited by local fishermen. The haul-by-haul maximum likelihood estimation of the selectivity parameters for individual hauls was carried out using the software CC2000 (Constat, 1995). Models, incorporating between-haul variation, were estimated using the software EModeller (Constat, 1995) which implements the methodology proposed by Fryer (1991).

Results – To deal with the multi-species characteristics of the Sicilian fishery, the comparison focused on the main commercial species of this area. In the current studies, information from the seasonal trawl surveys carried out along the Italian coasts (Ardizzone and Corsi, 1997) have been used to identify locations and times with sufficient animals so that a between haul analysis of the selectivity of the main commercial species could be carried out (Fryer, 1991). Overall, 29 valid hauls were performed in the first cruise and 28 in the second. The data analysed in this study were obtained

in the course of two different cruises, but the selectivity results for each species were derived only from one or the other within the same area. The collected data allowed analysis of the selection characteristics for deep water red shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) and red mullet (*Mullus barbatus*). For both the species, the L50 estimates, according to Fryer's model (1991), demonstrate a highly significant ($p < 0.001$) change both with the use of square-mesh and mesh size increase. The DM44 codend had very poor selectivity and did not provide sufficient length classes in particular hauls and/or a sufficient number of fish both retained and released; therefore, some of these hauls have been discarded. Red mullet (*M. barbatus*) was the most abundant fish species and, for several hauls, the catch was more than 70% of the total catch weight. In the Mediterranean Sea, red mullet is subject to an MLS of 11 cm (EC Reg. 1967, 2006). L50 increased of 55% and only 33% with the use of square-mesh and larger mesh size respectively (DM44: 8.21 cm; SM44: 13.30 cm; DM54: 11.36 cm; SM54: 16.91 cm). Only mesh size had a significant effect on SR ($p < 0.001$) and changing from 44 mm to 54 mm increased SR from around 1.56 cm to 3.25 mm. In the Mediterranean Sea, deep water red shrimp (*A. foliacea*) is not subject to any MLS and may always be landed legally. Similar L50s were obtained with DM54 and SM44 (about 21 mm) and around 40% lower SR was estimated with the use of square-mesh.

Conclusions – In the current experiment we have tested four codends with two different mesh sizes across two mesh configurations, therefore mesh size and mesh configuration were included as explanatory variables in the statistical analysis. For this reason we can discuss on the advantage/disadvantage of using a for example 40-mm square-mesh codend instead of 50-mm diamond-mesh codends as requested in the new Council Regulation (EC) No 1967/2006. From the literature we know that the increase in mesh size produces both an increment in L50 and an unwanted increment in SR. The results attained in the present study allow to inference that the use of 44 mm square-mesh codend (SM44) results in a similar L50 of the 54 mm diamond-mesh codend and with a better SR. In agreement with other studies (Ordines *et al.*, 2006; Sala *et al.*, 2008), we confirm that the species analysed, make the best use of the square-mesh opening, either because of their body shape or because of forcing the mesh to penetrate their body through.

In conclusion, enforcement of installation of square-mesh codends in Mediterranean demersal trawl fisheries can be a suitable technical solution to decrease the capture of immature individuals.

References

- ARDIZZONE G.D., CORSI F. (1997) – Atlas of Italian demersal Fishery resources trawl surveys. *Biol. Mar. Mediterr.*, **4** (2): 568 pp.
- CONSTAT (1995) – CC selectivity (<http://www.constat.dk>). Granspaettevej 10, DK-9800 Hjøllaring, Denmark.
- FRYER R.J. (1991) – A model of between-haul variation in selectivity. *ICES J. Mar. Sci.*, **48**: 281-290.
- ORDINES F., MASSUTÍ E., GUIJARRO B., MAS R. (2006) – Diamond vs. square mesh codend in a multi-species trawl fishery of the western Mediterranean: effects on catch composition, yield, size selectivity and discards. *Aquat. Living Resour.*, **19**: 329-338.
- SALA A., LUCCHETTI A., PICCINETTI C., FERRETTI M. (2008) – Size selection by diamond- and square-mesh codends in multi-species Mediterranean demersal trawl fisheries. *Fish. Res.*, dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2008.02.003

S. MONTANINI^{1,2}, M. STAGIONI^{1,2}, M. VALLISNERI¹

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna,
Via Selmi, 3 – 40126 Bologna, Italia.
maria.vallisneri@unibo.it

²Lab. Biologia Marina e Pesca Fano (PU), Università di Bologna, Italia.

NOTE SULLA BIOLOGIA DI *CHELIDONICHTHYS LUCERNUS* (TELEOSTEI: TRIGLIDAE) NELL'ALTO-MEDIO ADRIATICO

NOTES ON THE BIOLOGY OF *CHELIDONICHTHYS LUCERNUS* (TELEOSTEI: TRIGLIDAE) IN THE NORTHERN-MIDDLE ADRIATIC SEA

Abstract – A total of 1.114 specimens of *Chelidonichthys lucernus* (*tub gurnard*) were collected in the Northern-Middle Adriatic sea during trawl surveys carried out between May 2005 and March 2007. Length-frequency distribution, length at first sexual maturity, spawning season, stomachs contents were investigated.

Key-words: *tub gurnard*, *Chelidonichthys lucernus*, growth, reproduction, feeding habits, Adriatic sea.

Introduzione - *Chelidonichthys lucernus* (L., 1758), denominata volgarmente gallinella o cappone, è una specie demersale ampiamente distribuita in tutto il Mediterraneo su fondali sabbiosi entro i 200 m di profondità. Il ciclo vitale è stato poco indagato, pur rappresentando la specie di triglide più importante per la pesca nei mari italiani (Serena *et al.*, 1998; Relini *et al.*, 1999; Ceriola *et al.*, 2004). Obiettivo del lavoro consiste nell'ampliamento delle conoscenze relativamente ad Alto e Medio Adriatico attraverso la stima dei principali parametri biologici quali accrescimento, riproduzione e dieta.

Materiali e metodi - Lungo le coste dell'Alto-Medio Adriatico fra il golfo di Trieste e la congiungente Gargano - Dubrovnik, nel corso di campagne di pesca a strascico MEDITS e GRUND 2005-2007 (circa 500 campionamenti di cui 228 positivi) si sono raccolti campioni di *C. lucernus* a profondità comprese tra 10 e 260 m. Sul totale di 1.114 esemplari sono state condotte le analisi biometriche: lunghezza totale (mm), peso totale (g), sesso, maturità gonadica macroscopica secondo la scala a 7 stadi (Ungaro, 2006). Gli stomaci sono stati immediatamente rimossi e ne è stato valutato il grado di riempimento; le prede, identificate fino al livello di specie quando possibile, sono state contate e pesate. I dati sono stati opportunamente analizzati graficamente e statisticamente, mediante la valutazione di: frequenza di distribuzione della lunghezza; taglia di prima maturità sessuale (al 50% degli individui); stagione riproduttiva; contenuto stomacale quali-quantitativo.

Risultati - La distribuzione della frequenza di lunghezza si articola su due principali coorti in un range di 63-415 mm: la prima coorte comprende le giovani reclute (mediana 128 mm) più frequenti in estate e vicino costa; la seconda, individui adulti di media e grossa taglia (mediana 238 mm), più frequenti d'inverno ed a profondità maggiori, in accordo con Serena *et al.* (1998) nel Tirreno. Le femmine raggiungono taglie maggiori (415 mm contro 342 mm dei maschi), in accordo con la letteratura (Ismen *et al.*, 2004; Ilhan e Togulga, 2007-Turchia). Il profilo di variazione relativo alla maturità sessuale mostra una dicotomia tra i sessi attorno a 180 mm ed il raggiungimento della taglia di maturità (al 50% degli individui) a circa 220 mm per i maschi e 270 mm per le femmine. Il risultato è in accordo con quello ottenuto nel Mediterraneo sud est (Ismen *et al.*, 2004; Ilhan e Togulga, 2007-Turchia), circa il raggiungimento della

maturità a taglie minori nei maschi, mentre si differenzia nella taglia di prima maturità, più alta in Adriatico. Il periodo riproduttivo appare compreso fra Dicembre e Febbraio, risultando sovrapponibile rispetto a quello riscontrato in Turchia dagli Autori suddetti. Tali differenze sono correlabili al gradiente geografico ed alle relative condizioni ambientali del Mediterraneo. L'alimento preferito a tutte le taglie è costituito da Crustacea (89,5 % in numero e 58% in peso) e Teleostea (6,9% in numero e 40,2% in peso). La dieta si modifica durante la crescita, in particolare a ridosso dei 180 mm, sia quantitativamente, con la cattura di prede di dimensioni crescenti e la conseguente riduzione del numero, che qualitativamente con l'aumento della componente ittica, in accordo con la letteratura (Serena *et al.*, 1998-Tirreno; Ceriola *et al.*, 2004-Sud Adriatico).

Conclusioni - Lo studio della biologia di *Chelidonichthys lucernus* in Alto-Medio Adriatico ha evidenziato che a circa 180 mm di taglia, hanno luogo: 1) la differenziazione sessuale (valutata macroscopicamente): 2) la discesa a maggiori profondità e l'allontanamento dalle coste italiane verso quelle croate e 3) il cambiamento nella composizione della dieta.

Bibliografia

- CERIOLA L., MARANO C.A., MARTINO M., MARZANO N., UNGARO N. (2004) - Informazioni preliminari sull'accrescimento di *Trigla lucerna* Linnaeus, 1758 nell'Adriatico Meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 163-165.
- COLLOCA F., ARDIZZONE G.D., GRAVINA M.F. (1994) - Trophic ecology of gurnards (Pisces: Triglidae) in the Central Mediterranean Sea. *Marine Life*, **4**: 45-57.
- ILHAN D., TOGULGA M. (2007) - Age, growth and reproduction of tub gurnard *Chelidonichthys lucernus* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Triglidae) from Izmir Bay, Aegean Sea, Eastern Mediterranean. *Acta Adriat.*, **48** (2): 173-184.
- ISMEN A., ISMEN P., BASUSTA N. (2004) - Age, growth and reproduction of Tub Gurnard (*Chelidonichthys lucerna* L. 1758) in the Bay of Iskenderun in the Eastern Mediterranean. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **28**: 289-295.
- RELINI G., BERTRNAD J., ZAMBONI A. (1999) - Synthesis of the knowledge on Bottom Fishery Resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (1): 470-474.
- SERENA F., VOLIANI A., AUTERI R. (1998) - Nursery areas and some biological information of tub gurnard (*Trigla lucerna* L., 1758) off Tuscany coasts (Italy). *Rapp. Comm. Int. Mer. Mediterr.*, **35**: 482-483.
- UNGARO N., CERIOLA L., MARANO C.A., OSMANI K., MANNINI P. (2006) - On the suitability of some indicators from trawl surveys data. Mediterranean geographical sub-area n.18. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (3): 137-151.

E. NOBILE, L. LANTERI, A. MANNINI, E. BECCORNIA, G. RELINI

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.
biolmar@unige.it

ACCRESIMENTO DI DUE SPECIE DI *TRACHURUS* IN MAR LIGURE

GROWTH OF TWO SPECIES OF TRACHURUS IN THE LIGURIAN SEA

Abstract – The age and growth of two horse mackerel species, *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) and *T. mediterraneus* (Steindachner, 1868), caught in the Ligurian Sea were studied. Annual increments observed in the otoliths, were used for age estimation. The Von Bertalanffy parameters were: $L_{\infty}=41$; $k=0,18$; $t_0=-1,56$ in *T. trachurus* and $L_{\infty}=37$; $k=0,21$; $t_0=-0,19$ in *T. mediterraneus*. The maximum age estimated were seven years in *T. trachurus* and ten years in *T. mediterraneus*.

Key-words: *Trachurus trachurus*, *Trachurus mediterraneus*, growth, Mediterranean Sea.

Introduzione - Delle tre specie di sugarelli presenti in Mar Ligure, *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758), *T. mediterraneus* (Steindachner, 1868) e *T. picturatus* (Bowdich, 1825), le prime due sono frequenti nelle peschate dello strascico, anche se rappresentate da giovanili catturati entro i 100-150 metri di profondità. Nella presente nota, sulla scorta dei campioni prelevati con lo strascico, vengono forniti alcuni dati sull'accrescimento e l'età di *T. trachurus* e *T. mediterraneus*.

Materiali e metodi - Il materiale utilizzato per le distribuzioni lunghezza/frequenza proveniva soprattutto dalle campagne Medits (1994-2006), mentre gli otoliti provenivano anche da Grund e Campbiol (2005-06). Sono stati esaminati 137 otoliti di *T. trachurus* e 98 di *T. mediterraneus*. È stato considerato che l'insieme di una coppia di bande, ialina ed opaca, corrisponda ad un anno di età. Per ogni otolite è stata misurata, allo stereomicroscopio, la lunghezza e larghezza. Per la scomposizione delle distribuzioni lunghezza-frequenza e la stima dei parametri di crescita dell'equazione di Von Bertalanffy (L_{∞} , k e t_0) è stato utilizzato il software FISAT (Gayaniolo *et al.*, 1996).

Risultati - Dalle misurazioni di lunghezza e di larghezza degli otoliti, si è osservato che in generale le dimensioni dell'otolite crescono proporzionalmente all'aumentare della taglia. Tuttavia, analizzando i grafici che mettono in relazione la lunghezza totale (LT) con la larghezza dell'otolite, si osserva un andamento diverso per le due specie. In *T. trachurus*, la larghezza degli otoliti risulta minore rispetto a quella degli esemplari di *T. mediterraneus*, fino ad una taglia di 25-26 centimetri (LT). Superata questa taglia, mentre gli otoliti di *T. trachurus* continuano a crescere in larghezza, quelli di *T. mediterraneus* sembrano ridursi o quantomeno stabilizzarsi. Anche per la lunghezza dell'otolite, sebbene in maniera meno accentuata, negli esemplari di taglia maggiore di *T. mediterraneus* è stata riscontrata una crescita minore. Per costruire una chiave taglia età è stato necessario attribuire una data di nascita ipotetica agli individui delle due specie. Per il *T. trachurus*, è stato scelto arbitrariamente il primo gennaio, la specie, infatti, pur riproducendosi durante tutto l'anno (multispawner), ha la sua massima attività riproduttiva tra l'inverno e l'inizio della primavera (Relini *et al.*, 1999). Per il *T. mediterraneus*, che si riproduce esclusivamente in estate, è stato scelto il primo agosto (Relini *et al.*, 1999).

Conclusioni - Le età massime osservate sono state di nove anni per il *T. trachurus* di dodici anni per il *T. mediterraneus*. In *T. trachurus* il confronto con le curve di crescita teoriche, trovate da altri due autori (Karlou-Riga e Sinis, 1997; Matarrese *et al.*, 1998), mostra per i primi tre anni un accrescimento praticamente identico. A partire da una età compresa tra i 4-5 anni la curva elaborata nel presente lavoro mostra un tasso di crescita superiore a quello osservato da Karlou-Riga e Sinis (1997) ed è tutto sommato simile a quella di Matarrese *et al.* (1998) (Fig. 1A).

In *T. mediterraneus*, in accordo con altri autori (Karlou-Riga e Sinis, 1997; Matarrese *et al.*, 1998; Karlou-Riga, 2000; Zupa *et al.*, 2006, Belcari *et al.*, 2007), è stato evidenziato un accrescimento notevole nei primi tre anni di vita seguito da un rallentamento forse dovuto anche al raggiungimento della maturità sessuale. La curva di accrescimento descritta da Belcari *et al.* (2007) è quella che si discosta di più dalla curva del Mar Ligure e per gli esemplari maggiori di tre anni i sugarelli toscani a parità di età risultano 4-5 cm più lunghi (Fig. 1B).

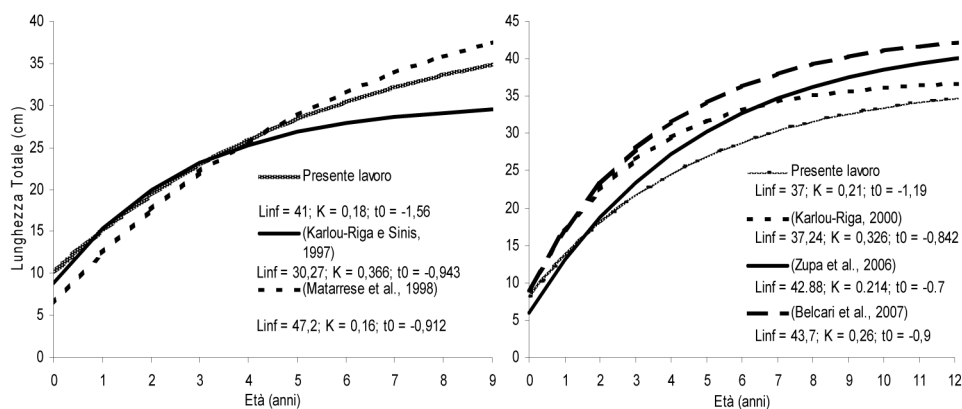


Fig. 1 - Confronto curve di crescita di *T. trachurus* (A) e di *T. mediterraneus* (B).

Relationship between the growth curves of *T. trachurus* (A) and of *T. mediterraneus* (B).

Bibliografia

- BELCARI P., VIVA C., BERTOLINI D., MERCEDI S., LIGAS A. (2007) – Accrescimento di *Trachurus mediterraneus* (Steindachner, 1868) nel Mar Tirreno Settentrionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 350-351.
- GAYANILO F.C., SPARRE P., PAULY D. (1996) - The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FISAT). *User's guide. FAO Computerized Information Series (Fisheries)*, **6**: 186 pp.
- KARLOU-RIGA C., SINIS A. (1997) - Age and growth of horse mackarel, *Trachurus trachurus* (Linneo) in the gulf of Saronikos (Greece). *Fish. Res.*, **32**: 157-171.
- KARLOU-RIGA C. (2000) - Otolith morphology and age and growth of *Trachurus mediterraneus* (Steindachner) in the Eastern Mediterranean. *Fish. Res.*, **46** (1): 69-82.
- MATARRESE A., BASANISI M., MASTROTOTARO F., CARLUCCI R. (1998) – Aspetti della biologia di *Trachurus trachurus* (Linneo, 1758) (Pisces, Osteichthyes) nel Mar Ionio settentrionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **5** (1): 702-705.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) - Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1).
- ZUPA R., SILECCHIA T., CARBONARA P., SPEDICATO M.T. (2006) – Crescita di *Trachurus mediterraneus* (Steindachner, 1868) nel Tirreno centro-meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 302-303.

A. PERDICHIZZI, L. PIRRERA, A. PROFETA, L. MODICA, P. RINELLI

Istituto IAMC-CNR, Sezione di Messina, Spianata San Ranieri, 86 - 981222 Messina, Italia.
anna.perdichizzi@iamc.cnr.it

DISTRIBUZIONE SPAZIALE DI RECLUTE DI *GALEUS MELASTOMUS* (CHONDRICHTHYES, SCYLIORHINIDAE) NEL MAR TIRRENO MERIDIONALE (MEDITERRANEO CENTRALE)

RECRUITS SPATIAL DISTRIBUTION OF *GALEUS MELASTOMUS* (CHONDRICHTHYES, SCYLIORHINIDAE) IN THE SOUTHERN TYRRHENIAN SEA (CENTRAL MEDITERRANEAN)

Abstract - The blackmouth catshark *Galeus melastomus* (*Chondrichthyes, Scyliorhinidae*) Rafinesque, 1810 is an oviparous species, spawning all year round in the Mediterranean with a peak of activity in spring and summer. Data collected from trawl surveys, carried out from spring 2001 to 2007, were analysed in order to know about spatial distribution of recruits in the Southern Tyrrhenian Sea.

Key-words: demersal fisheries, distribution, recruitment, *Galeus melastomus*.

Introduzione - Lo scopo del presente lavoro è quello di analizzare la distribuzione spazio-temporale delle reclute di *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) in un'area del Tirreno meridionale al fine di acquisire informazioni su questa specie.

Un incremento dello sforzo della pesca a strascico commerciale si riflette negativamente sulla popolazione di numerose specie di elasmobranchi causandone nel tempo un inevitabile declino (Myers e Worm, 2003). I selaci costituiscono, infatti, un'importante frazione del by-catch della pesca a strascico, in special modo quella mirata ai gamberi di profondità e agli scampi (Relini *et al.*, 1999).

Materiali e metodi - I dati provengono da trawl surveys eseguiti dalla primavera del 2001 a quella del 2007 (progetto MEDITS: Bertrand *et al.*, 2002). L'area indagata si estende da Capo Suvero (Cz) a Capo San Vito (Tp). Complessivamente sono state svolte 86 cale negli strati batimetrici più profondi 201-500 m e 501-800 m caratterizzati dalla presenza di questa specie. Le reclute "R" (gruppo di età 0+), sono state ricavate dalle distribuzioni lunghezza/frequenza utilizzando una taglia di cut-off pari a 21 cm (Serena *et al.*, 2005). Si è quindi proceduto alla stima dell'Indice di Densità delle Reclute (IDR: R/Km²) per singola cala e per ogni survey. Tali valori sono stati utilizzati per l'analisi geostatistica (ArcGIS 9.2).

Risultati - Le reclute sono state riscontrate su 49 delle 86 cale campionate (57%) in un range batimetrico compreso fra 330 e 610 m. Le stime sull'abbondanza media standardizzata delle reclute per l'intera area considerata mostrano per il bocconera un trend irregolare, evidenziando nel 2002 un picco pari a 39 R/Km² (Fig. 1). In termini di abbondanza, le catture di giovanili variano da un minimo di 1 R/Km² (2006) ad un massimo di 584 R/Km² (2002). La mappatura annuale dell'IDR di *G. melastomus* effettuata per le campagne lungo le coste del Tirreno meridionale, mostra quattro aree principali di concentrazione di reclute. Nel versante orientale, le aree di reclutamento ricadono all'interno del Golfo di Sant'Eufemia e del Golfo di Patti. La maggiore concentrazione di reclute nel Golfo di Sant'Eufemia si registra nel 2003, con un valore pari a 108 R/Km² intorno alla profondità di 545 m. Nell'anno 2005 nella stessa area, si evidenziano tre zone di addensamento di reclute, con indici pari a 53 R/Km², 41 R/Km² e 31 R/Km². Una situazione simile si riscontra nell'anno 2007; nel 2001 e nel 2006 si registrano invece i valori più bassi. Nel Golfo di Patti le catture di giovanili, in termini di abbondanza, variano tra 40 R/Km² (2005) a 584 R/Km² (2002), mostrando

il valore più basso nel 2007 (IDR=21 R/Km²). Nel versante occidentale, le aree di concentrazione delle reclute ricadono nel Golfo di Termini Imerese e nella zona compresa tra P.ta Raisi e C.po Gallo. Nel primo tratto considerato, l'anno in cui si registra l'IDR più significativo è il 2004, pari a 465 R/Km². In prossimità del promontorio di P.ta Raisi, i valori maggiori si osservano nel 2005 (IDR=242 R/Km²) e nel 2007 (IDR=185 R/Km²). Il range batimetrico all'interno del quale si sono registrate le maggiori densità di reclute va da 348 m a 621 m. Nel 2001 è stata indagata l'area del Golfo di Castellamare registrando un IDR pari a 138 R/Km², intorno alla profondità di 530 m. Dall'analisi delle mappe realizzate per ogni singolo survey, si evince una persistenza temporale delle aree di maggiore concentrazione di reclute.

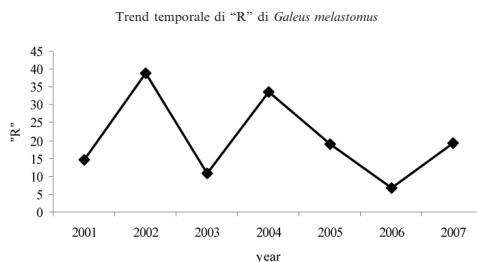


Fig. 1 - Trend temporale dell'Indice di Reclutamento medio annuo di *Galeus melastomus* calcolato per la serie storica estiva MEDITS 2001-2007.

Temporal trend of Index of Recruitment average annual of Galeus melastomus calculated for the summer series MEDITS 2001-2007.

Conclusioni – L'analisi della correlazione spaziale tra la distribuzione delle forme giovanili e la loro abbondanza ha consentito di individuare nell'area considerata quattro aree di concentrazione delle reclute che rimangono persistenti nell'arco temporale considerato. Nel versante orientale, le aree di reclutamento ricadono all'interno del Golfo di Sant'Eufemia e del Golfo di Patti, mentre nel versante occidentale ricadono nel Golfo di Termini Imerese e nella zona compresa tra P.ta Raisi e C.po Gallo. Sarebbe quindi, da una prima analisi, che le reclute di boccanera prediligano habitat localizzati all'interno dei golfi o in prossimità di promontori.

Bibliografia

- BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACOSTANTINO C., RELINI G., SOUPLLET A. (2002) - The general specifications of the MEDITS surveys. *Scient. Mar.*, **66**, II (Suppl. 2): 9-17.
- MYERS R., WORM B. (2003) - Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. *Nature*, **423**: 280-283.
- PERDICHIZZI A., PIRRERA L., GIORDANO D., PERDICHIZZI F., BUSALACCHI B., PROFETA A., GRECO S., RINELLI P. (2007) - Distribuzione e note biologiche di *Galeus melastomus* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) nel mar Tirreno meridionale (Mediterraneo centrale). *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 356-357.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl.1).
- RINELLI P., BOTTARI T., FLORIO G., ROMEO T., GIORDANO D., GRECO S. (2005) – Observations on distribution and biology of *Galeus melastomus* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) in the southern Tyrrhenian Sea (central Mediterranean). *Cybium*, **29** (1): 41- 46.
- SERENA F., BAINO R., REY J., PAPACOSTANTINO C., RELINI G. (2005) - Catch composition and abundance of deep-sea elasmobranchs based on the MEDITS trawl survey. In: FAO Report on DEEP SEA 2003, an International Conference on Governance and Management of Deep-sea Fisheries. Queenstown, New Zealand, 1-5 December. *FAO Fisheries Report No. 772*. Rome: 395-408.

S. PIOVANO, G. BASCIANO¹, F. BINDA², S. BIZZARRI¹, S. CLÒ³, C. GIACOMA

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo (DBAU), Università di Torino
Via Accademia Albertina, 13 – 10123 Torino, Italia.
susanna.piovano@unito.it

¹AGCI-AGRITAL, Via A. Bargoni, 78 – 00153 Roma, Italia.

²Consorzio Mediterraneo scarl, Via A.G. Guattani, 9 – 00161 Roma, Italia.

³CTS Ambiente onlus, Via Albalonga 3 – 00183 Roma, Italia.

RIDUZIONE DI CATTURE ACCIDENTALI DI *CARETTA CARETTA* *CARETTA* E *PTEROPLATYTRYGON VIOLACEA* CON PALANGARI DERIVANTI

REDUCTION OF INCIDENTAL CATCH OF *CARETTA CARETTA* AND *PTEROPLATYTRYGON VIOLACEA* BY DRIFTING LONGLINES

Abstract - In order to verify the effectiveness of circle hooks in reducing the incidental catch of endangered and near threatened species such as loggerhead sea turtle and pelagic stingray, 141 experimental longline fishing sets were monitored in 2005-2007 in the Mediterranean Sea. Our findings show that this tool can effectively reduce the negative impact of longline fishing operations on these species.

Key-words: swordfish fisheries, longlining, circle hook, *Caretta caretta*, *Pteroplatytrygon violacea*.

Introduzione - Il fenomeno delle catture accidentali riguarda tutti gli attrezzi da pesca (Hall, 1996; Hall *et al.*, 2000), inclusi quelli altamente selettivi come i palangari derivanti. L'elenco delle specie pescate accidentalmente include anche quelle elencate nella lista rossa IUCN, come *Caretta caretta* (L., 1798) (Reptilia, Cheloniidae), classificata come "Endangered" (cat. EN - IUCN, 2007), e *Pteroplatytrygon violacea* (Bonaparte, 1832) (Chondrichthyes, Dasyatidae), classificata come "Near Threatened" per il Mediterraneo (cat. NT - Cavanagh e Gibson, 2007). Il presente lavoro espone i primi risultati della sperimentazione degli ami circolari condotta nel corso dei progetti LIFE03 "DEL.TA." e LIFE04 "TARTANET" nel Mare Mediterraneo, allo scopo di valutare l'efficacia di tali ami nel ridurre le catture accidentali.

Materiali e metodi - Nel periodo 2005-2007 sono state monitorate 141 cale sperimentali di pesca al pesce spada con palangaro derivante, per le quali sono state coinvolte le marinerie di Lampedusa (AG), Licata (AG), Lipari (ME), Marsala (TP), Mazara del Vallo (TP), Monopoli (BA), Ponza (LT), Porto Empedocle (AG), Pozzallo (RG), Sciacca (AG) e Taranto (TA). I dati biometrici delle specie bersaglio e accidentali, nonché le caratteristiche dell'attrezzo e della cala, sono stati annotati da osservatori a bordo dei pescherecci. Il disegno sperimentale si basa sull'alternanza di braccioli armati con ami tradizionali (forma a J, misure da 1 a 5) e con ami circolari (forma a C, misura 16/0). I valori di cattura sono stati espressi in numero di esemplari per 1.000 ami (Catch Per Unit of Effort).

Risultati - Nel corso della sperimentazione sono state pescate accidentalmente 17 tartarughe marine, tutte appartenenti alla specie *Caretta caretta*. 14 esemplari sono stati allamati all'amo tradizionale e 2 all'amo circolare, mentre 1 individuo era rimasto impigliato nella lenza. In generale si nota che gli ami di tipo tradizionale hanno catturato, per unità di sforzo di pesca, un maggiore numero di esemplari di tartaruga marina (Wilcoxon Signed Rank test: $Z=-2,614$ $p=0,009$).

Le catture accidentali più rilevanti sono state registrate a carico del trigone viola (*Pteroplatytrygon violacea*), con 227 esemplari catturati nel corso della sperimentazione. Il 79% degli esemplari è stato pescato con l'amo tradizionale, il rimanente 21%

con l'amo circolare. Risulta pertanto che gli ami tradizionali hanno inciso maggiormente sulle catture di trigoni viola rispetto agli ami circolari (Wilcoxon Signed Rank test: $Z=-5,564$ $p<0,001$).

Per quanto riguarda la specie bersaglio, il pescato di pesce spada ottenuto dai due tipi di amo con analoga distanza tra la punta dell'amo e il gambo ("gape") non è risultato statisticamente significativo sia per quantità (Wilcoxon Signed Rank test: $Z=-1,540$ $p=0,124$) che per peso (Wilcoxon Signed Rank test: $Z=-0,616$ $p=0,538$).

Conclusioni - Gli ami circolari sono stati proposti come strumento utile per ridurre la mortalità delle tartarughe marine associata ai palangari derivanti (Watson *et al.*, 2005; Read, 2007) e la loro sperimentazione è elencata nella lista degli studi raccomandati dagli esperti consultati dalla FAO per affrontare il tema dell'interazione tra le tartarughe marine e la pesca (FAO, 2004). I primi risultati ottenuti dalla sperimentazione da noi condotta hanno evidenziato una netta diminuzione delle catture accidentali di tartarughe e di trigoni senza ridurre il pescato, permettendo così di individuare questi ami come possibile strumento per ridurre la cattura di specie minacciate di estinzione.

Bibliografia

- CAVANAGH R.D., GIBSON C. (2007) - *Overview of the conservation status of cartilaginous fishes (Chondrichthyans) in the Mediterranean Sea*. IUCN, Gland, Switzerland And Malaga, Spain: VI + 42 pp.
- FAO (2004) - *Report of the Expert Consultation on Interactions between Sea Turtles and Fisheries within an Ecosystem Context*. Rome, Italy, 9-12 March 2004. FAO Fisheries Report 738: 37 pp.
- HALL M.A. (1996) - On bycatches. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **6**: 319-352.
- HALL M.A., ALVERSON D.L., METUZALS K.I. (2000) - By-Catch: Problems and Solutions. *Mar. Poll. Bull.*, **41** (1-6): 204-219.
- IUCN (2007) - *IUCN Red List of Threatened Species*. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 04 March 2008.
- READ A.J. (2007) - Do circle hooks reduce the mortality of sea turtles in pelagic longlines? A review of recent experiments. *Biol. Cons.*, **135**: 155-169.
- WATSON J.W., EPPERLY S.P., SHAH A.K., FOSTER D.G. (2005) - Fishing methods to reduce sea turtle mortality associated with pelagic longlines. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **62**: 965-981.

A. PROFETA, B. BUSALACCHI, A. PERDICHIZZI, D. GIORDANO

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero – IAMC, CNR, Unità Territoriale di Messina
Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.
daniela.giordano@iamc.cnr.it

DISTRIBUZIONE E BIOLOGIA DEL CEFALOPODE *ILLEX COINDETII* (VERANY, 1839) NEL MAR TIRRENO MERIDIONALE

DISTRIBUTION AND BIOLOGY OF THE CEPHALOPOD ILLEX COINDETII (VERANY, 1839) IN THE SOUTHERN TYRRHENIAN SEA

Abstract – Data on the squid *Illex coindetii* (Verany, 1839) (Cephalopod: Ommastrephidae) collected in the southern Tyrrhenian Sea during scientific trawl surveys were analysed. A cartographic representation of mean value of abundance in summer from 1994 to 2007 evidenced the spatial distribution of the species.

Key-words: demersal fisheries, cartography, distribution.

Introduzione – Il presente lavoro prende in esame la distribuzione spaziale e batimetrica, gli indici di abbondanza (Kg/km²) e di densità (N/km²) di *Illex coindetii* (Verany, 1839) in un'area del Tirreno meridionale. I dati provengono da quattordici trawl surveys eseguiti nel periodo estivo dal 1994 al 2007 nell'ambito del progetto europeo MEDITS (Bertrand *et al.*, 2002). Sebbene questa specie sia stata studiata a fondo in alcune aree del Tirreno centrale (Gentiloni *et al.*, 2001), dell'Arcipelago Toscano (Belcari, 1996), del Canale di Sicilia (Jereb e Ragonese, 1995), del Mar Ligure (Relini e Orsi Relini, 1984) e dell'Adriatico (Soro e Paolini, 1994), pochi studi sulla distribuzione e biologia di *Illex coindetii* sono stati condotti nel Tirreno meridionale (Maragliano e Spedicato, 1994).

Materiali e metodi – L'area indagata si estende da Capo Suvero (Calabria) a Capo San Vito (Sicilia). I dati utilizzati sono stati raccolti conformemente al protocollo stabilito nell'ambito del coordinamento generale MEDITS (Bertrand *et al.*, 2002). Per ciascun individuo sono stati rilevati sesso, maturità sessuale e lunghezza dorsale del mantello (LDM). Vengono inoltre forniti alcuni dati sulla biologia della specie. Per la maturità sessuale è stata utilizzata una scala macroscopica a tre stadi ottenuta da una semplificazione di quella di Lipinski (1979). Per la rappresentazione cartografica sono stati utilizzati i valori degli indici di abbondanza e densità medi per anno, dal 1994 al 2007, standardizzati al chilometro quadro di area strascicata ed è stato utilizzato un software GIS (ArcMap 9.2 della ESRI) in grado di elaborare i dati raccolti.

Risultati – *Illex coindetii*, nell'area di studio, è stato catturato in un ampio intervallo batimetrico compreso fra 38 e 593 m di profondità, sebbene i maggiori rendimenti, sia in termini di peso che di numero, siano ristretti fra 77 e 177 m di profondità. I valori più elevati dell'indice di biomassa sono stati riscontrati nel 2003 (164.00 Kg/km²) e nel 2005 (127.45 Kg/km²) sempre nella stessa area (Capo Zafferano, Sicilia) fra 172 e 177 m di profondità (Fig. 1). L'indice di densità della specie mostra valori più elevati nel 1998 (3940 N/km²) e nel 2003 (3400 N/km²) a Capo Vaticano (Calabria) (Fig. 2). Nel 2005 e 2006 gli indici di biomassa e di densità tendono a diminuire notevolmente in Calabria e ad aumentare attorno a Capo Zafferano. Sono stati esaminati in totale 1490 esemplari con taglie comprese fra 35 e 300 mm LDM. Gli indeterminati presentano taglie comprese fra 35 e 100 mm LDM, i maschi vanno da 85 a 190 mm con una classe dominante fra 130 e 155 mm LDM, mentre le femmine hanno taglia compresa fra 100 e 300 mm LDM con una maggiore percentuale intorno ai 200 mm LDM. La *sex ratio* varia negli anni ed è generalmente a favore dei maschi. Per quanto riguarda la maturità sessuale il 52% dei maschi ed il 54% delle femmine è maturo (stadio di

maturità 3). I giovanili (con LDM inferiore ai 90 mm) si concentrano maggiormente nella zona di Capo Vaticano. In particolare negli anni 1998, 2002 e 2003 essi rappresentano, rispettivamente, l'88%, il 91% ed il 100% delle catture totali della specie.

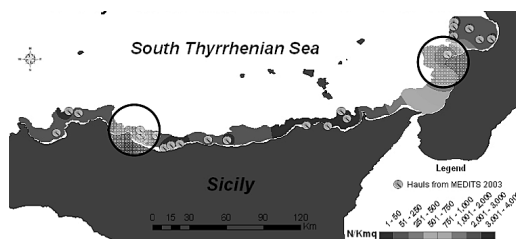


Fig. 1 - IDW dell'Indice di Densità (N/km^2) nel 2003.

IDW of the DI (N/km^2) in 2003.

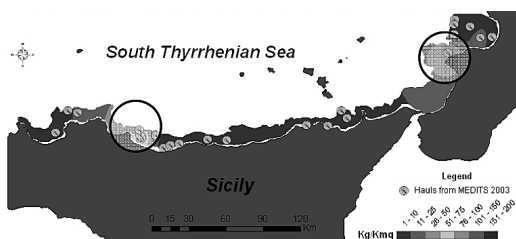


Fig. 2 - IDW dell'Indice di Biomassa (Kg/km^2) nel 2003.

IDW of the BI (Kg/km^2) in 2003.

Conclusioni – I dati emersi da questo lavoro confermano quanto già noto in letteratura su questa specie in altre aree del Mediterraneo. La distribuzione osservata dalla rappresentazione cartografica evidenzia come la specie si concentri soprattutto in alcune aree, in particolare nei Golfi, e come in alcune zone (Capo Vaticano) si concentrino individui giovani.

Bibliografia

- BELCARI P. (1996) – Length-weight relationship in relation to sexual maturation of *Illex coindetii* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in the northern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean). *Sci. Mar.*, **60** (2-3): 379-384.
- BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACOSTANTINO C., RELINI G., SOUPLET A. (2002) – The general specifications of the MEDITS surveys. *Sci. Mar.*, **66**, 2 (Suppl. 2): 9-17.
- GENTILONI P., AGNESI S., GARGIULO C., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. (2001) – Dati sulla distribuzione biologia del cefalopode *Illex coindetii* (Verany, 1839) nel mar Tirreno centrale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **8**: 715-719.
- JEREB P., RAGONESE S. (1995) – An outline of the biology of the squid *Illex coindetii* in the Sicilian Channel (Central Mediterranean). *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **75**: 373-390.
- LIPINSKI M. (1979) – Universal maturity scale for the commercially important squids. The result of maturity classification of the *Illex illecebrosus* population for the years 1973-1977. *ICNAP Res. Doc.* 79/2/38, Serial 5364: 40 pp.
- MARAGLIANO M., SPEDICATO M.T. (1994) – Osservazioni sulla riproduzione e l'accrescimento di *Illex coindetii* (Cephalopoda: Teuthoidea) nel Tirreno meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **1** (1): 299-300.
- RELINI G., ORSI RELINI L. (1984) – The role of Cephalopods in the inshore trawl fishing of the Ligurian Sea. *Oebalia*, **10**: 37-58.
- SORO S., PAOLINI M. (1994) – *Illex coindetii* (Verany, 1839): aspetti biologici ed evoluzione della popolazione in alto e medio Adriatico. *Biol. Mar. Mediterr.*, **1** (1): 213-218.

F. RICCATO, R. FIORIN, P. FRANZOI, P. TORRICELLI

Dipartimento di Scienze Ambientali Università Ca' Foscari di Venezia,
Castello, 2737/B – 30122 Venezia, Italia.
frederik@unive.it

POPOLAMENTO ITTICO DI UNA PRATERIA A *CYMODOCEA NODOSA* DI ACQUE BASSE DELLA LAGUNA DI VENEZIA

FISH FAUNA OF A CYMODOCEA NODOSA SHALLOW MEADOW IN THE VENICE LAGOON

Abstract - The fish fauna of a *Cymodocea nodosa* shallow meadow of the Venice lagoon was studied from March 2004 to October 2005. 35 fish species belonging to 15 families were recorded and a strong seasonal trend was observed in total fish density. The observed low number of juvenile of marine migrant species minimize the supposed function of nursery area exerted by seagrass systems in this estuarine habitat.

Key-words: seagrass, Venice lagoon, *Cymodocea nodosa*, fish community.

Introduzione - Gli habitat a fanerogame marine sono internazionalmente riconosciuti come tra i più importanti ambienti costieri di acque basse (Duarte, 2002). Gli apparati fogliari sono infatti alla base della catena del detrito e forniscono cibo e riparo a numerose specie animali talvolta anche di interesse commerciale (Jackson *et al.*, 2001; Beck *et al.*, 2001).

Lo scopo della presente indagine è lo studio della comunità ittica di un tipico ambiente a prateria sommersa della laguna veneta, al fine di metterne in luce l'eventuale ruolo ecologico svolto, in ambito estuarino, per la componente ittica.

Materiali e metodi - Il popolamento ittico è stato indagato, con cadenza quindicinale, tra marzo 2004 e ottobre 2005 (ad esclusione dei mesi di gennaio e febbraio); i campionamenti sono stati effettuati mediante l'utilizzo di una sciabica a maglia fitta operando su superfici di dimensione nota e costante (360 m²). Tutti gli esemplari catturati sono stati classificati al livello di specie; ciascuna specie è stata quindi attribuita ad una guild ecologica come proposto da Franco *et al.* (2008). I parametri strutturali caratterizzanti l'ambiente a fanerogame (lunghezza fogliare-Lf, densità fogliare-DFo e densità fasci-DFa) sono stati invece misurati a cadenza mensile dopo asportazione di porzioni di prato (3 repliche 1600 cm²) da parte di un operatore in immersione.

Risultati - Complessivamente sono stati campionati 15.254 esemplari, appartenenti a 35 specie afferenti a 15 famiglie. Singnatidi (6 specie) e Atherinidi (1 specie) dominano la comunità da un punto di vista numerico, sebbene sia stata osservata una forte stagionalità nella variazione della densità misurata in termini di n° individui per m².

Tutte le specie campionate sono state ricondotte a 3 guild ecologiche: specie residenti, specie marine avventizie e specie marine migratrici. In termini di abbondanza complessiva la guild dei residenti contribuisce per oltre il 94% del popolamento complessivo; il 5% circa è dato da specie marine avventizie, mentre è minore dell'1% il contributo delle specie migratrici marine.

Cymodocea nodosa esibisce, durante il ciclo annuale, una marcata stagionalità nei parametri osservati. Questa specie di fanerogama mostra una porzione epigea estremamente ridotta e pesantemente epifitata nei mesi invernali ed inizio-primaverili, dove si riscontrano i minimi dei parametri misurati (Lf: 14,1±2,5cm; DFa: 181±51 n°fasci/m²; DFo: 362±103 n°foglie/m²), per raggiungere il massimo dello sviluppo vegetativo durante i mesi di luglio e agosto (Lf: 58,1±2,4cm; DFa: 832±211 n°fasci/m²; DFo: 3181±874 n°foglie/m²). Sono quindi identificabili due fasi principali nel ciclo vegeta-

tivo: una fase di “quiescenza” (invernale e primaverile) ed una fase di forte sviluppo vegetativo (estivo-autunnale), come già osservato da altri autori (Sfriso e Ghetti, 1998; Sfriso e Facca, 2006).

Le densità più elevate di fauna ittica (oltre 4,77 individui/m²) sono state riscontrate durante il periodo estivo, in corrispondenza del massimo sviluppo vegetativo della prateria, mentre i minimi (0,016 individui/m²) sono collocati durante la stagione invernale in corrispondenza dei minimi vegetativi.

Conclusioni - La prateria di fanerogame sommerse indagata si è dimostrata un ambiente in grado di sostenere una comunità ittica ricca e complessa ma dominata da specie di piccole dimensioni e, in genere, fortemente adattate alla vita tra la vegetazione acquatica (Singnatidi). Le marcate fluttuazioni osservate nella struttura della prateria sembrano riflettersi in maniera pesante su struttura e abbondanza del popolamento ittico presente.

La scarsa presenza di giovanili o sub-adulti di specie marine migratrici, presenti nella stazione di campionamento esclusivamente nel periodo di minor sviluppo vegetativo della prateria, minimizza in maniera consistente il presunto ruolo di nursery area svolto da questi ambienti in ambito lagunare ed estuarino.

Bibliografia

- BECK M.W., HECK K.L., ABLE K.W., CHILDERS D.L., EGGLESTON D.B., GILLANDERS B.M. (2001) - The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. *Bioscience*, **51**: 633–41.
- DUARTE C.M. (2002) - The future of seagrass meadow. *Environ. Conserv.*, **29** (2): 192-206.
- FRANCO A., ELLIOTT M., FRANZOI P., TORRICELLI P. (2008) - Life strategies of fishes in European estuaries: the functional guild approach. *Marine Ecology Progress Series*, **354**: 219-228.
- JACKSON E.L., ROWDEN A.A., ATTRILL M.J., BOSSEY S.J., JONES M.B. (2001) - The importance of seagrass beds as a habitat for fishery species. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **39**: 269–303.
- SFRISO A., GHETTI P.F. (1998) - Seasonal variation in biomass, morphometric parameters and production of seagrasses in the lagoon of Venice. *Aquatic Botany*, **61**: 207-223.
- SFRISO A., FACCA C. (2006) - Distribuzione e produzione di fanerogame marine. In: Guerzoni S., Tagliapietra D. (eds), *Atlante della laguna, Venezia tra terra e mare*. Marsilio Ed., Venezia: 132-133.

L. SABATINI, G. FRANCESCHINI, O. GIOVANARDI

Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare (ICRAM)
Loc. Brondolo, c/o Mercato Orticolo – 30015 Chioggia (VE), Italia.
g.franceschini@icram.org

ABITUDINI ALIMENTARI DEL SARAGO SPARAGLIONE
(*DIPLODUS ANNULARIS*) NELLA ZONA DI TUTELA
BIOLOGICA (ZTB) DELLE TEGNÙE DI CHIOGGIA

*FEEDING HABITS OF THE ANNULAR SEABREAM
(DIPLODUS ANNULARIS) IN THE NO-TAKE ZONE OF CHIOGGIA*

Abstract – Stomach contents of 293 annular seabream (*Diplodus annularis*, Sparidae) collected in the no-take zone off Chioggia during winter, spring and summer 2007 were analysed. Our results confirm that this species is omnivorous; an ontogenetic shift was observed, the diet of small individuals (10-13 cm TL) being represented by a restricted prey range consisting mainly on Mysidacea and brittle stars.

Key-words: annular seabream, stomach contents, northern Adriatic Sea.

Introduzione - La dieta del *Diplodus annularis* (Sparidae) è stata indagata in varie aree del Mediterraneo caratterizzate da praterie di Fanerogame (Bell e Harmelin-Vivien, 1983; Rodríguez-Ruiz *et al.*, 2002; Matic-Skoko *et al.*, 2004) e gli autori concordano nel considerare tale specie onnivora e generalista. Nel bacino dell'Alto Adriatico le informazioni riguardanti la sua alimentazione sono molto scarse. Lo scopo di questo lavoro è descrivere la dieta del sarago sparaglione, evidenziandone le variazioni stagionali, le differenze ontogenetiche ed intersessuali in un ambiente caratterizzato da estesi affioramenti organogeni - la ZTB di Chioggia.

Materiali e metodi – Nel periodo inverno-estate 2007, su campioni mensili di *D. annularis* pescati con rete da posta in tre aree della ZTB delle “Tegnùe” di Chioggia, sono stati misurati i principali parametri biometrici (LT, LF, Ww, sesso, stadio di maturità ed IGS). Dopo aver dissezionato lo stomaco ed analizzato i contenuti stomacali (in accordo con Matic-Skoko *et al.*, 2004), il contributo di ogni preda nella dieta è stato valutato in base ai principali indici alimentari (Pinkas *et al.*, 1971; Hyslop, 1980; Hacunda, 1981). I dati di abbondanza e biomassa sono stati analizzati con PRIMER (SIMPER, cluster analysis, nMDS) (Clarke e Warwick, 1995).

Risultati – Nelle tre stagioni sono stati campionati in totale 293 individui, di cui 38 avevano lo stomaco vuoto (indice di vacuità: 12,9%). I 255 stomaci analizzati appartenevano a 96 femmine (12,1-19,8 cm LT), 137 maschi (10,4-21,1 cm LT) e 22 ermafroditi (10-18 cm LT). Nei contenuti stomacali sono stati identificati 143 taxa, raggruppati in Algae, Porifera, Cnidaria, Nematoda, Mollusca, Polychaeta, Sipuncula, Arthropoda, Bryozoa, Echinodermata e Tunicata. In termini di IRI% la dieta del sarago sparaglione è rappresentata soprattutto da Artropodi (79,6%) ed Echinodermi (9,9%), seguiti da Molluschi, Poriferi, Policheti ed Alghe (tra il 3,4 e l'1%); i rimanenti gruppi hanno valori <1%. L'andamento stagionale dei valori di IRI% vede l'inverno caratterizzato da Alghe (45%), Artropodi (44,2%) e Poriferi (6,8%) e la primavera dalla netta predominanza dei soli Artropodi (80,8%). In estate un numero maggiore di phyla caratterizza la dieta: diminuisce l'importanza relativa degli Artropodi (35,6%), aumenta quella degli Echinodermi (28,4%) e dei Poriferi (12,7%), i Molluschi e gli Cnidari raggiungono quasi il 10%. I dati di dieta (abbondanza e biomassa delle prede) stagionale, per sesso e classi di taglia (piccoli: ≤13 cm LT; medi: >13 - ≤17 cm; grandi: >17 cm) sono stati analizzati con la routine SIMPER. I confronti con i più elevati

valori medi di dissimilarità (>95%) sono risultati quelli tra classi di taglia nei maschi (la specie è ermafrodita proterandra), nei quali la dieta dei piccoli si differenzia sia dai medi che dai grandi in quanto è quasi esclusivamente rappresentata da Misidacei (IRI% in primavera: 99,4%). La *cluster analysis* sui dati complessivi di abbondanza e biomassa delle prede ha permesso di identificare dei gruppi di individui associati sia ad un fattore di taglia (confermando i risultati del SIMPER) che spaziale, separando esemplari pescati sulle tegnùe al largo (8 mn circa) da quelli campionati sulle formazioni sotto costa (4 mn circa). La successiva analisi nMDS ha evidenziato alcuni gruppi alimentari, a cui corrispondono i seguenti valori di IRI%: A) esemplari pescati sotto costa, con una dieta composta da alghe – in gran parte *Ulva* sp. (81,2%) e bivalvi (5,6%), soprattutto *Modiolarca subpicta*; B) individui piccoli, pescati al largo, che si alimentano con Misidacei (94,8%) e ofiure (2,5%), in maggior parte *Ophiothrix fragilis*; C e D) due gruppi di individui di taglia medio-grande, al largo, caratterizzati da un ampio range di prede, uno con una netta prevalenza di Poriferi (40%) ed ofiure (26%) ed uno con Attinie (30,5%), ofiure (21,7%) e Gammaridi (18,7%).

Conclusioni – I risultati ottenuti dall'analisi dei contenuti stomacali del *D. annularis* confermano che la specie è onnivora e generalista, alimentandosi su un ampio range di prede (Rodríguez-Ruiz *et al.*, 2002). Più che su scala stagionale o tra sessi, nell'area di studio le differenze nelle abitudini alimentari si riscontrano principalmente a livello ontogenetico (Matic-Skoko *et al.*, 2004), con una netta separazione tra giovanili - che predano soprattutto piccoli crostacei - ed esemplari medio-grandi, caratterizzati da una dieta più ampia sia dal punto di vista quali-quantitativo che dimensionale. Il gradiente costa-largo osservato potrebbe riflettere l'elevata eterogeneità spaziale dei popolamenti epibentonici degli affioramenti rocciosi (Ponti *et al.*, 2006).

Bibliografia

- BELL J.D., HARMELIN-VIVIEN M.L. (1983) – Fish fauna of French Mediterranean *Posidonia oceanica* seagrass meadows. 2. Feeding habits. *Thetys*, **11**: 1-14.
- CLARKE K.R., WARWICK R.M. (1995) – Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. *Natural Environment Research Council*, UK: 144 pp.
- HACUNDA J.S. (1981) – Trophic relationships among demersal fishes in a coastal area of the Gulf of Maine. *Fish. Bull.*, **79**: 775-788.
- HYSLOP E.J. (1980) – Stomach content analysis – a review of methods and their application. *Jour. Fish Biol.*, **17**: 411-429.
- MATIC-SKOKO S., ANTOLIC B., KRALJEVIC M. (2004) – Ontogenetic and seasonal feeding habits of the annular seabream (*Diplodus annularis* L.) in *Zostera* sp. beds, Eastern Adriatic Sea. *J. Appl. Ichthyol.*, **20**: 376-381.
- PINKAS L.M., OLIPHANT S., IVERSON I.L.K. (1971) – Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in Californian waters. *Cal. Co. Fish and Game*, **152**: 1-105.
- PONTI M., TUMEDEI M., COLOSIO F., ABBIATI M. (2006) – Distribuzione dei popolamenti epibentonici sui fondali rocciosi (tegnùe) al largo di Chioggia (Venezia). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 625-628.
- RODRIGUEZ-RUIZ S., SANCHEZ-LIZASO J.L., RAMOS-ESPLÀ A.A. (2002) – Feeding of *Diplodus annularis* in *Posidonia oceanica* meadows: ontogenetic, diel and habitat related dietary shifts. *Bull. Mar. Sci.*, **71** (3): 1353-1360.

P. SARTOR, A. LIGAS*, M. SBRANA, P. BELCARI*

Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata (CIBM),
Viale Nazario Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
psartor@cibm.it

*Dipartimento Scienze Uomo e Ambiente, Università di Pisa, Italia.

NOTES ON A LARGE SPECIMEN
OF *THYSANOTEUTHIS RHOMBUS* TROSCHEL, 1857
(CEPHALOPODA, THYSANOTEUTHIDAE)
CAUGHT IN THE NORTHERN TYRRHENIAN SEA

*SU UNA CATTURA DI UN ESEMPLARE DI GRANDI DIMENSIONI
DI THYSANOTEUTHIS RHOMBUS TROSCHEL, 1857
(CEPHALOPODA, THYSANOTEUTHIDAE)
NEL MAR TIRRENO SETTENTRIONALE*

Abstract - The present note describes a further Mediterranean record of the uncommon diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* Troschel, 1857. The specimen was caught near the sea surface by means of a set net, to the south of the Elba Island. It was a large mature female of 17.5 kg of total weight, 145.5 cm of total length and 77.5 cm of mantle length. Other morphometric data are provided.

Key-words: cephalopod fisheries, *Thysanoteuthis rhombus*, Mediterranean Sea, northern Tyrrhenian Sea.

Introduction - The diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* Troschel, 1857, is a cosmopolitan species distributed in tropical and partially subtropical waters worldwide, including the Mediterranean Sea (Nigmatullin *et al.*, 1995). It is an epipelagic ocean cephalopod, characterised by low population densities; the species is more abundant in the Japan Sea, where it is exploited by the local fishery (Roper *et al.*, 1984).

T. rhombus is rarely caught in the Mediterranean Sea, even though in the last two decades several records have been reported (see Bello, 1998 for a review of the Mediterranean findings). In spite of this, the information on biology and ecology of the species in the Mediterranean is still scarce. The present note provides information on a specimen of *T. rhombus* caught in the northern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean).

Materials and methods - The specimen was caught in August 2007 near the sea surface by means of a set net ("ferrettara"), off the southern coasts of the Elba Island, in the northern Tyrrhenian Sea. The specimen was landed at Porto Santo Stefano (GR); when it reached the local auction, it was noticed by the researchers of CIBM, which were monitoring the commercial landings. Once in laboratory, morphometric and meristic data were collected; sex and maturity stage were determined as well.

Results and conclusions - The specimen was in excellent conditions: the morphologic characters fully agreed with the diagnostic features of the species (Roper *et al.*, 1984). It was a large size mature female (17.6 kg total weight, 149.5 cm total length, 77.5 cm mantle length), with eggs inside the oviducts. Tab. 1 shows the main morphometric data collected.

T. rhombus is a new species for the teuthofauna of the northern Tyrrhenian Sea, to be added to the 32 species up to now recorded in this area (Sartor and Belcari, in press).

The information collected is consistent with the existing knowledge on this species. All the Mediterranean records refer to juvenile, adults and subadults, which were

Tab. 1 - *Thysanoteuthis rhombus*: morphometric parameters.Thysanoteuthis rhombus: *parametri morfometrici*.

Mantle length	77.5 cm	Sex	female		
Total length	149.5 cm	Maturity stage	mature		
Total weight	17.6 kg	Ovary weight	635 g		
Mantle diameter	61.5 cm		Nidamental glands		
Head length	12.5 cm	length (cm)	34.0	32.0	
Head width	20.5 cm	Weight	90.5	89.0	
		Arm length (cm)			
		I	II	III	IV
Right		18.5	23.5	28.0	21.0
Left		18.5	22.5	29.0	22.5
		II	Total	Club length	
		23.5	28.0	21.0	
		22.5	29.0	22.5	

caught as single specimens or pairs. This confirms the hypothesis that *T. rhombus* has, among squids, a unique social organization: it spends most of the life cycle as a couple of a male and a female of like size (Nigmatullin *et al.*, 1995).

The size of the present specimen is very similar to that of the adult specimens collected up to now in the Mediterranean (from 16 to 18 kg total weight, from 70 to 80 cm mantle length, Bello, 1998). *T. rhombus* grows up to 85 cm in mantle length and 24 kg in body weight (Nigmatullin *et al.*, 1995). The species has one of the fastest growth rates among cephalopods: the life span is about one year, males and females mature when they are from 6 to 8 months old (Nigmatullin and Arkhipkin, 1998).

The findings of the adult *T. rhombus* in the Mediterranean Sea refer to specimens stranded or caught near the surface by set nets: probably most of the collected specimens are at the end of their life cycle and are more vulnerable to fishing gears.

References

- BELLO G.B. (1998) – New records of *Thysanoteuthis rhombus* (Cephalopoda: Thysanoteuthidae) in the Mediterranean Sea. *Boll. Malacologico*, **34** (9-12): 125-128.
- NIGMATULLIN C.M., ARKHIPKIN A.I. (1988) – A review of the biology of the diamond back squid *Thysanoteuthis rhombus* (Oegopsida: Thysanoteuthidae). In: T. Okutani (ed), International Symposium on Large pelagic Squids, July 18-19, 1996. Japan marine fishery resources research center, Tokyo: 155-181.
- NIGMATULLIN C.M., ARKHIPKIN A.I., SABIROV R.M. (1995) – Age, growth and reproductive biology of diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* (Oegopsida: Thysanoteuthidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **124**: 73-87.
- ROPER C.F.E., SWEENEY M.J., NAUEN C.E. (1984) – FAO species catalogue. Vol. 3. Cephalopods of the world. *FAO Fish. Syn.*, **125** (3): 277 pp.
- SARTOR P., BELCARI P. (in press) - *Opistoteuthis calypso* (Cephalopoda: Octopoda) collected on the bathyal bottoms of the northern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean). *Boll. Malacologico*.

M. SBRANA, I. ROSSETTI*, P. SARTOR, A. VANNUCCI*, S. DE RANIERI

Centro Interuniversitario di Biologia Marina (CIBM), Viale N. Sauro, 4 - 57128 Livorno, Italia.
msbrana@cibm.it

*Aplysia Soc. Coop. r.l., Livorno, Italia..

SPERIMENTAZIONE DI DIFFERENTI TIPOLOGIE DI TRAPPOLE PER LA PESCA DEL POLPO *OCTOPUS VULGARIS*, CUVIER 1797, NEL MAR LIGURE ORIENTALE

TESTING DIFFERENT MODELS OF TRAPS TARGETING OCTOPUS VULGARIS, CUVIER 1797, IN THE EASTERN LIGURIAN SEA

Abstract – *The present study aimed to determine the catch efficiencies of four models of traps for Octopus vulgaris in the eastern Ligurian Sea: cylindrical trap, semiconical trap, clay pot and pvc pot. Although a total of 20 species were collected, more than 91% of the total biomass caught was due to O. vulgaris. The highest yields of the target species were obtained in autumn/winter with the two types of traps.*

Key-words: *artisanal fishery, cephalopod fisheries, trap nets, Ligurian Sea, Octopus vulgaris.*

Introduzione - Il polpo di scoglio, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, è oggetto di un'intesa attività di pesca, sia professionale che sportiva, per il suo notevole valore di mercato e per le sue elevate qualità organolettiche. La maggior parte dello sbarcato commerciale di questa specie proviene dalla pesca a strascico, anche se quantitativi non trascurabili sono ottenuti dalla pesca artigianale che sfrutta il polpo con un'ampia gamma di attrezzi (Belcari e Sartor, 1999). Le nasse sono senza dubbio gli attrezzi più selettivi, poiché le catture sono praticamente monospecifiche. Lungo le coste toscane l'utilizzo di nasse per la pesca dei polpi non è molto diffuso e lo sfruttamento di questa specie da parte della pesca artigianale è dovuto quasi esclusivamente alle reti da posta. Il presente lavoro riporta la metodologia utilizzata ed i risultati preliminari della sperimentazione di quattro differenti tipi di nasse per la cattura del polpo di scoglio.

Materiali e metodi – La sperimentazione ha avuto una durata annuale per un totale di 36 giornate di pesca distribuite in tutte le stagioni (primavera 2007 - inverno 2007/2008). L'area di pesca è rappresentata dalla fascia costiera compresa tra il porto e le Secche di Vada, su un fondale di sabbia, rocce e posidonia (2-25 m di profondità).

Sono state impiegate quattro tipologie di nasse: a) piccoli orci di coccio, con base ampia ed imboccatura ristretta, delle dimensioni di 20-25 cm in altezza e 10 cm circa di diametro dell'imboccatura; b) nasse in plastica, diffusamente utilizzate per la pesca del polpo presso le marinerie atlantiche spagnole. Si tratta di nasse di forma cilindrica (30 cm di lunghezza, 30 cm di larghezza e 25 cm di altezza), dotate di una entrata nella parte superiore; c) nasse semiconiche costituite da una pezza di rete morbida montata su un'intelaiatura di filo di ferro, lunghe circa 50 cm e larghe 30 cm alla base, dove è posizionata l'entrata; d) tubi cilindrici in plastica (pvc), chiusi ad una estremità da un tappo di cemento e liberi all'altra estremità. Ogni tubo è lungo 25-30 cm ed ha un diametro di circa 10 cm. Le nasse di tipo b) e c) sono state innescate con granchi vivi per sfruttare le caratteristiche predatorie della specie bersaglio, mentre quelle di tipo a) e d) basano la loro capacità di cattura esclusivamente sul comportamento territoriale e solitario del polpo, in continua ricerca di un rifugio da utilizzare come tana. Date le diverse caratteristiche operative degli attrezzi sperimentati, sono stati allestiti due

cali distinti, uno per le nasse di tipo a) e d), ed uno per le nasse b) e c). In entrambi i casi, le nasse sono state collegate al trave madre ad una distanza di circa 10 m l'una dall'altra. I due cali sono stati posizionati in aree molto vicine tra loro, aventi le stesse caratteristiche di profondità e tipo di substrato.

Risultati e conclusioni – Tutte le nasse hanno mostrato un'elevata selettività interspecifica e capacità di cattura mirata a *O. vulgaris*: il 91% della biomassa totale catturata è risultata a carico di questa specie. Gli orci e i tubi in pvc hanno catturato esclusivamente il polpo, mentre le nasse di tipo c), innescate con granchi, sebbene abbiano catturato 19 specie, hanno mostrato rendimenti significativi solo per *O. vulgaris* e *Conger conger* (Tab. 1). I rendimenti totali sono risultati più elevati nelle nasse innescate con granchi, con valori più elevati nelle stagioni autunno/inverno.

Tab. 1 - Lista delle specie catturate e rendimenti in peso standardizzati (kg/30 nasse/operazione di pesca) delle quattro tipologie di nasse per stagione e totali.

Species list and standardised yields in biomass (kg/30 traps/fishing trip) for the four types of gears, by season and for the whole year.

Tipo di nassa	PRIMAVERA				ESTATE				AUTUNNO				INVERNO				TOTALE			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
<i>Chromis chromis</i>											<0,01									<0,01
<i>Conger conger</i>							0,37				0,37				0,42					0,39
<i>Coris julis</i>		0,01				0,01					<0,01									<0,01
<i>Diplodus annularis</i>		<0,01				<0,01					0,01									<0,01
<i>Diplodus vulgaris</i>						<0,01														<0,01
<i>Hexaplex trunculus</i>		0,02				<0,01	0,01													<0,01
<i>Holothuria tubulosa</i>				0,01																0,01
<i>Maja crispata</i>						<0,01														<0,01
<i>Mullus barbatus</i>						0,012														<0,01
<i>Octopus vulgaris</i>	0,88	0,69			0,56	0,2	0,99	0,44	1,4	2,34	1,89	1,17	0,46	1,55	2,47	0,2	0,81	1,07	1,65	0,41
<i>Pagurus alatus</i>		<0,01																		<0,01
<i>Pagurus sp.</i>		<0,01																		<0,01
<i>Parablennius sanguinolentus</i>						<0,01	<0,01													<0,01
<i>Scorpaena porcus</i>		0,01				0,01	0,06			0,05				0,05						0,01
<i>Sepia officinalis</i>											0,01									<0,01
<i>Serranus cabrilla</i>		0,01				<0,01					0,01									<0,01
<i>Serranus scriba</i>						<0,01	<0,01			<0,01	0,01									<0,01
<i>Spondylisoma cantharus</i>						<0,01														0,01
<i>Symphodus cinereus</i>		<0,01																		<0,01
<i>Symphodus mediterraneus</i>						<0,01														<0,01
<i>Symphodus ocellatus</i>		<0,01																		<0,01

Le prove sperimentali hanno evidenziato che le nasse con granchi offrono rendimenti significativi anche se salpate giornalmente, mentre gli orci ed i tubi in pvc devono essere lasciati in pesca per un periodo di almeno due giorni per permettere alla specie di adottarli come tana. I confronti dei rendimenti e della struttura in taglie di *O. vulgaris*, nonché la comparazione della composizione specifica delle catture, congiuntamente a valutazioni sui costi degli attrezzi e sulle loro caratteristiche operative, consentiranno di mettere a punto uno studio di fattibilità sull'utilizzo da parte delle marinerie artigianali toscane.

Bibliografia

BELCARI P., SARTOR P. (1999) – *Octopus vulgaris*. In: Relini G., Bertrand J., Zamboni A. (eds), Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 757-766.

M. STAGIONI^{1,2}, E. MAZZONI^{1,2}, M. VALLISNERI^{1,2}

¹Dip. di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna, Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italia.

²Lab. Biologia Marina e Pesca, Università di Bologna, Fano (PU), Italia.

marco.stagioni3@unibo.it

COMPARAZIONE DELLA DIETA DI DUE GADIDI DEL MAR ADRIATICO

COMPARING THE FEEDING ACTIVITY OF TWO ADRIATIC SEA GADIDAE

Abstract - The feeding activity of two Adriatic Sea Gadidae (*Merlangius merlangus* and *Trisopterus minutus capelanus*) were compared in order to analyse the trophic niche overlap between the two species.

Key-words: *Merlangius merlangus*, *Trisopterus minutus*, diet, North-Middle Adriatic Sea.

Introduzione - Le relazioni trofiche sono fondamentali per capire le interazioni biologiche nelle comunità animali. Segregazione e competizione fra specie possono essere il risultato della combinazione di molti aspetti delle nicchie ecologiche, come la distribuzione e la dieta (Carasson e Cartes, 2002). Le relazioni trofiche di due gadidi dell'Adriatico, il molo o merlano (*Merlangius merlangus*) e il cappellano o busbana (*Trisopterus minutus capelanus*) sono state scarsamente analizzate (Gramitto, 1999; Vallisneri *et al.*, 2005a, b), nonostante l'interesse relativo alle due specie (Vallisneri *et al.*, 2008). Lo scopo del lavoro consiste nella valutazione comparativa della dieta dei due predatori.

Materiali e metodi - Nell'ambito di un progetto di valutazione multispecifico, sono state effettuate, fra il 2005 e il 2006, due campagne di pesca a strascico in Alto-Medio Adriatico, fra il golfo di Trieste e la congiungente Gargano-Dubrovnik, per un totale di circa 300 campionamenti. Sono stati esaminati 1241 esemplari di *M. merlangus* (taglia: 75-320 mm, profondità: 12-90 m) e 1015 esemplari di *T. minutus capelanus* (taglia: 50-237 mm; profondità: 20-225 m). Per ogni esemplare sono stati registrati: la lunghezza totale, il peso, il sesso e lo stadio di maturità sessuale, lo stato di riempimento degli stomaci. Dal contenuto stomacale sono state identificate le prede (fino al livello di specie quando possibile), contate, pesate e fotografate. Sono stati calcolati i principali indici di abbondanza alimentare e realizzate delle tabelle di contingenza per i confronti statistici fra le due specie.

Risultati - L'analisi globale dei dati a livello di categorie sistematiche ritrovate negli stomaci, evidenzia la netta prevalenza dei malacostraci in entrambe le specie, ma in misura nettamente superiore in *T. minutus capelanus* (*T. minutus capelanus*: N%=84, W%=73; *M. merlangius*: N%=64, W%=53;). La seconda categoria sistematica rilevante in entrambe le specie è costituita dai teleostei, ma con netta prevalenza nella dieta di *M. merlangius* (*M. merlangius*: N%=10, W%=34; *T. minutus capelanus*: N%=3, W%=16). Seguono nell'ordine, ma in misura decisamente minore e con una lieve flessione a favore di *M. merlangius*, policheti (*M. merlangius*: N%=3, W%=1; *T. minutus capelanus*: N%=1, W%=2) e molluschi (*M. merlangius*: N%=2, W%=2; *T. minutus capelanus*: N%=1, W%=1). Prede occasionali per entrambi sono rappresentate da echinodermi. Tra i crostacei predati, abbondano soprattutto i decapodi, ma con diversificazioni nelle specie a seconda del predatore. In *T. minutus capelanus* prevalgono i decapodi natanti (N%=81: *Alpheus glaber*, *Processa* sp., *Philocheras* sp., rispetto ai reptanti: N%=9: *Goneplax rhomboides*, *Liocarcinus* sp.), mentre in *M. merlangius*

prevalgono i reptanti (N%=47: *Liocarcinus* sp., *G. rhomboides*, rispetto ai natanti: N%=30: *A. glaber*, *Processa* sp., *Philocheirus* sp.). Relativamente ai teleostei, si nota in generale in entrambi i predatori, la presenza delle stesse specie bentoniche (*Cepola macrophthalma*, *Lesuerigobius suerii*, *Lesuerigobius friesi*, *Gobius niger*, *Gaidropsarus biscayensis*, *Callionymus maculatus*). Tuttavia, *M. merlangus* preda, in misura rilevante, anche specie pelagiche come *Engraulis encrasicolus* e, solo occasionalmente, lo stesso *T. minutus*. Relativamente alla taglia, entrambi i predatori mostrano un cambiamento (molto più marcato in *M. merlangus*), con l'età adulta, in cui aumenta la componente ittica. L'analisi qualitativa ha permesso l'identificazione di 47 specie (appartenenti a 7 categorie sistematiche principali) per *M. merlangus* e di 38 specie (appartenenti a 7 categorie sistematiche principali) per *T. minutus capelanus*. Le specie comuni ad entrambi i predatori sono 25, appartenenti per lo più a crostacei di piccola taglia (decapodi). Le specie che differenziano qualitativamente *M. merlangus* sono soprattutto pesci pelagici (*E. encrasicolus*), crostacei di taglie maggiori (come *Squilla mantis*) e molluschi di taglie maggiori (cefalopodi come *Loligo vulgaris*).

Conclusioni - Si conferma l'importanza degli attuali approcci ecosistemici nella gestione delle risorse ittiche che prevedono il "modello di valutazione multispecifico". In particolare, dal confronto fra le strategie alimentari dei due gadidi, risulta una certa sovrapposizione nelle preferenze alimentari, dato che oltre il 60% delle specie sono predate da entrambi. Tuttavia, i risultati (almeno relativamente ai dati raccolti), suggeriscono che le risorse alimentari siano ripartite fra le due specie (anche in ragione della loro diversa distribuzione geografica e batimetrica, con *M. merlangus* che predilige bassi fondali e l'Alto Adriatico rispetto a *T. minutus capelanus* più ubiquitario). Infatti, pur prediligendo entrambe i crostacei decapodi, diversificano la quantità e la dimensione delle prede, anche in relazione alla diversa taglia raggiunta, maggiore di circa un terzo in *M. merlangus*.

Bibliografia

- CARASSON M., CARTES J.E.R. (2002) - Trophic relationships in a Mediterranean deep-sea fish community: partition of food resources, dietary overlap and connections within the benthic boundary layer. *Marine Ecology Progress Series*, **241**: 41-55.
- GRAMITTO M.E. (1999) - Feeding habitus and estimation of daily ration of poor cod *Trisopterus minutus capelanus* (Madida) in the Adriatic Sea. *Cybium*, **23** (2): 115-130.
- VALLISNERI M., LELLI R., TOMMASINI S., PICCINETTI C. (2005a) - Trophic biology of *Merlangius merlangus* (Linneo, 1800) (Osteichthyes, Gadidae) in the North Adriatic Sea. *Biol. Mar. Mediterr.*, **12** (1): 602-604.
- VALLISNERI M., MONTEBELLI M., FROGLIA C., PICCINETTI C. (2005b) - Feeding habits of *Trisopterus minutus capelanus* (Lacepede, 1800) (Osteichthyes, Gadidae) in the North Adriatic Sea. *Biol. Mar. Mediterr.*, **12** (1): 605-608.
- VALLISNERI M., TROTTA V., CAVICCHI S., PICCINETTI C. (2008) - Sex-specific somatic-otolith growth relationship in two Gadidae. *J. Fish Biol.*, **72**: 724-730.

M. VALLISNERI¹, M. STAGIONI^{1,2}, S. MONTANINI^{1,2}, C. PICCINETTI^{1,2}

¹Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna,
Via Selmi, 3 – 40126 Bologna, Italia.
maria.vallisneri@unibo.it

²Lab. Biologia Marina e Pesca, Università di Bologna, Fano (PU), Italia.

ATLANTE DEGLI OTOLITI DI SPECIE ITTICHE DEL NORD-MEDIO ADRIATICO

ATLAS OF THE FISH OTOLITHS IN THE NORTHERN-MIDDLE ADRIATIC SEA

Abstract – *Fish otoliths of 104 species of the Northern-Middle Adriatic Sea have been digitally photographed using image analysis procedures for reference collection. Shape and size, characteristics of the species, were analyzed by stereomicroscope and SEM. One of the main goal of image collections was to identify species remains recovered from fish stomachs.*

Key-words: *otolith identification, image analysis, data-base, North-Middle Adriatic Sea.*

Introduzione - Lo studio morfologico degli otoliti ha molteplici applicazioni: 1) valutazione delle relazioni trofiche nelle reti alimentari (mediante analisi dei contenuti stomacali di specie marine ittiofaghe); 2) studi tassonomici (identificazione della specie e correlazioni filogenetiche, Piera *et al.*, 2005; sito web (2006); 3) valutazione delle risorse ittiche (con identificazione dell'età, della dinamica di popolazione, degli stocks, Vallisneri *et al.*, 2008); 4) studi di morfologia funzionale ed ecomorfologia (mediante valutazione delle correlazioni tra caratteri morfologici e biometrici degli otoliti e caratteri ambientali); 5) confronto tra la fauna fossile e l'attuale (paleontologia e paleoecologia); 6) determinazione di animali ritrovati in scavi archeologici (archeozoologia). Tuttavia, a tuttora non si dispone di un atlante o di un database esaustivo di immagini ottiche ed elettroniche digitali di otoliti delle specie ittiche (Lombarte *et al.*, 2006; Piera *et al.*, 2005), in particolare del Nord-Medio Adriatico, ma solo parziali raccolte (Costa, 1991).

Materiali e metodi - Per ciascuna specie ittica è stata redatta una scheda che riporta: nome scientifico, nome comune, famiglia, ordine, area. È stato messo a punto un sistema informatico di acquisizione di immagini digitali di otoliti (sagittae) realizzate allo stereomicroscopio ed al microscopio elettronico a scansione per l'analisi dei dettagli. Il materiale iconografico raccolto, con un migliaio di fotografie, costituisce una banca dati di riferimento, oggettiva, immediata e di facile consultazione. Ciascun otolite è stato lavato in una soluzione contenente ipoclorito di sodio diluito all'1% per essere ripulito da eventuali residui di tessuto. Successivamente sono state realizzate fotografie che riprendono: 1) la superficie prossimale recante il solco acustico (un incavo lungo la superficie); 2) la superficie distale in cui è visibile il nucleo. L'otolite (immerso in una pellicola d'acqua) è stato fotografato su entrambe le superfici. Per ottenere una buona rappresentazione del contorno dell'otolite, l'immagine è stata contrastata il meglio possibile (con lo sfondo nero) tramite il programma grafico "Image J". Le immagini sono in TIFF, di preferenza nella scala dei grigi e 2592×1944 pixels di dimensione.

Risultati - È stato realizzato un archivio informatico e cartaceo contenente una scheda che riporta immagine e dati relativi agli otoliti, nonché alla biometria delle specie ittiche dell'alto-medio Adriatico. In totale sono stati fino ad ora analizzati gli otoliti di 104 specie, appartenenti a 48 famiglie ed a 15 ordini: Anguilliformes (Congri-

dae, Ophichthidae), Atheriniformes (Atherinidae), Aulopiformes (Chlorophthalmidae), Clupeiformes (Clupeidae, Engraulidae), Gadiformes (Gadidae, Lotidae, Macruridae, Merluccidae, Phycidae), Lampriformes (Trachipteridae), Lophiiformes (Lophiidae), Mychtophiformes (Mychtophidae), Ophidiiformes (Ophidiidae), Osmeriformes (Argentinidae), Perciformes (Blennidae, Callionymidae, Carangidae, Centracanthidae, Cepolidae, Gobiidae, Labridae, Mugilidae, Mullidae, Pomatomidae, Scianidae, Scombridae, Serranidae, Sparidae, Sphyraenidae, Trachinidae, Trichiuridae, Uranoscopidae), Pleuronectiformes (Bothidae, Citharidae, Cynoglossidae, Pleuronettidae, Scopthalmidae, Soleidae, Sphyraenidae), Scorpaeniformes (Peristediidae, Scorpaenidae, Sebastidae, Triglidae), Syngnathiformes (Centriscidae), Zeiformes (Caproidae, Zeidae). Gli esemplari considerati hanno tutti raggiunto la taglia di maturità sessuale per garantire un confronto equo escludendo modificazioni morfologiche correlate all'ontogenesi degli otoliti. Il profilo morfologico e la biometria degli otoliti evidenziano la specie-specificità ed un andamento che tende a rispecchiare la filogenesi, in accordo con Lombarte *et al.* (2006). Il profilo degli otoliti, relativamente ai dati raccolti, si può definire secondo 11 differenti figure geometriche: 1) fusiforme, 2) triangolare, 3) oblungo, 4) quadrato, 5) ovale, 6) rotondo, 7) con processo, 8) con insenatura 9) a "T", 10) a "L", 11) a "8". Pare evidente un profilo simile nell'ambito di taxa filogeneticamente vicini; per esempio il genere *Solea* è generalmente caratterizzato da otoliti con profilo 6 e di taglia relativamente piccola (come molti della famiglia Soleidae); il genere *Trisopterus*, da profilo 1 e di taglia relativamente grande (come molti della famiglia Gadidae). Le specie della comunità demersale di acque profonde, sulla base dei dati finora raccolti, sembrano possedere generalmente otoliti di taglie relative maggiori rispetto alle specie demersali di acque basse o a quelle della comunità pelagica, in accordo con la letteratura (Lombarte *et al.*, 2006). Per esempio, il rapporto fra taglia otolite e taglia somatica di *Solea* si aggira attorno a 2%, mentre quello di *Merlangius* attorno a 7%.

Conclusioni – Si sottolinea l'importanza della realizzazione di collezioni fotografiche di riferimento, per le diverse aree geografiche, nello studio degli otoliti. L'archiviazione di immagini digitali al microscopio ottico ed elettronico consente, infatti, di realizzare un confronto rapido e sicuro per tutte le esigenze della ricerca.

Bibliografia

- COSTA F. (1991) - *Atlante dei pesci dei mari italiani*. Mursia Ed., Milano.
- LOMBARTE A., CHICÒ, PARISI-BARADAD V., OLIVELLA R., PIERA J., GARCÍA-LADONA E. (2006) - A web-based environment from shape analysis of fish otoliths. The AFORO database. *Scientia Marina*, **70**: 147-152.
- PIERA J., PARISI-BARADAD V., GARCÍA-LADONA E., LOMBARTE A., RECASENS L., CABESTANY J. (2005) - Otolith shape feature extraction oriented to automatic classification with open distributed data. *Marine and Freshwater Research*, **56**: 805-814.
- VALLISNERI M., TROTTA V., CAVICCHI S., PICCINETTI C. (2008) - Sex-specific somatic-otolith growth relationship in two Gadidae. *J. Fish Biol.*, **72**: 724-730.
- SITO WEB (2006) - http://www.pclab.noaa.gov/content/40_Fisheries_Biology/05_Otolith_Guide/Otolith_Guide.php

F. VANNINI, C. MANCUSI¹, R. SILVESTRI²

Red de los Humedales av.Hidalgo esq.1°Oriente, Puerto Escondido, Oaxaca, Messico.
francesca.vannini@gmail.com

¹ARPAT-AREA MARE-RIBM, Via Marradi, 114 – Livorno, Italia.

²CIBM-Centro Interuniversitario di Biologia Marina, Viale N. Sauro, 4 – Livorno, Italia.

LA NIDIFICAZIONE DI *LEPIDOCHELYS OLIVACEA*,
DERMOCHELYS CORIACEA E *CHELONIA MYDAS AGASSIZII*
NELLA STAGIONE 2007/2008 NELLA SPIAGGIA
DEL TOMATAL, OAXACA, MEXICO

NESTING OF *LEPIDOCHELYS OLIVACEA*, *DERMOCHELYS*
CORIACEA AND *CHELONIA MYDAS AGASSIZII*
IN 2007/2008 IN TOMATAL, OAXACA, MEXICO

Abstract – *The Coast of Oaxaca represents an important nesting site of three species of marine turtles: Lepidochelys olivacea, Dermochelys coriacea and Chelonia mydas agassizii. Marine turtles are considered endangered species, so it is necessary to improve urgent measure of conservation, to preserve their habitat and the reproductive and nesting sites.*

Key-words: nesting, conservation, education, *Lepidochelys olivacea*, *Dermochelys coriacea*, *Chelonia mydas agassizii*.

Introduzione – La costa del Pacifico occidentale del Messico è un'area ad alta concentrazione di tartarughe marine della specie *Lepidochelys olivacea*, *Chelonia mydas agassizii* e *Dermochelys coriacea*, considerate in pericolo d'estinzione (Nom 059-Ecol-2001, 2002). Nello Stato di Oaxaca si trovano spiagge di importanza mondiale per la nidificazione di queste specie di tartarughe che qui sono protette e monitorate: litorale di Escobilla, Morro Ayuta, Barra de la Cruz, Cahuitan (Barragan *et al.*, 2007). In Messico fino al 1990 la pesca delle tartarughe marine era consentita. Ancora oggi la consuetudine a commercializzare e ad alimentarsi della carne e delle uova di questi rettili marini è rimasta viva, soprattutto nelle popolazioni costiere.

Materiali e metodi – Il progetto di studio e di conservazione è stato realizzato durante la stagione di nidificazione 2007-2008 nella comunità del Tomatal, Santa Maria Colotepec, Oaxaca, Messico. L'università Benito Juárez di Oaxaca ha sostenuto la protezione della spiaggia del Tomatal con la Cooperativa Red de los Humedales. La comunità del Tomatal ha appoggiato le attività di recupero dei nidi e di protezione grazie al Gruppo Rurale per la conservazione delle tartarughe marine; agli operatori è stato insegnato come ricreare la forma del nido nella maniera più naturale possibile e le basi della biologia di questi rettili marini. Nel periodo di osservazione sono stati realizzati monitoraggi notturni su 8 Km di spiaggia, dalle 21 alle 6 del giorno successivo, con il supporto di volontari e di una moto a quattro ruote. Il progetto ha previsto l'individuazione e la messa in sicurezza, all'interno di recinti chiusi, del maggior numero di nidi di tartarughe, al fine di proteggerli dai locali. Nei quattro mesi di protezione della spiaggia (28/10/07-29/2/08) ogni giorno sono stati contati i nidi effettivi, i nidi saccheggianti, le tracce delle tartarughe salite dal mare senza deporre le uova (definiti in seguito "ritorni"), che probabilmente stavano perlustrando la spiaggia per deporre successivamente; infine sono state annotate quelle che tentavano di deporre senza successo, scavando buchi nella sabbia non molto profondi senza completare il nido e senza deporre. La spiaggia di interesse è stata divisa in tre parti: A (zona di marea), B (zona intermedia), C (presso la vegetazione); questa informazione è

stata annotata insieme al numero di uova raccolte ed alla specie (Eckert *et al.*, 2000). Le uova ritrovate sono state trasportate con borse di plastica dentro recinti protetti, annotando l'ora di raccolta e quella in cui venivano di nuovo interrate. Successivamente, in occasione della schiusa delle uova, sono state organizzate liberazioni di piccole tartarughe abbinate a conferenze per favorire la presa di coscienza da parte dei turisti e della popolazione locale.

Risultati – Alla fine del periodo di monitoraggio sono stati protetti 284 nidi di *L. olivacea*, per un totale di 27.768 uova, 11 nidi di *D. coriacea* (631 uova) e 1 nido di *C. mydas agassizii* (110 uova) (Tab. 1); si sono inoltre contati 214 nidi saccheggianti dai locali e 94 tartarughe adulte morte.

Tab. 1 - Risultati periodo di protezione 2007/2008.

Results of the 2007/2008 protection period.

SPECIE	NIDI PROTETTI	NIDI SACCHEGGIATI	TENTATIVO DI NIDIFICAZIONE	RITORNO	NATI
<i>L. olivacea</i>	284	214	10	24	15.633
<i>D. coriacea</i>	11	4	2	2	246
<i>C. m. agassizii</i>	1	0	1	8	0

Il giorno di maggior concentrazione di *L. olivacea*, una specie che nidifica in grandi gruppi, è stato il 3 gennaio 2008, in cui il forte vento proveniente dagli Stati Uniti ha spinto le tartarughe fuori dall'acqua per la deposizione. Si sono contati 69 individui e sino a 28 tartarughe in deposizione contemporanea, per un totale di 32 nidi. L'unico nido di *C. mydas agassizii* ritrovato e protetto nel recinto è stato depredato la notte successiva. Nei quattro mesi di tutela si sono contate 498 *L. olivacea*, 15 *D. coriacea* ed 1 *C. mydas agassizii* in deposizione. Per quanto riguarda la tartaruga liuto si può considerare questa spiaggia di importanza secondaria (Red de los Humedales, 2007).

Conclusioni – La spiaggia del Tomatal si è rivelata di grande importanza per la riproduzione di tartarughe marine e qui si potrebbero proporre progetti di ricerca interessanti per lo studio della biologia di queste specie. Il cammino da percorrere per ottenere un'efficiente conservazione è ancora lungo, soprattutto per la mancanza di finanziamenti governativi che non consente di equipaggiare le comunità locali con attrezzature adeguate e fondamentali veicoli a motore, nonché di fornire loro il supporto di tecnici specializzati, che migliorerebbe il lavoro di protezione. La presa di coscienza da parte delle popolazioni locali, specialmente dei più giovani, è fondamentale per un futuro più rispettoso verso questi rettili marini a rischio d'estinzione (Barragan *et al.*, 2007).

Bibliografia

- BARRAGAN A., OCAMPO E., GARCIA D., SARTI L., DUTTON P. (2007) - Conservacion de la tortuga laud en las playas indice del Pacifico Mediano, Temporada 2006/2007. Informe tecnico final. CONANP, Kutzari, A.C.: 15 pp.
- ECKERT K., BJORN DAL K., ABREU A., DONNELLY M. (2000) - Tecnicas de investigacion y manejo para la conservacion de las tortugas marinas. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE Publicacion No. 2: 272 pp.
- NOM 059-ECOL-2001 (2002) - Proteccion ambiental – Especies Nativas de Mexico de Flora y Fauna Silvestres – Categorias de Riesgo y Especificaciones para su inclusion, exclusion o cambio. Lista de Especies en Riesgo . Diario Oficial de la Federacion.
- RED DE LOS HUMEDALES - Informe final 2005/2006/ 2007 (2007) Conanp, Mexico.

S. VITALE, M. ARCULEO*, L. CANNIZZARO, C. BADALUCCO

Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto per l'Ambiente Marino Costiero
U.O. di Torretta Granitola - Campobello di Mazara, Italia.
sergio.vitale@irma.pa.cnr.it

*Università degli Studi di Palermo, Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.

ASPETTI RIPRODUTTIVI DI *HOPLOSTETHUS MEDITERRANEUS* NEL MEDITERRANEO CENTRALE

REPRODUCTIVE ASPECTS OF HOPLOSTETHUS MEDITERRANEUS IN THE CENTRAL MEDITERRANEAN SEA

Abstract - *Hoplostethus mediterraneus* is a deep water species caught by commercial trawl fleet in the Mediterranean Sea. The reproductive aspects were studied. The results showed a large reproductive period. Furthermore, the $L_{50\%}$ value was close to the mean total length of the females (L_c). The outputs of the study suggested to pay more attention to the deep water species regularly caught by the commercial trawl fleet.

Key-words: *Hoplostethus mediterraneus*, reproductive cycle, deep-sea fisheries, Mediterranean Sea.

Introduzione - Nello Stretto di Sicilia *Hoplostethus mediterraneus* (Cuvier, 1829) (Pisces; Thachichthyidae) è regolarmente scartato nell'ambito della cattura delle specie target *Parapenaeus longirostris*, *Nephrops norvegicus* e *Aristaeomorpha foliacea*. *Hoplostethus mediterraneus* è una specie cosmopolita che vive esclusivamente su fondi fangosi da 100 m a oltre 1100 m (Fisher *et al.*, 1987). Questa specie mesopelagica è una "deep water species" longeva (Vitale *et al.*, 2004) e, come molte specie profonde, lenta nel raggiungere la maturità sessuale (Orsi Relini e Wurtz, 1979a,b; Haedrich, 1996; Kelly *et al.*, 1997). Malgrado la grande vulnerabilità delle "deep water species", non si hanno informazioni sugli aspetti riproduttivi di *Hoplostethus mediterraneus* nello Stretto di Sicilia. Obiettivo dello studio è aggiungere una nota biologica sugli aspetti riproduttivi di *Hoplostethus mediterraneus*.

Materiali e metodi - Dal gennaio 2004 e per tutto il 2005 sono stati prelevati 24 campioni, uno al mese, della cattura di *Hoplostethus mediterraneus* da un peschereccio a strascico della flotta di Mazara del Vallo. In totale sono stati collezionati 1158 esemplari di *Hoplostethus mediterraneus* cui sono stati rilevati tutti i principali parametri biologici e biometrici. In particolare sono stati rilevati i seguenti parametri: la lunghezza totale (Lt), il peso totale, il peso eviscerato e il peso delle gonadi. Il grado di maturità sessuale è stato determinato mediante osservazione macroscopica delle gonadi, la scala di maturità sessuale usata è stata quella a cinque stadi per "partial spawners" di Holden e Raitt, 1974. Questi dati sono stati utilizzati per determinare il rapporto tra i sessi e l'Indice Gonado Somatico (IGS). Inoltre, è stato confrontato l'andamento dell'IGS delle femmine in funzione della taglia ed è stato stimato il valore al quale il 50% delle femmine sono mature ($L_{50\%}$) secondo il modello logistico, considerando immaturi gli esemplari allo stadio di maturità 1-2 e maturi gli esemplari allo stadio di maturità 3-4-5.

Risultati - Il rapporto tra i sessi non ha mostrato grandi differenze tra i due anni di campionamento. *Hoplostethus mediterraneus* mostra un rapporto tra i sessi di 1:1 nel periodo primavera-estate ed un incremento a favore delle femmine nel periodo autunno-inverno. Infatti, nel periodo autunno-inverno il rapporto tra i sessi aumenta a 1.33:1 ma non si duplica (2:1) così come registrato da D'Onghia *et al.* (1995) nello Ionio. I valori degli IGS sono stati determinati per stagione e non hanno mostrato dif-

ferenze significative tra i due anni di campionamento. L'andamento dell'IGS mostra un ciclo riproduttivo stagionale. I valori più alti sono stati registrati in estate (2.02 cv=85.15) per le femmine e in primavera (0.76 cv=64.47) per i maschi. Nelle altre stagioni si assiste ad una lieve diminuzione dell'IGS, in autunno per le femmine (1.93 cv=89.12) e in inverno per i maschi (0.72 cv=70.83). I risultati ottenuti mostrano un periodo riproduttivo ampio che si estende dalla primavera all'autunno registrando il picco per le femmine in estate, come riportato da D'Onghia *et al.* (1998) per il mar Ionio. La relazione tra l'IGS e la frequenza di taglia di tutte le femmine campionate mostra chiaramente un trend crescente dell'IGS all'aumentare della taglia ed una grande eterogeneità individuale. Attraverso la distribuzione di frequenza di taglia si osserva che la taglia minima catturata per le femmine è di circa 9-10 cm e la stima di $L_{50\%}$ delle femmine risulta di 15.52 cm, valore prossimo alla taglia media di cattura (L_c) delle femmine che è di 15.9 cm (cv=21.57%).

Conclusioni - Nello Stretto di Sicilia *Hoplostethus mediterraneus* è caratterizzato da un rapporto tra i sessi a favore delle femmine e da una grande eterogeneità nel peso gonadico per classe di taglia. L'ampio ciclo riproduttivo che si estende dalla primavera all'autunno permette a questa "deep water species" di sostenersi favorevolmente in tutte quelle "fishing grounds" nelle quali è fortemente sfruttata. I valori prossimi tra L_c delle femmine e $L_{50\%}$ suggeriscono una condizione limite per la salvaguardia della specie che dovrebbe essere monitorata negli anni a venire, affinché non si registri un valore della L_c inferiore ad $L_{50\%}$ che determinerebbe una riduzione della risorsa. *Hoplostethus mediterraneus*, così come altre specie longeve particolarmente vulnerabili all'attività di pesca, meriterebbe maggiori ricerche volte ad accrescere le conoscenze su tale risorsa e sull'intero ecosistema nel quale vive.

Bibliografia

- D'ONGHIA G., MATARRESE A., TURSI A., SION L., PANZA M. (1995) - Aspetti della biologia di *Hoplostethus mediterraneus* (Pisces, Osteichthyes) nel Mar Ionio: riproduzione e accrescimento. *Biol. Mar. Mediterr.*, **2** (2): 251-255.
- D'ONGHIA G., TURSI A., MARANO C.A., BASANINI M. (1998) - Life history of *Hoplostethus mediterraneus* (Pisces: Beryciformes) from the north-western Ionian sea (Mediterranean Sea). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **78**: 321-339.
- FISCHER W., BAUCHOT M.L. (1987) - *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (Rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche*, 37. Vol. II. Vertèbres: 761-1530.
- HAEDRICH R.L. (1996) - Deep-water fishes: evolution and adaptation in the earth's largest living spaces. *Journal of Fish Biology*, **49** (Suppl. A): 40-53.
- KELLY C.J., CONNOLLY P.L., BRACKEN J.J. (1997) - Age estimation, growth, maturity and distribution of the roundnose grenadier from the Rockall trough. *Journal of Fish Biology*, **50**: 1-17.
- ORSI RELINI L., WURTZ M. (1979a) - Biologia di *Nezumia aequalis* (Osteichthyes, Macrouridae) sui fondi batiali liguri. *Quaderni della Civica Stazione Idrobiologia di Milano*, **7**: 75-98.
- ORSI RELINI L., WURTZ M. (1979b) - Biologia of *Trachyrhynchus trachyrhynchus* (Risso, 1810) (Osteichthyes, Macrouridae) during the first years of benthic life. *Rapport de la Commission Internationale de la Mer Méditerranée*, 10 Congrès and Plenary Assembly of Antalya, **25/26**: 71-77.
- VITALE S., CANNIZZARO L., BONO G., BELTRANO A.M., INGRASSIA M., MILAZZO A. (2004) - Age determination of Silver Roughty *Hoplostethus mediterraneus* (C., 1829) (Pisces; Trachichthyidae) in the Strait of Sicily. *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (2): 661-665.

S. VITALE, L. CANNIZZARO, G. DE STEFANO, A. MERCORELLA, A. MILAZZO, G. SALVO

Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto per l'Ambiente Marino Costiero
U.O. di Torretta Granitola - Campobello di Mazara, Italia.
sergio.vitale@irma.pa.cnr.it

SULLE RISORSE PESCABILI DEL GOLFO DI POZZALLO

ON THE FISHING RESOURCES OF THE GULF OF POZZALLO

Abstract - The study aimed at demonstrating that the Gulf of Pozzallo (South-West of Sicily) is nursery area. The specimens collected during three experimental trawl surveys were recorded and the biomass estimated according to the sweep area model. The results showed the gulf as a nursery area and advised to monitor the resources for a sustainable exploitation.

Key-words: nursery grounds, biomass, fishing resources, Mediterranean Sea.

Introduzione - Il Golfo di Pozzallo è sempre stato definito, prima dai pescatori e successivamente, mediante alcuni studi condotti ad hoc (Andreoli *et al.*, 1995), un'importante area di "nursery", che funge da polmone alla pesca artigianale la quale ha da sempre un ruolo preminente nell'economia locale.

La conoscenza delle risorse biologiche attraverso indagini condotte da dati di pesca, è ristretta a pochi studi su base locale (Arculeo e Riggio, 1983; Ardizzone, 1985; De Metrio *et al.*, 1985) limitando enormemente l'opportunità di suggerire misure gestionali a lungo termine.

Materiali e metodi - La caratterizzazione delle risorse pescabili nel Golfo di Pozzallo è stata realizzata, nell'ambito del progetto di ricerca "Valutazione delle risorse demersali pescabili nelle aree di pesca della marineria di Porto Palo di Capo Passero". Il Golfo di Pozzallo (costa sud-orientale della Sicilia) ha una superficie di circa 33 nm² ed arriva fino alla batimetrica dei 20 m. Tale superficie è stata suddivisa in Unità di Campionamento Elementari di 2 nm². Il motopesca con il quale sono state condotte le battute di pesca è stato l'Orchidea II (T.S.L.=70.32; Potenza motore=550 kw). Complessivamente sono state realizzate 54 cale da 30 minuti, per ciascuna delle tre campagne programmate di pesca diurna.

L'analisi biometrica e biologica di tutti gli esemplari catturati ha permesso di determinare l'elenco di tutte le specie che caratterizzano le risorse demersali pescabili; determinare le distribuzioni delle frequenze di taglia; determinare le relazioni taglia peso.

Considerando l'omogeneità del fondale, supponendo una distribuzione uniforme della risorsa ed uguale catturabilità per tutti gli esemplari, si è stimata la biomassa in mare (kg/km²) attraverso il modello della "swept area", con la seguente relazione:

$$B = \overline{(Cw/a)} \cdot A / xl$$

dove: B è la biomassa, Cw è la cattura totale per cala, a è l'area strascicata per cala, A è la somma delle aree strascicate in tutte le cale, xl è il coefficiente di catturabilità.

Risultati - L'analisi dei campioni raccolti nelle 54 cale ha permesso di identificare 38 specie di Teleostei, 3 Cefalopodi, 2 Condroitti, 2 Crostacei ed 1 Gasteropode. Le specie maggiormente catturate tra i Teleostei sono state: *Mullus barbatus*, *Spicara smaris*, *Trachurus mediterraneus*, *Pagellus erythrinus* e *Pagrus pagrus*. Per le specie suddette, l'analisi biometrica ha mostrato valori di taglia che oscillano tra 60 mm e 180 mm. Il 90% di tutti gli esemplari ha mostrato una taglia inferiore alla taglia di prima maturità sessuale. In particolare per *Mullus barbatus* la Lunghezza totale media (L_{tm}) è

risultata di 95,12 mm $dv=22,62$ per *Spicara smaris* $Lt_m=85,53$ mm $dv=15,29$ per *Trachurus mediterraneus* $Lt_m=107,32$ mm $dv=28,49$ per *Pagellus erythrinus* $Lt_m=112,37$ mm $dv=31,7$ per *Pp* $Lt_m=97,01$ mm $dv=15,24$.

La Tab. 1 mostra la cattura totale media oraria, l'area strascicata e la stima della biomassa per ciascuna campagna di pesca.

Tab. 1 - Cattura totale media oraria (Kg/h); Area strascicata oraria (Km²): Biomassa (Kg/Km²).
Mean caught hourly (Kglh); Swept area hourly (Km²), Biomass (KglKm²).

Stagioni	Cattura totale media oraria Kg/h	Area strascicata oraria Km ²	Biomassa Kg/Km ²
Primavera	48.56	0.30	163.02
Estate	41.92	0.30	140.73
Autunno	50.56	0.30	169.73

Conclusioni - Le campagne di pesca a strascico sperimentale all'interno del Golfo di Pozzallo hanno confermato il grande interesse biologico di tale aerea, in quanto il 90% di tutti gli esemplari catturati presentano una taglia inferiore alla taglia di prima maturità sessuale, dimostrando che si tratta di un'area di nursery. La biomassa stimata nelle tre campagne di pesca mostra un valore più alto in autunno dovuto probabilmente al fermo di pesca della seconda metà dell'estate. Il Golfo di Pozzallo è pertanto un'area estremamente importante per la sostenibilità delle risorse marine pescabili.

Ricerche e studi finalizzati allo sfruttamento sostenibile delle risorse pescabili, dovrebbero costituire una priorità nelle politiche degli enti locali, delle province e/o regioni, per la conoscenza dei metodi di pesca, lo sfruttamento degli stocks e la caratterizzazione delle comunità demersali e pelagiche.

Bibliografia

- ANDREOLI M.G., LEVI D., CANNIZZARO L., GAROFALO G., SINACORI G. (1995) - *Sampling statistics of southern Sicily trawl fisheries (MINIPESTAT): methods*. N.T.R. - I.T.P.P., **4** (1): 131 pp.
- ARCULEO M., RIGGIO S. (1983) - Dati preliminari sulla piccola pesca nel Golfo di Palermo. *Nova Thalassia*, **6** (Suppl.): 725.
- ARDIZZONE G.D. (1985) - Analysis of the fisheries of the central Tyrrhenian Sea. *FAO Fish. Rep.*, **362**: 51-60.
- DE METRIO G., BELLO G., LENTI M., PETROSINO G., MATARRESE A. (1995) - L'attività di pesca col tramaglio di fondo della marineria di Porto Cesareo (Le) negli anni 1978-1983. *Nota I. Oebalia*, **11** (2) N.S.: 593-607.

Tale studio è stato finanziato dalla Regione Sicilia nell'ambito del P.O.R. 2000-2006.

M. ZUCCHETTA, V. GEORGALAS, G. CASTALDELLI¹, S. VINCENZI², P. FRANZOI

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Ca' Foscari di Venezia,
Castello 2737/b – 30122 Venezia, Italia.
matzuc@unive.it

¹Dipartimento di Biologia ed Evoluzione, Università di Ferrara, Italia.

²Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Parma, Italia.

UTILIZZO DI MODELLI DI VOCAZIONALITÀ AMBIENTALE PER INDIVIDUARE GLI HABITAT DI NURSERY PER *SPARUS AURATA* L. NELLA SACCA DI GORO

USING SPECIES DISTRIBUTION MODELS TO IDENTIFY NURSERY HABITATS FOR SPARUS AURATA L. IN THE GORO LAGOON

Abstract - We developed species distribution models for the early life-stages of the gilthead seabream *Sparus aurata* L. The models were calibrated using juveniles abundance data and environmental variables collected in the Goro Lagoon. The application of these models in a GIS environment allowed the creation of maps representing habitats covering a potential role of nursery for *Sparus aurata*.

Key-words: fish, *Sparus aurata*, species distribution models, nursery, Goro lagoon.

Introduzione - I modelli di vocazionalità ambientale sono modelli empirici che mettono in relazione la presenza delle specie con i parametri ambientali che ne influenzano la distribuzione. Una volta messi a punto, questi modelli permettono di generare mappe che descrivono l'habitat potenziale di una specie (Guisan e Zimmermann, 2000). In questo studio lo sviluppo di modelli di vocazionalità è proposto come strumento per identificare la distribuzione del "novellame da semina". Si ritiene, infatti, che una gestione sostenibile della risorsa non possa essere ottenuta senza passare attraverso l'identificazione e la salvaguardia delle aree di nursery.

Materiali e metodi - La distribuzione dei giovanili di orata è stata studiata raccogliendo dati relativi all'abbondanza degli avannotti e alle principali variabili ambientali all'interno della Sacca di Goro. Grazie all'utilizzo di una piccola sciabica, sono state campionate 11 stazioni nel periodo della montata (marzo-maggio) nel 2003 e nel 2004, per un totale di 154 osservazioni. Le densità degli avannotti di orata sono state raggruppate distinguendo tre classi dimensionali, corrispondenti a fasi distinte dello sviluppo ontogenetico. Informazioni bibliografiche, quali ad esempio la taglia a cui si sviluppano alcuni organi interni (Elbal *et al.*, 2004), o a cui si manifestano cambiamenti nelle preferenze alimentari (Ferrari e Chiericato, 1981), hanno permesso di identificare i 20 mm S.L. (Standard Length) e 35 mm S.L. come soglie che distinguono le tre classi dimensionali. Sono stati raccolti i parametri ambientali ritenuti più importanti nell'influenzare la distribuzione dei giovanili di orata: la temperatura, la salinità, la concentrazione di ossigeno disciolto e l'idrodinamismo della colonna d'acqua; la distanza idraulica dal mare e la profondità.

Per ciascuna delle tre classi dimensionali è stato calibrato un modello additivo generalizzato (Hastie e Tibshirani, 1990), per mettere in relazione il logaritmo dell'abbondanza della specie con i parametri ambientali. Dopo essere stati valutati utilizzando una procedura di bootstrap (Efron e Tibshirani, 1997) i modelli sono stati impiegati per effettuare predizioni della distribuzione dei giovanili di orata sull'intera superficie del bacino.

Risultati - Per tutte le classi individuate, i modelli ottenuti mostrano un buon grado di accordo con il dataset di calibrazione. Tuttavia una valutazione maggior-

mente realistica delle capacità di previsione dei modelli, condotta attraverso una procedura di bootstrap, ha evidenziato come solamente i modelli sviluppati per la classe di dimensioni inferiori e quella di dimensioni maggiori siano caratterizzati da un elevato potere predittivo.

L'analisi della forma delle risposte dei modelli ha aiutato a capire l'influenza delle variabili ambientali nello spiegare la distribuzione dei giovanili di orata. La temperatura è importante per tutte le classi considerate, essendo legata all'evoluzione temporale della presenza dei diversi stadi. La salinità è il secondo fattore più importante e contribuisce a spiegare la differente distribuzione delle tre classi. Nel modello delle orate di dimensioni inferiori ai 20 mm S.L. è stata registrata un'elevata influenza anche della variabile che descrive la distanza dal mare. Questa classe, infatti, sembra essere presente con maggior probabilità a distanze intermedie, evitando le aree più prossime alle bocche a mare.

Le predizioni mensili effettuate per il periodo della rimonta dell'orata, mostrano come le zone idonee all'insediamento delle piccole orate appena entrate dal mare siano localizzate nella parte nord-occidentale e nella parte centrale della sacca, all'altezza di Gorino. In aprile, invece, diventa molto elevata la probabilità di catturare orate di dimensioni maggiori, appartenenti alla 2^a classe. Queste possono essere ritrovate in ampie aree della sacca, con un picco nella zona nord-orientale e in vicinanza dell'area prossima al faro di Gorino. In maggio, invece, si riscontrano le condizioni più favorevoli per gli avannotti di dimensioni maggiori, che si concentrano nelle zone più settentrionali del bacino.

Conclusioni – Gli avannotti di orata che entrano dal mare a fine inverno non si concentrano nelle aree antistanti alle bocche di porto, ma entrano nelle zone più interne della sacca alla ricerca delle condizioni più favorevoli, preferendo acque polialine. In seguito, le giovani orate si accrescono e tendono a disperdersi sull'intero bacino, senza esibire chiare relazioni con habitat particolari, come testimoniato da una più debole correlazione statistica con i parametri ambientali. Con lo sviluppo ontogenetico questi individui esibiscono delle nuove esigenze ecologiche, manifestando una relazione piuttosto forte con alcune condizioni ambientali, determinate da particolari combinazioni delle diverse variabili considerate.

Bibliografia

- EFRON B., TIBSHIRANI R. (1997) - Improvements on Cross-Validation: The 632+ Bootstrap Method. *Journal of the American Statistical Association*, **92**: 548-560.
- ELBAL M.T., GARCIA-HERNANDEZ M.T., LOZANO M.T., AGULLEIRO B. (2004) - Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Light and electron microscopic studies. *Aquaculture*, **234**: 215-238.
- FERRARI I., CHEREGATO A.R. (1981) - Feeding habits of juvenile stages of *Sparus auratus* L., *Dicentrarchus labrax* L. and Mugilidae in a brackish embayment of the Po River Delta. *Aquaculture*, **25**: 243-257.
- GUISAN A., ZIMMERMANN N.E. (2000) - Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological modeling*, **135**: 147-186.
- HASTIE T.J., TIBSHIRANI R.J. (1990) - *Generalized Additive Models*. Chapman Hall/CRC, London: 335 pp.

T. ARENA, G. DANZÈ, B. CALDARONE, F. SMEDILE, G. RUGGERI, M. DE LUCA,
M. DE DOMENICO, E. DE DOMENICO

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina,
Salita Sperone, 31 – 98166 Messina, Italia.
bcaldarone@unime.it

VALUTAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ MICROBICA
NELLE COMUNITÀ ETERTROFICHE MARINE
DEL MAR MEDITERRANEO OCCIDENTALE
MEDIANTE LA TECNICA *ARDRA* (AUTUNNO 2006)

*MICROBIAL BIODIVERSITY IN MARINE HETEROTROPHIC
COMMUNITIES IN WESTERN MEDITERRANEAN SEA
BY ARDRA ANALYSIS (AUTUMN 2006)*

Abstract - In the last years, 16 S-Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis- *ARDRA* was successfully used for microbial ecology studies (Heyndrickx et al., 1996). Marine heterotrophic bacteria communities distribution was investigated along water column in Western Mediterranean Sea. Viable bacterial counts showed a non uniform distribution, with higher values found near Sardinia Sea. On the contrary, Alboran and Balearic areas were characterized by the highest value of biodiversity among isolated strains.

Key-words: marine heterotrophic bacteria, *ARDRA*, Mediterranean Sea, Balearics area, Gibraltar Straits.

Introduzione – Proseguendo gli studi che da anni vengono condotti sulle relazioni tra distribuzione delle comunità microbiche marine e masse d'acqua in Mar Mediterraneo (De Domenico et al., 1996, 2007; Giuliano et al., 1999), sono state condotte nuove indagini per valutare la biodiversità microbica mediante la tecnica *ARDRA* (Heyndrickx et al., 1996). Tale analisi sfrutta l'azione di alcune endonucleasi di restrizione in grado di tagliare il gene ribosomiale 16S a livello di specifiche sequenze nucleotidiche, in porzioni il cui numero e dimensione variano in base alla sequenza originaria. I frammenti, di dimensioni diverse, sono separati mediante elettroforesi, producendo un fingerprint tipico per ogni specie batterica. Nel periodo 7-28 ottobre 2006 è stata esaminata una vasta area del Mar Mediterraneo occidentale a bordo della N/O Urania nell'ambito della campagna oceanografica MEDGOOS13.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati effettuati in un totale di 32 stazioni distribuite lungo 4 transetti (M, G, A, R) posizionati tra lo Stretto di Gibilterra, il Mare di Alboran, il Mare delle Baleari e parte del Mare di Sardegna. In tutte le stazioni sono stati eseguiti profili CTDO-Fl e campionamenti con bottiglie Niskin montate su Rosette lungo l'intera colonna d'acqua. I campioni prelevati alle varie quote sono stati immediatamente seminati in doppio (spread-plate) su piastre Petri contenenti il terreno di coltura Marine Agar 2216 (Difco) ed incubati a 20 °C per 8 giorni. Gli isolati in coltura pura sono stati sottoposti ad analisi molecolari con amplificazione del 16S rDNA ed analisi di restrizione *ARDRA* (*Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*), con l'enzima *ALUI*, per il raggruppamento in *Cluster*. Al fine di una migliore comprensione della distribuzione dei conteggi vitali è stato calcolato il valore integrato sulla colonna d'acqua, suddivisa in tre strati: epipelagico (0-200 m), mesopelagico (200-1000 m) e batipelagico (1000-2000 m). I valori di diversità batterica sono stati elaborati in termini di numero di OTU e come indice di Shannon.

Risultati - La maggiore abbondanza batterica per lo strato epipelagico è stata riscontrata a livello delle stazioni M5 ed R11 ($4,35$ e $3,56 \times 10^{11}$ CFU/m³) situate nel

Mare di Sardegna, mentre il valore minimo ($1,70 \times 10^{10}$ CFU/m³) si è osservato nella stazione A4, posta nel Mare delle Baleari. Nello strato mesopelagico i valori di maggiore abbondanza coincidono nuovamente con le stazioni M5 ed R11 ($4,45$ e $6,13 \times 10^{12}$ CFU/m³); il valore minimo ($1,05 \times 10^{11}$ CFU/m³) è stato riscontrato, invece a livello della stazione A2 (area Baleari). Nella parte più profonda della colonna d'acqua (strato batipelagico) predomina ancora la stazione M5 ($4,67 \times 10^{12}$ CFU/m³); mentre il valore minimo si è osservato a livello della stazione G4 ($1,28 \times 10^{11}$ CFU/m³).

La maggiore quantità di OTU è stata riscontrata in assoluto nella stazione M14 (Mare delle Baleari) con un valore pari a 12; il valore medio è stato di 5 OTU/stazione. I valori di biodiversità sono stati valutati anche in funzione della profondità nei tre strati considerati (epi, meso e batipelagico). Per quanto riguarda il primo strato, predomina la stazione M21 con 8 *Cluster*; nello strato mesopelagico, sono da segnalare le stazioni M23 e G2 (8 OTU); oltre i 1000 m di profondità (strato batipelagico) i massimi valori di biodiversità (8 OTU) si sono riscontrati a livello delle stazioni J8, A2 ed R9.

Conclusioni – I picchi di massima abbondanza batterica sono stati riscontrati nel Mar di Sardegna per i tre strati considerati. Per lo strato epipelagico si è evidenziato un andamento crescente dal versante atlantico dello Stretto di Gibilterra fino al Mare di Sardegna, con valori minimi all'interno del Mare delle Baleari. Nello strato intermedio, si è presentata una situazione simile con valori massimi a livello del Mare di Sardegna e minimi nel settore Baleari. Oltre i 1000 m di profondità è stata osservata un'inversione di tendenza, con il settore Baleari che ha assunto maggiore importanza nella distribuzione dei batteri eterotrofi in ambiente profondo. La biodiversità microbica mostrata dalla tecnica *ARDRA* segue un andamento inverso rispetto all'abbondanza batterica. Infatti, la massima distribuzione di OTU (fino a 12 nella stazione M14) si è osservata a livello del Mare delle Baleari e del Mare di Alboran.

Ringraziamenti - Un sincero ringraziamento a Mireno Borghini per le facilitazioni a bordo della N/O Urania e l'aiuto amichevole.

Bibliografia

- DE DOMENICO M., GIULIANO L., CORTESE G., DE DOMENICO E. (1996) - Distribuzione delle comunità microbiche in relazione con le caratteristiche idrologiche in acque pelagiche del Canale di Sardegna. *Atti 11° Congresso Ass. Ital. Oceanol. Limnol.*: 363-372.
- DE DOMENICO M., DE LUCA M., RUGGERI G., SCARFÌ S., SMEDILE F., DE DOMENICO E. (2007) - Caratterizzazione fisiologica e tassonomica di batteri isolati nel Mar Tirreno meridionale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 376-377.
- GIULIANO L., DE DOMENICO M., DE DOMENICO E., HÖFLE M.G., YAKIMOV M.M. (1999) - Identification of culturable oligotrophic bacteria within naturally occurring bacterioplankton communities of the Ligurian Sea by 16S rRNA sequencing and probing. *Microb. Ecol.*, **37**: 77-85.
- HEYNDRIKX M., VAUTERIN L., VANDAMME P., KERSTERS K., DE VOS P. (1996) - Applicability of combined amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) patterns in bacterial phylogeny and taxonomy. *J. Microbiol. Meth.*, **26**: 247-259.

M. BENZI, C. SILVESTRI

ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia- Romagna, Struttura Oceanografica Daphne,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
mbenzi@arpa.emr.it

ANDAMENTI DELLA POPOLAZIONE ZOOPLANCTONICA LUNGO LA COSTA EMILIANO-ROMAGNOLA (GIUGNO 2001-DICEMBRE 2006)

TRENDS OF ZOOPLANKTONIC ASSEMBLAGE ALONG EMILIA-ROMAGNA COAST (JUNE 2001-DECEMBER 2006)

Abstract - Zooplanktonic population shows a similar spatio-temporal trend along the Emilia-Romagna coast during the period June '01 - December '06. Copepods and Cladocerans represent the main component of the entire taxonomic groups classified as "Other zooplankton" Copepods are dominant in spring and autumn and Cladocerans are dominant in summer, although with different densities.

Key-words: Adriatic Sea, Cladocerans, Copepods, mesozooplankton, temperature.

Introduzione - Lungo la fascia costiera emiliano-romagnola, all'interno del Programma di Monitoraggio L. 979/82, è stato avviato un monitoraggio dello zooplancton (giugno 2001 - gennaio 2007), con una sospensione nei mesi di aprile, maggio e giugno 2006. A partire dalla campagna di giugno 2002, si sono individuate per ogni gruppo tassonomico le specie al fine di una miglior definizione e conoscenza della componente zooplanctonica. Lo scopo di questo lavoro è quello di evidenziare, in un arco temporale di 5 anni, la composizione della comunità ed il suo andamento spazio temporale.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati effettuati, con frequenza quindicinale, a bordo della motonave Daphne II nel periodo giugno 2001 e dicembre 2006 nelle stazioni di P. Garibaldi (St. 4), Cesenatico (St. 14), L. Adriano (St. 9) e Cattolica (St. 19) situate a 0,5 Km dalla costa. In tutte le stazioni il mesozooplancton è stato raccolto secondo le metodologie analitiche di riferimento (Zunini Sertorio, 2001) utilizzando una rete standars WP-2 con vuoto di maglia di 200 μm e dotata di flussometro. L'analisi quali-quantitativa (Rose, 1933; Todd *et al.*, 1996) è stata condotta utilizzando uno stereoscopio Olympus modello SZX12 e le abbondanze sono state espresse come numero di individui/ m^3 . Sono stati eseguiti inoltre profili verticali per la determinazione dei principali parametri idrologici utilizzando una sonda multiparametrica Idronaut mod. Ocean Seven 316 installata a bordo della "Daphne II".

Risultati - L'indagine quantitativa del mesozooplancton totale (Fig. 1) evidenzia un andamento stagionale caratterizzato da valori minimi di densità nel periodo invernale, valori che aumentano in primavera e che raggiungono massimi livelli in estate e in autunno. In questa indagine sono stati presi in considerazione principalmente organismi appartenenti a Copepodi e Cladoceri (Subphylum Crustacea). Durante il 2005 si sono registrate le abbondanze più elevate in assoluto. Il monitoraggio di inizio novembre ha registrato massime densità nella St. 9 con 32.449 ind/ m^3 e nella St. 14 con 63.544 ind/ m^3 ; nella St. 19 si sono rilevati valori massimi il 3 maggio con una densità di individui pari a 29.434 ind/ m^3 . In tutte queste occasioni i livelli di trofia sono risultati essere elevati con valori di clorofilla "a" superiori ai 10 $\mu\text{g/l}$. L'indagine qualitativa ha evidenziato come il genere *Acartia* sia il più abbondante e dominante tra i copepoditi con un valore massimo di 39.000 ind/ m^3 (St. 14, 9 novembre '05).

I cladoceri rappresentano l'altra frazione importante e caratteristica della comunità durante la stagione estiva dove rappresentano il gruppo dominante in concomitanza di

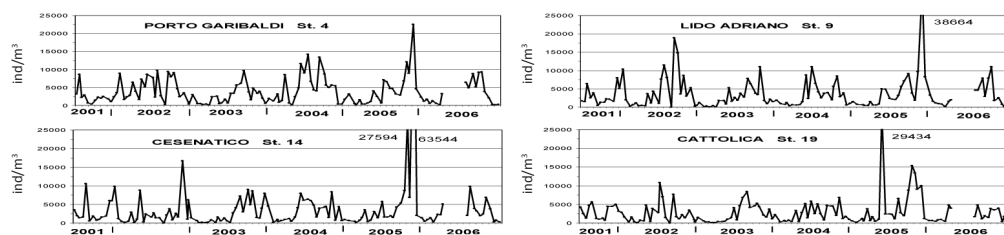


Fig. 1 - Andamenti temporali dello zooplancton totale nelle stazioni 4, 9, 14 e 19 (giugno 2001 - dicembre 2006).

Zooplankton temporal trends in 4, 9, 14 and 19 stations (June 2001 - December 2006).

temperature massime delle acque superficiali (valore stagionale medio estivo di 25.9 °C per la st. 4 e di 25 °C per la st. 9, 14, 19). La specie *Penilia avirostris* registra abbondanze maggiori rispetto ai generi *Podon* ed *Evadne* in tutte le stazioni (Fig. 2); il contributo del genere *Podon* risulta minore in termini di abbondanze ma maggiore come presenza dal mese di maggio fino a inizio autunno. Il genere *Evadne* è risultato essere poco abbondante durante il 2006 soprattutto nelle st. 14, 19.

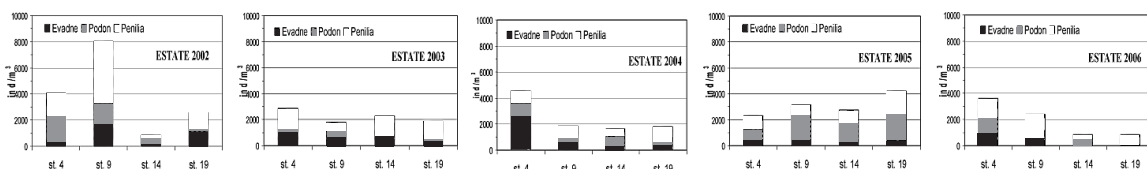


Fig. 2 - Rapporto tra i generi *Evadne*, *Penilia* e *Podon* appartenenti al gruppo dei Cladoceri nelle stazioni 4, 9, 14 e 19 in estate dal 2002 al 2006.

Relationship between Evadne, Penilia and Podon genus belonging to the Cladocera in stations 4, 9, 14 and 19 in summer from 2002 to 2006.

Conclusioni - Copepodi e Cladoceri sono i gruppi tassonomici che maggiormente caratterizzano la comunità zooplanctonica lungo le coste dell'Emilia Romagna con andamenti stagionali simili in tutte e quattro le stazioni monitorate. Si rileva un trend da nord a sud con abbondanze medie maggiori nelle stazioni nell'area più settentrionale rispetto alle stazioni centro-meridionali. Si segnala nella st. 19 un aumento medio nel tempo dello zooplancton totale in inverno ed in primavera. Il gruppo dei Copepodi rappresenta la componente più abbondante con il genere *Acartia*. Il gruppo dei Cladoceri risulta dominante durante le stagioni più calde anche se non raggiungono, ad eccezione di alcuni casi, densità elevate paragonabili al gruppo dei Copepodi.

Bibliografia

- TODD C.D., BOXSHALL G.A., LAVERAK M.S. (1996) - *Coastal Marine zooplankton: a practical manual for students*. Cambridge University.
- LARIK O., WESTHEIDE W. (2006) - *Coastal plankton. Photo Guide for European Seas*. Verlag, Munchen: 143 pp.
- ROSE M. (1933) - *Faune de France. 26 Copépodes pélagiques*. Lechevalier, Paris: 374 pp.
- ZUNINI SERTORIO T. (2001) - Mesozooplankton - Acqua, scheda 10. In: A.M. Cicero, I. Di Girolamo (eds), *Metodologie Analitiche di Riferimento del programma di Monitoraggio per il controllo dell'ambiente marino costiero (triennio 2001-2003)*. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, ICRAM © ICRAM, Roma 2001.

S. CASABIANCA, C. VERNESI¹, E. PECCHIOLI¹, S. FRAGA², A. PENNA

Centro di Biologia Ambientale, Università di Urbino, Viale Trieste, 296 – 61100 Pesaro, Italia.
silvia.casabianca@uniub.it

¹CEA, Fondazione Edmund Mach, Trento, Italia.

²IEO, Vigo, Spain.

APPLICAZIONE DI MARCATORI MOLECOLARI POLIMORFICI PER STUDI DI GENETICA DI POPOLAZIONE DI *ALEXANDRIUM MINUTUM* NEL MAR MEDITERRANEO

ALEXANDRIUM MINUTUM POPULATION STRUCTURE IN THE MEDITERRANEAN SEA BY THE APPLICATION OF POLYMORPHIC MOLECULAR MARKERS

Abstract – *Alexandrium minutum* is a species responsible for Paralytic Shellfish Poisoning, a paralytic syndrome caused by the ingestion of contaminated shellfish with hydrosoluble neurotoxins. Microsatellites consist of sequences of DNA containing mono, di, tri, or tetra tandem repeats. In this study, they are used to study *A. minutum* population structure in different geographical areas of the Mediterranean Sea.

Key-words: *Alexandrium minutum*, Polymerase Chain Reaction, microsatellites, short tandem repeat.

Introduzione - *Alexandrium minutum* (Dinoficeae) può essere responsabile nell'uomo della Paralytic Shellfish Poisoning, una sindrome paralitica provocata da neurotossine idrosolubili veicolate da molluschi bivalvi. *A. minutum* è diffuso in Mediterraneo ed è responsabile di fioriture ristrette a zone costiere eutrofiche quali porti, estuari o lagune (Vila *et al.*, 2005). Studi di variabilità genetica condotti sul DNA ribosomiale di 40 isolati algali di *A. minutum* provenienti da diverse aree del Mediterraneo, hanno evidenziato un'omologia di sequenza del 98%. I geni ribosomiali hanno mostrato un livello di informatività non sufficiente per stimare la variabilità genetica all'interno di *A. minutum* (Penna *et al.*, 2008). A questo scopo sono stati quindi impiegati marcatori molecolari più polimorfici, i microsatelliti o STR (*short tandem repeat*).

Materiali e metodi - Un totale di 64 colture monoclonali è stato ottenuto isolando da campioni di acqua di mare la specie *A. minutum*. Queste colture sono mantenute in terreno f/2 (Guillard, 1975) a 20±1 °C e sottoposte ad un fotoperiodo di 12:12 (luce : buio). Il DNA è stato estratto con il DNeasy Plant mini kit (Qiagen, USA). Le coppie di primers utilizzati nei saggi di PCR sono state disegnate sulle regioni microsatellite di *A. minutum* (Nagai *et al.*, 2006) e sono state sintetizzate e marcate con vari fluorocromi (Applied Biosystem, UK). I campioni sono stati amplificati in un termociclatore (2720 Thermal Cycler, Applied Biosystem, UK). I prodotti di PCR marcati sono stati visualizzati prima su gel di agarosio al 2,5% (w/v) poi analizzati con un sequenziatore automatico ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystem, UK). Gli indici di diversità molecolare fra le popolazioni (indice di fissazione FST e indice di diversità molecolare tra le popolazioni) sono stati calcolati con il programma Arlequin ver. 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005).

Risultati - Le 7 coppie di primers selezionate sono state utilizzate per l'amplificazione di 7 loci microsatellite dei 64 isolati algali di *A. minutum* di cui 8 isolati provengono dal Mare Adriatico (Nord Ovest), 22 isolati dal Mar Tirreno (Sardegna), 21 isolati dal Mar Catalano, 8 isolati dal Mar Balearico e 5 isolati dal Mar Ionio. L'analisi statistica dei dati ha permesso di stimare la varianza molecolare fra le differenti popolazioni e fra gli individui all'interno della stessa popolazione. Il valore complessivo di FST (indice di fissazione) di 0.23 (p<0.01) e l'indice di diversità molecolare tra le differenti popo-

lazioni di *A. minutum* hanno indicato un forte segnale di struttura genetica (Tab. 1).

Tab. 1 - Indice di diversità molecolare (FST) tra le differenti popolazioni di *A. minutum* nel Mar Mediterraneo.

Pairwise FST values among the Mediterranean A. minutum populations based on the distance method.

	Mar Ionio	Mar Adriatico	Mar Balearico	Mar Catalano	Mar Tirreno
Mar Ionio	0.00000	-	-	-	-
Mar Adriatico	0.17440*	0.00000	-	-	-
Mar Balearico	0.23323*	0.25269*	0.00000	-	-
Mar Catalano	0.26023*	0.27775*	0.16871*	0.00000	-
Mar Tirreno	0.20787*	0.21867*	0.22319*	0.23612*	0.00000

*P<0.05

Conclusioni - Il numero medio di alleli per locus ottenuto da queste indagini preliminari è soddisfacente soprattutto in rapporto al numero di isolati algali analizzati. Prendendo in esame un numero maggiore di isolati algali per ogni area geografica si riusciranno ad identificare nuovi alleli per locus e, conseguentemente, si incrementerà il polimorfismo genetico tra le popolazioni. In ogni caso, già in questa fase, sette loci con gli attuali numeri medi di alleli per locus rappresentano uno strumento molto promettente per evidenziare, anche su scala geografica più fine, eventuali differenziamenti genetici fra ceppi provenienti da aree geografiche diverse. Gli sviluppi futuri consistono nel campionare nuovi isolati algali per ogni area geografica e determinare i parametri ambientali, per correlare eventuali patterns di differenziamento fra le diverse popolazioni di *A. minutum* nel Mediterraneo.

Bibliografia

- EXCOFFIER L., LAVAL G., SCHNEIDER S. (2005) - Arlequin ver. 3.1: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolution Bioinformatic Online*, **1**: 47–50.
- GUILLARD R.R.L. (1975) - Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith, W.L., Chanley M.H. (eds), *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA: 29-60.
- NAGAI S., MCCAULEY L., YASUDA N., L. ERDNER D., M. KULIS D., MATSUYAMA Y., ITAKURA S., ANDERSON D.M. (2006) - Development of microsatellite markers in the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Molecular Ecology Notes*, **6**: 756–758.
- PENNA A., FRAGA S., MASÒ M., GIACOBBE M.G., BRAVO I., VILA M., GARCÉS E., BERTOZZINI E., ANDREONI F., LUGLIÉ A., VERNESI C. (2008) - Phylogenetic relationships among the Mediterranean *Alexandrium* (Dinophyceae) species. *European Journal of Phycology*, **43**: 163-178.
- VILA M., GIACOBBE M. G., MASÒ M., GANGEMI E., PENNA A., SAMPEDRO N., AZZARO F., CAMP J., GALLUZZI L. (2005) - A comparative study on recurrent blooms of *Alexandrium minutum* in two Mediterranean coastal areas. *Harmful Algae*, **4**: 673-695.

F. CERINO, D. VIRGILIO*, M. CABRINI*

Dipartimento Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche,
Via Brece Bianche - 60131 Ancona, Italia.

*Dipartimento di Oceanografia Biologica, Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale,
Via Auguste Piccard, 54 - 34014 Trieste, Italia.
mcabrini@ogs.trieste.it

DINOFLAGELLATE CYSTS IN RECENT SEDIMENTS AT A COASTAL STATION IN THE GULF OF TRIESTE (NORTHERN ADRIATIC SEA)

CISTI DI DINOFLAGELLATI IN SEDIMENTI RECENTI DI UNA STAZIONE COSTIERA DEL GOLFO DI TRIESTE (MARE ADRIATICO SETTENTRIONALE)

Abstract - Sediments from a coastal station in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) were analyzed for dinoflagellate cysts during a seasonal study. Sixty morphotypes were observed belonging to dinoflagellate, crysophyte, raphidophyte and ciliate groups.

Key-words: cysts, germination, recent sediments, Adriatic Sea, Gulf of Trieste.

Introduction - Resting cysts play an important role in the life cycle of dinoflagellates. They can stay in certain periods of quiescence and dormancy, allowing survival through adverse conditions. Thus, they can germinate in response to better environmental changes promoting the re-establishment of vegetative populations (Dale, 1983; Lewis *et al.*, 1999). In addition, the formation of cysts provides the species with many other advantages such as sexual recombination and expansion of geographical distribution (Anderson and Wall, 1978; Anderson *et al.*, 1984).

The study on cyst distribution and abundances can be a useful tool to foresee the presence of harmful species in an area, and mostly essential to understand the ecology and bloom dynamics of many toxic dinoflagellates.

Materials and methods - To analyze the composition of dinoflagellate cyst assemblage in the Gulf of Trieste, seasonal sampling of sediment cores were carried out at a coastal station on 27 April, 31 August, and 26 October 2006, and on 29 January 2007. Sediment cores were collected by a KC Haps bottom corer using a polycarbonate sample tube. The oxic layer was collected in a plastic test tube and stored in the dark at 4 °C. For cyst identification, small amounts of the sediments were processed following Bolch (1997). Identification of resting forms was performed using an inverted microscope at 400x in bright-field. Selected cysts were isolated singly and used for germination experiments aimed at identifying the corresponding vegetative stages.

Results - A total of 60 different cyst morphotypes were recorded during this study, most of them belonging to dinoflagellate group. Of this, about 30 were identified at least to the genus level. Ciliate, crysophyte and raphidophyte cysts were also identified. The highest diversity resulted in the sample of October with 38 morphotypes, while in April diversity was lower with 16 different cyst types. In all samples *Lingulodinium polyedrum*, *Scrippsiella* spp., and *Alexandrium* spp. cysts were the most frequent.

Conclusions - Cyst assemblages in the Gulf of Trieste were characterized by a rather high specific diversity. We found 60 morphotypes, which are more than those previously observed in other studies carried out in the same area (Nichetto *et al.*, 1995; Rubino *et al.*, 2000 - with 33 and 29 morphotypes, respectively). The occurrence

of *Warnowia*, *Woloszynskia* and raphidophyte cysts suggests that these species may be common members of the phytoplankton community of the Gulf. However, these taxa are very difficult to identify live in plankton samples and almost impossible in fixed samples. So, this survey of resting forms allow us to deepen our knowledge on phytoplankton biodiversity, in particular in deeper basins where sediments could represent a species reservoir, generally not observed in water samples analysis.

References

- ANDERSON D.M., WALL D. (1978) - Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellates blooms. *J. Phycol.*, **14**: 224-234.
- ANDERSON D.M., KULIS D.M., BINDER B.J. (1984) - Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*: cyst yield in batch cultures. *J. Phycol.*, **20**: 418-425.
- BOLCH C.J.S. (1997) - The use of sodium polytungstate for the separation and concentration of living dinoflagellates cysts from marine sediments. *Phycologia*, **36**: 472-478.
- DALE B. (1983) - Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton". In: Frixell G.A. (ed), *Survival Strategies of the Algae*. Cambridge University Press, Cambridge: 69-136.
- LEWIS J., HARRIS A.S.D., JONES K.J., EDMONDS R.L. (1999) - Long term survival of marine planktonic diatoms and dinoflagellates in stored sediment samples. *J. Plankton Res.*, **21**: 343-354.
- NICHETTO P., HONSELL G., BRESSAN G. (1995) First survey of dinoflagellate cysts in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). In: Lassus, P., Arzul, G., Erard-Le Denn, E., Gentien, P., Marcaillou-Le Baut, C. (eds), *Harmful Marine Algal Blooms*. Lavoisier Publishing, Paris: 205-211.
- RUBINO F., BELMONTE G., MIGLIETTA A.M., GERACI S., BOERO F. (2000) - Resting stages of plankton in recent North Adriatic Sediments. *Mar. Ecol.*, **21** (3-4): 263-284.

E. CUCCHIARI, T. ERICHSEN, F. CERINO, C. PENNESI, T. ROMAGNOLI, C. TOTTI

Dipartimento di Scienze del mare, Università Politecnica delle Marche
Via Brece Bianche – 60131 Ancona, Italia.
e.cucchiari@univpm.it

CARATTERIZZAZIONE DELLA BANCA DI CISTI DI FITOPLANCTON NEI SEDIMENTI COSTIERI DELLA COSTA MARCHIGIANA (ADRIATICO SETTENTRIONALE)

CHARACTERIZATION OF THE CYST BANK IN COASTAL SEDIMENTS OF THE MARCHE COASTAL WATERS (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Abstract – The cyst bank has been characterized in the sediments of Marche coastal area. 38 stations have been sampled along 2 strips in summer 2007. Cyst abundance ranged from 28 to 321 cyst g⁻¹ dw. 76 morphotypes have been identified. The most abundant was that reported as “round brown”, partly attributed to *Protoperidinium* spp., followed by *Alexandrium* and *Scrippsiella* spp.

Key-words: cysts, toxic microalgae, phytoplankton, Adriatic Sea.

Introduzione – La formazione di cisti di resistenza nel corso del ciclo vitale è un fenomeno molto importante nell'ecologia delle alghe, in quanto costituisce una strategia di sopravvivenza in condizioni sfavorevoli. D'altra parte la germinazione delle cisti può rappresentare anche un inoculo di nuovi blooms. In questo lavoro è stato effettuato per la prima volta uno studio sulla distribuzione delle cisti di resistenza di microalghe marine nei sedimenti della costa marchigiana (Adriatico settentrionale).

Materiali e metodi - I campioni di sedimento sono stati raccolti nel periodo maggio-giugno 2007, in due fasce, rispettivamente a 500 e 1000 m dalla costa. Inoltre, per poter osservare l'effetto della plume fluviale sull'abbondanza delle cisti, sono state campionate tre stazioni poste lungo un transetto davanti alla foce del fiume Esino. Successivamente i campioni sono stati setacciati, separati con il politungstato di sodio (Bolch, 1997) ed analizzati al microscopio ottico rovesciato. Sono state effettuate anche delle prove di germinazione, previo isolamento delle singole cisti.

Risultati – Nei sedimenti della fascia a 500 m (Fig. 1A) il numero di cisti totali (61 ± 9 cisti g⁻¹ dw) era in media più basso rispetto alla fascia a 1000 m (110 ± 19 cisti g⁻¹ dw, Fig. 1B). Lungo la fascia dei 1000 m le maggiori abbondanze erano concentrate nell'area compresa fra Marotta e Porto Recanati.

Lungo il transetto del fiume Esino, il massimo è stato osservato nella stazione più vicina alla foce del fiume, mentre le abbondanze decrescevano verso il largo.

Sono stati complessivamente rinvenuti 76 morfotipi differenti. Tra essi, quelli denominati “Round brown” erano le più abbondanti nei sedimenti analizzati; tali forme per lo più indeterminate sono attribuite in parte a dinoflagellate tectate del genere *Protoperidinium*. Le cisti di *Alexandrium* spp. e quelle calcaree di *Scrippsiella* spp. erano le seconde in ordine di importanza. È stata osservata anche la presenza di cisti di specie potenzialmente tossiche quali le dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*, *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera* e tra le rafidoficee, *Fibrocapsa japonica* e *Chattonella* sp.

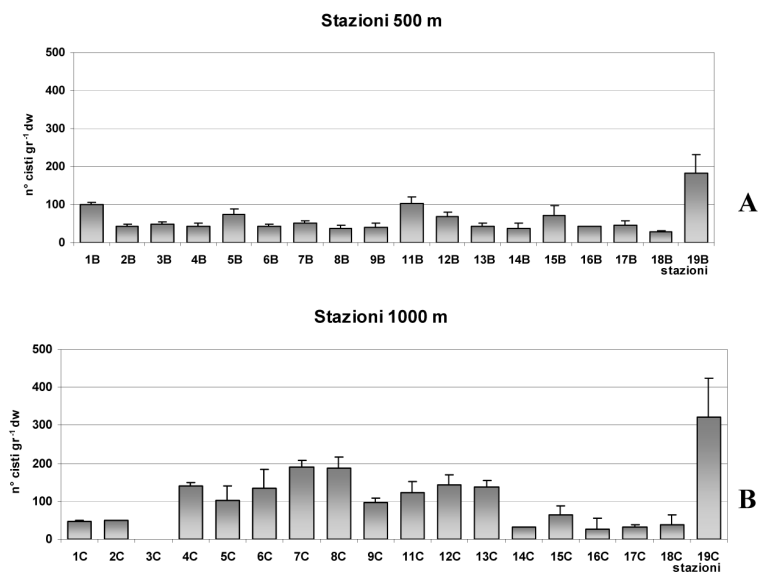


Fig. 1 - Abbondanze delle cisti (cisti gr⁻¹ dw) nei sedimenti della costa marchigiana: (A) fascia a 500 m e (B) a 1000 m.

Resting cyst abundances (cysts g⁻¹ dw) in sediments of Marche coast: (A) stations located at 500 m and (B) at 1000 m.

Conclusioni - La banca di cisti rinvenuta nei sedimenti della costa marchigiana presenta abbondanze comparabili a quelle osservate in precedenza per l'Adriatico settentrionale (Bastianini, 2006), ma inferiori a quanto riportato per altre aree del Mediterraneo (Rubino *et al.*, 2002; Giannakourou *et al.*, 2005). Questi bassi valori sono probabilmente spiegati dalle scarse abbondanze delle dinoflagellate nei popolamenti fitoplanctonici che sono dominati dalle diatomee e dalle fitoflagellate (Totti *et al.*, 2002). La banca delle cisti presenta un elevato grado di diversificazione (76 morfotipi). Sono state rinvenute cisti di numerose specie potenzialmente tossiche che periodicamente danno origine a fioriture lungo la fascia costiera (*Alexandrium* spp., *Fibrocapsa japonica*, etc.). L'analisi delle cisti è dunque un importante strumento da affiancarsi all'analisi delle serie temporali di dati di fitoplancton, per predire fenomeni di HABS che si potrebbero verificare in un'area.

Bibliografia

- BASTIANINI M. (2006) - *Flussi di cisti di dinoflagellate in alto adriatico*. PhD thesis, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.
- BOLCH C.J.S. (1997) - The use of sodium polytungstate for the separation and concentration of living dinoflagellate cysts from marine sediments. *Phycologia*, **36**: 472-478.
- GIANNAKOUROU A., ORLOVA T.Y., ASSIMAKOPOULOU G, PAGOU K. (2005) - Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from Thermaikos Gulf, Greece: effects of resuspension events on vertical cyst distribution. *Continental Shelf Research*, **25**: 2585-2596.
- RUBINO F., MOSCATELLO S., SARACINO O.D., FANELLI G., BELMONTE G., BOERO F. (2002) - Plankton-derived resting stages in marine coastal sediments along the Salento Peninsula (Apulia, South-eastern Italy). P.S.Z.N.: *Marine Ecology*, **23** (1): 329-339.
- TOTTI C., CUCCHIARI E.M., ROMAGNOLI T. (2002) - Variazioni intra e interannuali del fitoplancton nell'area costiera di Senigallia (Adriatico settentrionale) dal 1988 al 2000. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 391-399.

M. DE LUCA, M.C. MINISSALE, G. RUGGERI, M. DE DOMENICO, E. DE DOMENICO

Dipartimento di Biologia animale ed Ecologia Marina - Università di Messina,
Salita Sperone, 31 – 98166 Messina, Italia.
maxxdel@gmail.com

DISTRIBUZIONE DELLA COMUNITÀ MICROBICA LUMINOSA NELLE ACQUE DEL MAR MEDITERRANEO OCCIDENTALE

MICROBIAL LUMINOUS COMMUNITY DISTRIBUTION IN WESTERN MEDITERRANEAN SEA WATERS

Abstract – We report results of a large-spatial-scale study on the luminous bacteria (BL) distribution in epi-, meso- and bathypelagic waters in 19 stations located in the Western Mediterranean Sea, from the Alboran Sea to Sardinia Channel. The mesopelagic water body presents the most BL average concentration and in the Alboran Sea we found an increasing abundance of luminous bacteria.

Key-words: luminous bacteria, mesopelagic and bathypelagic waters, Western Mediterranean Sea.

Introduzione – La distribuzione della componente luminosa all'interno della comunità microbica eterotrofica nello strato meso e batipelagico è stata già valutata in una vasta area del Mar Mediterraneo sud-orientale (De Domenico E. *et al.*, 2006). Nella presente nota vengono riferiti i risultati raccolti in una ampia parte nel Mar Mediterraneo Occidentale: dal Mare di Alboran al Canale di Sardegna. Ampliando gli studi che da anni vengono condotti sulle relazioni tra distribuzione delle comunità microbiche marine e masse d'acqua in Mar Mediterraneo (De Domenico M. *et al.*, 1996), si vuole valutare l'opportunità offerta dalle conte vitali della flora microbica bioluminescente quale indicatore delle differenti masse d'acqua, in funzione sia della semplice e rapida tecnica analitica sia della ubiquità di tali batteri nell'ambiente marino (De Domenico M. *et al.*, 2005, 2006).

Materiali e metodi – I campioni d'acqua sono stati prelevati a bordo della N/O Urania nel periodo 25 maggio-15 giugno 2005 nell'ambito della campagna oceanografica MEDGOOS10. Sono state esaminate 29 stazioni, distribuite lungo un transetto est-ovest, per un totale di 460 campioni prelevati dalla superficie fino a 2830 m di profondità. In tutte le stazioni sono stati eseguiti profili CTDO-FI e campionamenti con bottiglie Niskin montate su apparato Rosette. In ogni campione d'acqua è stata effettuata la conta batterica vitale (CBV) su terreno Marine Agar (spread plate), nonché il conteggio vitale di batteri luminosi (BL) su terreno Sea Water Complete (membrane filtranti 0,45 μ m).

Risultati – Al fine di stimare l'abbondanza di CBV e BL sull'intera colonna d'acqua, è stato calcolato il valore integrato negli strati principali: epipelagico (superficie –200 m), mesopelagico (200-1000 m), batipelagico (1000-2830 m). Tali medie ponderate delle CBV su Marine Agar (esprese come CFU/m³) presentano, per lo strato epipelagico, variazioni comprese tra $4,78 \times 10^{11}$ (Staz. M9) e $7,95 \times 10^9$ (Staz. G2); nello strato sottostante (mesopelagico) i risultati risultano compresi tra $6,84 \times 10^{11}$ (Staz. J3) e $4,91 \times 10^9$ (Staz. G2). Nella parte più profonda (strato batipelagico) le medie oscillano tra $7,8 \times 10^9$ (Staz. J24) e $1,73 \times 10^{12}$ (Staz. M1). Per quanto riguarda i risultati relativi alla componente microbica luminosa (BL) nella stazione M1 si è riscontrato il valore minimo per gli strati meso- e batipelagico rispettivamente con 1,00 e $3,46 \times 10^7$ CFU/m³ mentre i valori massimi per questi strati sono stati $1,52 \times 10^{10}$ (mesopelagico Staz. M23) e $9,45 \times 10^9$ (batipelagico Staz. J3). I batteri luminosi dello strato epipelagico presentano valori compresi tra $1,67 \times 10^6$ (Staz. M3) e $4,4 \times 10^9$ (Staz. M24).

Conclusioni – L'area presa in esame è caratterizzata da zone con intenso idrodinamismo. Il Mare di Alboran, ad esempio, oltre ad essere altamente produttivo, è caratterizzato da diversi gyres anticiclonici permanenti con zone di upwelling non indotte dal vento (Tintoré *et al.*, 1998). Altre formazioni cicloniche ed anticicloniche sono presenti nel Mare delle Baleari (Pascual *et al.*, 2002). Queste condizioni idrologiche e le acque atlantiche provenienti dallo Stretto di Gibilterra influenzano in modo sensibile la composizione qualitativa delle comunità microbiche eterotrofiche con particolare riferimento alla frazione luminosa. Infatti, i valori delle CBV su Marine Agar delle stazioni ubicate nell'area Alboran-Gibilterra presentano una marcata differenza rispetto a quelli ottenuti nelle restanti aree esaminate che, di contro, sono molto più omogenee. Anche la componente luminosa evidenzia questa differenza geografica che distingue la zona limitrofa all'Oceano Atlantico da quella con caratteristiche più "mediterranee" (Mare delle Baleari e Mare di Sardegna). Dal punto di vista della stratificazione, solo a livello intermedio (strato mesopelagico) si presenta un netto decremento dei valori medi procedendo dallo Stretto di Gibilterra verso il Mare di Sardegna; tale andamento risulta meno netto in superficie ed al fondo soprattutto per la carica microbica eterotrofica.

Ringraziamenti - Un sincero ringraziamento a Mireno Borghini per le facilitazioni e l'aiuto amichevole a bordo della N/O Urania.

Bibliografia

- DE DOMENICO E., MONTICELLI L. S., BRACCHINI L., BUDILLON G., CAROPPO C., CARUSO G., DANOVARO R., DATTILO A., DE ALTERIS A., DECEMBRINI F., DE DOMENICO M., DE LUCA M., DENARO R., LA CONO V., GENTILE G., GIULIANO L., GUADAGNO D., LEONARDI M., MAGAGNINI M., MAIMONE G., MARCELLI M., PIERMATTEI V., PRUZZO C., RANZONI L., ROSSI C., SCARFÌ S., SMEDILE F., TOGNAZZI A., YAKIMOV M.M. (2006) - Biodiversità microbica in Mar Mediterraneo centro-orientale. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 959-963.
- DE DOMENICO M., GIULIANO L., CORTESE G., DE DOMENICO E. (1996) - Distribuzione delle comunità microbiche in relazione con le caratteristiche idrologiche in acque pelagiche del Canale di Sardegna. *Atti 11° Congresso Ass. Ital. Oceanol. Limnol.*: 363-372.
- DE DOMENICO M., DE LUCA M., GIULIANO L., GUADAGNO D., LO GIUDICE A., LEONARDI M., SCARFÌ S., DE DOMENICO E. (2005) - Ulteriori indagini sulla distribuzione di batteri luminosi in acque pelagiche del Mare Ionio (Mar Mediterraneo). *Biol. Mar. Mediterr.*, **12** (1): 625-630.
- DE DOMENICO M., DE LUCA M., GENTILE G., GIULIANO L., SCARFÌ S., DE DOMENICO E. (2006) - Distribuzione di batteri luminescenti in acque pelagiche del Mar Tirreno Centro-Meridionale (Mar Mediterraneo). *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 314-315.
- PASCUAL A., BUONGIORNO NARDELLI B., LARNICOL G., EMILIANOV M., GOMIS D. (2002) - A case of an intense anticyclonic eddy in the Balearic sea studied from satellite and in-situ data. *J. Geophys.*, **107** (C11): 3183.
- TINTORÉ J., LA VIOLETTE P.E., BLADE I., CRUZADO A. (1998) - A study of an intense density front in the Eastern Alboran Sea: the Almería-Oran front. *Journal of Physical Oceanography*, **18**: 1384-1397.

Ricerca svolta con finanziamenti dell'Università di Messina (PRA 2003) e parzialmente del MIUR-FIRB "Biodiversità ed organizzazione delle comunità in differenti contesti ambientali" (U.O. n°8: Comunità microbiche e masse d'acqua in Mar Mediterraneo).

D. GIORDANO, C. CONIGLIONE, EL. DE DOMENICO, B. BUSALACCHI,
R. DENARO, M. YAKIMOV

IAMC-CNR, Sezione di Messina, Spianata S. Raineri, 86 – 98122 Messina, Italia.
daniela.giordano@iamc.cnr.it

GENETIC IDENTIFICATION OF FISH LARVAE IN FORMALDEHYDE FIXED PLANKTON SAMPLES

IDENTIFICAZIONE GENETICA DI LARVE DI PESCI FISSATI IN FORMALDEIDE

Abstract – With the development of new methods to sequence DNA from preserved organism we reported protocols and success rates for amplifying and sequencing regions of the genomic 28S ribosomal RNA and mitochondrial 16S rDNA. The samples were caught with a Bongo 60 net during June 2006 in the ambit of POR MARE Project financed by Sicily area.

Key-words: fish larvae, DNA, fixative.

Introduction – Animal tissues are typically fixed in formalin or other formaldehyde-based solutions that cross link proteins and stabilize tissues (Humason, 1979). In fact formalin is thought to inhibit PCR success because it cross-links proteins associated with DNA to each other and to the DNA. This limits the amount of DNA that is accessible to PCR amplification (Karlsen *et al.*, 1994; Schander and Halanych, 2003). Protocol for extraction and amplification of DNA from formalin-fixed material generally involve lysing tissue at elevated temperatures (55 °C) in a high concentration of proteinase-K for an extended incubation time (72 h) and targeting relatively short (200 bp) PCR fragments (Chase *et al.*, 1998; Shedlok *et al.*, 1997; Schander and Halanych, 2003). In this study we reports the protocol used for extraction, amplification and sequences of larval fish samples fixed in formalin solution.

Materials and methods – Bongo nets (60 cm diameter, 303 µm-mesh nets), towed to a nominal depth of 200 m and retrieved obliquely, were used to collect ichthyoplankton samples in the southern Tyrrhenian Sea (Sicily). A total of 39 stations and 13 transect were sampled. Larval fish were identified in laboratory by morphometric and meristic characters while for some unknown species we have used a methodology for genetic identification of the species. To explore the potential utility of this method for specific identification of larval fish, 20 samples were analysed. The formalin fixed larvae were washed with PBS to remove the formalin and then each sample was placed in DNeasy Tissue Lyser for a mechanic disruption of the tissue and the total DNA. For the DNA extraction was used the DNA tissue Kit (QIAGEN) and the extracted volume of eluted DNA was 150 µl for each larval fish samples.

Results – PCR amplification of the mitochondrial 16S rRNA gene segment (90 pb long) was performed using the primers 16S-A (5'-TGTCTTCGGTTGGGCGCA-3') and 16S-B (5'-GCTGTTATCCCTGGGGTAAC-3') described in Perez *et al.*, 2005. The reaction was carried out in 50 µl including 1.5 mM MgCl₂, 0.25 mM dNTP, 1 µM of each primer, 20 ng of Template DNA and 1 U of DNA Taq polymerase (Qiagen) and ultrapure milli-Q water. The thermocycler conditions for the amplification were the following: an initial denaturation step at 95 °C for 1 min and then 35 cycles at 95 °C for 1 min, 57 °C for 1 min, 72 °C for 2 min following by 72 °C for 10 min.

PCR amplification of one portion of the nuclear 28S rRNA gene (28SA 5'-GAC-CCGTCTTGAAGCACG -3') and 28SB (5'- TCGGAAGGAACCAGCTAC-3') (283-290 pb long) described in Whiting (2002).

The thermocycler conditions for the amplification of the nuclear 28S rRNA gene were the following: an initial denaturation step at 94 °C for 30 sec and then 35 cycles at 94 °C for 1 min, 55 °C for 1 min, 72 °C for 2 min following by 72 °C for 10 min. Completed PCR reaction were analysed by electrophoresis in 0.8% agarose, 1µg ethidium bromide mL⁻¹ gel in 1× Tris acetate EDTA (TAE) buffer at 5 V.cm⁻¹. Both strands of the mitochondrial 16S rDNA and nuclear 28S rDNA products from each samples were sequenced using a BigDye terminator 3.1 sequencing reactions (Applied Biosystems). The resulting sequencing reactions were analysed by 3100-Avant Genetic Analyzer.

The amplified fragments were sequenced and compared to the GenBank nucleotide database library by GAPPED BLAST on line searches. The identified species were *Lophius piscatorius* (AY372751), *Sardinella aurita* (AM911207), *Coris julis* (AF517608), *Gobius niger jozo* (EF218645), *Merluccius merluccius* (DQ274029), *Chromis chromis* (AF285948).

Conclusions – Although formalin is the most widely used preservative because of its low cost and ease of application, our study suggests that it is quite impossible to obtain sufficient molecular information from fish specimens stored for a considerable period of time in formalin. In this study four identified species (*Gobius niger jozo*, *Sardinella aurita*, *Merluccius merluccius*, *Chromis chromis*) were obtained with a short (90 pb) PCR fragment of mitochondrial 16SrRNA.

Bibliografia

- CHASE M.R., ETTER R.J., REX M.A., QUATTRO J.M. (1998) – Extraction and amplification of mitochondrial DNA from formalin-fixed deep-sea molluscs. *Biotechniques*, **24**: 243-246.
- HUMASON G.L. (1979) – *Animal Tissue Techniques*. W.H. Freeman & Co., San Francisco, CA.
- KARLSEN F., KALANTARI M., CHITEMERERE M., JOHANSSON B., HAGMAR B. (1994) – Modifications of human and viral deoxyribonucleic acid by formaldehyde fixation. *Laboratory Investigation*, **71**: 604-611.
- PEREZ J., ÁLVAREZ P., MARRINEZ J.L., GARCIA-VAZQUEZ E. (2005) – Genetic identification and amplification of mitochondrial DNA from formalin-fixed deep-sea molluscs. *Biotechniques*, **24**: 243-246.
- SCHANDER C., HALANYCH K.M. (2003) – DNA, PCR and formalinized animal tissue. A short review and protocols. *Organism Diversity and Evolution*, **3**: 195-205.
- SHEDOLK A.M., HAYGOOD M.G., PIETSCH T.W., BENTZEN P. (1997) – Enhanced DNA extraction and PCR amplification of mitochondrial genes from formalin-fixed museum specimens. *Biotechniques*, **22**: 394-400.
- WHITING M.F. (2002) – Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera. *Zoologica Scripta*, **31** (1): 93-104.

D. GIORDANO, EL. DE DOMENICO, F. PERDICHIZZI, E. SALVATI¹, M. GIUSTI¹,
S. CANESE¹, S. GRECO¹, A. GRANATA², L. GUGLIELMO²

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC), Sezione di Messina
Spianata S. Raineri, 26 – 98122 Messina, Italia.
daniela.giordano@iamc.cnr.it

¹ICRAM, Via di Casalotti, 300 - 00166 Roma, Italia.

²Dip di Biologia, Università di Messina, Salita Sperone, 31 - 98166 Messina, Italia.

DISTRIBUZIONE DI EUFAUSIACEI IN UN'AREA ATTORNO LE ISOLE PELAGIE (CANALE DI SICILIA)

EUPHAUSIID DISTRIBUTION AROUND PELAGIAN ISLANDS (SICILIAN CHANNEL)

Abstract – *Euphausiacea* are a small group of Crustacea belongs to micronekton, that have a key role in the marine food-web. The data were carried out during the Fin Whale Sicily Strait (FWSS) cruise in March 2006 around Pelagian Islands. Micronekton was sampled at nine oceanographic stations with the use of Plankton Hamburg Net (PHN). Seven euphausiids species were founded.

Key-words: marine crustaceans, distribution, Straits of Sicily.

Introduzione – Nel Mar Mediterraneo vi sono zone di alta produttività (Jacques, 1990) che possono sostenere una grande biomassa di zooplancton, in particolare eupausiacei (Casanova, 1970; Goy e Thiriot, 1976). Scopo della ricerca è stato quello di analizzare la distribuzione del macrozooplancton e del micronekton in un'area dello Stretto di Sicilia durante il periodo invernale, in relazione ai parametri oceanografici. Quest'area rappresenta un importante sito per l'alimentazione della balenottera comune (Canese *et al.*, 2006). La presenza di diverse specie di eupausiacei è stata descritta per il bacino orientale ed occidentale del Mediterraneo (Furnestin, 1968; Wiebe e D'Abramo, 1972; Guglielmo e Zagami, 1985).

Materiali e metodi – I campionamenti sono stati effettuati durante la campagna oceanografica "Fin Whale Sicily Straits" condotta a bordo della N/O "URANIA" del CNR dal 4 al 16 Marzo 2006 attorno alle isole Pelagie. Sono state campionate 9 stazioni, prelevati campioni d'acqua di mare per la determinazione dei parametri chimici e biologici alle quote individuate in base ai profili di fluorescenza. Le pescate sono state realizzate mediante Plankton Hamburg Net (maglia da 1 mm), equipaggiata di flussimetro e sonda MINILOG, che ha rilevato la temperatura e la profondità durante tutte le pescate. I campioni sono stati conservati in bottiglie in plastica da 2 lt in una soluzione (10%) di aldeide formica tamponata ed acqua di mare. Successivamente in laboratorio è stato effettuato il sorting del macrozooplancton (>1 cm in lunghezza) e gli eupausiacei sono stati contati ed identificati al livello di specie (Guglielmo, 2006).

Risultati – La comunità zooplanctonica mostra una grande variazione di densità (182-1251 ind/m³) con un valore medio di 622,8 ind/m³. La struttura della comunità zooplanctonica è caratterizzata da Copepodi (28,55%), Chetognati (27,33%) Sifonofori (14,31%), Anfipodi (11,90%), Eufausiacei (6,52%) ed altri taxa (11,38%).

Sono state identificate sette specie di eupausiacei appartenenti a cinque generi: *Meganctiphanes norvegica* (M. Sars, 1857), *Thysanopoda aequalis* (Hansen, 1905), *Euphausia krohnii* (Brandt, 1851), *Euphausia hemigibba* (Ortmann, 1893), *Nematocelis megalops* (G.O. Sars, 1883), *Stylocheiron abbreviatum* (G.O. Sars, 1883) e *Stylocheiron longicorne* (G.O. Sars, 1883). La distribuzione degli eupausiacei è risultata essere fortemente influenzata dalle migrazioni verticali, dalla profondità, dal cibo e dalle con-

dizioni idrografiche; infatti le maggiori abbondanze (Tab. 1) sono state rilevate nelle stazioni 16 e 17 in cui la pescata è stata effettuata durante le ore di buio, mentre nelle stazioni 19 e 28 non sono presenti euphausiacei. Nella maggior parte delle stazioni campionate si è evidenziata la presenza di almeno 5 specie di Eufausiacei: 2 specie erbivore *Meganctiphanes norvegica* ed *Euphausia krohnii* che sono dominanti e 3 specie carnivore *Stylocheiron abbreviatum*, *Stylocheiron longicorne* e *Nematocelis megalops*.

Tab. 1 - Abbondanza e frequenza percentuale delle diverse specie di Eufausiacei nell'area di studio.
Abundance and frequency (%) of Euphausiids species in the study area.

	stazione 16		stazione 17		stazione 18		stazione 20		stazione 21		stazione 26		stazione 27	
	N/m3	%	N/m3	%	N/m3	%	N/m3	%	N/m3	%	N/m3	%	N/m3	%
<i>Thysanopoda aequalis</i>	7,48	10,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. norvegica</i>	3,41	2,57	6,88	5,51	0,19	66,7	12,1	36,49	0	0	1,18	6,03	12,64	71,9
<i>Euphausia krohnii</i>	64,9	48,89	86,86	69,6	0	0	0	0	3,83	32,8	0,2	1,01	3,35	19,05
<i>Euphausia hemigibba</i>	6,25	4,71	0	0	0	0	0	0	2,24	19,2	0	0	0	0
<i>Nematocelis megalops</i>	20,4	15,35	15,41	12,4	0	0	0	0	2,43	20,8	4,23	21,61	0,92	5,24
<i>Stylocheiron abbreviatum</i>	12,9	9,71	6,42	5,15	0	0	14,1	42,62	0,75	6,4	7,29	37,19	0,17	0,95
<i>Stylocheiron longicorne</i>	3,98	3	0,73	0,59	0	0	0,74	2,23	0,09	0,8	4,43	22,61	0	0
danneggiati	13,5	5,64	8,44	6,76	0,09	33,3	6,17	18,66	2,34	20	2,27	11,56	0,5	2,86

Conclusioni

La distribuzione di euphausiacei nel Mediterraneo descritta da Wiebe e D'Abramo nel 1972 aveva evidenziato come *Euphausia krohnii*, *Nematocelis megalops*, *Meganctiphanes norvegica*, *Stylocheiron maximum* e *Stylocheiron abbreviatum* fossero le specie più abbondanti nel bacino occidentale, *Euphausia hemigibba*, *Stylocheiron longicorne* e *Thysanopoda aequalis* presenti nel bacino orientale e nel Mar Tirreno, mentre *Stylocheiron suhmii*, *Nematocelis atlantica* e *Euphausia brevis* sono maggiormente rappresentative del bacino orientale del Mediterraneo.

In questo lavoro sono state catturate sette specie di Eufausiacei, le stesse trovate per il medesimo bacino ad eccezione di *Euphausia brevis* (Wiebe e D'Abramo, 1972).

La presenza di un gran numero di carnivori sia all'interno della comunità zooplanctonica che a livello degli euphausiacei evidenzia che il periodo in cui è stata realizzata la campagna corrisponde ad una parte terminale del ciclo stagionale degli stessi euphausiacei e questo conferma anche l'assenza di avvistamenti di balenottera comune nello stesso periodo.

Bibliografia

- CANESE S., CARDINALI A., FORTUNA C., GIUSTI M., LAURIANO G., SALVATI E., GRECO S. (2006) – A new winter feeding ground redesigns the current knowledge for the mediterranean fin whale (*Balenoptera physalus*). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **86**: 903-907.
- CASANOVA B. (1970) - Répartition bathymétrique des euphausiacés dans le bassin occidental de la Méditerranée. *Revue de Travaux de L'Institut des Pêches Maritimes*, **34**: 205–219.
- FURNESTIN M.L. (1968) – Le Zooplancton De La Mediterranee (Bassin Occidental). *Essai De Synthèse. J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, **32**: 25-69.
- GOY J., THIRIOT A. (1976) – Conditions estivales dans la divergence de Méditerranée nord-occidentale. II. Macroplankton et micronecton: étude qualitative et estimation quantitative des cnidaires et des euphausiacés. *Annales de l'Institut Océanographique, N.S.*, **52**: 33-44.
- GUGLIELMO L. (2006) – Guida al riconoscimento del Plancton nei mari italiani. *Zooplankton neritico, tavole e testi*, **2**: 135-141,155-164.
- GUGLIELMO L., ZAGAMI G. (1985) - Roul of euphausiid in DSL of western Mediterranean Sea. *Meml. Biol. Mar. Ocean.*, **15**: 191-206.
- JACQUES G. (1990) - L'oligotrophie du milieu pelagique de Mediterranée occidentale: un paradigme qui s'estompe? *Bull. Soc. Zool. France*, **114**: 17-30.
- WIEBE P.H., D'ABRAMO L. (1972) – Distribution of euphausiid assemblages in the Mediterranean Sea. *Marine Biology*, **15**: 139-149.

B. GUARDIANI, A. BUSSANI, M. CABRINI

Dipartimento Bio-OGS, Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale,
Via Auguste Piccard, 54 – 34014 Trieste, Italia.
bguardiani@ogs.trieste.it

ANALISI DEL RAPPORTO AUTOTROFI/ETEROTROFI NEL NANOPLANKTON DEL GOLFO DI TRIESTE

ANALYSIS OF THE AUTOTROPHIC/HETEROTROPHIC RATIO OF THE NANOPLANKTON OF THE GULF OF TRIESTE

Abstract - *Nanoplankton abundances of the Gulf of Trieste were analyzed from January 1999 to April 2007 to highlight interannual dynamics of autotrophic and heterotrophic fractions and the autotrophic to heterotrophic ratio. Results show that the ratio increased due to the simultaneous raise of the autotrophs and decrease of the heterotrophic fraction.*

Key-words: *nanoplankton, autotrophs to heterotrophs ratio.*

Introduzione - Dal 1999 al 2007 è stata analizzata la comunità planctonica in una stazione di campionamento nel Golfo di Trieste. Una delle frazioni considerate è il nanoplankton, che comprende sia organismi autotrofi che eterotrofi di dimensioni comprese tra 2 e 20 μm costituendo un anello importante della rete trofica: la parte autotrofa contribuisce alla produzione di nuova biomassa (Marañon *et al.*, 2001), quella eterotrofa al controllo dell'abbondanza batterica. Il nanoplankton costituisce inoltre preda per altri organismi, in particolare per il microzooplancton (Fonda Umani *et al.*, 2005). In questo lavoro sono state analizzate le abbondanze del nanoplankton autotrofo (A) ed eterotrofo (E), ed il loro rapporto (A/E) per ottenere informazioni utili sulla struttura della comunità e conseguentemente sulla trofia del sistema.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati effettuati nella stazione C1 al largo della Riserva Marina di Miramare con cadenza mensile da gennaio 1999 a maggio 2002 e da marzo 2006 ad aprile 2007, e quindicinale da maggio 2002 a settembre 2005, su 4 quote di profondità (0.5 metri, 5 metri, 10 metri, 15 metri). I campioni per l'analisi della componente nanoplanktonica sono stati fissati con glutaraldeide (conc. finale 1%), filtrati in 3 repliche per campione su filtri di policarbonato black con porosità di 0.8 μm , colorati con fluorocromo DAPI (Porter e Feig, 1980, modificato) e conservati a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ fino al momento dell'analisi. Il conteggio è stato effettuato al microscopio diritto ad epifluorescenza, a 1000 ingrandimenti, con filtro a luce blu-violetta e UV.

Risultati - A tutte le 4 quote si riscontra un aumento significativo ($p < 0.001$) del rapporto tra le abbondanze del nanoplankton autotrofo ed eterotrofo (0.5 metri: $0.36 \pm 0.072/\text{anno}$; 5 metri: $0.32 \pm 0.06/\text{anno}$; 10 metri $0.34 \pm 0.084/\text{anno}$; 15 metri: $0.36 \pm 0.084/\text{anno}$). Un gradiente verticale nella distribuzione di questi rapporti non è stato riscontrato, infatti non si sono osservate differenze significative tra i rapporti alle varie quote, e gli intervalli di confidenza al 95% degli incrementi risultano sovrapposti.

L'aumento del rapporto nanoplankton autotrofo/nanoplankton eterotrofo è imputabile, a tutte le quote, alla concomitante crescita degli autotrofi e diminuzione degli eterotrofi.

Analizzando i valori annuali delle mediane alle 4 quote si riscontra, a partire dal 2000, un progressivo aumento del rapporto A/E. Il valore massimo del rapporto si osserva nel 2005, mentre nel 2006 questo tende a calare. Si verifica quindi un'in-

versione di tendenza rispetto all'aumento del nanoplancton eterotrofo osservato da Larato *et al.* (2002) nel Golfo negli anni 1995-1998.

L'aumento del nanoplancton autotrofo potrebbe essere imputato ad una riduzione della trofia del sistema già descritto da Paoli *et al.* (2006) che ha favorito gli organismi di taglia ridotta (Irwin *et al.*, 2006).

Una possibile spiegazione al calo di nanoplancton eterotrofo potrebbe essere data dalla pressione di grazing del microzooplancton, da esperimenti (metodo dilution) dal 1999 al 2005 risulta infatti che il nanoplancton eterotrofo è stato in prevalenza predato a tassi che vanno dal 50 a >100% della produzione giornaliera (Beran e Fonda Umani, 2006).

Conclusioni - Negli anni da noi considerati, è stato riscontrato un aumento significativo del rapporto nanoplancton autotrofo/nanoplancton eterotrofo nell'intera colonna d'acqua. L'aumento è da ascrivere all'effetto della concomitante crescita degli organismi autotrofi e diminuzione della frazione eterotrofa.

La comunità nanoplanctonica risulta sempre più dominata dagli autotrofi, quindi sembra prevalere la rete trofica classica, con abbondanza di produttori primari. Ulteriori indagini verranno condotte confrontando questi dati con i parametri fisico-chimici, in particolare con la concentrazione di nutrienti, che possono provocare un notevole aumento degli autotrofi rispetto agli eterotrofi (Duarte *et al.*, 2000).

Bibliografia

- BERAN A., FONDA UMANI S. (2006) - Selective grazing of microzooplankton on the natural assemblage in the Northern Adriatic Sea. 38th International Liège Colloquium on Ocean Dynamics. Proceedings.
- DUARTE C.M., AGUSTÌ S., GASOL J.M., VAQUÈ D., VAZQUEZ-DOMINGUEZ E. (2000) - Effect of nutrient supply on the biomass structure of planktonic communities: an experimental test on a Mediterranean coastal community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **206**: 87-95.
- FONDA UMANI S., TIRELLI V., BERAN A., GUARDIANI B. (2005) - Relationships between microzooplankton and mesozooplankton: competition versus predation on natural assemblages of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *J. Plankton Res.*, **27** (9): 1-14.
- IRWIN A.J., FINKEL Z.V., SCHOFIELD O. M.E., FALKOWSKI P.G. (2006) - Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. *J. Plankt. Res.*, **28** (5): 459-471.
- LARATO C., RORATO M., CREVATIN E., DEL NEGRO P., FONDA UMANI S. (2002) - Variazioni temporali dell'abbondanza nanoplanctonica nel Golfo di Trieste. *Biol. Mar. Mediterr.*, **9** (1): 423-426.
- MARAÑÓN E., HOLLIGAN P.M., BARCIELA R., GONZÁLEZ N., MOURIÑO B., PAZÓ M.J., VARELA M. (2001) - Patterns of phytoplankton size structure and productivity in contrasting open-ocean environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **216**: 43-56.
- PAOLI A., KARUZA A., DE VITTOR C., DEL NEGRO P., FONDA UMANI S. (2006) - Daily variations of highly active bacteria in the Northern Adriatic Sea. *J. Plankt. Res.*, **28** (3): 325-335.
- PORTER K.G., FEIG Y.S. (1980) - The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25** (5): 943-948.

M. MINGAZZINI, M.T. PALUMBO

Istituto di Ricerca sulle Acque, IRSA – CNR
Via della Mornera, 25 – 20047 Brugherio (Mi), Italia.
mingazzini@irsa.cnr.it

SPECIE ALGALI PROPOSTE PER LO STUDIO DEL POTENZIALE TROFICO (AGP) IN ACQUE DI TRANSIZIONE

PROPOSAL OF TEST SPECIES USEFUL TO EVALUATE THE ALGAL GROWTH POTENTIAL (AGP) IN ESTUARINE MIXING AREA

Abstract – The use of euryhaline algal species is proposed as a agp (Algal Growth Potential) based approach to study nutrient bioavailability over the mixing of river with seawaters in estuarine areas. The supported algal yield per nutritional unit was defined and compared between freshwater and marine algae.

Key-words: Algal Growth Potential, algal yield, estuarine mixing, euryhaline algal species.

Introduzione – Il saggio di crescita algale “Algal Growth Potential” (AGP), che si basa sulla reale biodisponibilità dei nutrienti (EPA, 1978), permette di studiare l’impatto degli apporti trofici delle acque fluviali sulla produttività del sistema marino. L’utilizzo congiunto di specie algali di acque dolci e marine, già proposto per lo studio del gradiente Po-Adriatico (Mingazzini, 1995, 2001), costituisce un approccio efficace per unificare le procedure tradizionalmente separate (Hecky e Kilam, 1988). Requisito necessario è l’utilizzo di specie eurialine con caratteristiche confrontabili con la specie più standardizzata per le acque interne: *Selenastrum capricornutum*. Per evitare l’uso di parametri di crescita impropri (Lusic *et al.*, 2008), su due specie marine sono state valutate le risposte di crescita in termini di biomassa e la resa per unità nutrizionale.

Materiali e metodi – Sulla base delle caratteristiche di adattabilità alle condizioni sperimentali (EPA, 1978) e di stabilità fisiologica, oltre che di velocità di sviluppo e di facilità di conteggio, sono state considerate le specie eurialine *Phaeodactylum tricornutum* e *Dunaliella tertiolecta*, che si adatta anche fino a 6 psu. Mediante contatore elettronico di particelle multi-canale ed analisi gravimetrica sono stati calibrati i valori di densità cellulare con la biomassa. La resa specifica per unità di fosforo è stata confrontata con *S. capricornutum* sull’intervallo 0-60 µg/l P.PO4.

Risultati – Ambedue le specie, in condizioni sperimentali standardizzate, hanno mostrato una buona proporzionalità delle risposte nutrizionali, sviluppando, in meno di 10 giorni di incubazione, densità cellulari doppie in presenza di concentrazioni doppie del mezzo colturale (MC). D’altro canto è particolarmente evidente (Fig. 1a) come i valori di densità cellulare, a parità di concentrazione del mezzo, non siano confrontabili tra le due specie. La differenza è dovuta al volume cellulare medio di *Dunaliella*, molto maggiore di quello di *Phaeodactylum* (Fig. 1b). Per l’utilizzo di più specie è quindi necessario convertire i valori di crescita in biomassa. L’analisi gravimetrica parallela al conteggio permette di definire il fattore di conversione per ciascuna delle specie test. Sulla base dei valori di biomassa è risultata una buona sovrapposibilità delle risposte di resa per unità di fosforo, sia delle due specie marine che anche di *S. capricornutum* (Fig. 1c).

Sullo stesso gradiente nutrizionale l’utilizzo delle tre specie è risultato quindi efficace nel descrivere il gradiente trofico nella zona di transizione Po-Adriatico da 0 a 35 psu (Fig. 1d).

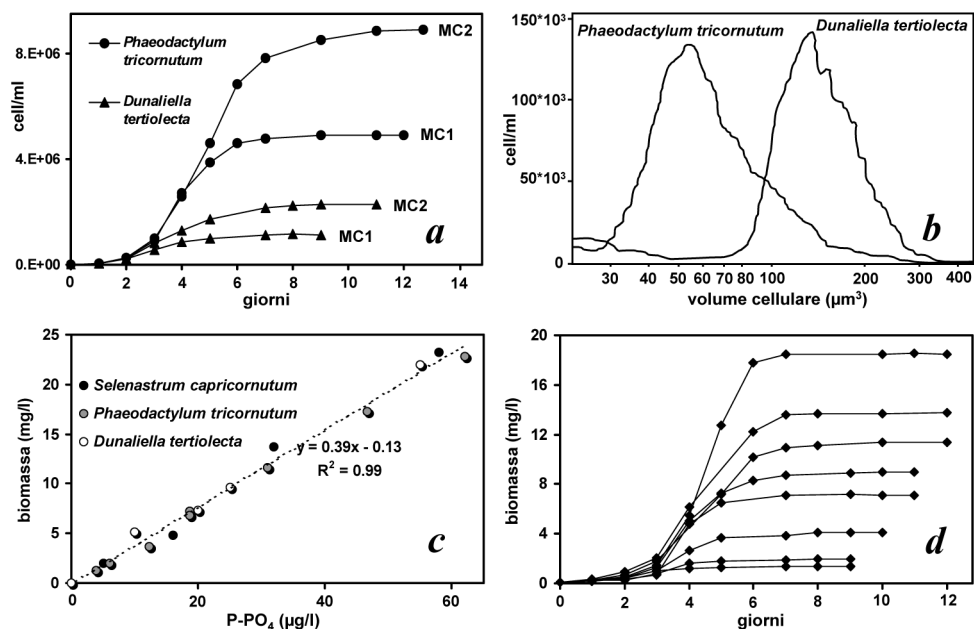


Fig. 1 - a) Densità cellulari sviluppate in risposta a due livelli trofici (MC1, MC2). b) Distribuzione dimensionale delle cellule. c) Resa in biomassa per unità di fosforo. d) Curve di crescita (3 specie) lungo il gradiente trofico Po-Adriatico.

a) Cell growth supported by two trophic levels (MC1, MC2). b) Cell-volume distribution. c) Algal yield per phosphorus unit. d) Growth curves (3 species) measured over the Po-Adriatic mixing.

Conclusioni – La confrontabilità delle risposte delle diverse specie algali agli arricchimenti nutrizionali conferma la funzionalità del loro accoppiamento nell’ambito delle procedure di AGP in acque di transizione. L’utilizzo della biomassa quale parametro di crescita risulta condizione necessaria per la confrontabilità interspecifica.

Bibliografia

- EPA (1978) - The *S. capricornutum* algal assay bottle test. *Ecol. Res. Series*, Corvallis, OR: 126.
- HECKY R.E., KILAM P. (1988) - Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.*, **33**: 796-822.
- LUSIC D.V., PERSIC V., HORVATIC J., VILICIC D., TRAVEN L., DAKOVAC T., MICOVIC V. (2008) – Assessment of nutrient limitation in Rijeka Bay, NE Adriatic Sea, using miniaturized bioassay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, doi: 10.1016/j.jembe.2008.01.012. (in press).
- MINGAZZINI M. (1995) - Trophic potential of Po river delta: a new biological approach. International Conference on Chemistry and the Mediterranean Sea. *Mediterraneanchem*, **1**: 115-116.
- MINGAZZINI M., FERRARI C.R., MORALE A., ONORATO L. (2001) - Studio degli effetti trofici del fiume Po misurati lungo il gradiente salino del delta con metodi biologici. *Biol. Mar. Mediterr.*, **8** (1): 792-795.

M. MINGAZZINI, M.T. PALUMBO, I. MERLI

Istituto di Ricerca sulle Acque, IRSA – CNR,
Via della Mornera, 25 – 20047 Brugherio (MI), Italia.
mingazzini@irsa.cnr.it

PROCEDURA BIOLOGICA PER LO STUDIO DEI PRODOTTI EXTRACELLULARI (EOM) DI DIATOMEAE MARINE

EXPERIMENTAL APPROACH TO STUDY THE EXTRACELLULAR ORGANIC MATTER (EOM) PRODUCED BY MARINE DIATOMS

Abstract - *The adopted approach to study the extracellular organic matter (EOM) is based on its natural accumulation in stationary-growing laboratory cultures. The fluorescence analysis combined with the biological method showed effective tracing the accumulation trend of humic-like fluorescing compounds and providing a distinctive characterization of EOM from a number of marine diatoms.*

Key-words: *Extracellular Organic Matter, fluorescence spectroscopy, marine diatoms.*

Introduzione – La sostanza organica extracellulare (EOM) prodotta dal fitoplancton può fornire un contributo rilevante alla sostanza organica disciolta (DOM) in ambiente marino. Gli studi che utilizzano tecniche fluorimetriche per discriminare le fonti della DOM tendono ad attribuire alla fluorescenza di tipo proteico il contributo fitoplanctonico, mentre utilizzano quella di tipo umico come tracciante del contributo terrigeno (Mayer *et al.*, 1999; Sierra *et al.*, 2005). È stato però dimostrato come le alghe rilascino anche composti con fluorescenza di tipo umico, con caratteristiche spettrali specie-specifiche (Mingazzini *et al.*, 2006). L'approccio basato sull'accumulo di EOM in colture di laboratorio è stato qui utilizzato per studiare la produzione e le forme spettrali dei composti di tipo umico rilasciati da diatomee marine adriatiche.

Materiali e metodi - Alcune diatomee marine, isolate dalle acque costiere nord adriatiche e mantenute in colture monospecifiche in laboratorio, sono state incubate in condizioni asettiche controllate, tali da favorire il prolungamento della fase di crescita stazionaria ed il naturale accumulo della EOM (Mingazzini *et al.*, 2006). Il mezzo extracellulare, prelevato da colture a diversi tempi di crescita stazionaria, è stato analizzato in fluorescenza. Gli spettri sincroni della EOM sono stati registrati su un range di lunghezza d'onda da 250 fino a 500 nm, con $\Delta\lambda = 25$ nm (Mingazzini, 2001).

Risultati – In tutti gli spettri dei campioni di EOM analizzati entrambe le componenti di fluorescenza, sia di tipo proteico che umico, sono risultate presenti. Nella Fig. 1a, che riporta la sequenza di spettri della EOM prodotta e progressivamente accumulata nelle colture di *Navicula* in fase stazionaria, si può notare come la componente di tipo umico, distribuita su un ampio intervallo (300-500 nm) con il massimo di eccitazione a 340 nm, aumenti di intensità con l'accumulo nei campioni. Il picco di fluorescenza a 280 nm, che rappresenta la componente di tipo proteico, tipicamente rilasciata solo in fase di crescita esponenziale, mantiene invece intensità costante ai diversi tempi di incubazione lungo la fase stazionaria delle colture. Lo stesso comportamento è stato osservato analizzando le sequenze spettrali della EOM prodotta da altre specie di diatomee, parallelamente incubate.

Dal confronto degli spettri di EOM di 4 diverse specie risulta come la banda di fluorescenza a 280 nm sia sostanzialmente sovrapponibile e aspecifica, mentre le forme spettrali nell'umico, pur con il massimo di eccitazione alla stessa lunghezza d'onda di 340 nm, siano caratterizzate da segnali diversi, che rivelano una composizione distinta per specie.

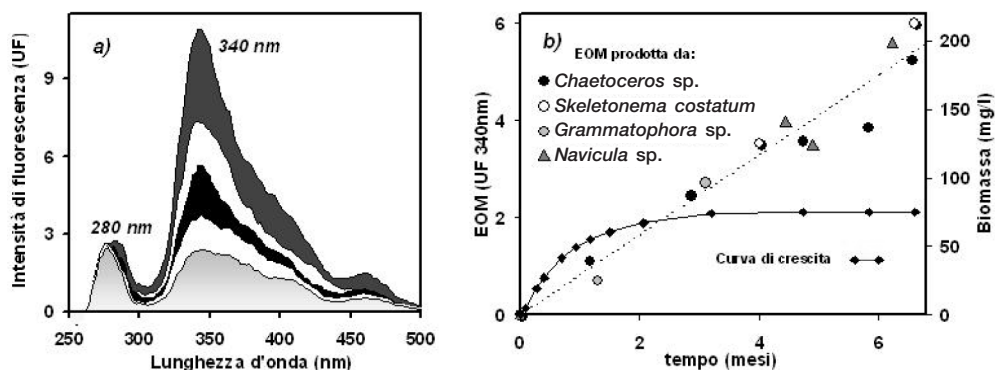


Fig. 1 - a) Spettri di fluorescenza della EOM accumulata nelle colture di *Navicula* sp.; b) Curva di crescita e trend di accumulo della EOM di tipo umico prodotta dalle colture di alcune diatomee marine.

a) Fluorescence spectra of EOM accumulated in *Navicula* cultures; b) Growth curve and accumulation trend of humic-like fluorescing EOM from a number of marine diatoms.

La tendenza di accumulo di questi composti nel mezzo extracellulare delle colture incubate è mostrata nella Fig. 1b, dove, parallelamente alla curva di crescita, è rappresentato l'incremento della EOM di tipo umico prodotta dalle colture di *Chaetoceros* in fase stazionaria. Lo stesso trend di accumulo è stato rilevato anche dall'analisi della EOM delle altre diatomee, per le quali sono riportati alcuni valori di fluorescenza, misurati lungo lo stesso arco temporale, nella stessa Fig. 1b.

Conclusioni - Il naturale accumulo dei composti extracellulari con fluorescenza di tipo umico in colture di laboratorio rappresenta un metodo di preconcentrazione dei campioni efficace per caratterizzare la EOM su un ampio intervallo spettrale. Le informazioni fornite dall'approccio adottato possono essere utili per discriminare le fonti della DOM e per valutare il contributo fitoplanctonico in ambiente marino.

Bibliografia

- MAYER L.M., SCHICK L.L., LODER III T.C. (1999) - Dissolved protein fluorescence in two Maine estuaries. *Mar. Chem.*, **64**: 171-179.
- MINGAZZINI M. (2001) - Synchronous fluorescence spectra as chemical tracers to monitor the DOM in North Adriatic waters. In: Faranda F. M., Guglielmo L., Spezie G. (eds), *Mediterranean Ecosystems: Structures and Processes*. Springer Verlag, **16**: 115-122.
- MINGAZZINI M., PALUMBO M.T., SENESI N. (2006) - A combined biological and fluorescence approach for the characterization of the humic-type EOM released by phytoplankton. In: Frimmel F.H., Abbt-Braun G. (eds), *Humic Substances*. IHSS, Karlsruhe, **45-I**: 401-404.
- SIERRA M.M.D., GIOVANELLA M., PARLANTI E., SORIANO-SIERRA E.J. (2005) - Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*, **58**: 715-733.

R. MUSSAT SARTOR, D. PESSANI

Laboratorio di Zoologia e Biologia Marina, Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo
Via Accademia Albertina, 13 – 10123 Torino, Italia.
rocco.mussat@unito.it

PRIMI DATI SUL MEROPLANCTON
DELL'AREA DI KHAO LAK (MARE DELLE ANDAMANE)
DOPO L'EVENTO CATASTROFICO DEL DICEMBRE 2004

*FIRST DATA ON THE MEROPLANKTON COLLECTED
IN THE KHAO LAK AREA (ANDAMAN SEA)
AFTER DECEMBER 2004 CATASTROPHIC EVENT*

Abstract – *Plankton samples collected along the western Thailand coast, after the catastrophic event of December 2004, were analysed mainly as regards the larval specimens. Eight meroplanktonic taxa were identified and their presence compared with the current one of benthonic adults.*

Key-words: *zooplankton, western Thailand, tsunami.*

Introduzione - Nell'ambito del Progetto Nazionale di Ricerca (MURST 2005; coordinatore: Prof. E. Robba, Università Milano-Bicocca) relativo all'analisi degli eventi catastrofici e del loro impatto sulla fauna marina di un'area costiera del Mare delle Andamane, sono stati effettuati prelievi idrogeologici, campionamenti bentonici (tutt'ora in studio) e pescate planctoniche nell'area di Khao Lak, situata a circa 450 km ad Est dal punto di origine dello tsunami del 26 Dicembre 2004. La zona è caratterizzata da fondi mobili e, a sud, da una ormai ristretta e fortemente compromessa scogliera corallina (Benzoni *et al.*, 2006). Lo scopo del presente lavoro è quello di fornire i primi dati sulla frazione meroplanctonica, per verificare quali siano i gruppi bentonici che, con le loro larve, possono aver maggiormente contribuito alla ripresa della biodiversità nell'area.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati condotti nel corso di due campagne (Aprile e Dicembre 2006) utilizzando un retino tipo Apstein (\varnothing 40 cm; maglia = 100 μ m). Sono state eseguite quattro pescate orizzontali superficiali (20 minuti, a 2 nodi) e nove pescate verticali, dal fondo (massimo: 15 m) alla superficie, concentrati lungo le due zone maggiormente colpite dallo tsunami (Laem Pakarang e Laem Hin Chang, rispettivamente a Nord e a Sud dell'area). I campioni sono stati fissati in una soluzione tamponata di formalina al 4%. I conteggi degli esemplari zooplanctonici sono stati eseguiti su tre subcampioni significativi del campione totale, il quale è stato esaminato interamente per l'osservazione di eventuali *taxa* non presenti nelle frazioni esaminate.

Risultati - In entrambe le campagne l'acqua è risultata molto torbida con rilevante materiale in sospensione (sedimento inorganico fine). L'analisi dei campioni ha evidenziato una discreta presenza di individui meroplanctonici, la cui ricchezza percentuale sul plancton in totale è compresa tra 17 (aprile) e 35 (dicembre). Sono stati riconosciuti 10 *taxa* oloplanctonici ed 8 meroplanctonici (Tab. 1). Nell'oloplancton, in tutti i campionamenti, predominano i Copepodi, con valori di densità che oscillano tra 4351-23873 ind/m³ (aprile) e 2165-9729 ind/m³ (dicembre). Nella frazione meroplanctonica sono più abbondanti, nei campioni di aprile, le larve di Molluschi, seguite da quelle di Cirripedi, Decapodi e Policheti; a dicembre si osserva invece un netto aumento dei valori di abbondanza delle larve di Cirripedi che prevalgono, insieme a quelle dei Molluschi, sugli altri *taxa*.

Tab. 1 - Valori di densità (ind/m³) dell'olo e del meroplankton nelle pescate e valori percentuali dei *taxa* meroplanktonici (Pv = pescata verticale; Po = pescata orizzontale; A = Aprile; D = Dicembre).

Density values (ind/m³) of olo and meroplankton and percentage values of meroplanktonic taxa (Pv = vertical sampling; Po = horizontal sampling; A = April; D = December).

Campione	Olo. (ind/m ³)	Mero. (ind/m ³)	Meroplankton (%)							
			Gasteropodi	Bivalvi	Policheti	Cirripedi	Decapodi	Echinodermi	Foronidei	Teleostei
P1vA	5955,7	373,4	32	47,9	2,7	9,8	4,9	1	-	1,7
P2vA	25551	5180	75,3	9,8	0,1	1,1	13	-	-	0,7
P3vA	4759,6	265,4	21,3	34,1	16,1	8	16,6	2	-	2
P4oA	71,8	14,1	45,2	46	-	5,7	3,1	-	-	-
P5oA	56,5	5	40	30,7	6,8	6,4	16,1	-	-	-
P6vD	2284,8	842,4	28,3	12,6	2,9	48,5	5,2	-	1,2	1,3
P7vD	7710,3	2712,1	38,6	21,5	3,9	29,2	4,9	1	-	0,9
P8vD	9066,2	1630,9	23	12,5	9,6	51,2	0,6	-	0,7	2,4
P9vD	10587	2881,2	32,3	16,7	9	35	1,7	2,3	0,3	2,7
P10vD	7227,3	528,9	35,4	17,5	8,3	27,2	7,9	1,6	-	2,1
P11vD	3829,5	2034,1	21,2	18,6	3,3	51,6	3,9	0,6	-	0,8
P12oD	553,8	58,8	6,2	7,7	11,2	63,4	8,5	1,2	0,2	1,6
P13oD	955,6	103,2	29,1	20,2	2,7	33,8	9,7	1,2	-	3,3

Conclusioni – Premettendo che non esistono dati recenti, pre- o post-tsunami, sul plankton dell'area in esame, i risultati ottenuti trovano solo parzialmente riscontro in quelli, preliminari, relativi alla fauna bentonica, dominata da Molluschi Gasteropodi e Bivalvi. Le larve di Cirripedi possono derivare da adulti presenti nelle limitate aree di substrato duro presenti a sud e toccate solo tangenzialmente dallo tsunami. Riguardo le larve di Decapodi, predominano le zoe di Brachiuri (attribuibili non solo agli Ocipodidi che popolano le spiagge), seguite dalle larve di Alpheidae, Diogenidae, Porcellanidae e Callianassidae; solo di alcuni di questi *taxa* sono stati trovati rarissimi esemplari adulti bentonici. Oltre alla successiva identificazione specifica (se possibile) delle larve raccolte, sarà necessario valutare l'influenza che l'abbondante sedimento (che si ipotizza provenire dalle ormai in disuso miniere di cassiterite e rimesso in sospensione dall'evento) può avere o aver avuto sulla ripresa dei popolamenti.

Ringraziamenti - Ringraziamo la Prof.ssa Daniela Basso, la Dott.ssa Francesca Benzoni, il Prof. Italo Di Geronimo, il Prof. Elio Robba e la Prof.ssa Donata Violanti.

Bibliografia

BENZONI F., BASSO D., GIACCONE T., PESSANI D., CAPPELLETTI F.S., LEONARDI R., GALLI P., CHOOWONG M., DI GERONIMO I., ROBBA E. (2006) – Post-tsunami condition of a coral reef in Laem Pakarang (Andaman Sea, Thailand). *Int. Soc. Reef St. Eur. Meet.*, Bremen, 19-22 Sept. 2006: 1 pp.

G. SOCAL, F. ACRI, V. BANDELJ*, M. BASTIANINI, A.M. BAZZONI, F. BERNARDI AUBRY,
F. BIANCHI, G. COSSARINI*, A. PUGNETTI, C. SOLIDORO*

Istituto di Scienze Marine ISMAR CNR, Castello 1364/a - 30122 Venezia, Italia.
giorgio.socal@ismar.cnr.it

*Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale, Trieste, Italia.

CONDIZIONI AMBIENTALI, CICLO VITALE ED OROLOGIO ENDOGENO NELLA DINAMICA DEL FITOPLANCTON. EVIDENZE DA OSSERVAZIONI SPERIMENTALI NELL'ADRIATICO NORD OCCIDENTALE

ENVIRONMENTAL CONDITION, LIFE CYCLE AND ENDOGENOUS CLOCKS IN PHYTOPLANKTON DYNAMICS. EVIDENCE FROM EXPERIMENTAL OBSERVATIONS IN THE NW ADRIATIC SEA

Abstract - Two phytoplankton data set (coastal: 1992-1999 and offshore: 1999-2006) from the Northern Adriatic were analysed in order to find their behaviour respect to environmental features and to seasonality. Multivariate statistical analyses demonstrated that the seasonal changes of the community structure are influenced by an endogenous clock and phenology rather than by the spatial and temporal variations of the abiotic parameters.

Key-words: *phytoplankton, seasonal variations, Northern Adriatic Sea.*

Introduzione - La teoria ecologica e i modelli numerici prevedono l'esistenza di relazioni tra la successione delle specie del fitoplancton e le condizioni ambientali. Questi aspetti hanno importanti implicazioni per l'utilizzo di informazioni relative alla presenza-assenza di determinate specie come indicatori dello stato ecologico di un ecosistema marino. In particolare va ricordato che le caratteristiche dei cicli vitali degli organismi planctonici potrebbero concorrere alla definizione della struttura e della dinamica delle comunità tanto quanto le caratteristiche delle condizioni ambientali. In base a queste ipotesi vengono qui analizzati dati raccolti nel Nord Adriatico per testare se sia più evidente la risposta del fitoplancton alle forzanti ambientali, oppure se le strutture di comunità siano maggiormente sottoposte ad un orologio stagionale interno.

Materiali e metodi - Le analisi sono state effettuate su differenti basi di dati, raccolti dal bacino del nord Adriatico: le prime sono state ottenute da campagne mensili svolte in tutto il bacino dal 1999 al 2006, le seconde da indagini realizzate tra il 1992 e il 1999 lungo l'arco costiero veneto. I campioni di fitoplancton sono stati analizzati secondo Utermöhl (1958). A corredo di queste informazioni sono fornite quelle sulla concentrazione in acqua dei principali descrittori chimici (nutrienti ed ossigeno disciolto) e fisici (temperatura e salinità). Il data set è stato utilizzato in una serie di analisi statistiche esplorative e di gradiente, per identificare le caratteristiche strutturali persistenti e le scale di variabilità della comunità fitoplanctonica e per verificare se e quali parametri ambientali concorrono a definirne la struttura, ed in quale misura.

Risultati - Dai 1194 campioni discreti di fitoplancton, raccolti nelle acque al largo (Bernardi Aubry *et al.*, 2006) sono stati osservati 374 taxa mentre dai 4357 campioni osservati lungo l'arco costiero del veneto (Bernardi Aubry, 2004) sono stati descritti 144 taxa. I gradienti nelle concentrazioni dei nutrienti e delle clorofilla possono essere spiegati dal campo di salinità e dalla posizione dei siti di campionamenti lungo la costa. I risultati dimostrano infatti che le abbondanze totali e le biomasse del fitoplancton presentano scale di variazione legate alla struttura verticale della colonna d'acqua

e ad una eterogeneità orizzontale secondo un gradiente da Ovest verso Est (Revelante e Gilmartin, 1976a). Ma risulta anche che la clorofilla sia correlata con la temperatura e che in generale il fitoplancton nel Nord Adriatico segua un andamento controllato dalla stagionalità (Revelante e Gilmartin, 1976b). I macrogruppi del fitoplancton (diatomee, dinoflagellate, coccolitoforidee e flagellate) mostrano segnali simili, con abbondanze maggiori vicino allo sbocco dei fiumi, ma con massimi in primavera ed estate, perciò confermando l'esistenza di un modello stagionale. In misura analoga le strutture di comunità dipendono fortemente dalla stagione, così come molte variabili fisico-chimiche. Le analisi statistiche multivariate effettuate sottolineano e confermano che le variabili fisiche e chimiche al di fuori della stagionalità aggiungono molto poco. Altrettanto difficile appare modellare le comunità fitoplanctoniche (confrontando la varianza nelle analisi multivariate) anche con predittori come la Back Propagation Rete Neurale (BPNN). Sembra perciò che la risposta del fitoplancton alle condizioni ambientali stia nel risultato di una combinazione dei presenti responsi ai valori reali dei parametri ambientali e dei processi di selezione sperimentati su scale temporali evolutive e codificate nel pool genetico presente.

Conclusioni - Le nostre analisi suggeriscono che il ciclo vitale e l'orologio interno potrebbero essere importanti quanto le condizioni ambientali nel regolare la struttura e la dinamica delle comunità planctoniche. Mentre le condizioni ambientali possono spiegare la variabilità delle abbondanze totali, l'importanza del ciclo vitale aumenta progressivamente passando dalle informazioni sui gruppi tassonomici, fino ai livelli delle specie. Come conseguenza (e concesso che strategie sperimentali diverse potrebbero evidenziare altre conclusioni) modelli robusti per la descrizione della struttura biologica (stagionalità) possono persistere a dispetto di grandi variazioni nelle condizioni ambientali, che spiegano invece larga parte della variabilità nelle abbondanze relative delle comunità planctoniche.

Bibliografia

- BERNARDI AUBRY F., ACRI F., BASTIANINI M., BIANCHI F., CASSIN D., PUGNETTI A., SOCAL G. (2006) - Seasonal and interannual variations of phytoplankton in the Gulf of Venice (Northern Adriatic Sea). *Chemistry and Ecology*, **22** (Suppl.) 1: S71-S91.
- BERNARDI AUBRY F., BERTON A., BASTIANINI M., SOCAL G., ACRI F. (2004) - Phytoplankton succession in a coastal area of the NW Adriatic over a 10-years sampling period (1990-1999). *Continental Shelf Research*, **24/1**: 97-115.
- REVELANTE N., GILMARTIN M. (1976a) - The effect of the Po river discharge on phytoplankton dynamics in the Northern Adriatic Sea. *Marine Biology*, **34**: 259-271.
- REVELANTE N., GILMARTIN M. (1976b) - Temporal succession of phytoplankton in the Northern Adriatic. *Netherlands Journal of Sea Research*, **10**: 377-396.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, **9**: 1-38.

Parte dei dati (2003-2006) sono stati raccolti nell'ambito del programma europeo INTERREG III Italia-Slovenia.

E. STANCA, L. SABETTA, A. FIOCCA, A. BASSET

Dipartimento di Scienze Biologiche e Tecnologie Ambientali (Di.S.Te.B.A.), Università del Salento,
Via Provinciale Lecce-Monteroni, Lecce, Italia.
elena.stanca@unile.it

DIMENSIONI E FORMA NEL FITOPLANCTON: COSTRIZIONI FUNZIONALI ALLA DISTRIBUZIONE SPAZIALE

SIZE AND SHAPE IN PHYTOPLANKTON: FUNCTIONAL CONSTRAINTS TO SPATIAL DISTRIBUTION

Abstract – *Size and shape are traits characterising functional aspects of phytoplankton determining surface areal/volume ratio. The objective of this study is to evaluate size and shape composition of phytoplankton and the occurrence of a spatial dependence for these functional traits in the coastal environment of the Salento peninsula.*

Key-words: *coastal environment, phytoplankton, shape, size.*

Introduzione - Dimensione e forma cellulare sono importanti tratti funzionali nell'organizzazione del fitoplancton, influenzando i processi eco-fisiologici e determinando differenti strategie adattative di sopravvivenza in funzione della variabilità ambientale (Bertrand *et al.*, 2003; Weithoff, 2003). Il rapporto superficie/volume (S/V) integra l'informazione derivata da questi tratti in uno unico descrittore morfologico importante nel determinare la fitness individuale in rapporto a forzanti ambientali. L'obiettivo di questo studio è quello di valutare: la composizione in categorie di forma del fitoplancton; la variazione in relazione alla componente spaziale e temporale; l'esistenza di relazioni tra forma e dimensioni cellulari; l'esistenza di una diversità funzionale legata a forma, dimensioni e taglia.

Materiali e metodi - Questo lavoro si basa su dati chimico-fisici e biologici, relativi alla frazione nano/micro-fitoplanctonica, raccolti durante 4 crociere oceanografiche in 21 stazioni di campionamento situate su 7 transetti nell'area marino - costiera della Penisola Salentina. La composizione tassonomica e le misure morfometriche sono state determinate secondo la metodica di Utermöl (Zingone *et al.*, 1999) utilizzando un microscopio ottico invertito ed il sistema di analisi immagine L.U.C.I.A. (NIKON). La classificazione delle cellule in diverse forme geometriche e i modelli di calcolo di superficie e volume cellulare si basano su quelli proposti da Hillebrand *et al.* (1999) e Sun e Liu (2003). Per ogni specie è stata effettuata la stima del rapporto superficie/volume in modo diretto o in modo indiretto.

Risultati - Complessivamente durante le quattro crociere sono state identificate, tassonomicamente e morfometricamente, 46474 cellule appartenenti a 255 taxa. Le cellule identificate sono state classificate in 18 forme geometriche specie-specifiche, 12 forme semplici e 6 forme complesse.

In termini di abbondanza totale il 95% degli individui rientra in 12 forme, che risultano costituire le forme comuni; di queste 8 sono semplici (sfera, sferoide, cilindro, ellissoide, parallelepipedo, prisma su base ellittica, su base di parallelogramma e su base triangolare) e 4 complesse (doppio cono, sferoide + 2 cilindri, cono + mezza-sfera, ellissoide + 2 coni + cilindro). Il taxa più abbondante tra le forme semplici risulta essere quello delle Dinophyceae atecate indet. con mediamente 1396.5 individui, mentre quello tra le forme complesse risulta *Cylindrotheca closterium* con mediamente 635.3 individui. Il rapporto S/V medio varia da un minimo di $0.20 \pm 0.06 \mu\text{m}^{-1}$ della forma semplice sfera, relativo al taxa delle Dinophyceae tecate indet., ad un massimo

di $5.39 \pm 2.35 \mu\text{m}^{-1}$ relativo alla *Pseudo-nitzschia* spp. appartenente alla forma semplice prisma su base di parallelogramma.

Il restante 5% dell'abbondanza totale rientra in 6 forme che risultano essere le forme rare; di queste 3 sono semplici (cono, semi-cilindro, semi-sfera) e 3 complesse (mezzo ellissoide + cono su base ellittica, ellissoide + coni, cilindro+3 coni).

Complessivamente sono state osservate:

differenze statisticamente significative dei rapporti S/V tra forme comuni (95% dell'abbondanza totale) e forme rare (5% dell'abbondanza totale);

relazioni allometriche nelle forme comuni (95% dell'abbondanza totale) tra il valore del rapporto S/V medio e dimensioni cellulari medie, e tra densità e dimensioni cellulari medie;

variabilità temporale statisticamente significativa dei rapporti S/V medi e delle dimensioni cellulari medie all'interno di ogni forma comune (95% dell'abbondanza totale).

Conclusioni – Lo studio di tratti funzionali come dimensioni, forma, rapporto S/V può essere uno strumento utile per l'analisi dei pattern di variazione spaziale e per la formulazione di ipotesi che spieghino i meccanismi di organizzazione del fitoplancton, dal momento che la selezione di dimensioni e forma può rappresentare un'importante *driving force* nell'organizzazione delle corporazioni fitoplanctoniche (Morabito *et al.*, 2007).

Bibliografia

- BERTRAND C., FRANQUET E., FAYOLLE S., CAZAUBON A. (2003) – A new approach of the biodiversity:morphological plasticity for a freshwater diatom *Ecology Comptes Rendus Biologies*, **326**: 107-120.
- HILLEBRAND H., DÜRSELEN C.D., KIRSCHTEL D., POLLINGHER D., ZOHARY T. (1999) – Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, **35** : 403-424.
- MORABITO G., OGGIONI E., CARAVATI, PANZANI P. (2007) – Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). *Hydrobiologia*, **578**: 47-57.
- SUN J., LIU D. (2003) – Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, **25** (11): 1331-1346.
- WEITHOFF G. (2003) – The concepts of 'plant functional types' and 'functional diversity' in a lake phytoplankton – a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology*, **48**: 1669-1675.
- ZINGONE A., HONSELL G., MARINO D., MONTRESOR M., SOCAL G. (1990) – Fitoplancton. In metodi nell'ecologia del plankton marino. *Nova Thalassia*, **11**: 183-198.

E. TONZAR

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Trieste,
Via Licio Giorgieri, 10 – 34127 Trieste, Italia.
tonzar@units.it

DISTRIBUZIONE DELLE CISTI DI DINOFLAGELLATE NEL GOLFO DI TRIESTE

DINOFLAGELLATE CYSTS DISTRIBUTION IN THE GULF OF TRIESTE

Abstract – *The aim of this study is investigation the correlation between the distribution of dinoflagellate resting cysts in the Gulf of Trieste with abiotic and biotic factors. The analysis shows a strong relationship among cysts distribution, the substrate, the current and the seasonality.*

Key-words: *dinoflagellate cysts, sediments, benthos, Gulf of Trieste.*

Introduzione – L'obiettivo è chiarire la correlazione tra la distribuzione delle popolazioni di cisti di Dinoflagellate (Matsuoka *et al.*, 1989) nel Golfo di Trieste e i fattori abiotici e biotici che insistono nell'area di studio. Come fattori abiotici si considerano la presenza di barriere artificiali e le strutture antropiche emerse e sommerse che potrebbe alterare la circolazione delle masse d'acqua e modificare le condizioni idrodinamiche dell'energia di fondo, generando turbolenze o depositi, anche in relazione alla tessitura del substrato. È stata posta attenzione anche all'eventuale presenza di specie potenzialmente tossiche per la salute umana (ad es. *Protoceratium reticulatum*) che potrebbero danneggiare le risorse ittiche come anche alterare la componente bentonica originaria.

Materiali e metodi - I campioni di sedimento (20 stazioni) sono stati prelevati in modo diretto con l'impiego di un operatore subacqueo (luglio e dicembre 2005). Sono state utilizzate carote di plexiglass aventi lunghezza di 20 cm e diametro di 4 cm. Per l'analisi floristica è stata eseguita una centrifugazione in gradiente discontinuo con Ludox Colloida Silica Tech., TMX 49% (Dupont Nemors) (Blanco, 1986) e la frazione intermedia è stata osservata al microscopio a ottica invertita (microscopio Leica-DM IL). Per l'analisi granulometrica i campioni sono stati trattati per 24 ore con 40 ml di una soluzione di acqua ossigenata (concentrazione a 10 volumi) e analizzati con il granulometro laser con autocampionatore (Malvern-Hydro 2000s).

Risultati – L'analisi quantitativa ha evidenziato una distribuzione molto più elevata di cisti nel primo livello delle carote esaminate. La stazione avente presenza più abbondante di cisti è quella del Molo VII (45°37.770' N-13°45.306' E), con una distribuzione quantitativa comparabile nei primi due livelli della carota. Seguono le stazioni con una distribuzione maggiore di cisti nel primo livello rispetto a quella sottostante di San Bartolomeo-esterno (45°36.325' N-13°42.513' E), Panzano-esterno (45°46.037' N-13°35.115' E), San Bartolomeo-centrale (45°36.361' N-13°42.917' E), San Bartolomeo-interno (45°36.352' N-13°42.928' E) e Grignano esterno (45°42.420' N-13°42.677' E). La stazione di Grignano-interno (45°42.366' N-13°42.703' E) presenta una tendenza completamente opposta, avendo una distribuzione di cisti molto maggiore nel secondo livello della carota, rispetto al primo. Tutte le altre stazioni sono caratterizzate da presenza più scarsa di cisti. L'analisi qualitativa (Tonzar, 2005) ha messo in evidenza tre tendenze di distribuzione delle specie: 1) specie per le quali a giugno si evidenzia un valore di presenza percentuale maggiore rispetto al mese di dicembre (*Lingulodinium polyedrum*); 2) specie per le quali a dicembre si evidenzia un

valore di presenza percentuale maggiore rispetto al mese di luglio (*Gonyaulax spinifera*, *Protoceratium reticulatum* e *Protoperidinium conicum*); 3) specie per le quali si evidenzia un valore di presenza percentuale uguale nelle due stagioni (*Alexandrium pseudogonyaulax*, *Spiniferites* sp. e *Scrippsiella trochoidea*). Relativamente alle stazioni: le D6 (45°42.077' N-13°37.420' E) e D1 (45°42.087' N-13°37.396' E) hanno la maggiore presenza percentuale di cisti, senza significative differenze legate alla stagionalità; la D2 (45°42.087' N-13°37.396' E) ha una maggiore distribuzione di cisti a luglio rispetto a dicembre; le D3 (45°42.068' N-13°37.399' E), D4 (45°42.110' N-13°37.382' E) e D5 (E, 45°42.098' N-13°37.412' E) hanno una maggiore distribuzione di cisti a dicembre rispetto a luglio. Relativamente alle frazioni: nel mese di dicembre è stata evidenziata una maggiore distribuzione percentuale di cisti nelle frazioni 0,0-1,0 e 1,0-2,0 cm; mentre nel mese di luglio la distribuzione percentuale di cisti è diminuita nella frazione 0,1-1,0 cm; relativamente alla frazione 2,0-3,0 cm, la distribuzione percentuale di cisti è risultata molto scarsa in entrambi in mesi di campionamento. Le analisi dei sedimenti con il granulometro laser hanno generato delle curve della distribuzione granulometrica cumulativa che hanno condotto a raggruppamenti omogenei delle stazioni: 1) pelite mal classata: Baia di Panzano-esterno e Marina di Aurisina-esterno; 2) pelite sabbiosa mal/molto mal classata: Baia di Panzano-interno, Baia di Panzano-centrale, Marina di Aurisina-centrale, piramidi del Dosso di Santa Croce D1-D6, Molo VII, San Bartolomeo esterno; 3) pelite molto sabbiosa e molto mal classata: Marina di Aurisina-interno, Laboratorio OGS interno-esterno, Grignano interno-esterno, San Bartolomeo-centrale; 4) sabbia politica mal classata: San Bartolomeo-interno.

Conclusioni - L'analisi quantitativa ha portato al riscontro di una distribuzione decrescente di cisti procedendo verso la parte Nord-Ovest del Golfo di Trieste e penetrando a livelli più profondi di substrato, soprattutto in relazione alle caratteristiche granulometriche del sedimento e all'andamento delle correnti. L'analisi qualitativa ha evidenziato una differenza di presenza di cisti per cui, si può ipotizzare ci sia stata una germinazione legata alla stagionalità, che ha coinvolto il popolamento, dopo il mese di luglio. Questa ipotesi è stata proposta in relazione alla differente distribuzione di cisti tra lo stesso mese di luglio e quello di dicembre. Questa analisi, basata sulle osservazioni preliminari di cui sopra, potrebbe essere in accordo con l'ipotesi di una scarsa risospensione dovuta alla presenza di strutture artificiali sommerse, che potrebbero alterare le condizioni idrodinamiche dell'energia di fondo.

Bibliografia

- BLANCO J. (1986) - Separación de quistes de dinoflagelados en gradiente de densidad. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 3 (3): 81-84.
- MATSUOKA K., FUKUYO Y., ANDERSON D.M. (1989) - Methods for modern dinoflagellate cyst studies. In: Okaichi T., Anderson D.M., Nemoto T. (eds), *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*. Elsevier, New York: 461-480.
- TONZAR E. (2005) - Osservazioni preliminari sulla distribuzione di cisti di Dinoflagellate nel Golfo di Trieste (Alto Adriatico). *Informatore Botanico Italiano*, 37, Numero 1, parte B. Gennaio-Giugno 2005: 606-607.

V. ARIZZA, A. ZENONE*, F.T. GIARAMITA, AL. RINALDI*, G. SARÀ*

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo, Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.
arizza@unipa.it

*Dipartimento di Ecologia, Università di Palermo, Viale Scienze Ed. 16 – 90128 Palermo, Italia.

MODULAZIONE DI *HEAT SHOCK PROTEIN* (HSP)
IN *BRACHIDONTES PHARAONIS* (MOLLUSCA, BIVALVIA)
IN CONDIZIONI DI TEMPERATURA VARIABILE

HEAT SHOCK POTEINS (*HSP*) IN *BRACHIDONTES PHARAONIS*
(*MOLLUSCA, BIVALVIA*) AT VARYING TEMPERATURES

Abstract – Heat shock proteins (*HSP70* and *90*) have been measured in specimens of bivalve *Brachidontes pharaonis* exposed at varying temperature (5, 10, 15, 20, 25 and 32 °C) in a climatic room. Current molecular methodologies (*dot-blot*) highlighted a temperature-dependent response of treated bivalves: the higher the temperature, the higher the HSPs expression, apart from a uncorrelated peak at 5 °C.

Key-words: heat shock proteins, *Brachidontes pharaonis*, temperature effect, Mediterranean.

Introduzione – Gli organismi intertidali affrontano un ambiente estremamente variabile dal punto di vista fisico poiché regime idrologico, aridità, disponibilità di cibo e molti altri fattori variano su scala giornaliera durante tutto il loro ciclo vitale. L'aumento della temperatura, in particolare, dovuto a possibili fattori umani, ha un effetto diretto sugli organismi durante la bassa marea, quando l'umidità ambientale è drammaticamente diminuita. Le possibili alterazioni dovute all'incremento termico sugli organismi intertidali può essere registrato attraverso l'espressione delle chaperonine (proteine da shock termico HSP70 e HSP90; Hofmann e Somero, 1995). In questo lavoro il bivalve *Brachidontes pharaonis* è stato sottoposto a condizioni di temperatura variabile tra 5 °C e 32 °C ed per ogni livello di temperatura è stata misurata l'espressione delle HSP70 e HSP90 tramite l'analisi immuno-colorimetrica del *dot-blot* usando anticorpi specifici per le HSP umane 70 e 90.

Materiali e metodi - Le branchie di 6 gruppi da 10 esemplari (~500 mg), esposti per 48 ore alle temperature di 5, 10, 15, 20, 25, 32 °C. sono state prelevate, riunite in pool e sonicate due volte per 10 sec. a 20 KHz a 70 W in Tris -NaCl, pH 7.6 contenente l'inibitore di proteasi fluoruro di fenilmetansulfonile (PMSF) e il detergente sodio dodici solfato (SDS) (0.1%), I sonicati sono stati poi centrifugati a 4000× g per 10 min a 4 °C. La concentrazione proteica del supernatante è stata determinata tramite l'acido biocinocinico (BCA). Per le analisi in *dot-blot* 5-10 µg di sonicato, sono stati "spottati" sulla nitrocellulosa utilizzando l'apparato Bio-Dot. Le HSPs sono state rivelate tramite un anticorpo primario commerciale anti HSPs umane 70 e 90 per ed un secondario coniugato con la fosfatasi alcalina. Per ogni analisi è stato preparato un set di 3 *dot-blot*. Per la densitometria, le immagini sono state analizzate con il software Alpha EaseFC.

Risultati – I risultati indicano che gli anticorpi contro le HSPs umane cross-reattono con le proteine del bivalve e hanno evidenziato una correlazione significativa (t-Student $p < 0.05$) tra incremento della temperatura ed espressione delle proteine HSPs. Essa era massima alla massima temperatura di esposizione (32 °C), mentre raggiungeva un minimo alla temperatura di 15 °C. Tuttavia, è stato inoltre evidenziata una maggiore espressione di HSP 70 e 90 a 5 °C (Fig. 1).

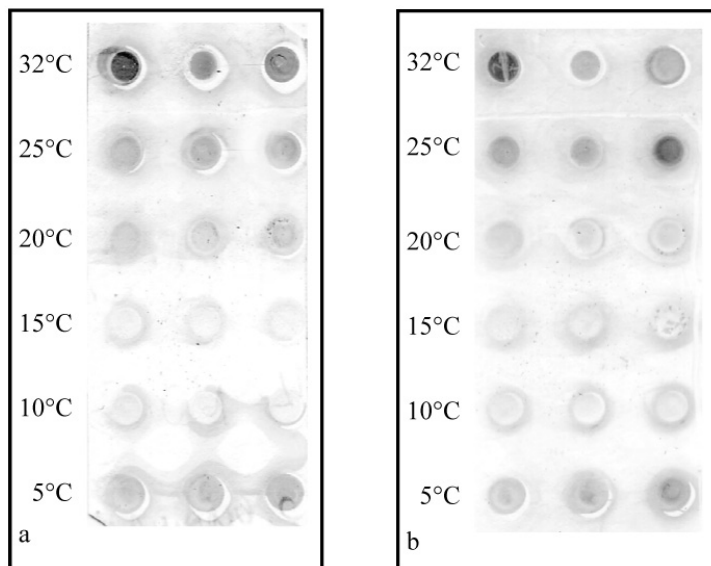


Fig. 1 - Dot-blot del sonicato del tessuto branchiale di esemplari di *Brachidontes pharaonis* esposti a differenti temperature. Ogni linea di tre spot circolari rappresenta 5–10 µg di proteina ottenuto da tre singoli pool di individui esposti alla stessa temperatura, marcati con l'anticorpo specifico: a) anti HSP 70 umano; b) anti HSP 90 umano.

Dot-blot of the sonicate of branchial tissue of Brachidontes pharaonis specimens after exposure at different temperature. Each line of 3 circular spots represent 5–10 µg from 3 individual pools exposed at the same temperature, stained with: a) antibody against human HSP 70; b) antibody against human HSP 90.

Conclusioni – Il metodo utilizzato, in accordo con la letteratura attuale, ha permesso di evidenziare come i bivalvi intertidali risentano delle variazioni di temperatura esibendo una risposta molecolare basata sulla produzione di chaperonine. Esse interverrebbero nel ripristino delle condizioni omeostatiche cellulari in risposta a fattori stressogeni come la temperatura ambientale. Tali risultati, ottenuti su una specie Lessepsiana (*B. pharaonis*) suggeriscono come organismi ben adattati alle condizioni ambientali sub-tropicali e tropicali, sono corredati da meccanismi di risposta eco-fisiologica in grado di tollerare ampi range di temperatura (10 e poco oltre i 25 °C). Ciò giustificerebbe l'ampia distribuzione di *B. pharaonis* in ampie porzioni dell'intertidale mediterraneo (Sarà *et al.*, in stampa).

Bibliografia

- HOFMANN G.E., SOMERO G.N. (1995) - Evidence for protein damage at environmental temperatures: seasonal changes in levels of ubiquitin conjugates and HSP70 in the intertidal mussel *Mytilus trossulus*. *Journal of Experimental Biology*, **198**: 1509-1518.
- SARÀ G., ROMANO C., MAZZOLA A. (in stampa) – A new Lessepsian species in the western Mediterranean (*Brachidontes pharaonis*, Bivalvia, Mytilidae): density, resource allocation and biomass. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*.

G. BENENATI, M.G. PARISI, M. CAMMARATA

Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo,
Via Archirafi, 18 – 90123 Palermo, Italia.
camat@unipa.it

EFFETTI DELL'ESPOSIZIONE *IN VITRO*
AL CLORURO DI METILMERCURIO
SULLE RISPOSTE IMMUNITARIE DI *DICENTRARCHUS LABRAX*

IN VITRO EFFECTS OF METHYLMERCURY
ON DICENTRARCHUS LABRAX IMMUNITARY RESPONSES

Abstract – This study shows that high methylmercury concentrations are cytotoxic for *Dicentrarchus labrax* leucocytes, whereas sublethal concentrations affect leucocyte phagocytosis and cells morphology in a dose dependent fashion. Although the serum hemoagglutinating activity was not inhibited by the metal, the activity of purified serum F-lectin fraction and mucus was significantly decreased by relevant methylmercury concentrations.

Key-words: Methylmercury, *Dicentrarchus labrax*, phagocytosis, lectin, lysozyme, complement system.

Introduzione - Molti degli xenobiotici presenti nell'ambiente marino sono immunosoppressori e possono facilitare l'insorgenza, negli organismi, di molte patologie (Brouwer *et al.*, 1990); inoltre diversi studi hanno dimostrato la sensibilità di alcune funzioni immunitarie a esposizioni sia *in vitro* che *in vivo* a metalli pesanti o a organostannici (Anderson 1994; Cima, 1998). La funzionalità immunitaria innata ed acquisita di pesci teleostei può essere danneggiata da xenobiotici (Reynaud *et al.*, 2002) e ciò rinnova l'interesse per l'immunotossicologia come bioindicatore ambientale. Il presente lavoro si prefigge di valutare, in spigola (*Dicentrarchus labrax*), risposte cellulari e molecolari basilari per la corretta funzionalità immunitaria innata, in presenza di metilmercurio a concentrazioni, riscontrabili in ambiente marino, subletali per i leucociti.

Materiali e metodi – Gli esemplari adulti (1-2 anni) di *D. labrax* sono stati forniti dalla ditta Ecoittica (Tp) e trasferiti presso l'acquario del Dipartimento di Biologia animale. Gli animali sono stati anestetizzati utilizzando tricaina metansolfonato (MS222) alla concentrazione di 0,05% per l'esecuzione dei prelievi. Sono stati valutati gli effetti del cloruro di metilmercurio, alle concentrazioni da 10^{-4} a 10^{-8} M, sull'attività di fagocitosi (verso *E. coli*) dei leucociti prelevati dalla cavità peritoneale di *D. labrax*, sull'attività antibatterica ad opera del lisozima sierico, sull'attività emolitica del complemento (via alternativa), sull'attività emoagglutinante del siero, del muco e della lectina di tipo F (Cammarata *et al.*, 2001) nei confronti degli eritrociti di coniglio. È stata inoltre valutata la mortalità (test trypan blue) e la vitalità (test rosso neutro) dei leucociti dopo 30 minuti di preincubazione con metilmercurio.

Risultati - I risultati del test del trypan blue ($14 \pm 2,4\%$), confermati dai test di vitalità del rosso neutro ($81 \pm 3,5\%$), indicano che il trattamento per 30 minuti con l'organometallo in concentrazioni superiori a 10^{-4} M altera significativamente la vitalità dei leucociti. In relazione a questo risultato nei successivi esperimenti sono state usate concentrazioni di metilmercurio comprese fra 10^{-4} M e 10^{-8} M, alle quali il livello di mortalità è sempre stato inferiore al 5%.

L'effetto del trattamento con metilmercurio sull'attività di fagocitosi delle cellule della cavità peritoneale risulta dose dipendente. Sebbene sia evidente già alla concentrazione di 10^{-6} M ($18,8 \pm 1,8\%$), l'effetto inibitorio sull'attività risulta statisticamente significativa alla concentrazione di 10^{-5} M ($15,5 \pm 1,6\%$; $P < 0,05$) rispetto all'attività di

fagocitosi mostrata dalle cellule non trattate ($23,4 \pm 2\%$). Alla concentrazione di 10^{-4} M l'attività fagocitica risulta essere quasi del tutto abolita ($1,43 \pm 0,4\%$); inoltre, nonostante una buona vitalità dei leucociti, a tale concentrazione di metallo la morfologia cellulare appare alterata in quanto una larga percentuale di cellule si presenta in forma tondeggiante.

L'attività emoagglutinante (HAlog_2) del siero di *D. labrax*, calcolata tramite il logaritmo del titolo agglutinante (reciproco del più alto valore di diluizione dell'effettore), non viene alterata dal trattamento con metilmercurio. Un risultato interessante, relativo alla stessa attività, si ottiene utilizzando la lectina di tipo F purificata dal siero la cui capacità di agglutinazione (HAlog_2 $7,3 \pm 1,8$) decresce alla concentrazione di 10^{-6} M e viene significativamente inibita alla concentrazione di 10^{-5} M (HAlog_2 $2,7 \pm 1,1$). Questo dato potrebbe far ipotizzare un possibile effetto "tampone" del siero. Anche l'attività agglutinante del muco (HA $7,0 \pm 1,4$) viene inibita dalla concentrazione di metilmercurio pari a 10^{-4} M (HA $5,7 \pm 0,6$). Infine, l'attività antibatterica ad opera del lisozima sierico e quella emolitica del complemento rimangono inalterate sebbene in presenza dello xenobiotico alla concentrazione di 10^{-4} M.

Conclusioni – Il lavoro dimostra come la forma organica del mercurio presente in ambiente marino a concentrazioni subletali risulti uno xenobiotico attivo in grado di modulare l'attività di fagocitosi dei leucociti di *D. labrax* in maniera dose dipendente. Sebbene l'attività agglutinante del siero non risenta della presenza del metallo, l'attività della lectina di tipo F purificata dallo stesso siero e quella del muco sono significativamente inibite. Oltre a costituire potenziali test immunotossicologici, i risultati mostrano la potenzialità dei saggi qui riportati quali strumenti utili nella valutazione dello stato di salute di specie ittiche di particolare interesse per l'acquacoltura come *D. labrax*. Questi animali, allevati in siti ristretti, risultano, infatti, essere particolarmente sensibili alla presenza di dosi subletali di xenobiotici che, dunque, possono compromettere il loro benessere.

Bibliografia

- ANDERSON D.P. (1994) - Modulation of leukocyte activity by environmental chemicals and parasites in the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Modulators of Fish Immune Responses*, 1: 111-121.
- BROUWER A., REIJNDERS P.I.H., KOEMAN J.H. (1990) - Polychlorinated biphenyl (PCB)-contaminated fish induced vitamin A and thyroid hormone deficiency in the common seal (*Phoca vitulina*). *Aquat. Toxicol.*, 15: 99-106.
- CAMMARATA M., VAZZANA M., CHINNICI C., PARRINELLO N. (2001) - A serum fucoselectin isolated and characterized from sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1528: 196-202.
- CIMA F., BALLARIN L., BRESSA G. (1998) - Triphenyltin pesticides in sea water as immunotoxins for tunicates. *Oceanographic Literature Review*, 45: 1031.
- REYNAUD S., MARIONNET D., TAYSSE L., DUCHIRON C., DESCHAUX P. (2002) - The effects of 3-methylcholanthrene on macrophage respiratory burst and biotransformation activities in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 12: 17-34.

N. BIANCHI, C. LEONZIO N. BACCETTI, P. GIOVACCHINI, S. ANCORA

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Siena, Via P.A. Mattioli, 4 – 53100 Siena, Italia.
bianchi11@unisi.it

MERCURIO E SELENIO NELLE UOVA
DI *LARUS CACHINNANS* E *LARUS AUDOUINII* (LARIDAE)
DELL'ARCIPELAGO TOSCANO E DELLA SARDEGNA

MERCURY AND SELENIUM IN EGGS
OF *LARUS CACHINNANS* AND *LARUS AUDOUINII* (LARIDAE)
FROM TUSCAN ARCHIPELAGO AND SARDINIA

Abstract – Hg and Se were detected in egg content of *Larus cachinnans* and *Larus audouinii* from Tuscan Archipelago and Sardinia. Compared to previous literature data, results obtained for samples collected during 2004-2006 were significantly lower than those of 1981-1986 indicating a negative temporal trend for Hg and Se.

Key-words: *Larus cachinnans*, *Larus audouinii*, eggs, mercury, selenium.

Introduzione - Le uova degli uccelli sono state ampiamente utilizzate nelle indagini ecotossicologiche per la valutazione della contaminazione da metalli pesanti e composti organoclorurati (Furness, 1993). Sono considerate materiale non distruttivo in quanto provocano impatto relativamente contenuto alla popolazione. Il danno è nullo nel caso di uova non schiuse e minimo se prelevate precocemente nel ciclo riproduttivo. In questo studio è stata valutata la contaminazione da Hg e Se nelle uova di alcune colonie di gabbiano reale, *Larus cachinnans* (Laridae), Pallas, 1811, e gabbiano corso, *Larus audouinii* (Laridae), Payraudeau, 1826, nelle isole dell'Arcipelago Toscano ed in Sardegna. I dati ottenuti sono stati poi comparati con quelli relativi a studi effettuati nella stessa area e sulle stesse specie nei primi anni '80 (Leonzio *et al.*, 1989; Focardi *et al.*, 1988).

Materiali e metodi – Il campionamento è stato effettuato negli anni 2004 e 2005 a Pianosa e Giannutri, per l'Arcipelago Toscano, ed a Maldiventri, S.Pietro e l'Asinara per la Sardegna. Per il gabbiano corso, specie considerata rara per il numero contenuto della popolazione italiana, sono state campionate solo uova non schiuse a fine ciclo riproduttivo (n=36); mentre per il gabbiano reale il campionamento è stato effettuato all'inizio del ciclo riproduttivo su uova fresche (n=38). In laboratorio la determinazione degli elementi in tracce è stata effettuata sul contenuto delle uova omogenato e liofilizzato. Aliquote di circa 0.1 g venivano sottoposte a digestione acida con HNO₃ e H₂O₂ in un sistema a microonde. Le determinazioni analitiche venivano effettuate mediante spettrometria atomica di assorbimento utilizzando la tecnica dei vapori freddi, per Hg (Perkin Elmer mod. FIMS 400), e della generazione degli idruri accoppiata al fornetto di grafite, per Se (Perkin Elmer mod. Zeeman 4100).

Risultati – I risultati ottenuti sono riportati in Tab. 1. In generale i livelli di Hg e Se riscontrati nelle uova di *L. cachinnans* sono significativamente più contenuti rispetto a *L. audouinii* (U=0; $p<0.01$ per Hg e U=103; $p<0.01$ per Se) che, essendo legato esclusivamente alla rete trofica marina, è maggiormente soggetto al fenomeno della biomagnificazione del Hg ed all'accumulo del Se. Per *L. audouinii*, i livelli di Se dell'Arcipelago Toscano (Tab. 1) sono significativamente più elevate rispetto a quelli delle isole della Sardegna (U=35.5; $p<0.01$) mentre per Hg non ci sono differenze significative. Le concentrazioni di Hg e Se nelle uova di *L. cachinnans*, reperite solo nell'Arcipelago Toscano, appaiono più elevate (fattore 10× per Hg e 2× per Se) rispetto ad altre aree del Mediterraneo (Sanpera *et al.*, 1997).

Tab. 1 - Concentrazioni di Hg e Se (media \pm dev.st.) espresse in $\mu\text{g/g}$ peso secco.
Hg and Se mean concentrations (\pm SD) expressed as $\mu\text{g/g}$ on dry weight basis.

		<i>Larus audouinii</i>	<i>Larus cachinnans</i>
Sardegna	Hg	5.479 \pm 2.735	-
	Se	2.678 \pm 0.799	-
Arcipelago Toscano	Hg	5.030 \pm 10893	0.828 \pm 0.461
	Se	4.510 \pm 1.361	1.873 \pm 0.586

Per l'Arcipelago Toscano, i dati ottenuti sono stati comparati con quelli relativi a studi effettuati nella stessa area e sulle stesse specie, circa venti anni prima, da Leonzio *et al.*, 1989 e Focardi *et al.*, 1988 (Fig. 1).

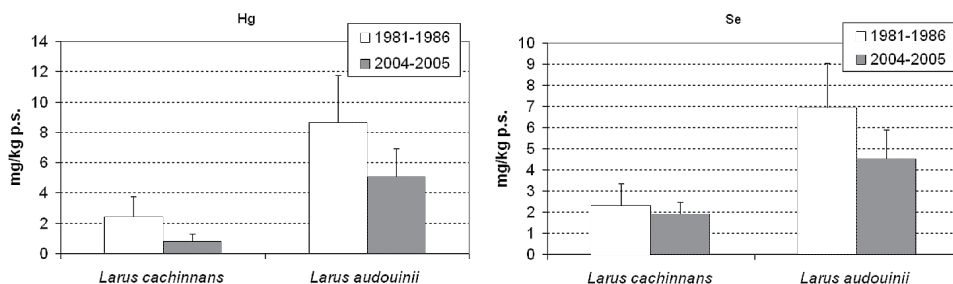


Fig. 1 - Livelli medi di Hg e Se: confronto tra il presente studio e gli studi precedenti.
Hg and Se mean levels: comparison between this study and previous studies.

I livelli di Hg e Se riscontrati nel presente studio sono risultati significativamente ($p < 0.01$) più bassi evidenziando un trend temporale negativo.

Conclusioni - I livelli di mercurio e selenio sono risultati significativamente più elevati nel gabbiano corso, specie legata esclusivamente all'ambiente marino in cui questi due elementi in traccia sono maggiormente biodisponibili. Nelle uova delle due specie, i livelli di selenio e mercurio sono risultati significativamente più contenuti rispetto a quelli riscontrati da Leonzio *et al.* (1989) e Focardi *et al.* (1988) nel periodo 1981-1986 evidenziando un trend temporale negativo.

Bibliografia

- FOCARDI S., FOSSI C., LAMBERTINI M., MASSI A. (1988) - Long term monitoring of pollutants in eggs of Yellow-Legged Herring Gull from Capraia Island (Tuscan Archipelago). *Environ. Monit. Assess.*, **10**: 43-50.
- FURNESS R.W. (1993) - Birds as monitors of pollutants. In: Furness, R.W., Greenwood, J.J.D. (eds), *Birds as Monitors of Environmental Change*. Chapman & Hall, London: 86-143.
- LEONZIO C., LAMBERTINI M., MASSI A., FOCARDI S. (1989) - An assessment of pollutants in eggs of Audouin's Gull (*Larus audouinii*), a rare species of the Mediterranean Sea. *Sci. Total Environ.*, **78**: 13-22.
- SAMPERA C., MORERA M., CRESPO S., RUIZ X., JOVER L. (1997) - Trace elements in clutches of Yellow-Legged Gulls, *Larus cachinnans*, from the Medes Islands, Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **59**: 757-762.

M. CAFFARA, M.C. ABETE*, M. PREARO*, S. GAVINELLI*, M.L. FIORAVANTI

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna,
Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia.
monica.caffara@unibo.it

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Torino, Italia.

RICERCA DI PROTOZOI ZOONISICI E METALLI PESANTI IN MOLLUSCHI BIVALVI DELL'EMILIA-ROMAGNA (ITALIA)

SURVEY ON ZOONOTIC PROTOZOANS AND HEAVY METALS IN BIVALVE MOLLUSCS IN EMILIA-ROMAGNA REGION (ITALY)

Abstract - The aim of this research was to investigate the presence and the diffusion of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia spp.* and heavy metal among the most commercially important molluscs farmed and/or caught along the coast of Emilia Romagna, in order to establish their zoonotic importance and/or their pathogenic role for consumers.

Key-words: *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, heavy metal, bivalve mollusc. Italy.

Introduzione – La capacità dei molluschi bivalvi di filtrare elevati volumi di acqua li rende in grado di accumulare microrganismi potenzialmente patogeni per l'uomo. Tra questi *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* assumono notevole interesse in relazione al loro possibile ruolo zoonosico. A tal proposito 2340 molluschi bivalvi allevati e/o pescati in Emilia-Romagna, sono stati sottoposti ad indagini parasitologiche al fine di stabilirne il possibile ruolo nella trasmissione all'uomo di questi parassiti. Di questi soggetti, 780 sono stati inoltre sottoposti alla ricerca di metalli pesanti, quali cadmio, piombo e mercurio per i quali esiste un limite massimo indicato dal Regolamento CE 1881/2006. È stata inoltre valutata anche la presenza del cromo, in quanto molto diffuso nell'ambiente e per il quale non esiste ad oggi una normativa specifica che ne sancisca i limiti.

Materiali e metodi - A partire da febbraio 2006 fino a tutto gennaio 2007, sono stati condotti campionamenti periodici di *Tapes philippinarum* nelle zone di produzione di Goro-Porto Garibaldi (provincia di Ferrara) e di *Chamelea gallina* negli areali costieri antistanti Rimini; sono stati prelevati 11 campioni (26 pool-1560 soggetti) della prima specie e 9 campioni (13 pool-780 soggetti) della seconda. Ogni pool era costituito di 60 soggetti. Da ogni esemplare sono stati raccolti: emolinfa dal muscolo adduttore laterale, branchie e ghiandole digestive. Per la ricerca di *Cryptosporidium sp.* e *Giardia sp.*, tutte le matrici sono state sottoposte a PCR, colorazione di Ziehl-Neelsen modificata e di Giemsa semplificato, mentre solo l'emolinfa concentrata con sucrose è stata sottoposta ad immunofluorescenza (IF). La ricerca dei metalli pesanti è stata eseguita su 240 soggetti di *C. gallina*, suddivisi in 4 campionamenti e 540 soggetti di *T. philippinarum*, suddivisi in 9 campionamenti distinti. I campioni sottoposti alla ricerca dei metalli pesanti sono stati raccolti tra febbraio e maggio 2006. La determinazione analitica di piombo, cadmio e cromo è stata effettuata mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica previa mineralizzazione dei campioni in microonde. I limiti di quantificazione (LOQ) del metodo sono risultati essere 0,01 ppm per il cadmio, 0,04 ppm per il piombo, 0,05 ppm, per il cromo. La ricerca del mercurio invece è stata effettuata mediante l'analizzatore diretto del mercurio (DMA80) e l'LOQ è pari a 0,07 ppm.

Risultati - Dei 39 pool di emolinfa (26 di *T. philippinarum* e 13 di *C. gallina*) sottoposti ad IF tutti sono risultati negativi. In 4 pool è stata individuata la pre-

senza di elementi riferibili a *Cryptosporidium* spp. con la colorazione di Ziehl-Neelsen modificata mentre la colorazione di Giemsa semplificato è sempre risultata negativa. La PCR condotta su tutti i 39 pool di emolinfa e relativi pool di liquido di lavaggio branchiale e ghiandola digestiva ha evidenziato solo in 5 pool di emolinfa (2 di *T. philippinarum* e 3 di *C. gallina*) la presenza di una banda di circa 400 bp. Il sequenziamento ha però permesso di confermare l'appartenenza al genere *Cryptosporidium* solo in due casi, peraltro non confermati da successive analisi. Nessuno dei 39 pool è risultato positivo per *Giardia* sp. alla PCR. Per quanto riguarda la ricerca di metalli pesanti nei campioni di *C. gallina*, il tenore medio di cadmio è risultato essere 0,014 ppm (DS 0,013), di cromo 0,40 ppm (DS 0,028) mentre di piombo 0,075 ppm (DS 0,021); in nessun campione si è rilevata la presenza di mercurio al di sopra del limite di quantificazione del metodo. Nei campioni di *T. philippinarum*, il cadmio ha presentato un livello medio pari a 0,007 ppm (DS 0,0035), il cromo di 1,26 ppm (DS 0,65) ed il piombo di 0,145 ppm (DS 0,064); per quanto riguarda il mercurio, in 1 pool si è riscontrato una concentrazione superiore all'LOQ (0,11 ppm), mentre in tutti gli altri il livello è risultato sempre al di sotto del limite di quantificazione del metodo.

Conclusioni - Sebbene i molluschi bivalvi siano stati individuati da diversi ricercatori (Fayer *et al.*, 2004; Giangaspero *et al.*, 2004) quali possibili ospiti "accumulatori" di oocisti di *Cryptosporidium* e/o di cisti di *Giardia*, e quindi prodotti ittici da porre in relazione ad infezioni umane sostenute da questi agenti, i risultati di questa indagine non hanno consentito di confermare un loro ruolo rilevante nella epidemiologia di queste infezioni zoonosiche negli ambienti in studio. In tutti i campioni esaminati non sono mai stati superati i limiti di cadmio, piombo e mercurio previsti dalla normativa cogente (rispettivamente 1 ppm, 1,5 ppm e 0,5 ppm): pertanto i molluschi in oggetto possono essere considerati sicuri per il consumatore. Tuttavia la presenza costante di cromo nelle due specie, starebbe ad indicare come tale elemento sia costantemente presente nell'ambiente acquatico, per cui sarebbe interessante verificare la sua presenza anche nelle acque e in altri organismi acquatici per poter valutare l'effettivo impatto sulla catena trofica. Inoltre sarebbe utile approfondire l'origine dell'inquinamento da cromo, nonché la forma chimica (organica o inorganica) di questo elemento per poter definire la reale tossicità. Da questi dati preliminari appare come le due specie e le relative zone di prelievo presentino un livello di contaminazione diverso, seppur a livelli non preoccupanti. Resta da valutare se il diverso grado di contaminazione debba essere imputabile esclusivamente al sito di prelievo e al grado di contaminazione diverso o dipenda anche dalla specie. Questo tipo di monitoraggio appare quanto mai utile per poter definire il grado di contaminazione ambientale presente oltre a valutare l'edibilità di questi molluschi. Risulta pertanto opportuno intensificare questi tipi di monitoraggio per poter definire sia il grado di contaminazione ambientale sia il rischio nell'ambito della sicurezza alimentare.

Bibliografia

- FAYER R., DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (2004) - Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends Parasitol.*, **11**: 531-536.
- GIANGASPERO A., MOLINI U., TRAVERSA D., IORIO R., CESCHIA G. (2004) - *Giardia* and *Cryptosporidium* in seawater clams (*Chamelea gallina* and *Ruditapes philippinarum*) of the Adriatic coast of central and northern Italy. *Parassitologia*, **46**: 153.

M. CELI, M. VAZZANA, M.L. DI BELLA, V. ARIZZA, N. PARRINELLO

Laboratorio di Immunobiologia Marina, Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo,
Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
vazmir@unipa.it

EFFETTI DEL CADMIO SULL'ESPRESSIONE DELLE HSP70
NELLE CELLULE DEL SANGUE DI SPIGOLA
(*DICENTRARCHUS LABRAX* L., OSTEICHTHYES, MORONIDAE)

EFFECTS OF CADMIUM ON EXPRESSION OF THE HSP70
IN SEA BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX* L.,
OSTEICHTHYES, MORONIDAE) BLOOD CELLS

Abstract - Blood cells freshly collected from sea bass (*Dicentrarchus labrax*) were exposed *in vitro* to different concentrations of cadmium 10^7 M, 10^5 M, 10^3 M. Hsp70 stress proteins were significantly overexpressed after exposure to metal. Our results show that fish blood cells may constitute an interesting biological model for experimental and applied toxicology, especially in the case of environmental pollution.

Key-words: fish blood cells, stress proteins, Cadmium.

Introduzione - Le proteine da stress più ampiamente studiate sono le heat shock proteins (hsp), tra cui le hsp70 sono utilizzate come indicatori molecolari (Ryan e Hightower, 1996). In diverse specie di pesci sono stati condotti studi sull'andamento delle proteine da stress in risposta a vari agenti stressanti; (Basu *et al.*, 2002; Iwama *et al.*, 1998). La misurazione dei livelli di espressione delle hsp da parte delle cellule del sangue risulta interessante nelle analisi tossicologiche. Nel presente studio le cellule del sangue di spigola sono state esposte *in vitro* a differenti concentrazioni di CdCl_2 ed è stato dimostrato che l'espressione delle hsp70 è dose e tempo dipendente.

Materiali e metodi - I Campioni di sangue sono stati raccolti per puntura cardiaca da spigole del peso di 200-250 g, provenienti dall'impianto intensivo "ECO Ittica" di Marsala. Le cellule del sangue ($20 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$) sono state trattate con concentrazioni differenti di CdCl_2 (10^{-7} M, 10^{-5} M, 10^{-3} M) per 2 e 24 ore. Aumentando le ore fino a 72 è stata introdotta un'ulteriore concentrazione di CdCl_2 (10^{-8} M), che è quella presente in natura. Dopo lisi delle cellule il contenuto proteico totale è stato determinato con il metodo Bradford. I pattern proteici dei campioni sono stati ottenuti in elettroforesi su gel di poliaccrilammide in presenza di sodio dodecil solfato (SDS-PAGE) ed esaminati in western blot utilizzando un antisiero monoclonale specifico per hsp70. L'analisi densitometrica dei pesi molecolari è stata condotta con il software AlphaEaseFC in triplicato.

Risultati - Dall'analisi densitometrica dell'hsp70 osservata in western blot si trovano variazioni significative tra il controllo e i campioni di sangue trattati con concentrazioni differenti di CdCl_2 (10^{-7} M, 10^{-5} M, 10^{-3} M). La densità aumenta in maniera dose dipendente sia alle 2 che alle 24 ore (Fig. 1 a,b). L'incremento è significativo dopo 48 ore di trattamento con 10^{-7} M di CdCl_2 , diminuisce proporzionalmente a 10^{-5} e 10^{-3} . Lo stesso andamento si può osservare alle 72 ore, ma alla concentrazione 10^{-3} M la banda non è più visibile (Fig. 1 c,d). Tale decremento potrebbe essere attribuito ad un rapido e diretto effetto negativo dei metalli nei meccanismi di sintesi proteica (Fulladosa *et al.*, 2006).

Conclusioni - Lo studio degli effetti di xenobiotici sulle cellule dell'immunità innata, oltre a fornire informazioni sulle condizioni di resistenza immunitaria dei pesci,

potrebbe portare alla messa a punto di metodi per la identificazione di bioindicatori a livello cellulare. Le proteine appartenenti alla famiglia delle heat shock proteins sono presenti costitutivamente nelle cellule e possono essere indotte in presenza di un agente stressante promuovendo un meccanismo omeostatico citoprotettivo. I risultati mostrano che l'espressione delle hsp70 è dose e tempo dipendente in relazione al cloruro di cadmio e suggeriscono che la hsp 70 può essere utilizzata come biomarker per monitorare il benessere dei pesci sottoposti a situazioni stressanti.

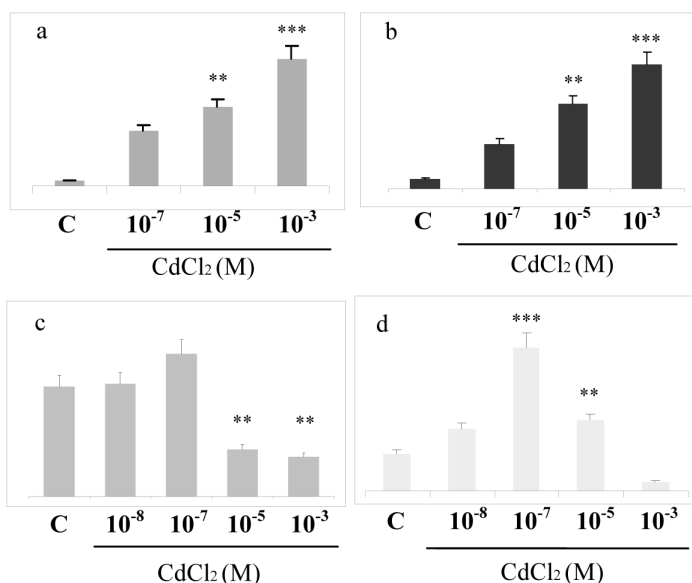


Fig. 1 - Analisi densitometrica del WB di hsp70 in cellule del sangue di *D. labrax* dopo 2 (a), 24 (b), 48 (c) e 72 (d) ore di trattamento con diverse concentrazioni di CdCl₂. I valori sono la media \pm SD di tre esperimenti separati. Significatività rispetto ai controlli: **P<0.01, ***P<0.001.

Densitometric analysis of hsp70 WB pattern in *D. labrax* blood cells after 2 (a), 24 (b), 48 (c) and 72 (d) of treatment with various CdCl₂ concentrations. Values are the mean \pm SD from three separate experiments. Significativity compared to controls: **P<0.01, ***P<0.001.

Bibliografia

- BASU N., TODGHAM A.E., ACKERMAN P.A., BIBEAU M.R., NAKANO K., SCHULTE P.M. AND IWAMA G.K. (2002) - Heat shock protein genes and their functional significance in fish, *Gene*, **295**: 173–183. Summary Plus.
- CURIE S., TUFTS B.L. (1997). - Synthesis of stress protein 70 (Hsp70) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) red blood cells. *J. Exp. Biol.*, **200**: 607-614.
- FULLADOSA E., DEANE E., NG A.H.Y., WOO N.Y.S., MURAT J.C., VILLAESCUSA I. (2006) - Stress proteins induced by exposure to sublethal levels of heavy metals in sea bream (*Sparus sarba*) blood cells. *Toxicol. in vitro*, **20**: 96-100.
- IWAMA G.K., THOMAS P.T., FORSYTHE R.B., VIJAYAN M.M. (1998) - Heat shock protein expression in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, **8**: 35–56.
- RYAN J.A., HIGHTOWER L.E. (1996) - Stress proteins as molecular biomarkers for environmental toxicology. In: U. Feige, R.I. Morimoto, I. Yahara and B. Polla (eds), *Stress Inducible Cellular Responses*. Switzerland: 411–424.

V. COLLEVECCHIO, B. SABELLI, R. GATTELLI¹, L. MOLA², D. MINELLI

Department of Experimental Evolutionary Biology, University of Bologna, Via Selmi, 3 - 40126 Bologna, Italy.
daniela.minelli@unibo.it

¹Aquae Mundi, Scientific didactic centre, Via Mozambico, 5 - 48026 Russi (RA), Italy.

²Department of Animal Biology, University of Modena-Reggio Emilia, Via Campi, 213/D - 41100 Modena, Italy.

DISTRIBUTION OF CALBINDIN D-28K IN THE HABENULAR NUCLEI OF THE DEEP SEA EEL *SYNAPHOBRANCHUS KAUPII* (OSTEICHTHYES, ANGUILLIFORMES)

DISTRIBUZIONE DELLA CALBINDINA D-28K NEI NUCLEI ABENULARI DELL'ANGUILLA DI PROFONDITÀ SYNAPHOBRANCHUS KAUPII (OSTEICHTHYES, ANGUILLIFORMES)

Abstract – We investigated the presence of Calbindin D28k a calcium-binding protein in the deep sea eel *Synphobranchus kaupii* (Osteichthyes, Anguilliformes). We have found strong immunoreactivity in the dendrites and axons of neurons located in the diencephalon especially in the habenular nuclei. Only a minor immunoreactivity could be detected in other brain areas

Key-words: Calbindin D-28k, Habenular nuclei, *Synphobranchus kaupii*.

Introduction - Calbindin D28k is a calcium-binding protein, which protects neurons against apoptotic cell death; the generally accepted explanation of this protection is that Calbindin D28k acts as a calcium buffer that prevents the cell from toxic calcium levels. The protein is also of importance for motor coordination. This protein appears to be a useful marker to study the habenulo-interpeduncular system. In the habenular ganglion, immunopositive cells have been observed in fishes (Maler *et al.*, 1981b). Previous studies have been done in the brain of the cartilaginous fish *Scyliorhinus canicola* using immunohistochemical techniques: the distribution of calbindin-D28K in the dogfish brain appears to be mainly related to the viscerosensory centres, and is very asymmetric in the habenular nuclei (Rodriguez-Moldes *et al.*, 1990).

Materials and methods – After sacrifice by decapitation, brains of *Synphobranchus kaupii* were removed, fixed in 4% paraformaldehyde in phosphate buffer saline (PBS), and postfixed in the same solution between 12 hours and 5 days. The brains were then cryoprotected with 30% sucrose, embedded in a medium for cryostat sectioning (OCT Compound, Tissue-Tek) and frozen with liquid-nitrogen-cooled isopentane. Serial transverse sections 20 micron thick were cut on a cryostat and mounted on gelatin-coated slides. Cryosections were sequentially rinsed once in PBS pH 7.4 and preincubated with normal goat serum (NGS, Sigma) in 0,3% Triton. The sections were then incubated with a monoclonal anti-Calbindin 28kD antibody (Sigma, dilution 1:2000) for 12 hours at 4 °C. After PBS washes, sections were incubated for 2 hours with goat antimouse serum (Sigma, 1:1000), rinsed in PBS and treated with either mouse peroxidase-antiperoxidase (PAP) complex (Sigma, 2416; dilution 1:500) or Rabbit PAP complex (Sigma, P1291; dilution 1:100) for 1 hour. Control sections in which the primary antibody was omitted showed no staining, confirming specificity.

Results and conclusions – In the diencephalon of *Synphobranchus kaupii* we have found strong immunoreactivity in the dendrites and axons of neurons located in the nucleus interstitialis commissurae anterioris, the nucleus medialis (especially in the left habenula), the thalamus dorsalis, the thalamus ventralis and the nucleus lobi lateralis.

Fibre tracts associated with some of these neuronal groups, such as the fasciculus

retroflexus, the stria medullaris and the commissura habenulae, also contained immunopositive fibres. Only a minor immunoreactivity could be detected in other brain areas such as the tectum mesencephali and some telencephalic zones.

This analysis shows that there may be a difference in the neuronal activity between the two habenular ganglia also in teleosts.

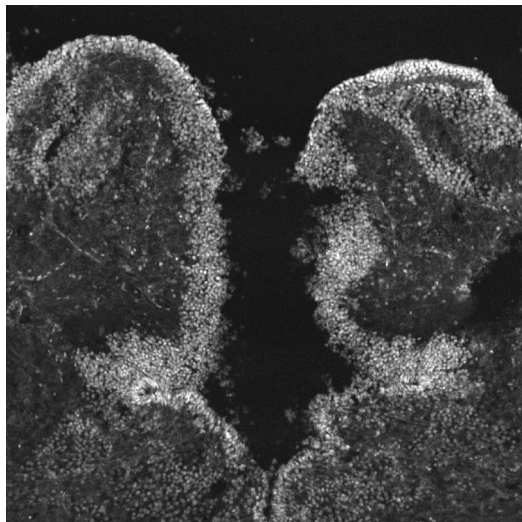


Fig. 1 - Cross section of the habenulae in *Synnaphobranchius kaupii* showing CaBP28k-positive neurons and fibres in the habenular nuclei.

Sezione trasversale delle abenule di Synnaphobranchius kaupii che mostra neuroni e fibre positive alla CalbindinaD28k nei nuclei abenulari.

References

- HARRIS J.A., GUGLIELMOTTI V., BENTIVOGLIO M. (1996) – Diencephalic asymmetry. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **20** (4): 637-643.
- MALER L., SAS E., JOHNSTON S., ELLIS W. (1991) – An atlas of the brain of the electric fish *Apteronotus leptorhynchus*. *Journal of Chemistry and Neuroanatomy*, **4**: 1-38.
- RODRIGUEZ-MOLDES I., TIMMERMANS J.P., ADRIAENSEN D., DE GROODT-LASSEEL M.H., SCHEUERMAN D.W., ANADON R. (1990) – Asymmetric distribution of calbindin D28k in the ganglia habenulae of an Elasmobranch fish. *Anatomy and Embriology*, **181** (4): 389-391.
- RODRIGUEZ-MOLDES I., TIMMERMANS J.P., ADRIAENSEN D., DE GROODT-LASSEEL M.H., SCHEUERMAN D.W., ANADON R. (1990) - Immunohistochemical localization of calbindin-D28k in the brain of a cartilaginous fish, the dogfish *Scyliorhinus canicula* L. *Acta Anat.*, **137** (4): 293- 302.

A.M. DE BIASI, L. PACCIARDI, G. FABI*

Centro interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata 'G. Bacci',
Viale N. Sauro, 4 – 57128 Livorno, Italia.
a.debiasi@cibm.it

*CNR-ISMAR Sede di Ancona, Largo Fiera della Pesca - 60125 Ancona, Italia.

EFFETTI DI ALCUNE VARIABILI NOMINALI SUI METALLI PESANTI DI OTTO PIATTAFORME ESTRATTIVE NEL MAR ADRIATICO

EFFECTS OF SOME NOMINAL VARIABLES ON HEAVY METALS IN THE SURROUNDINGS OF EIGHT GAS PLATFORMS IN THE ADRIATIC SEA

Abstract – *Some heavy metals in sediments surrounding eight gas-drilling platforms were investigated. The possible effects of four nominal factors (distance from the platform, latitude, distance from the mainland, grain size) on heavy metal concentrations were evaluated.*

Key-words: *heavy metals, environmental impact assessment, environmental monitoring, gas-drilling platforms, Adriatic Sea.*

Introduzione – Il mar Adriatico ospita circa 90 piattaforme di estrazione di idrocarburi gassosi. I lavori mirati alla valutazione del loro impatto sull'ambiente circostante sono tuttora puntiformi e, salvo rare eccezioni, hanno come oggetto lo studio degli effetti di un'unica struttura. Nel presente studio sono state considerate otto piattaforme distribuite lungo 200 km di costa adriatica da Porto Garibaldi (Fe) ad Ancona ponendo l'attenzione su alcuni metalli pesanti al fine di formulare ipotesi su eventuali effetti di quattro fattori (distanza dalla piattaforma, distanza da costa, tessitura del sedimento, gradiente latitudinale) sulle loro variazioni spaziali e temporali. Questo studio descrittivo è propedeutico alla pianificazione di disegni di campionamento per valutazioni quantitative degli effetti di questi fattori.

Materiali e metodi – I sedimenti (0-2 cm) sono stati campionati mediante box corer (20×10 cm) in stazioni distribuite lungo transetti a distanza crescente dalla struttura estrattiva come descritto in De Biasi *et al.* (2006) per le piattaforme Regina, Annalisa e Anemone e in De Biasi *et al.* (in press) per Calipso, Barbara, Naomi e Calpurnia. Il disegno di campionamento di Porto Corsini Mare Sud 1 è analogo a Regina ma, trattandosi di una piattaforma monopalo, è stato campionato solo un transetto disposto lungo la corrente principale (NW→SE). Nello studio sono stati considerati i seguenti metalli Zn, Ba, Cd, Ni, Pb, Cr generalmente presenti nei fanghi di perforazione. I grafici di Trellis sono stati usati per investigare gli andamenti temporali di questi contaminanti rispetto ad altre variabili. Come variabili condizionanti sono state scelte: distanza dalla piattaforma, distanza dalla costa, tessitura del sedimento, gradiente latitudinale. Sono state prese in considerazione le seguenti distanze dalla struttura: 0 m, 30 m, 60 m, 120 m, 250 m e 1000 m. La distanza dalla costa è stata inquadrata in tre categorie: piattaforme costiere (distanza <20 km da costa), piattaforme intermedie (distanza compresa tra 21 e 40 km), piattaforme distanti dalla costa (distanza >40 km). La tessitura del sedimento è stata divisa in 4 categorie: sedimenti siltosi (silt >70%); sedimenti sabbiosi (sabbia >70%); sedimenti silt-argillosi (50% silt e 50% argilla) e loam (percentuali paragonabili delle tre frazioni). Per il gradiente latitudinale sono state distinte: piattaforme di fronte a Ferrara-Ravenna (categoria 1), piattaforme di fronte a Cattolica-Rimini (categoria 2), piattaforme di fronte ad Ancona

(categoria 3). I campionamenti sono stati effettuati dal termine delle attività di perforazione (TAP) individuando 6 categorie temporali: categoria 1 (0-6 mesi da TAP); categoria 2 (7-12 mesi da TAP); categoria 3 (13-19 mesi da TAP); categoria 4 (20-26 mesi da TAP); categoria 5 (27-32 mesi da TAP); categoria 6 (33-39 mesi da TAP).

Risultati - Zn: questo metallo mostra un trend temporale decrescente sotto la struttura (0 m) e a 30 m e 60 m da essa in particolare nei sedimenti fini (silt e silt argillosi). Risposte più eterogenee allo zinco sono state osservate nelle piattaforme a nord di Ancona in particolare nel primo anno di monitoraggio. All'aumentare della distanza da costa gli effetti dello zinco tendono a ridursi.

Ba: l'effetto del bario si rileva fino a 120 m dalla piattaforma fino a 19 mesi dal termine delle attività di perforazione. Gli effetti si rilevano prevalentemente per sabbie e silt, ma mentre nel primo caso essi tendono a scomparire nel tempo, nei silt tendono ad aumentare almeno nei primi 19 mesi. Anomalie positive sono più evidenti nelle piattaforme costiere e in quelle di fronte a Cattolica-Rimini.

Cd: un evidente trend temporale decrescente è stato osservato entro i 60 m dalla piattaforma e nei sedimenti a dominanza sabbiosa. Modeste anomalie possono permanere anche a 120 m dalla struttura durante il primo anno di monitoraggio. Le anomalie più marcate sono state osservate nelle piattaforme da Rimini ad Ancona nei primi 19 mesi. Gli effetti del cadmio sono stati evidenziati indipendentemente dalla distanza da costa.

Pb: è stata evidenziata una elevata variabilità nella risposta, tuttavia gli effetti risultano amplificati sotto la piattaforma (0 m) nei primi 19 mesi e tendono a regredire nel tempo. Rispetto agli altri fattori considerati non emergono pattern definiti nonostante la diffusa presenza di anomalie positive.

Cr e Ni: non sono stati rilevati andamenti spaziali o temporali relazionabili ai fattori considerati. Le anomalie sono limitate a picchi occasionali.

Conclusioni - L'analisi condotta consente di affermare che le piattaforme influenzano le concentrazioni di Ba, Zn, Cd nei sedimenti. Gli effetti dipendono dal fattore distanza dalla piattaforma, fatto che giustifica l'uso di disegni di campionamento secondo la logica del gradient analysis design (Ellis e Schneider, 1997) utile per studiare sorgenti di impatto puntiformi. Gli effetti sono maggiori nei 19 mesi che seguono il termine delle attività di perforazione, ad indicare che le attività estrattive hanno scarsa influenza sulle concentrazioni di questi metalli. Tra i fattori considerati la distanza dalla costa e la latitudine influiscono differenzialmente sui metalli considerati. Questi risultati costituiscono un'utile base per pianificare disegni di campionamento ad hoc mirati alla valutazione quantitativa del ruolo delle variabili indicate.

Bibliografia

- ELLIS J.I., SCHNEIDER D.C. (1997) – Evaluation of a gradient sampling design for environmental impact assessment. *Environ. Monit. Ass.*, **48**: 157-172.
- DE BIASI A.M., FABI G., PACCIARDI L., GAI F., FERRARI S., PULETTI M., DE RANIERI S., (2006) - Monitoraggio di una piattaforma di estrazione nel Mar Adriatico settentrionale: metalli pesanti. *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem.*, Serie B, **113**: 83-89.
- DE BIASI A.M., FABI G., PACCIARDI L., PULETTI M. (in press) - Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons near an off-shore gas-platform (Adriatic Sea): a 3-year monitoring study. *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem.*, Serie B, **114**.

C.R. FERRARI, P. SANTINI, P. MARTINI, M. BENZI, E. ARDESI, S. TARLAZZI

ARPAER Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente Emilia – Romagna Struttura Oceanografica Daphne,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
cferrari@arpa.emr.it

CARATTERIZZAZIONE CHIMICO FISICA DEI SEDIMENTI DEL LITORALE EMILIANO ROMAGNOLO AI FINI DI UNA LORO CORRETTA GESTIONE

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SEDIMENTS ALONG EMILIA-ROMAGNA: AN EXAMPLE OF CORRECT MANAGEMENT

Abstract – Here we report about the results of a wide investigation that was conducted on sediments collected along the Emilia Romagna coast. We carried out chemical (PAH, PCB, Pesticides organochloride, heavy metals) ecotoxicological analyses. On the basis of their geochemical and ecotoxicological features, we were able to identify specific reference values “LCBLoc” for heavy metals at traces level. The application of specific technical and scientific criteria for sediments characterization is reported as an example of correct management.

Key-words: Adriatic Coastal Sea, characterization, contaminant, dradge, ecotoxic quality sediment.

Introduzione – La classificazione del materiale da movimentare è premessa indispensabile alla realizzazione del dragaggio in condizioni di sicurezza per l’ambiente e per la salute dell’uomo ed è strategica per l’individuazione delle opzioni di gestione ambientalmente compatibili. Oggi il sedimento è considerato sicuramente una risorsa da recuperare non solo per le attività di ripascimento, ma anche per ulteriori usi sul territorio. Una delle più importanti finalità della caratterizzazione chimico fisica dei sedimenti, è la definizione del “Livello Chimico di Base Locale” (LCBLoc) dei microinquinanti inorganici. Gli LCBLoc forniscono un quadro più attendibile sul grado di contaminazione antropica dei sedimenti.

Materiali e metodi – Sulla base di conoscenze chimico-fisiche e idromorfologiche (struttura morfologica, idrodinamismo, trasporto solido litoraneo, granulometria, ecc..) del litorale emiliano-romagnolo è stato predisposto il programma di campionamento e di analisi dei sedimenti (ARPAER Regione Emilia-Romagna - Rapporto Annuale eutrofizzazione, 1990-2006). Nel periodo ottobre-dicembre 2006 su 40 transesti ortogonali alla linea di costa, sono state monitorate complessivamente 95 stazioni a quote batimetriche diverse (0, -1, -3 e -5 metri). I parametri ricercati (granulometria, microinquinanti inorganici ed organici) e le metodologie applicate sono quelli riportati nel “Manuale per la movimentazione di sedimenti marini” (Pellegrini, 2002 e Onorati *et al.*, 2007). Al fine di determinare il reale rischio ambientale, sono state eseguite indagini ecotossicologiche utilizzando 3 specie test: *Vibrio fisheri*, *Paracentrotus lividus* e *Acartia tonsa*.

Risultati – L’analisi dei risultati ottenuti dall’attività di caratterizzazione chimico-fisica ed ecotossicologica dei sedimenti della costa emiliano-romagnola ha evidenziato una sostanziale similitudine nelle caratteristiche chimico-fisiche dei sedimenti indagati, con pochi fattori discriminanti non dovuti ai contaminanti rilevati. Nella parte più settentrionale della costa, in prossimità del delta del Po, i valori assumono dimensioni maggiori a causa degli apporti di origine padana. Indagini effettuate utilizzando la tecnica analitica di fluorescenza a raggi X hanno permesso di evidenziare arricchimenti naturali importanti per il Cromo e per il Nichel. I LCBLoc per i metalli relativi alla

costa emiliano-romagnola sono riportati in Tab. 1; i valori sono stati definiti applicando ed integrando criteri tecnico scientifici desunti da Onorati (2007). Si riporta a titolo esemplificativo la metodologia utilizzata per la definizione del LCBLoc per i microinquinanti inorganici. La funzione di regressione lineare fra % di pelite e concentrazione dell'elemento è stata costruita utilizzando i dati delle sole stazioni che risultano negative ai test ecotossicologici. Quando la correlazione è significativa ($p < 0.05$) il valore assunto LCBLoc è il limite superiore di confidenza al 95% del punto individuato sulla retta di regressione in corrispondenza del valore estremo superiore dell'intervallo di % di pelite considerato. Se, al contrario, la correlazione non è significativa, il valore di concentrazione assunto come LCBLoc è il valore medio delle concentrazioni dell'elemento considerato maggiorato di 2 volte la Dev. Std.

Gli LCBLoc hanno consentito di classificare i sedimenti del litorale emiliano-romagnolo integrando le informazioni chimico-fisiche ed ecotossicologiche.

Tab. 1 - LCBLoc dei metalli pesanti relativi alla costa emiliano-romagnola.

LCBLoc of heavy metals relating to Emilia-Romagna coast.

Metalli	mg/kg s.s.
As	14.2
Cd	0.16
Cr	88 (Zona Centro-Sud) 186.4 (Zona nord)
Cu	18.5
Hg	0.15
Ni	51 (Zona Centro-Sud) 101.6 (Zona Nord)
Pb	19.0
Zn	80

Conclusioni – Vengono presentati i risultati della caratterizzazione dei sedimenti e i Livelli Chimici di Base Locali dei metalli definiti per il litorale emiliano-romagnolo. Si tratta della prima esperienza effettuata a livello nazionale su un tratto di costa così ampio. La determinazione delle caratteristiche fisiche, chimiche, microbiologiche ed ecotossicologiche dei sedimenti del litorale della regione Emilia-Romagna, permette di verificare la compatibilità con i materiali dragati e fornisce un quadro di riferimento agli Enti preposti per il rilascio di pareri per la movimentazione di materiale nelle aree litoranee.

Bibliografia

- ARPAER REGIONE EMILIA-ROMAGNA - Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna, Rapporti annuali 1982-2006. A cura di: Arpa Struttura Oceanografica Daphne.
- ONORATI F., PELLEGRINI F., CORSINI F., DE ANGELIS P., AVANCINI M. (2007) – Manuale per la movimentazione di sedimenti marini. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. ICRAM, APAT 2007.
- PELLEGRINI D., ONORATI F., VIRNO LAMBERTI C., MERICO G., GABELLINI M., AUSILI A. (2002) – Aspetti tecnico-scientifici per la salvaguardia ambientale nelle attività di movimentazione dei fondali marini: Dragaggi Portuali. ICRAM 2002.

F.T. GIARAMITA, A. VIZZINI, D. PARRINELLO, V. MANSUETO, G. SALERNO V. ARIZZA

Laboratorio di Immunobiologia Marina, Dipartimento di Biologia Animale, Università di Palermo,
Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.
arizza@unipa.it

EFFETTI DEL CADMIO SULLE ATTIVITÀ CELLULARI DELL'ECHINODERMA *PARACENTROTUS LIVIDUS* (ECHINOIDEA)

EFFECT OF EXPOSURE CADMIUM ON THE ECHINODERM PARACENTROTUS LIVIDUS (ECHINOIDEA)

Abstract – Cadmium is a heavy metal potentially toxic that has a wide application on industry. In this paper was examined the impact of exposure of cadmium at immunological levels of the echinoderm *Paracentrotus lividus*. We have also investigated on the expression of the metallothionein in coelomocytes. Phagocytosis and uptake of neutral red were inhibited significantly in a manner dose-depending.

Key-words: Cadmium, phagocytosis, *Paracentrotus lividus*, coelomocytes.

Introduzione – L'inquinamento chimico dei corsi d'acqua è uno dei problemi ambientali più critici. Il cadmio trova largo uso nelle industrie e come tutti i metalli pesanti tende ad accumularsi nei tessuti degli organismi determinando effetti tossici e persino la morte. I metalli esercitano effetti tossici sugli organismi se entrano a far parte di reazioni biochimiche in cui non sono normalmente coinvolti. Inoltre gli effetti sono correlati al tempo di esposizione. Truscott e White (1990) hanno trovato che il cadmio causa inibizione dell'attività di fagocitosi degli emociti del crostaceo *Carcinus maens*. Gli organismi acquatici presentano strategie di disintossicazione per neutralizzare concentrazioni troppo elevate di metalli pesanti attraverso le metallothioneine, che costituiscono un valido biomarker da utilizzare nelle attività di monitoraggio (Viarengo *et al.*, 1997; Domouhtsidou *et al.*, 2004).

Materiali e metodi - Test *in vivo*: 48 esemplari sono stati posti in vasche contenenti acqua di mare artificiale (ASW) con CdCl₂ (0, 100, 200 e 400 ppb) e i celomociti prelevati dopo 6-12-24-72 h. Test *in vitro*: i celomociti sono stati incubati per 1 h a 18 °C con CdCl₂ (0-50-100-200 ppb) in soluzione marina (MS). In accordo con Cammarata e Arizza (1994) sono stati eseguiti saggi di fagocitosi: 200 µl di sospensioni celomocitarie (6×10⁵ ml⁻¹) sono state miscelate con 100 µl di sospensione di lieviti (0.125%) e incubate in tubi da test di plastica da 1.5 ml per 90 min a 20 °C. e contati al microscopio. I test di vitalità del neutral red sono stati eseguiti secondo Borenfreund and Puerner (1984). Per l'ibridazione *in situ* è stata usata una sonda ad RNA per la metallothioneina di *Paracentrotus lividus* (a. n. AJ310190).

Risultati – Negli esperimenti controllo, condotti in assenza di cadmio, i celomociti sono in grado di fagocitare le cellule di lievito, mentre si ha un significativo decremento dell'attività fagocitica in presenza di cadmio, sia nei test *in vitro* (Fig. 1a) che *in vivo* (Fig. 1b). Lo stesso andamento si nota nell'analisi dell'uptake del rosso neutro (dati non mostrati). I saggi di ibridazione *in situ* hanno rilevato l'espressione del mRNA per la metallothioneina, nel citoplasma dei celomociti di *P. lividus*, in particolare negli sferulociti non colorati, mostrando un incremento del messaggero negli esemplari esposti *in vivo* al cadmio (400 ppb) per 24 h (dati non mostrati).

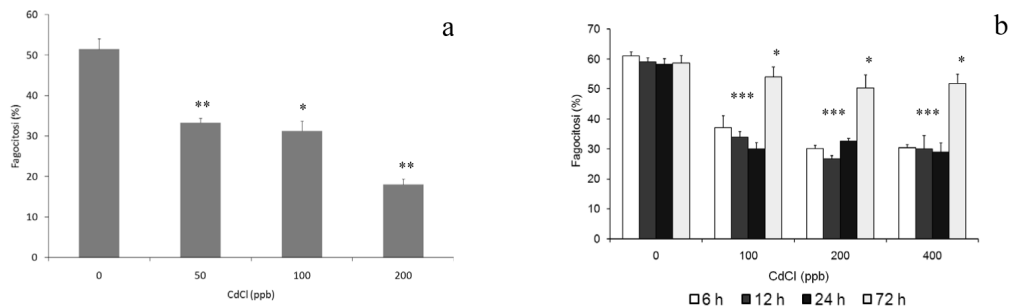


Fig. 1 - a) Attività di fagocitosi dei celomociti di *P. lividus* esposti al cadmio. Test *in vitro*. I valori sono la media \pm SD di tre esperimenti separati. Significatività rispetto ai controlli, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$. b) Attività di fagocitosi dei celomociti di *P. lividus* esposti al cadmio per 6, 12, 24 e 72 h e alle tre concentrazioni dell'esperimento. Test *in vivo*. I valori sono la media \pm SD di tre esperimenti separati. Significatività rispetto ai controlli: * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$.

a) Phagocytosis activity of *P. lividus* coelomocytes exposed to cadmium. Test *in vitro*. Values are the mean \pm SD from three separate experiments. Significance compared to controls, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$. b) Phagocytosis activity of *P. lividus* coelomocytes exposed to cadmium for 6, 12, 24 e 72 h. Test *in vivo*. Values are the mean \pm SD from three separate experiments. Significance compared to controls: * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$.

Conclusioni - Gli esemplari di *P. lividus* esposti al cadmio risentirebbero degli effetti da stress da metalli pesanti. L'andamento dei risultati *in vivo* e *in vitro* è simile. È evidente una notevole riduzione della percentuale di fagocitosi in maniera dose e tempo dipendente. Anche le attività metaboliche sono compromesse, le cellule mostrano, infatti, una ridotta capacità ad assorbire il rosso neutro, indicando una conseguente scarsa attività metabolica (Weeks *et al.*, 1987). Già dopo appena 6 ore sia l'attività metabolica sia la fagocitosi subiscono una notevole riduzione. A 24 h si registra la massima inibizione delle attività prese in esame. Infine la presenza di messaggeri per la metallothioneina, evidenziato con l'ibridazione *in situ* degli sferulociti non colorati potrebbe indicare come gli organismi esposti attivino dei processi di detossificazione utilizzando la metallothioneina.

Bibliografia

- BORENFREUND E., PUERNER J.A. (1984) - A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). *J. Tissue Cult. Methods*, **9**: 7-9.
- CAMMARATA M., ARIZZA V. (1994) - Methods for phagocytosis fluorescence quenching *in vitro* assay for hemocytes in tunicates. *Anim. Biol.*, **3**: 173-174.
- DOMOUHTSIDOU G.P., DAILIANISA S., KALOYIANNI M., DIMITRIADIS V.K. (2004) - Lysosomal membrane stability and metallothionein content in *Mytilus galloprovincialis* (L.), as biomarkers Combination with trace metal concentrations *Marine Pollution Bulletin*, **48**: 572-586.
- TRUSCOTT R., WHITE K.N. (1990) - The influence of metal and temperature stress on the immune system of crabs. *Functional Ecol.*, **4**: 455-461.
- VIARENGO A., PONZANO E., DONDERO F., FABBRI R. (1997) - A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*, **44**: 69-84.
- WEEKS B.A., KEISLER A.S., MYRVIK Q.N., WARINNER E. (1987) - Differential uptake of Neutral Red by macrophages from three species of estuarine fish. *Developmental and Comparative Immunology*, **11**: 117-124.

L. LOCATELLO, F. RICCIARDI, V. MATOZZO, M.G. MARIN

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Ugo Bassi, 58/B – 35131 Padova, Italia.
mgmar@bio.unipd.it

CARCINUS AESTUARI (CRUSTACEA: DECAPODA)
COME ORGANISMO SENTINELLA
NEL BIOMONITORAGGIO DELLA LAGUNA DI VENEZIA

CARCINUS AESTUARI (CRUSTACEA: DECAPODA)
AS SENTINEL ORGANISM
IN BIOMONITORING OF THE LAGOON OF VENICE

Abstract – A multibiomarker approach was applied in biomonitoring the Lagoon of Venice using the crab *Carcinus aestuarii*. Three biochemical responses were evaluated: vitellogenin-like protein induction, acetylcholinesterase and ethoxyresorufin-o-deethylase (EROD) activities. Although different responses have been obtained depending on the specificity of the biomarker, the results suggest a general homogeneity in contamination level among sites.

Key-words: vitellogenin, acetylcholinesterase activity, EROD activity, *Carcinus aestuarii*, Lagoon of Venice.

Introduzione – Il decapode *Carcinus aestuarii*, diffuso in ambienti costieri ed estuari, può rappresentare un valido bioindicatore, grazie alle sue caratteristiche fisiologiche e comportamentali che determinano condizioni peculiari di esposizione e risposta ai contaminanti ambientali. La misura di diversi biomarker nelle specie sentinella è ritenuta un approccio particolarmente negli studi di biomonitoraggio. L'induzione di proteine vitellogenina-like (Vg), precursori delle componenti proteiche del tuorlo dell'uovo, è considerata un indicatore di esposizione a xenoestrogeni. L'inibizione dell'attività dell'acetilcolinesterasi (AChE) è riconducibile ad esposizione a composti neurotossici. L'attività dell'etossiresorufina-O-dietilasi (EROD) viene indotta da contaminanti organici, prevalentemente da composti planari.

Materiali e metodi – Esemplari di sesso maschile di *C. aestuarii* sono stati raccolti da aprile a maggio 2007 in 8 siti della Laguna di Venezia. Da 10-12 granchi per sito sono stati prelevati ed individualmente analizzati emolinfa, branchie ed epatopancreas, valutando rispettivamente i livelli di proteine Vg-like mediante il metodo indiretto ALP (*alkali labile phosphate*) proposto da Blaise *et al.* (1999), l'attività dell'AChE secondo il metodo di Ellman *et al.* (1961), l'attività EROD utilizzando il kit "CYP1A1 EROD activity" (IKZUS, Genova), che si basa sull'idrolisi del substrato etossiresorufina nel composto fluorescente resorufina (Burke e Mayer, 1974). I risultati sono stati analizzati mediante test ANOVA e post-hoc HSD di Tukey.

Risultati – I risultati relativi ai tre biomarker analizzati sono riportati in Tab. 1. I livelli più elevati di proteine Vg-like sono stati misurati negli animali raccolti a Marghera, Valle di Brenta e Canale Dese, con valori significativamente diversi da quelli di Palude del Monte, Campalto, Fusina ($p < 0.001$) e Ca'Roman ($p < 0.01$). L'attività dell'AChE è risultata maggiormente inibita negli esemplari di Fusina; una differenza significativa è stata riscontrata nel confronto tra Valle di Brenta e i siti a più bassa attività, Fusina ($p < 0.001$), Campalto, Marghera e S. Servolo ($p < 0.01$). La più elevata attività EROD è stata osservata negli animali di S. Servolo, Canale Dese e Fusina. L'unica differenza significativa è stata rilevata nel confronto tra S. Servolo e Palude del Monte ($p < 0.01$), dove si è registrato il valore più basso di attività.

Tab. 1 - Livelli di proteine Vg-like e attività di AChE ed EROD in *C. aestuarii*. I risultati sono espressi come media \pm d.s.

Vg-like protein levels and AChE and EROD activities in C. aestuarii. Results are expressed as mean \pm s.d.

Siti di campionamento	Coordinate geografiche	Vg (emolinfa)	AchE (branchie)	EROD (epatopancreas)
		mg PO ₄ /ml	nmol/min/ mgprot	pmol/min/mg prot
Palude del Monte	45°21' N; 12°21' E	3,124 \pm 0,853	142,83 \pm 47,67	0,023 \pm 0,020
Campalto	45°28' N; 12°19' E	2,798 \pm 0,697	113,07 \pm 28,00	0,047 \pm 0,060
Marghera	45°26' N; 12°16' E	4,870 \pm 0,384	135,46 \pm 69,65	0,059 \pm 0,054
Valle di Brenta	45°11' N; 12°15' E	4,719 \pm 1,101	234,16 \pm 100,78	0,058 \pm 0,050
Ca' Roman	45°14' N; 12°16' E	3,549 \pm 1,437	161,44 \pm 41,77	0,060 \pm 0,048
San Servolo	45°25' N; 12°21' E	3,747 \pm 0,640	136,08 \pm 54,97	0,103 \pm 0,061
Fusina	45°24' N; 12°16' E	3,106 \pm 0,327	99,94 \pm 52,79	0,080 \pm 0,058
Canale Dese	45°31' N; 12°23' E	4,776 \pm 1,060	140,92 \pm 64,70	0,093 \pm 0,064

Conclusioni – I risultati presentati, che fanno parte di un più ampio progetto di biomonitoraggio, sembrano evidenziare livelli di contaminazione relativamente omogenei nel bacino lagunare, seppure con una differenziazione tra siti nelle specifiche risposte di biomarker. Questa situazione può essere spiegata dalla complessità e variabilità spatio-temporale delle fonti di contaminazione. Tra i siti a maggior impatto si possono distinguere Canale Dese, in zona di gronda lagunare, influenzato soprattutto da reflui di tipo agricolo e dal passaggio di natanti, con condizioni di idrodinamismo relativamente limitato, e S. Servolo, in prossimità della bocca di Lido, soggetto principalmente a reflui urbani della città di Venezia e ad elevato traffico marittimo. Interessanti sono apparsi i risultati relativi al sito di Palude del Monte dove, in un'area di concessione per l'allevamento della vongola filippina, i tre biomarker indagati suggeriscono complessivamente migliori condizioni ambientali.

Bibliografia

- BLAISE C., GAGNÉ F., PELLERIN J., HANSEN P.D. (1999) - Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): a potential biomarker for endocrine disruption. *Environ. Toxicol.*, **14**: 455-465.
- BURKE M.D., MAYER R.T. (1974) - Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metab. Dispos.*, **2**: 583-588.
- ELLMAN G.L., COURTNEY K.D., ANDRES JR. V., FEATHERSTONE R.M. (1961) - A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7**: 88-95.

C. LONGO, G. CORRIERO, M. MERCURIO, M. LICCIANO¹, L. STABILI^{1,2}

Dipartimento di Zoologia, Università di Bari, Via Orabona, 4 – 70125 Bari, Italia.
c.longo@biologia.uniba.it

¹DISTEBA, Università del Salento, Via Prov.le Lecce-Monteroni – 73100 Lecce, Italia.

²IAMC, Sezione di Taranto – CNR, Via Roma, 3 – 70400 Taranto, Italia.

STUDIO COMPARATIVO DELL'ACCUMULO MICROBIOLOGICO IN DUE DEMOSPONGE MEDITERRANEE

COMPARATIVE STUDY OF THE MICROBIOLOGICAL ACCUMULATION IN TWO MEDITERRANEAN DEMOSPONGES

Abstract - The microbiological accumulation capability in the demosponges *Spongia* (*Spongia*) *officinalis* and *Oceanapia isodictyiformis* of six microbiological parameters was studied in the water and in sponge samples coming from Porto Cesareo (Northern Ionian Sea). The densities of culturable heterotrophic bacteria, vibrios, total culturable bacteria at 37 °C, total and fecal coliforms as well as fecal streptococci were higher in both sponges compared with the corresponding seawater. *O. isodictyiformis* shows a higher microbiological accumulation capability than *S. (S.) officinalis*.

Key-words: bioremediation, bioindicator, *Spongia* (*Spongia*) *officinalis*, *Oceanapia isodictyiformis*.

Introduzione - I poriferi filtrano e trattengono un ampio range di materia particolata che include particelle colloidali, detriti, fitoplancton e batteri (Reiswig, 1971; Ribes *et al.*, 1999). L'efficienza di ritenzione è inversamente proporzionale alle dimensioni delle particelle, con una maggiore efficacia per le categorie dimensionali prossime ad 1 µm (Ribes *et al.*, 1999). Indagini pregresse hanno dimostrato un'elevata efficienza di rimozione della componente batterica dal corpo idrico in singole specie di poriferi (Milanese *et al.*, 2003; Stabili *et al.*, 2006); tuttavia non esistono in letteratura dati comparativi riferiti a differenti specie di spugne testate contestualmente.

Il presente lavoro si pone l'obiettivo di comparare la capacità di accumulo microbiologico in *Spongia* (*Spongia*) *officinalis* (Linnaeus, 1759) e *Oceanapia isodictyiformis* (Carter, 1882), due demosponge con caratteristiche ecologiche differenti. La prima, infatti, è tipica di ambienti a moderato trofismo, mentre la seconda è molto abbondante in acque ad elevato carico trofico, ma presente anche in ambienti oligotrofici (Corriero, 1990; Longo *et al.*, 2004; dati degli autori non pubblicati).

Materiali e metodi - La ricerca è stata condotta su omogenati di *S. (S.) officinalis* e *O. isodictyiformis* ottenuti da esemplari raccolti a Porto Cesareo (LE) (Mar Ionio Settentrionale) e su campioni di acqua di mare provenienti dal medesimo sito. Sono stati ricercati sei parametri di primaria importanza per la caratterizzazione microbiologica dell'ambiente marino. Le densità batteriche sono state determinate mediante: semina su Marine Agar a 20 °C (batteri eterotrofi), semina su Plate Count Agar (batteri totali a 37 °C), semina su thiosulphate-citrate-bile-sucrose-salt (TCBS) Agar (vibroni). I risultati relativi alle densità batteriche sono stati espressi come "colonie formanti unità" su peso o volume (CFU/g; CFU/ml). Gli streptococchi fecali ed i coliformi totali e fecali e sono stati determinati mediante la metodica Most Probable Number (MPN) ed espressi come MPN/g o MPN/ml.

Risultati - La densità dei sei parametri microbiologici considerati è risultata sempre maggiore nei tessuti delle due specie di spugne rispetto all'acqua prelevata dallo stesso sito di campionamento. In particolare i batteri eterotrofi sono risultati pari a $1,8 \times 10^9$ CFU/g in *S. (S.) officinalis* e $1,0 \times 10^8$ CFU/g in *O. isodictyiformis*, contro $3,8 \times 10^5$ CFU/ml nell'acqua di mare; i batteri a 37 °C erano pari a $8,8 \times 10^5$ e $3,1 \times 10^6$ CFU/g

rispettivamente nei tessuti di *S. (S.) officinalis* e *O. isodictyiformis* e $10,7 \times 10^4$ CFU/ml nell'acqua di mare. I valori medi dei vibriani sono risultati pari a $4,1 \times 10^3$ CFU/g in *S. (S.) officinalis*, $3,3 \times 10^4$ CFU/g in *O. isodictyiformis* e $2,4 \times 10$ CFU/ml nell'acqua di mare. Anche la concentrazione degli streptococchi fecali è risultata più elevata nei tessuti delle spugne (rispettivamente 40 e 5750 MPN/100g in *S. (S.) officinalis* e *O. isodictyiformis*) rispetto a quella presente nell'acqua di mare (5 MPN/100 ml). I coliformi fecali e totali erano assenti sia nei campioni di acqua che nelle spugne.

Conclusioni – I risultati di questo studio confermano l'elevata capacità di filtrazione del batterioplancton da parte delle demosponge ed il loro potenziale utilizzo come bioindicatori (Milanese *et al.*, 2003; Stabili *et al.*, 2006, 2008). In particolare, la maggiore capacità di accumulo microbiologico osservata in *O. isodictyiformis*, rispetto a quella rilevata in *S. (S.) officinalis*, suggerisce un impiego preferenziale della prima per il rilevamento degli inquinanti microbiologici nell'ambiente circostante anche quando questi sono presenti nell'acqua di mare a concentrazioni molto basse. Questa prerogativa, insieme alla sua facile reperibilità in ambienti a diverso grado di trofismo (Corriero, 1990; Longo *et al.*, 2004; dati degli autori non pubblicati), rendono *O. isodictyiformis* particolarmente idonea per la definizione della qualità microbiologica dell'ambiente marino in programmi di monitoraggio.

Bibliografia

- CORRIERO G. (1990) - Distribuzione ed ecologia dei poriferi in ambienti "confinati" mediterranei. *Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali (Scienze del mare), Università degli Studi di Genova*: 118 pp.
- LONGO C., SCALERA LIACI L., MANUEL M., CORRIERO G. (2004) - Note sui poriferi del Mar grande e del Mar piccolo di Taranto (Mar Ionio). *Biol. Mar. Medit.*, **11** (2): 444-447.
- MILANESE M., CHELOSSI E., MANCONI R., SARÀ A., SIDRI M., PRONZATO R. (2003) - The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomol. Eng.*, **20**: 363-368.
- REISWIG H.M. (1971) - Particle feeding in natural populations of three marine demosponges. *Biol. Bull.*, **141**: 568-591.
- RIBES M., COMA R., GILI J.M. (1999) - Natural diet and grazing rate of the temperate sponge *Dysidea avara* (Demospongiae, Dendroceratida) throughout an annual cycle. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **176**: 179-190.
- STABILI L., LICCIANO M., GIANGRANDE A., LONGO C., MERCURIO M., NONNIS MARZANO C., CORRIERO G. (2006) - Filtering activity of *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae) on bacterioplankton: implications for bioremediation of polluted seawater. *Water Res.*, **40**: 3083-3090.
- STABILI L., LICCIANO M., LONGO C., CORRIERO G., MERCURIO M. (2008) - Evaluation of microbiological accumulation capability of the commercial sponge *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae). *Water Res.*, doi:10.1016/j.watres.2008.02.008.

A. MANNINI, B. REALE¹, F. COLLOCA², A. ABELLA³, S. DE RANIERI¹

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip.Te.Ris.), Università di Genova,
Corso Europa, 26 – 16132 Genova, Italia.

biolmar@unige.it

¹C.I.B.M., Livorno, Italia.

²D.B.A.U., Università di Roma, Italia.

³A.R.P.A.T., Livorno, Italia.

APPLICAZIONE DELLA ROUTINE R-SUFI AI DATI RACCOLTI DURANTE LE CAMPAGNE MEDITS 1995-2006 NELLA SUB AREA GEOGRAFICA FAO 9

R-SUFI RESULTS USING MEDITS DATA GATHERED FROM 1995 TO 2006 IN THE FAO GEOGRAPHICAL SUB AREA 9

Abstract – Data of number, weight and length of fish caught during 12 years of international trawl surveys (MEDITS project), carried out in the GSA9 from 1995 to 2006, using an ad hoc script developed by IFREMER researchers and running under R language, were analysed. Results concerning change in biomass and abundance indexes, mean length and diversity index of fish community were reported.

Key-words: R-Sufi, community index, MEDITS project, Ligurian and Tyrrhenian seas.

Introduzione – Per una razionale gestione dello sfruttamento delle risorse biologiche marine, l’approccio ecosistemico ha assunto negli anni una valenza sempre maggiore. Quest’approccio considera non solo l’effetto della pesca sull’abbondanza e mortalità delle singole specie, ma anche su l’intera comunità, e inoltre include le interazioni specifiche e le variazioni dell’habitat prodotte da tale attività, L’individuazione di parametri che possano fornire indicazioni su eventuali modifiche nella composizione di queste comunità assume quindi un’importanza notevole (Daan *et al.*, 2005). La disponibilità di una serie storica di 12 anni (1995-2006) di dati raccolti nelle campagne di pesca a strascico sperimentali MEDITS condotte nella Sub Area Geografica FAO 9 ha reso possibile l’utilizzo di una routine (R-Sufi - Survey Fisheries Indicators) sviluppata *ad hoc* nell’ambito del linguaggio R (<http://www.r-project.org>) che ha permesso di eseguire una serie di analisi per individuare variazioni di biomassa, abbondanza, peso medio, taglia media e indice di diversità (Δ) della comunità demersale.

Materiali e metodi - Sono stati utilizzati i dati in numero e peso di tutte le specie ittiche e le lunghezze delle 29 specie bersaglio catturate durante le campagne di pesca a strascico sperimentali primaverili MEDITS, condotte tra il 1995 ed il 2006 nell’area compresa tra il confine italo-francese e la foce del Garigliano. Il disegno di campionamento è stato di tipo stratificato casuale con durata delle 120 cale di ½ h tra 10-200 m e di 1 h tra i 201-800 m. (Bertrand *et al.*, 2002). Le routine, sviluppate in linguaggio R dall’equipe IFREMER di Nantes (Rochet *et al.*, 2005), hanno restituito serie temporali di indici di biomassa e abbondanza, standardizzati al km², con i rispettivi intervalli fiduciali, valori di taglia media e un indice di diversità della comunità ittica (Δ), definito come la probabilità che due individui catturati a caso nella comunità appartengano alla stessa specie.

Risultati e conclusioni – L’evoluzione temporale degli indici non evidenzia alcun trend, ma piuttosto variazioni più o meno ampie (Fig. 1), suggerendo che almeno a questo livello di analisi nessun cambiamento significativo è avvenuto nella composizione della comunità ittica demersale nei 12 anni esplorati. Il confronto dei risultati con altri indici di comunità come, ad esempio, il Bottom dwelling vs. Overall Index

(BOI) (Fiorentino *et al.*, 2003) o il confronto con serie storiche di dati ambientali o di sforzo di pesca è auspicabile per una corretta interpretazione di questi risultati.

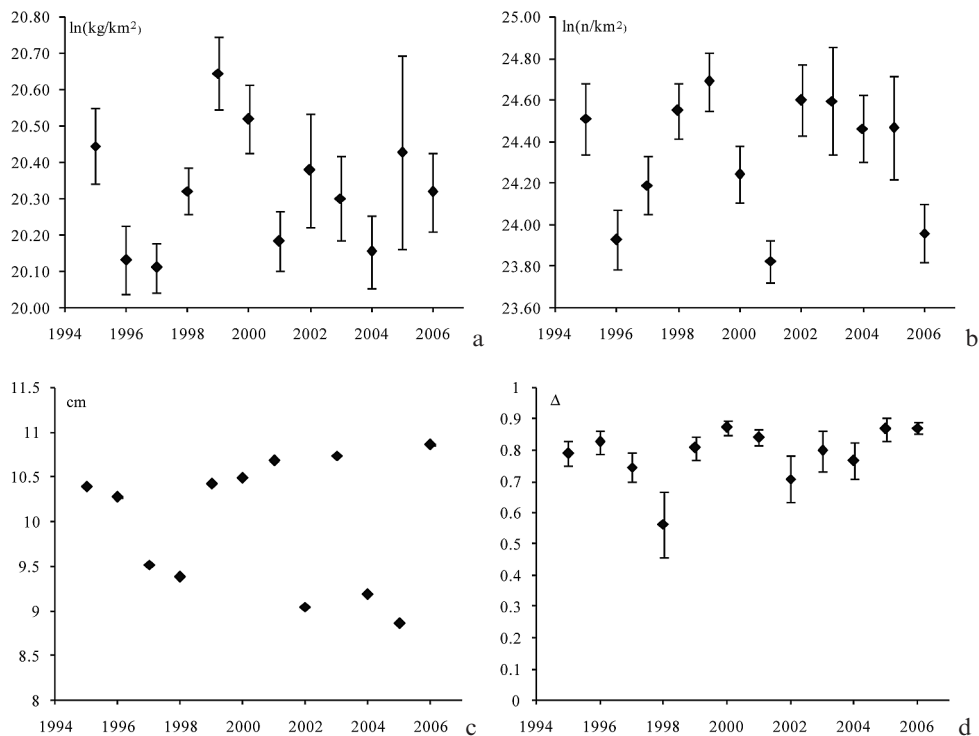


Fig. 1 - Risultati ottenuti con R-Sufi: indici di biomassa a), abbondanza b), taglia media c) e indice di diversità (Δ) d) della comunità ittica. Sono riportati anche i relativi coefficienti di variazione.

R-Sufi outputs: biomass a) and abundance b) indexes, mean length c) and diversity index (Δ) d) of fish community. Coefficient of variation are also showed.

Bibliografia

- BERTRAND J., GIL DE SOLA L., PAPACONSTANTINOU C., RELINI G., SOUPLLET A. (2002) - The general specifications of the Medits surveys. *Sci. Mar.*, **66** (Suppl. 2): 9-17.
- DAAN N., CHRISTENSEN V., CURY P.M. (2005) - Quantitative ecosystem indicators for fisheries management. *ICES J. Mar. Sci.*, **62**: 307-614.
- FIORENTINO F., GAROFALO G., GRISTINA M., LEVI D. (2003) - The ratio between "bottom dwelling" and overall fish biomass (BOI) as an indicator of trawling impact on demersal assemblages. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (2): 819-823.
- ROCHET M.J., TRENKEL V., BELLAIL R., COPPIN F., LE PAPE O., MAHÉ J.C., MORIN J., POULARD J.C., SCHLAICH I., SOUPLLET A., VÉRIN Y., BERTRAND J.A. (2005) - Combining indicator trends to assess 14 ongoing changes in exploited fish communities: diagnostic of communities off the coasts of France. *ICES J. Mar. Sci.*, **62**: 1647-1664.

V. MATOZZO, M. PREVIATO, L. LOCATELLO, M.G. MARIN

Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Via Ugo Bassi, 58/B – 35131 Padova, Italia.
mgmar@bio.unipd.it

PROTEINE VITELLOGENINA-LIKE NELLA VONGOLA
TAPES PHILIPPINARUM (MOLLUSCA, BIVALVIA)
COME BIOMARKER DI ESPOSIZIONE A XENOESTROGENI
IN LAGUNA DI VENEZIA

*VITELLOGENIN-LIKE PROTEIN IN THE CLAM TAPES
PHILIPPINARUM (MOLLUSCA, BIVALVIA) AS A BIOMARKER
OF EXPOSURE TO XENOESTROGENS IN THE LAGOON OF VENICE*

Abstract - In the present study, vitellogenin (Vg)-like proteins were measured in clams (*Tapes philippinarum*) collected in 8 sites of the Lagoon of Venice. Vg-like proteins were evaluated in haemolymph and digestive gland from both males and females. High Vg levels were generally recorded in clams collected at more polluted sites, suggesting the presence of xenoestrogens in the study areas.

Key-words: vitellogenin, bivalves, *Tapes philippinarum*, Lagoon of Venice.

Introduzione - Gli xenoestrogeni sono un gruppo eterogeneo di sostanze, capaci di interferire con le normali funzioni endocrine degli organismi. Tra le aree a maggior impatto ci sono estuari e lagune, dove generalmente convergono canali di raccolta di acque di scolo di campi coltivati, scarichi di acque reflue urbane, trattate e non, ed effluenti industriali. Una conseguenza importante dell'esposizione di organismi acquatici a xenoestrogeni è l'induzione delle vitellogenine (Vg), glico-lipo-fosfoproteine precursori delle componenti proteiche del tuorlo dell'uovo. L'induzione di proteine Vg-like è ormai ritenuta un buon indicatore di alterazioni endocrine in organismi acquatici (Marin e Matozzo, 2004).

Materiali e metodi - Le vongole sono state raccolte a maggio 2007 in 8 siti della Laguna di Venezia: Palude del Monte, Marghera, Fusina, Campalto, San Servolo, Canale Dese, Valle di Brenta e Cà Roman. Per ogni sito e per ciascun sesso, le proteine Vg-like sono state valutate in 10 ghiandole digestive e 5 diversi pool di emolinfa mediante il metodo ALP (*alkali labile phosphate*) (Blaise *et al.*, 1999). I risultati sono stati analizzati mediante Kruskal-Wallis ANOVA e Test *U* di Mann-Whitney.

Risultati - Nell'emolinfa dei maschi, un aumento significativo ($p < 0.01$) dei livelli di proteine Vg-like è stato registrato nelle vongole di San Servolo rispetto a quelle di Valle di Brenta, Fusina e Canale Dese, tra gli animali di Campalto e quelli di Fusina e Canale Dese ($p \leq 0.05$), tra quelli di Cà Roman e quelli di Valle di Brenta ($p \leq 0.05$), Fusina ($p \leq 0.01$) e Canale Dese ($p \leq 0.01$) (Fig. 1). Nelle femmine, aumenti significativi ($p \leq 0.01$) dei livelli di Vg sono stati registrati nelle vongole di Cà Roman rispetto a quelle di San Servolo, tra quelle di Canale Dese e quelle di Valle di Brenta, San Servolo e Fusina, e tra gli animali di Campalto, Marghera e Palude del Monte rispetto a quelli di Valle di Brenta e San Servolo (Fig. 1). Nella ghiandola digestiva dei maschi, un significativo incremento dei livelli di proteine Vg-like è stato osservato nelle vongole raccolte in Valle di Brenta rispetto a quelle pescate in tutti gli altri siti. Livelli significativamente più alti sono stati anche riscontrati negli animali raccolti a Campalto e Marghera rispetto a quelli di Cà Roman ($p \leq 0.001$) e San Servolo ($p \leq 0.05$). Differenze statisticamente significative ($p \leq 0.001$) sono state inoltre evidenziate tra le vongole di Palude del Monte e quelle di Cà Roman e San Servolo, e tra quelle di San

Servolo, Fusina e Canale Dese e quelle di Cà Roman (Fig. 2). Nella ghiandola digestiva delle femmine, livelli di proteine significativamente più alti sono stati osservati negli animali di Cà Roman rispetto a quelli di Campalto ($p \leq 0.05$), Marghera ($p \leq 0.01$), San Servolo ($p \leq 0.01$), Fusina ($p \leq 0.001$) e Canale Dese ($p \leq 0.001$). Un incremento significativo dei livelli di proteine Vg-like è stato anche registrato nei bivalvi raccolti in Valle di Brenta rispetto a quelli pescati a Campalto ($p \leq 0.05$), Marghera ($p \leq 0.01$), San Servolo ($p \leq 0.05$), Fusina ($p \leq 0.001$) e Canale Dese ($p \leq 0.001$) (Fig. 2).

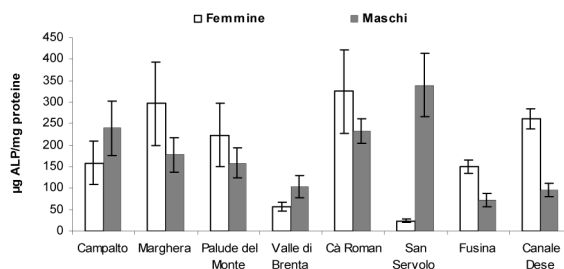


Fig. 1 - Livelli di proteine Vg-like nell'emolinfia di femmine e di maschi di *T. philippinarum* (media \pm d.s.; n=5).

Vg-like protein levels in haemolymph from females and males of T. philippinarum (mean \pm s.d.; n=5).

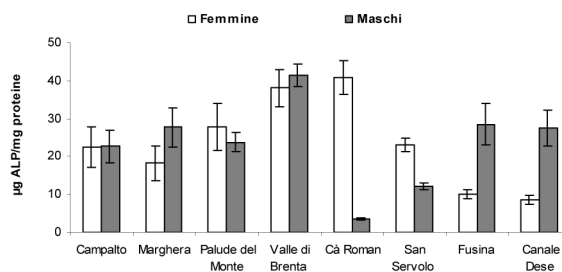


Fig. 2 - Livelli di proteine Vg-like nella ghiandola digestiva di femmine e di maschi di *T. philippinarum* (media \pm d.s.; n=10).

Vg-like protein levels in digestive gland from females and males of T. philippinarum (mean \pm s.d.; n=10).

Conclusioni – I livelli di Vg misurati sia nell'emolinfia sia nella ghiandola digestiva delle vongole raccolte a Campalto, Marghera, Cà Roman e San Servolo, suggeriscono un'esposizione a sostanze ad attività estrogenica. I maschi, in alcuni casi, hanno fatto registrare livelli di Vg più alti di quelli delle femmine. Dal momento che l'esposizione a sostanze estrogeniche può influenzare il successo riproduttivo, è ipotizzabile una condizione di rischio per le popolazioni di bivalvi in Laguna di Venezia.

Bibliografia

- BLAISE C., GAGNÉ F., PELLERIN J., HANSEN P.D. (1999) - Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): a potential biomarker for endocrine disruption. *Environ. Toxicol.*, **14**: 455-465.
- MARIN M.G., MATOZZO V. (2004) - Vitellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. *Mar. Pollut. Bull.*, **48**: 835-839.

S. NESCI, V. VENTRELLA, F. TROMBETTI, M. PIRINI, A.R. BORGATTI, A. PAGLIARANI

Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi" Sezione di Biochimica Veterinaria, Università di Bologna,
Via Tolara di Sopra, 50 – 40064 Ozzano Emilia, Bologna, Italia.
salvatore.nesci@unibo.it

RISPOSTA DELLA Mg-ATPasi MITOCONDRIALE
DELLA GHIANDOLA DIGESTIVA DI *MYTILUS*
GALLOPROVINCIALIS ALLO STAGNO TRIBUTILE (TBT)

RESPONSE OF THE MITOCHONDRIAL Mg-ATPase OF THE
DIGESTIVE GLAND OF MYTILUS GALLOPROVINCIALIS
TO TRIBUTYLTIN (TBT)

Abstract - The effect of the contaminant tributyltin (TBT) was investigated on the mitochondrial Mg-ATPase in the digestive gland of the mollusc *Mytilus galloprovincialis* both in vivo and in vitro. TBT-exposed mussels showed a 30% inhibition of the oligomycin-sensitive Mg-ATPase with respect to controls irrespective of TBT dose and exposure time. A complex dose-response curve was pointed out in vitro.

Key-words: tributyltin, mitochondrial Mg-ATPase, digestive gland, mussel.

Introduzione – La diffusione dei composti organostannici nell'ambiente acquatico, dovuta principalmente al loro impiego specialmente nel passato, nelle vernici antivegetative, rappresenta tuttora una minaccia ambientale, soprattutto nelle acque costiere. Per la loro grande resistenza ai processi di degradazione questi contaminanti lipofili vengono facilmente incorporati negli animali acquatici dove mostrano un ampio spettro di effetti biologici e biochimici (Saxena, 1987). I composti organostannici, trasferiti lungo la catena trofica, contaminano i prodotti ittici, in particolare molluschi bivalvi (Chandrinou *et al.*, 2007). Abbiamo considerato quindi nei mitili l'effetto dello stagno tributile (TBT), il più tossico e comune di questi composti, sulla MgATPasi mitocondriale, l'enzima chiave del metabolismo energetico cellulare e bersaglio del TBT in mammiferi, lieviti e batteri (Saxena, 1987; von Ballmoos *et al.*, 2004).

Materiali e metodi – Gli studi sono stati effettuati *in vivo*, utilizzando mitili (*Mytilus galloprovincialis*) esposti al TBT per 120 ore, e *in vitro*, immettendo il contaminante in concentrazioni micromolari direttamente nel sistema di reazione della MgATPasi (Pagliarani *et al.*, 2008). I mitili esposti alle 2 concentrazioni di TBT (0,5 e 1,0 mg/L), definiti TBT1 e TBT2, e controllo (C) sono stati mantenuti in acquari (60 animali/60L) contenenti acqua di mare artificiale areata. Ciascun trattamento è stato effettuato in duplicato. I mitili, campionati dopo 24 e 120 ore di esposizione, sono stati suddivisi in pool e utilizzati per valutare l'indice di condizione (CI), il contenuto d'acqua e per la preparazione della frazione mitocondriale della ghiandola digestiva (epatopancreas). Su tale frazione è stata determinata per via spettrofotometrica l'attività della MgATPasi. Le prove *in vitro* sono state effettuate utilizzando preparazioni mitocondriali di mitili non esposti. L'analisi statistica dei dati è stata effettuata mediante ANOVA seguita da test SNK quando necessario ($P \leq 0,05$).

Risultati – L'esposizione al TBT non ha influenzato i parametri biologici considerati: mortalità, CI e contenuto d'acqua sono rimasti infatti invariati indipendentemente dalla concentrazione di TBT e dalla durata dell'esperimento. Diversamente l'attività della Mg-ATPasi mitocondriale oligomicino-sensibile (Mg-ATPasi OS) è risultata significativamente inibita già dopo appena 24 ore di esposizione in entrambi i gruppi sperimentali, TBT1 e TBT2. L'entità di tale inibizione, pari approssimativamente al 30% (Tab. 1), è rimasta costante anche dopo 120 ore di esposizione, risultando così

indipendente dalla durata dell'esposizione oltre che dalla concentrazione di TBT utilizzata. L'attività della MgATPasi oligomicino-insensibile (Mg-ATPasi OI) non sembra risentire dell'effetto del TBT manifestando invece una certa suscettibilità alle condizioni sperimentali dal momento che dopo 120 ore di sperimentazione l'attività appare più che dimezzata in tutti i gruppi: C, TBT1 e TBT2.

Tab. 1 - Mg-ATPasi mitocondriale ($\mu\text{moli Pi-mg prot}^{-1}\text{-ora}^{-1}$) nei mitili in esperimento.

Mitochondrial Mg-ATPase activity ($\mu\text{mol Pi-mg pr}^{-1}\text{-h}^{-1}$) in mussels.

tempo di esposizione	24 ore			120 ore		
	controllo	TBT1	TBT2	controllo	TBT1	TBT2
Mg-ATPasi OI	13,7 \pm 5,3a	12,0 \pm 5,1a	13,4 \pm 6,6a	5,4 \pm 4,4b	5,0 \pm 3,8b	4,8 \pm 0,6b
Mg-ATPasi OS	14,3 \pm 2,6a	10,2 \pm 8,8c	10,1 \pm 2,3c	16,4 \pm 3,8a	11,4 \pm 4,4c	10,9 \pm 0,6c

Le prove *in vitro* hanno evidenziato risposte apparentemente più complesse. La curva dose-risposta relativa alla OS-MgATPasi presenta un andamento bifasico con un minimo di attività in corrispondenza della concentrazione di TBT 0,7 μM , seguito da una fase di recupero fino a 6,0 μM TBT per poi andare quasi a 0 per concentrazioni ancora crescenti (>10,0 μM TBT). Questo andamento, considerato alla luce del diverso comportamento della frazione dell'enzima insensibile all'oligomicina che aumenta quando l'altra diminuisce, suggerisce che l'azione del TBT potrebbe esplicarsi attraverso una perdita della sensibilità all'oligomicina della MgATPasi mitocondriale, eventualmente mediata da un coinvolgimento dai lipidi della membrana mitocondriale.

Conclusioni - Anche nella ghiandola digestiva di mitilo la MgATPasi si conferma come bersaglio sensibile all'azione tossica del TBT, come già riscontrato in altri tessuti (Pagliarani *et al.*, 2008) e specie (Saxena 1987; von Ballmoos *et al.*, 2004). L'inibizione del complesso F_0F_1 , che ha un ruolo chiave nel metabolismo energetico cellulare, potrebbe essere correlata ad altre manifestazioni tossiche del TBT e giustificare almeno in parte la riduzione di produttività delle popolazioni esposte al contaminante nelle quali la produzione cellulare di ATP può risultare seriamente compromessa.

Bibliografia

- CHANDRINO S., STANISAKIS A.S., THOMAIDIS N.S., NIKOLAU A., WEGENER J.W. (2007) - Distribution of organotin compounds in the bivalves of the Aegean Sea, Greece. *Env. Int.*, **33** (2): 226-232.
- PAGLIARANI A., BANDIERA P., VENTRELLA V., TROMBETTI F., PIRINI M., NESCI S., BORGATTI A.R. (2008) - Tributyltin inhibition of oligomycin-sensitive Mg-ATPase activity in mussel mitochondria. *Toxicol. in Vitro*, in stampa.
- SAXENA A.K. (1987) - Organotin compounds: toxicology and biomedical applications. *Appl. Organometall. Chem.*, **1**: 39-56.
- VON BALLMOOS C., BRUNNER J., DIMROTH P. (2004) - The ion channel of F-ATP synthase is the target of toxic organotin compounds. *Proceed. Natl. Acad. Sci.*, **101**: 11239-11244.

A.A. PENDUGIU, G. MATTA, P. PESCI, A. SABATINI, A. CAU

Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari,
Viale Poetto,1 – 09126 Cagliari, Italia.
a_angelo_pendugiu@tiscali.it

MORFOLOGIA E VARIABILITÀ INTRASPECIFICA
NELLA COLONNA VERTEBRALE
DI *SPICARA SMARIS* L., 1758 (TELEOSTEA, CENTRACANTHIDAE)

MORFOLOGY AND INTRASPECIFIC VARIABILITY
OF *SPICARA SMARIS* L., 1758 (TELEOSTEA, CENTRACANTHIDAE)
VERTEBRAL COLUMN

Abstract – Morphological aspects of the vertebral column of *Spicara smaris* (Teleostea, Centranchidae) from the Sardinian Sea are highlighted. The vertebral column is divided into three parts (trunk, intermediate and caudal) according to their morphological features. Two different vertebral compositions were observed, indicating the presence of some intraspecific variability.

Key-words: *Spicara smaris*, Centranchidae, vertebrae, vertebral column, vertebral profile.

Introduzione – La colonna vertebrale nei teleostei è costituita dalla ripetizione di tante sub-unità ossee, le vertebre, il cui numero può differire a seconda degli individui e delle razze della medesima specie pur rimanendo costante nell'individuo durante tutto l'arco della vita (Tortonese, 1975). Tale struttura svolge un ruolo importante nel nuoto agendo nella trasmissione del movimento dal corpo verso la regione craniale dei pesci (Ramzu e Meunier, 1999). Nel presente lavoro viene descritta la colonna vertebrale e valutato il grado di variabilità intraspecifica di *Spicara smaris* (L., 1758) (Teleostea, Centranchidae), specie ermafrodita proteroginica presente in tutto il bacino del Mediterraneo ed in tutti i mari Italiani (Relini *et al.*, 1999) (Whitehead *et al.*, 1986).

Materiali e metodi – Sono stati analizzati 28 individui di *S. smaris* (9 maschi e 19 femmine) catturati nella costa sud occidentale della Sardegna di taglia variabile tra 12,1 cm e 19,4 cm. Per ogni individuo sono state rilevate la lunghezza totale (LT) ed il sesso. Il campione è stato sottoposto a scarnificazione e successivamente le singole vertebre sono state separate e fotografate. Per ogni vertebra, con la precisione del cm², sono stati rilevati i seguenti parametri (Fig. 1): Larghezza Corpo Vertebrale (LCV), Altezza Corpo Vertebrale (ACV), Profondità Corpo Vertebrale (PCV), Lun-

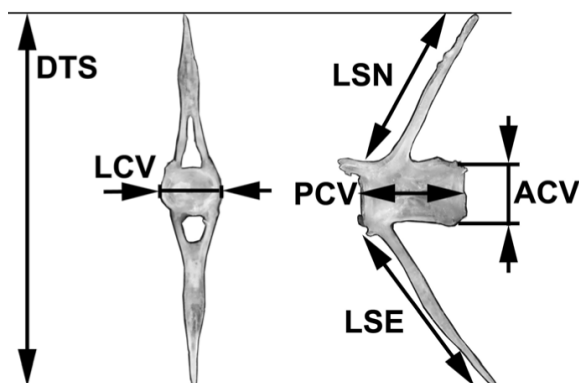


Fig. 1 - Parametri rilevati.
Identified parameters.

ghezza Spina Neurale (LSN), Lunghezza Spina Emale (LSE) e Distanza Tra le due Spine (DTS). Per ogni parametro è stato calcolato l'indice vertebrale ($InV = P \cdot 100 / LT$ dove InV = indice vertebrale P = parametro LT = lunghezza totale).

Risultati – Indipendentemente dal sesso la colonna vertebrale è risultata costituita da 24 elementi (v.). In tutte le vertebre è presente un canale neurale ben definito e le articolazioni intervertebrali (prezigapofisi dorsali, post zigapofisi dorsali e ventrali) sono presenti in ogni vertebra. In base alla morfologia dei segmenti vertebrali sono state definite tre regioni: una regione del Tronco (*t*) con assenza di canale emale, una regione Intermedia (*i*) in cui sono presenti sia il canale emale che le articolazioni per le coste ed una regione Caudale (*c*) in cui si ha la completa fusione delle basapofisi che formano la spina ed il canale emale.

L'analisi morfologica ha evidenziato differenze nella composizione vertebrale delle prime due regioni. In particolare la composizione vertebrale è risultata di tipo I - 7*t*-3*i*-14*c* nel 86% degli individui mentre nel restante 14% del tipo II - 8*t*-2*i*-14*c*. Gli individui con composizione vertebrale di tipo II sono risultati tutti di sesso femminile, mentre quelli di tipo I sono appartenenti ad entrambi i sessi.

Dal punto di vista morfometrico, gli InV calcolati per i diversi parametri rilevati, mostrano dei valori inferiori per le composizioni vertebrali di tipo II. In particolare sono risultati sempre inferiori per LCV e PCV. Per gli InV relativi a LSE, LSN e DTS le differenze tra le due composizioni vertebrali alle vertebre comprese tra la v.11 e v. 17. In queste si denota una maggiore dimensione per la composizione vertebrale di tipo I. Situazione diametralmente opposta si riscontra per ACV. Questo sembrerebbe evidenziare una differenza tra la composizione vertebrale di tipo I e II anche dal punto di vista morfometrico anche se l'esiguità del campione analizzato non ci consente di confermare statisticamente queste differenze.

Conclusioni – L'analisi morfologica della composizione vertebrale di *S. smaris* ci ha consentito di evidenziare la presenza di due distinte formule vertebrali. La v.8, infatti, talvolta risulta appartenere alla regione intermedia (tipo I con 3 vertebre intermedie) o alla regione del tronco (tipo II con 2 vertebre intermedie). Tali differenze non sembrano essere riconducibili al dimorfismo sessuale della specie, dato che composizioni di tipo I sono riscontrate in entrambi i sessi.

Tale tipo di variabilità, già riscontrato anche in altri Teleostei, si afferma nei primi stadi dell'ontogenesi. Le differenze ambientali incontrate dagli animali in questa fase sarebbero tali da determinare delle variazioni nella morfologia ma non nel numero di vertebre (Sabatini *et al.*, 2007). La variabilità intraspecifica in *S. smaris*, unitamente alle diversità riscontrate nell'altezza delle prime vertebre caudali, potrebbe conferire all'animale una diversa capacità di nuoto ed essere determinante per la sopravvivenza dell'individuo nelle prime fasi di sviluppo larvale.

Bibliografia

- RAMZU M., MEUNIER F.J. (1999) - Descripteurs morphologiques de la zonation de la colonne vertebrale chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972) (Teleostei, Salmoniforme). *Annales des Sciences Naturelles*, **3**: 87-97.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (1999) – Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.
- SABATINI A., FOLLESA M.C., PENDUGIU A.A., PESCI P., CAU A. (2007) - Morphological description and intraspecific variability of *Mullus surmuletus* (Teleostea, Mullidae) vertebral column. *Italian Journal of Zoology*, **74** (1): 1-5.
- TORTONESE E. (1975) - *Fauna d'Italia. Osteichthyes, pesci ossei*. Ed. Calderini, Bologna: 565 pp.
- WHITEHEAD P.J.P., BAUCHOT M.-L., HUREAU J.-C., NIELSEN J., TORTONESE E. (1986) – *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean* (II). UNESCO: 1007 pp.

E. PRATO, M.I. ACQUAVIVA, F. BIANCOLINO, R. LO NOCE, M. NARRACCI, R.A. CAVALLO

IAMC, Sezione di Taranto – CNR, Via Roma, 3 – 74100 Taranto, Italia.
acquaviva@iamc.cnr.it

EFFETTO EMBRIOTOSSICO
DI *VIBRIO SPLENDIDUS II* E *VIBRIO MEDITERRANEI*
IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAM., 1819)

EMBRIOTOXIC EFFECT
OF *VIBRIO SPLENDIDUS II* AND *VIBRIO MEDITERRANEI*
ON *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAM., 1819)

Abstract – This study investigated the effect of increasing concentration of two *Vibrio* species (*Vibrio splendidus II* and *Vibrio mediterranei*) collected in Mar Piccolo of Taranto on survival and normality of *Mytilus galloprovincialis* larvae. Both *Vibrio* species produced significant mortality effect on tested larvae at all doses tested.

Key-words: *Mytilus galloprovincialis*, *Vibrio splendidus II*, *Vibrio mediterranei*, embriotoxicity test, Mar Piccolo.

Introduzione – I vibrioni sono microrganismi indigeni dell'ambiente acquatico associati ai sedimenti, alla colonna d'acqua, ai bivalvi, al plancton e alle superfici di altri animali acquatici (Montanari *et al.*, 1999; Cavallo *et al.*, 2006). Alcuni ceppi di Vibrionaceae sono considerati agenti patogeni per invertebrati marini e pesci (Saeed, 1995; Anguiano-Beltràn *et al.*, 2004). In studi precedenti è stata dimostrata la virulenza di alcune specie di vibrioni sui primi stadi larvali di alcuni bivalvi (Narracci *et al.*, 2007). Tra le specie di vibrio maggiormente presenti nel Mar Piccolo di Taranto, ove è estesa l'attività della mitilicoltura, sono stati scelti il *Vibrio splendidus II* e il *Vibrio mediterranei* per valutare il loro effetto embriotossico nei confronti delle larve di *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (Mollusca Bivalvia).

Materiali e metodi – Da campioni di acqua di mare prelevati nel Mar Piccolo di Taranto sono stati isolate e caratterizzate due specie di vibrio: *V. splendidus II* e *V. mediterranei*. Dopo incubazione a 30 °C per 1 giorno in Marine Broth, le colture pure sono state centrifugate per tre volte a 3000 rpm per 10 minuti ed il pellet risospeso in acqua di mare sterile. Dopo aver ottenuto una sospensione con densità cellulare di circa 10⁹ CFU mL⁻¹ (Unità Formanti Colonie × mL⁻¹) (A=1 a 540 nm), si è proceduto a realizzare una serie di diluizioni (10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, CFU mL⁻¹) utilizzate per i saggi di infezione delle larve. Gli esemplari maturi di *Mytilus galloprovincialis*, sono stati raccolti da un impianto di allevamento sito nel Mar Grande di Taranto. Il test è stato effettuato in accordo con il metodo di His *et al.* (1997) basato sul protocollo standard US Environmental Protection Agency (U.S. EPA 1995). Durante le 48 h di esperimento le larve infettate con le 5 diverse diluizioni batteriche sono state mantenute alla temperatura di 18±2 °C. Per ogni trattamento sono state previste 4 repliche, con una densità di 30 larve/ml, in acqua di mare filtrata (0.45 µm) e sterilizzata. Al termine di ciascun test, su un campione di 100 larve sono state contate le larve anomale (larve D anormali e stadi che non hanno raggiunto la forma larvale D). Il test è stato considerato valido quando la percentuale di larve normali nel controllo è risultata ≥80%. Per verificare le eventuali differenze significative tra il numero di larve anomale a ciascun grado di esposizione rispetto al controllo è stata usata l'analisi dell'ANOVA. La sensibilità delle larve è stata determinata mediante l'EC₅₀ (concentrazione effettiva mediana), intesa come la concentrazione in grado di produrre, per un determinato tempo di trattamento, un'incidenza pari al 50% dell'effetto scelto come

misura della tossicità, utilizzando il metodo statistico di Trimmer Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1978).

Risultati - I controlli negativi hanno mostrato percentuali di larve normoformate entro i limiti di accettabilità ($84.5 \pm 2.5\%$). In tutti i test condotti le larve hanno risposto in maniera dose-dipendente. Le larve infettate con *V. mediterranei* hanno mostrato un valore di EC50 pari a 5.9×10^3 CFU ml⁻¹ con intervallo di confidenza (C.I.) pari a $9.1 \times 10^2 - 0.97 \times 10^2$, l'analisi statistica, ha evidenziato un effetto significativo dell'infezione sullo sviluppo larvale a partire dalle più basse concentrazioni (ANOVA; $p < 0.0001$). L'effetto del *V. splendidus* II sullo sviluppo larvale ha determinato un EC50 pari a 2.9×10^2 CFU ml⁻¹ con intervallo di confidenza (C.I.) pari a $10.4 \times 10^3 - 3.3 \times 10^3$. La percentuale delle larve anormali riscontrate ad ogni concentrazione di *V. splendidus* II utilizzata è stata significativamente diversa da quella del controllo a partire dalle più basse concentrazioni (ANOVA; $p < 0.05$).

Conclusioni - I saggi di tossicità di laboratorio forniscono rapide indicazioni sulla biodisponibilità dei diversi contaminanti e hanno finalità predittive per stime del rischio ambientale. I risultati di questo studio evidenziano la patogenicità dei vibrieni di interesse ambientale nei confronti dei primi stadi larvali di *Mytilus galloprovincialis*. In particolare i valori di EC50 ottenuti nei test condotti mostrano che il *V. splendidus* II ha una maggiore capacità infettante rispetto al *V. mediterranei*. I risultati riportati dimostrano che tali ceppi batterici possono influire sul reclutamento delle larve di mitilo. L'approccio metodologico utilizzato evidenzia l'efficacia e la validità ricognitiva dei saggi biologici in indagini ambientali.

Bibliografia

- ANGUIANO-BELTRAN C., LIZARRAGA-PARTIDA M.L., SEARCY-BERNAL R. (2004) - Effect of *Vibrio alginolyticus* on larval survival of the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Dis. Aquat. Org.*, **59**: 119-123.
- CAVALLO R.A., ACQUAVIVA M.I., NARRACCI M. (2006) - Biodiversità di vibrieni in acqua e sedimento prelevati nel Mar Piccolo di Taranto, *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (2): 66-67.
- HAMILTON M.A., RUSSO R.C., THURSTON R.V. (1978) - Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, **12**: 714-720.
- HIS E., SEAMAN R.N.L., BEIRAS R. (1997) - simplified bivalve larval bioassay method for seawater quality assessment. *Wat. Res.*, **31**: 351-355.
- MONTANARI M.P., PRUZZO C., PANE L., COLWELL R.R. (1999) - Vibrios associated with plankton in a coastal zone of the Adriatic Sea (Italy). *FEMS Microb. Ecol.*, **29**: 241-247.
- NARRACCI M., CAVALLO R.A., ACQUAVIVA M., BIANCOLINO F., PRATO E. (2007) - *Vibrio harvey* e *Vibrio alginolyticus*: il loro effetto embriotossico in *Mytilus galloprovincialis*. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 402-403.
- SAEED M.O. (1995) - Association of *Vibrio harvey* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. *Acquacol.*, **136**: 21-29.
- U.S. EPA (1995) - Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms. EPA /600/R-95/136, US Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio.

R. SCHIROSI¹, A. GIANGRANDE¹, L. STABILI^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università del Salento,
Via Prov.le Lecce-Monteroni – 73100 Lecce, Italia.
gianadri@ilenic.unile.it

²IAMC, Sezione di Taranto, CNR, Via Roma, 3 – 70400 Taranto, Italia.

COMPOSIZIONE PROTEO-LIPIDICA DI *SABELLA SPALLANZANII* (GMELIN, 1791) (ANNELIDA: POLYCHAETA)

PROTEO-LIPIDIC COMPOSITION OF SABELLA SPALLANZANII (GMELIN, 1791) (ANNELIDA: POLYCHAETA)

Abstract - In the present work we investigated the proteo-lipidic composition of the polychaete *S. spallanzanii* on the seasonally basis. The seasonal changes in biochemical composition of this species from the Southern Adriatic Sea were examined to describe changes in relation to reproduction.

Key-words: proteins, lipids, fatty acids, seasonal changes, *Sabella spallanzanii*.

Introduzione - La biodisponibilità di macro e micronutrienti quali proteine, lipidi e carboidrati è importante per definire il profilo biochimico ed il valore biologico di un organismo. Relativamente a tale problematica sono stati condotti numerosi studi che hanno riguardato sia specie di vertebrati tradizionalmente utilizzate in acquacoltura (Shahidi, 1995) sia specie di invertebrati marini inclusi crostacei e molluschi del Mediterraneo. Al contrario relativamente agli anellidi policheti gli studi sono scarsi e le informazioni disponibili riguardano *Nereis diversicolor* (= *Hediste*), *Nereis virens*, *Nephtys incisa* e alcune specie di ambienti polari tra cui *Yoldia hyperborea*, *Nephtys ciliata* e *Artacama proboscidea* (Luis e Passos 1995; Parrish *et al.*, 1996; Pocock *et al.*, 1996). Il presente lavoro è un contributo alla conoscenza del profilo biochimico degli anellidi policheti. In particolare è stata investigata la specie *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791) alla luce anche di un suo potenziale sfruttamento in acquacoltura.

Materiali e metodi - Esemplari adulti di *Sabella spallanzanii* sono stati prelevati, nel corso di un anno, con cadenza stagionale, a Brindisi (Adriatico Meridionale) tramite autorespiratore ad aria. Per ogni stagione è stato preparato un pool di 60 individui omogenato mediante Polytron (Kinematica Typ PT10/35) e sottoposto ad analisi per la determinazione della composizione proteica e lipidica (lipidi totali, colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi e acidi grassi). Il contenuto proteico è stato determinato mediante il metodo di Kjeldahl (1883). Per i lipidi totali sono stati utilizzati sia il metodo colorimetrico (con kit Sentinel Ch.) che quello gravimetrico (Folch *et al.*, 1957). Il contenuto percentuale in acidi grassi dei lipidi totali è stato determinato mediante gas cromatografia (Hewlett Packard GC System HP6890). Il dosaggio del colesterolo totale, dei trigliceridi e fosfolipidi è stato eseguito con kits specifici distribuiti dalla Sentinel Ch.

Risultati - Il contenuto proteico di *S. spallanzanii*, calcolato come media delle quattro stagioni esaminate, è risultato pari al 28% del peso secco. Il contenuto lipidico medio ottenuto con i due metodi impiegati è risultato raffrontabile e pari al 7% del peso secco. La componente lipidica di *S. spallanzanii* diminuiva nel periodo autunno-invernale in concomitanza all'incremento di quella proteica. In media, colesterolo, fosfolipidi e trigliceridi rappresentavano rispettivamente il 6,1%, 14,1% e 6,9% dei lipidi totali. Nell'ambito degli acidi grassi quelli saturi costituivano il 57,27%, quelli monoinsaturi il 26,45% ed infine quelli polinsaturi il 16,27%. Tra gli acidi grassi l'acido palmitico (16:0) è risultato il più abbondante in tutti i campioni analizzati.

Infine gli acidi grassi polinsaturi a lunga catena della serie Omega-3 erano presenti con un valore medio del 4,5%.

Conclusioni - La riduzione del contenuto lipidico di *S. spallanzanii* nel periodo autunno-invernale associata all'incremento di quello proteico potrebbe essere spiegata in rapporto al periodo riproduttivo di questa specie che nel Mediterraneo è compreso fra gennaio e marzo (Giangrande *et al.*, 2000). Molto probabilmente l'elevato contenuto proteico riscontrato in inverno è dovuto alla presenza dei gameti all'interno degli individui esaminati che come è noto sono ricchi di proteine. D'altro canto vari autori hanno indicato cambiamenti stagionali nella composizione proteica che sono correlati con alcuni processi metabolici inclusi la crescita e la riproduzione (Lodeiros *et al.*, 2001). I nostri risultati sono anche in accordo con quanto osservato da Calvo (2004) nella vongola *Eurhomalea exalbida* che nel periodo autunno-invernale ha bassi valori dei lipidi totali con un incremento delle proteine nel mese di novembre corrispondente al periodo di deposizione delle uova. Particolarmente interessante è il valore del contenuto proteico di *S. spallanzanii* pari al 28% di peso secco tenuto conto che in altri invertebrati marini sono presenti concentrazioni proteiche inferiori, 8% nel caso del mitilo *Mytilus galloprovincialis* ed il 19-20% nell'aragosta *Nephrops norvegicus*. La concentrazione lipidica media di *S. spallanzanii* si colloca nel range dei valori osservati per altri invertebrati marini tra cui un altro polichete *Artacama proboscidea* (Parrish *et al.*, 1996) ma più bassa rispetto a quella di *Nereis diversicolor* (Luis e Passos, 1995). Di particolare interesse dal punto di vista del valore nutritivo è anche la presenza di acidi grassi polinsaturi a lunga catena della serie Omega-3.

Bibliografia

- CALVO J. (2004) - Seasonal changes in biochemical composition of the clam, *Eurhomalea exalbida* (*Bivalvia: Veneridae*), from the beagle channel, Argentina. *J. Shellfish Res.*
- FOLCH J., LEES M., STANLEY G.H.S (1957) - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**: 497-509.
- GIANGRANDE A., LICCIANO M., PAGLIARA P., GAMBI M.C. (2000) - Gametogenesis and larval development in *Sabella spallanzanii* (Polychaeta: Sabellidae) from the Mediterranean sea. *Mar. Biol.*, **136**: 847-861.
- LODEIROS C.J., RENGEL J.J., GUDERLEY H.E., NUSENI O., HIMMELMAN J.H. (2001) - Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. *Aquaculture*, **199**: 63-72.
- LUIS O.J., PASSOS A.M. (1995) - Seasonal changes in lipid content and composition of the polychaete *Nereis (Hediste) diversicolor*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **111** (B): 579-586.
- PARRISH C.C., YANG Z., LAU A., THOMPSON R.J. (1996) - Lipid Composition of *Yoldia hyperborea* (Protobranchia), *Nephtys ciliata* (Nephtyidae), *Artacama proboscidea* (Terebellidae) living at Sub-Zero Temperatures. *Comp. Biochem. Physiol.*, **114** (B): I, 59-67.
- POCOCK D.M.E., MARSDEN J.R., HAMILTON J.C. (1971) - Lipids in an intertidal polychaete and their relation to maturation of the worm. *Comp. Biochem. Physiol.*, **39** (A): 683-697.
- SHAHIDI F. (1995) - Seafood proteins and preparation of proteins concentrates. In: Shahidi F., Botta J.R. (eds), *Seafood chemistry, processing technology and quality*. Chapman & Hall, UK.

S. SOMIGLI, G. PERRA*, F. BORGHINI*, S. FOCARDI*, A. UGOLINI

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze, Via Romana, 17 – 50125 Firenze, Italia.
ugolini_alb@dbag.unifi.it

*Dip. di Scienze Ambientali, Università di Siena, Italia.

GLI ANFIPODI SOPRALITORALI COME POSSIBILI BIOINDICATORI DELLA CONTAMINAZIONE DA IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI

SUPRALITTORAL AMPHIPODS AS POSSIBLE BIOINDICATORS OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS CONTAMINATION

Abstract – We evaluated the relationship between PAHs concentration in two supralittoral amphipods and in the sand. Results show that *Talitrus saltator* seems to accumulate 11 out of 16 PAHs, instead *Talorchestia ugolini* shows an accumulation of 4 out of 16 PAHs. Therefore supralittoral amphipods could be promising bioindicators of PAHs contamination.

Key-words: amphipods, sediment, polycyclic aromatic hydrocarbons, bioaccumulation.

Introduzione – Studi sulla utilizzazione di bioindicatori della contaminazione da idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in ambiente marino sono molto numerosi (Meador *et al.*, 1995; Baumard *et al.*, 1998). Tuttavia, la fascia sopralitorale, soggetta ad un notevole afflusso di questi composti, ha ricevuto scarsa attenzione. Il presente lavoro costituisce una prima indagine sulla possibilità di impiegare anfipodi talitridi come bioindicatori della contaminazione da IPA.

Materiali e metodi – Individui adulti di *Talitrus saltator*, *Talorchestia ugolini* (Crustacea, Amphipoda) e sabbia sono stati raccolti tra dicembre 2006 e gennaio 2008 in 2 località: Foce Fiume Morto Vecchio (Pisa) e Ghisonaccia (Corsica). I campioni sono stati congelati, disidratati e quindi liofilizzati. La determinazione qualitativa e quantitativa dei 16 composti considerati inquinanti prioritari previsti dall'EPA (Environmental Protection Agency) è avvenuta mediante HPLC con rivelatore a serie di fotodiodi (Waters® PDA 996) e con rivelatore a fluorescenza (Waters® 474 Scanning Fluorescence Detector). Per avere un'indicazione sull'origine pirolitica o petrogenica della contaminazione sono stati utilizzati alcuni rapporti molecolari (Sicre *et al.*, 1987; Budzinski *et al.*, 1997).

Risultati – La Fig.1 mostra la differenza fra animali e sedimento per ognuno dei 16 IPA considerati. Come si può notare la concentrazione di 4 composti aromatici (An, BkF, BghiP, IP, vedi didascalìa) in *T. ugolini* è decisamente maggiore rispetto a quella presente nel substrato (differenza superiore dal 38% al 98%). Per quanto riguarda *T. saltator* la quantità di IPA presenti nei talitri è chiaramente maggiore rispetto alla sabbia per 11 composti; soltanto per BaA, Chry, BkF e BaP si ha una differenza percentuale negativa.

Per i campioni corsi di sabbia e animali è stato possibile determinare solo il rapporto Phe/An a causa di alcuni valori sotto al limite di rilevabilità. Il rapporto Phe/An è risultato per tutti i campioni (toscani e corsi) <10. Il rapporto Chry/BaA per la sabbia raccolta sul litorale toscano è risultato <1. Per *T. saltator* il rapporto molecolare Fl/Py è risultato >1, Fl/(Fl+Py) >0,5 e Py/BaP <10.

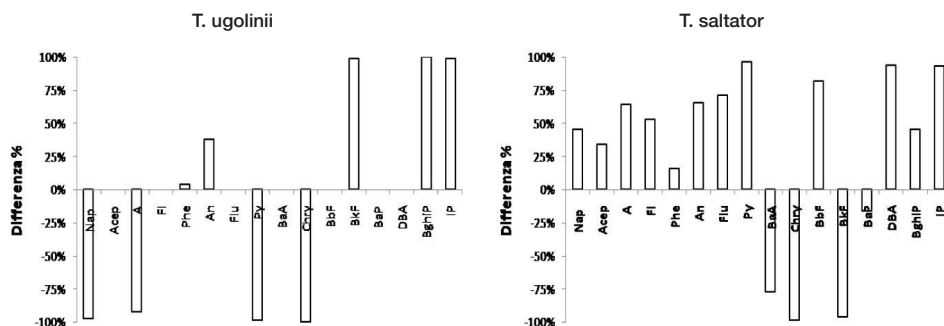


Fig. 1 - Differenza percentuale tra la concentrazione di IPA negli anfipodi e nella sabbia. I valori che ricadono nel quadrante superiore (valori positivi dell'asse delle ordinate) indicano una concentrazione maggiore negli anfipodi rispetto alla sabbia. NaP, Naftalene; Acep, Acenaphtilene; A, Acenaphtene; Fl, Fluorene; Phe, Fenantrene; An, Antracene; Flu, Fluorantene; Py, Pirene; BaA, Benzo(a)antracene; Chry, Crisene; BbF, Benzo(b)fluorantene; BkF, Benzo(k)fluorantene; BaP, Benzo(a)pirene; DBA, Dibenzo(a,h)antracene; BghiP, Benzo(g,h,i)perilene; IP, Indeno(1,2,3,cd)pirene.

Percentage difference between PAHs concentration in amphipods and sand. Values in the upper quadrant (positive values of the y-axis) mean higher concentration in animals than in sand. NaP, Naphtalene; Acep, Acenaphtilene; A, Acenaphtene; Fl, Fluorene; Phe, Phenantrene; An, Anthracene; Flu, Fluoranthene; Py, Pyrene; BaA, Benzo(a)anthracene; Chry, Chrysene; BbF, Benzo(b)fluoranthene; BkF, Benzo(k)fluoranthene; BaP, Benzo(a)pyrene; DBA, Dibenzo(a,h)anthracene; BghiP, Benzo(g,h,i)perylene; IP, Indeno(1,2,3,cd)pyrene.

Conclusioni – I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare che *T. saltator* e *T. uogolinii* sembrano essere in grado di accumulare idrocarburi policiclici aromatici. La diversa capacità di bioaccumulo di questi composti da parte delle due specie prese in esame è probabilmente dovuta oltre che a differenze interspecifiche anche alle diverse località di campionamento. Diversamente da quanto avviene per alcuni molluschi e crostacei marini (Baumard *et al.*, 1998), è osservabile una tendenza di questi anfipodi ad accumulare in quantità maggiore IPA con peso molecolare più elevato (5-6 anelli benzenici). Circa la natura della contaminazione i rapporti molecolari sembrano indicare un'origine di tipo pirolitico. Gli anfipodi sopralitorali possono pertanto essere considerati come promettenti bioindicatori della contaminazione da idrocarburi policiclici del sopralitorale.

Bibliografia

- BAUMARD P., BUDZINSKI H., GARRIGUES P., SORBE J.C., BURGEOT T., BELLOQ J. (1998) – Concentration of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Mar. Poll. Bull.*, **36**: 951-960.
- BUDZINSKI H., JONES I., BELLOQ J., PIERRAD C., GARRIGUES P. (1997) – Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Mar. Chem.*, **58**: 85-97.
- MEADOR J.P., STEIN J.E., REICHERT W.L., VARANASI U. (1995) – Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **143**: 79-165.
- SICRE M.A., MARTY J.C., SALIOT A., APARICIO X., GRIMALT J., ALBAIGES J. (1987) – Aliphatic and aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean Sea: occurrence and origin. *Atmos. Environ.*, **21**: 2247-2259.

M. TORRESI*, V. ACCIARI, A. PIANO, P. SERRATORE, V. PRENCIPE*, G. MIGLIORATI*

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale",
Campo Boario - 64100 Teramo, Italia.
marinatorresi2002@yahoo.it

RICERCA DI *VIBRIO SPLENDIDUS* E DELLE SPECIE CORRELATE IN *CHAMELEA GALLINA* PRELEVATE NEL TRATTO DI MARE ADRIATICO ANTISTANTE LA REGIONE ABRUZZO

RESEARCH OF *VIBRIO SPLENDIDUS* AND RELATED SPECIES IN *CHAMELEA GALLINA* SAMPLED IN ADRIATIC SEA ALONG ABRUZZI COASTS

Abstract – This study analysed 37 samples of clams (*Chamelea gallina*) collected along the coasts of Abruzzo region for *Vibrio* spp. detection from May to October in 2007. Biochemical tests according to Alsina scheme were performed on 30 strains for *Vibrio splendidus* identification. Molecular analysis of the intergenic space region 16S-23S and *recA* gene were used in order to identify *V. splendidus* and related species.

Key-words: *Chamelea gallina*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio* spp., Adriatic sea, *RecA*.

Introduzione - Studi effettuati negli ultimi decenni riportano l'elevata presenza di *Vibrio* spp. in Molluschi bivalvi prelevati nel Mare Adriatico e nel Mar Ionio (Cavallo *et al.*, 2002; Vernocchi *et al.*, 2007). Attualmente non esistono dati per le coste abruzzesi. Questo studio ha investigato la presenza del genere *Vibrio* in *Chamelea gallina* (vongola), in particolare, è stata posta particolare attenzione alla rilevazione di ceppi di *Vibrio splendidus* e ceppi ad esso correlati in seguito al loro isolamento in una moria di vongole osservata nell'anno 2006 in Mare Adriatico.

Materiali e metodi - Sono stati esaminati 37 campioni di *Chamelea gallina* prelevati, nel periodo maggio-ottobre 2007, nel tratto di mare antistante la costa abruzzese. I ceppi di *Vibrio* spp. sono stati isolati secondo la norma ISO 21872-2:2007, modificando la temperatura di incubazione a 25 ± 1 °C per favorire la crescita di *V. splendidus*. I ceppi di *Vibrio* spp sono stati identificati biochimicamente come *V. splendidus* secondo lo schema di Alsina (Alsina *et al.*, 1994) e confermati in PCR sulla base del tratto intergenico 16S-23S secondo la metodica descritta da Lee *et al.*, 2002. L'identificazione molecolare dei ceppi è stata effettuata mediante amplificazione e sequenziamento del gene *recA*, secondo il protocollo descritto da Thompson (Thompson *et al.*, 2005). L'analisi delle sequenze è stata realizzata con il programma ClustalW (MEGA 4.0) e le relazioni filogenetiche sono state individuate mediante la realizzazione di un dendrogramma costruito con il metodo statistico Neighbor-Joining, sulla base dei valori di distanza genetica p-distance. Le sequenze ottenute sono state confrontate con quelle depositate nel database GenBank.

Risultati - I 37 campioni di *Chamelea gallina* sono risultati tutti contaminati da *Vibrio* spp. Sono stati presi in considerazione 102 ceppi di *Vibrio* spp. corrispondenti a quelli per i quali è stato possibile ottenere l'identificazione di specie mediante test biochimici. Sulla base delle analisi molecolari, il 25% dei ceppi esaminati sono risultati appartenenti al cluster *splendidus* related.

In particolare, le analisi biochimiche hanno evidenziato la presenza di *V. splendidus* nel 46% dei campioni analizzati permettendo l'isolamento e l'identificazione di 30 ceppi. Con le indagini molecolari del tratto 16S-23S, invece, 5 di questi ceppi sono

risultati negativi. Pertanto, sono stati sequenziati i restanti 25 che hanno prodotto ampliconi delle dimensioni attese.

Sulla base delle sequenze del gene *recA*, infine, è stato possibile identificare 23 dei 25 ceppi poiché due sequenze non sono risultate interpretabili. Il dendrogramma prodotto con le sequenze ottenute ha evidenziato come tutti i ceppi, tranne uno, siano risultati compresi nel cluster noto come “*V. splendidus*-related group” suddiviso in due subcluster principali. Il primo, contenente il ceppo ATCC di *V. chagasii*, ha incluso 9 ceppi isolati nella presente ricerca, l'altro cluster, contenente i ceppi ATCC di *V. splendidus* e di specie affini (*V. lentus*, *V. kanaloe*, *V. pomeroyi*, *V. tasmaniensis*), ha incluso i restanti 13 ceppi. In particolare, l'unico ceppo non incluso nel cluster “*V. splendidus*-related group” si è collocato ai margini non trovando sequenze con similarità nucleotidica oltre l'82% nel database consultato.

Conclusioni - Le tecniche di identificazione biochimica previste dai metodi analitici ufficiali si sono dimostrate, in questo studio, insufficienti nel discriminare i ceppi di *Vibrio splendidus* isolati dai campioni di *Chamelea gallina*. Al fine di effettuare una corretta identificazione dei ceppi, si è resa necessaria l'applicazione di tecniche molecolari sofisticate come l'amplificazione selettiva del tratto intergenico 16S-23S e il sequenziamento del gene *recA*. L'analisi filogenetica dei ceppi isolati e di riferimento ha evidenziato la complessità del gruppo “*V. splendidus*-related”, nonostante l'utilizzo di marcatori a elevatissimo potere discriminante. La presenza di un ceppo non incluso nel cluster “*V. splendidus*-related group” permette di ipotizzare l'esistenza di una specie attualmente non identificata che rende necessarie ulteriori analisi.

Bibliografia

- ALSINA M., BLANCH A.R. (1994) - A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *J. Appl. Bacteriol.*, **76**: 79-85.
- CAVALLO R.A., STABILI L. (2002) - Presence of vibrios in seawater and *Mytilus galloprovincialis* (Lam.) from the Mar Piccolo of Taranto (Ionian sea). *Water Res.*, **36**: 3719-3726.
- LEE S.K.Y., WANG H.Z., LAW S.H.W., WU R.S.S., KONG R.Y.C. (2002) - Analysis of the 16S-23S rDNA intergenic spacers (IGSs) of marine vibrios for species-specific signature DNA sequences. *Mar. Pollut. Bull.*, **44**: 412-420.
- THOMPSON F.L., GEVERS D., THOMPSON C.C., DAWYNDT P., NASER S., HOSTE B., MUNN C.B., SWINGS J. (2005) - Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of Multilocus Sequence Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71** (9): 5107-5115.
- VERNOCCI P., MAFFEI M., LANCIOTTI R., SUZZI G., GARDINI F. (2007) - Characterization of mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) harvested in Adriatic Sea (Italy). *Food Control*, **18**: 1575-1583.

A. UGOLINI, S. SOMIGLI, G. UNGHERESE, D. BARONI*, S. FOCARDI*

Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze, Via Romana, 17 – 50125 Firenze, Italia.
ugolini_alb@dbag.unifi.it

*Dip. di Scienze Ambientali, Università di Siena, Italia.

**ORCHESTIA MONTAGUI (CRUSTACEA, AMPHIPODA):
BIOINDICATORE DELLA CONTAMINAZIONE
DA METALLI PESANTI DEI LITORALI SABBIOSI E ROCCIOSI**

**ORCHESTIA MONTAGUI (CRUSTACEA, AMPHIPODA):
BIOINDICATOR OF HEAVY METAL CONTAMINATION OF SANDY
AND ROCKY SHORES.**

Abstract – We tested the possibility to use *Orchestia montagui* (Crustacea, Amphipoda) as bioindicator of trace metal contamination of the supralittoral zone. *O. montagui* accumulates all the three metals tested: Zn, Cu and Cr. Therefore this species could be a promising good bioindicator of supralittoral zone of rocky and sandy shores.

Key-words: *Orchestia montagui*, heavy metals, bioaccumulation, sandy and rocky shores.

Introduzione – È noto che gli ambienti costieri sono soggetti ad apporti di numerosi inquinanti di varia origine. Numerosi studi hanno rivelato che molte specie di talitridi risultano buoni bioindicatori della contaminazione da metalli in traccia (Rainbow *et al.*, 1989; Marsden e Rainbow, 2004; Ugolini *et al.*, 2004). *Orchestia montagui* è un anfipode sopralitorale ampiamente distribuito nel bacino del Mediterraneo che vive in associazione con ammassi di materiale spiaggiato (*Posidonia oceanica*) su substrati sabbiosi e rocciosi. Nel presente lavoro è stata valutata la capacità di bioaccumulo di alcuni metalli pesanti da parte di questo anfipode il quale, essendo in grado di adattarsi a diversi tipi di habitat sopralitorali, potrebbe rappresentare un valido bioindicatore della contaminazione da metalli in traccia.

Materiali e metodi – Individui adulti di *O. montagui*, sabbia e *P. oceanica* spiaggiata sono stati raccolti tra Maggio e Settembre 2006 in 12 località del litorale tirrenico: 3 siti sulle coste siciliane e i restanti 9 sui litorali di tre isole dell'arcipelago toscano (Capraia, Pianosa, Elba). I campioni sono stati congelati, disidratati a 40 °C e quindi finemente triturati e mineralizzati. Circa 150 mg di ogni campione sono stati mineralizzati. Le analisi sono state effettuate tramite spettrometria ad assorbimento atomico: lo Zn è stato determinato con lo spettrometro di emissione al Plasma (ICP/EAS, “Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry”) mentre Cr e Cu attraverso atomizzazione con fornetto di grafite e correttore di fondo Zeeman.

Risultati – La correlazione tra la concentrazione dei metalli in traccia negli anfipodi e nel sedimento è statisticamente significativa solo per Zn ($r_s=0.943$, $n=6$, $p<0,05$; Spearman rank-order correlation test), mentre la relazione tra concentrazione dei contaminanti negli animali e nel materiale spiaggiato è statisticamente significativa per Cu e Cr (Cu: $r_s=0.866$, $n=9$, $p<0,01$; Cr: $r_s=0.769$, $n=9$, $p<0,05$; Spearman rank-order correlation test). La concentrazione di Cu e Zn risulta più elevata in *O. montagui* che nel materiale spiaggiato ($n=9$, $x=0$, $p<0.002$; Sign test), inoltre Cu è presente in maggiori quantità negli animali anche rispetto alla sabbia ($n=6$, $x=0$, $p<0.02$; Sign test). Il Cr, al contrario, è presente in maggiori quantità nello spiaggiato che negli anfipodi ($n=9$, $x=1$, $p<0,02$; Sign test).

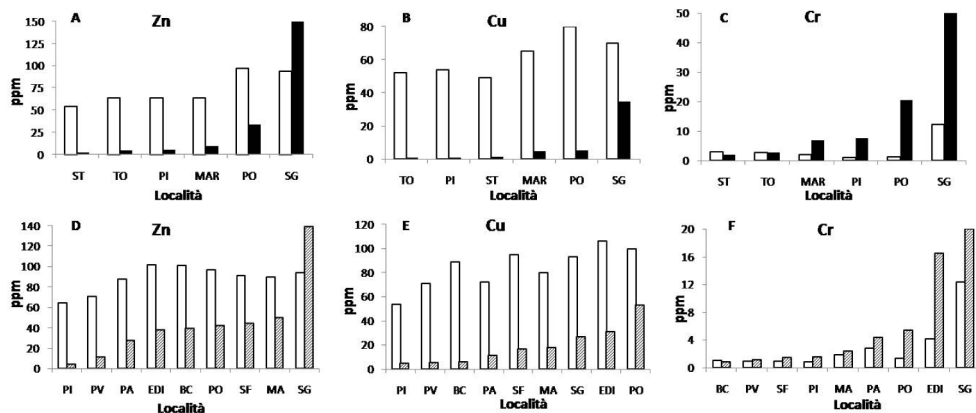


Fig. 1 - Concentrazione dei metalli negli animali, nel sedimento e nello spiaggiato. A, B, C: concentrazione dei metalli negli animali (barre bianche) e nella sabbia (barre nere). E, F, G: concentrazioni dei metalli negli animali e nello spiaggiato (barre grigie). ST, San Teodoro; TO, Lido Torrazza; PI, Pianosa; MAR, Marsala; PO, Capraia Porto; SG, San Giovanni; PV, Porto Vecchio; PA, Patresi; EDI, Portoferraio; BC, Baia Carbicina; SF, San Francesco; MA, Magazzini.

Metal concentration in O. montagui, sediment and stranded material. A, B, C: animals (white bars) and sand (black bars) metal concentration. E, F, G: animals and stranded material (grey bars) metal concentration. ST, San Teodoro; TO, Lido Torrazza; PI, Pianosa; MAR, Marsala; PO, Capraia Porto; SG, San Giovanni; PV, Porto Vecchio; PA, Patresi; EDI, Portoferraio; BC, Baia Carbicina; SF, San Francesco; MA, Magazzini.

Conclusioni – I risultati ottenuti mostrano la buona capacità di bioaccumulo da parte di *O. montagui* di Zn, Cu e Cr indipendentemente dalla loro concentrazione nel substrato e nel materiale spiaggiato. Zn e Cu sono infatti presenti negli animali in quantità notevolmente maggiori rispetto alla sabbia o allo spiaggiato in quasi tutte le località di raccolta. Per quanto riguarda il Cr, nonostante sia presente in minor quantità negli animali che nello spiaggiato, si osserva una correlazione positiva tra la concentrazione del contaminante negli anfipodi e nello spiaggiato, risultato analogo a quanto riportato in letteratura per *Talitrus saltator* (Ugolini *et al.*, 2004). Pertanto *O. montagui* può essere considerato un promettente bioindicatore della contaminazione da metalli in traccia nell'ambiente costiero sopralitorale.

Bibliografia

- MARSDEN I.D., RAINBOW P.S. (2004) – Does the accumulation of trace metals in Crustaceans affect their ecology-the Amphipods example? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **300**: 373-408.
- RAINBOW P.S., MOORE P.G., WATSON D. (1989) – Talitrid amphipods (Crustacea) as biomonitors for copper and zinc. *Est. Coast. Shelf Sci.*, **28**: 567-582.
- UGOLINI A., BORGHINI F., CALOSI P., BAZZICALUPO M., CHELAZZI G., FOCARDI S. (2004) – Mediterranean *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as a biomonitor of heavy metals contamination. *Mar. Pollut. Bull.*, **48**: 526-532.

La ricerca è stata finanziata dalla Fondazione Monte dei Paschi (Siena) (contributo 31017). Si ringrazia l'Ente Parco Nazionale dell'Arcipelago Toscano per l'autorizzazione ai campionamenti sull'isola di Pianosa.

G. UNGHERESE, D. BARONI*, A. UGOLINI

Dipartimento di Biologia Animale e Genetica, Università di Firenze, Via Romana, 17 - 50125 Firenze, Italia.
ugolini_alb@dbag.unifi.it

*Dip. di Scienze Ambientali, Università di Siena, Italia.

L'ORIENTAMENTO SOLARE IN *TALITRUS SALTATOR*: BIOMARCATORE DELL'ESPOSIZIONE A METALLI IN TRACCIA?

SOLAR ORIENTATION IN TALITRUS SALTATOR: *BIOMARKER OF TRACE METALS EXPOSURE?*

Abstract - We investigated the possibility to use the capacity of solar orientation of *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as an exposure marker for two trace metals (Hg Zn). The presence of metals affects negatively the sandhoppers' orientation capacity according to the different degree of toxicity. Therefore, in *T. saltator* the solar orientation could be used as "early warning signal" of exposure to trace metals.

Key-words: biomarkers, metals, amphipods, *Talitrus saltator*.

Introduzione – Numerosi studi hanno dimostrato l'importanza degli anfipodi talitridi litorali (e.g. *Talitrus saltator* e *Orchestia gammarellus*) come bioindicatori della contaminazione da metalli in traccia (Mardsen e Rainbow, 2004; Ugolini *et al.*, 2004). Al contrario, le ricerche riguardanti l'effetto di metalli sul comportamento di crostacei litorali risultano rare nonostante le profonde conseguenze che le variazioni comportamentali possono causare sia a livello di popolazione e comunità oltre che a livello del singolo individuo (Wallace e Estephan, 2004). Abbiamo pertanto ritenuto interessante valutare la possibilità di utilizzare il meccanismo di orientamento solare, usato dai talitri per far ritorno alla fascia di sabbia umida della spiaggia, come biomarcatore dell'esposizione a metalli in traccia.

Materiali e metodi - Individui adulti di *T. saltator* sono stati raccolti a Fiume Morto Vecchio (Parco Regionale di Migliarino, S. Rossore e Massaciuccoli) durante la primavera-estate del 2007. Prima di compiere i test di orientamento solare è stato eseguito il test di tossicità LC₅₀ a 96 h (valori calcolati con il metodo trimmed Spearman-Kärber) poiché non esistono dati in letteratura riguardanti la sensibilità di *T. saltator* ai metalli utilizzati. Per quel che riguarda i saggi comportamentali sono state utilizzate soluzioni di acqua marina artificiale (salinità = 33‰) contenenti HgCl₂ o ZnCl₂ alle concentrazioni di 1 e 5 ppm. L'apparato sperimentale utilizzato è quello impiegato da anni nei saggi di orientamento astronomico (Ugolini e Macchi, 1988). Per l'analisi dei dati sono state utilizzate le procedure della statistica circolare (Batschelet, 1981) e, in particolar modo, è stato impiegato il V test per verificare la non-uniformità delle distribuzioni.

Risultati – I risultati dell' LC₅₀ indicano che per *T. saltator* il Hg è più tossico (LC₅₀ = 0,02 ppm) rispetto allo Zn (LC₅₀ = 62,7 ppm). I saggi comportamentali effettuati in presenza di Hg indicano una notevole influenza del metallo sulla capacità dei talitri di dirigersi verso la direzione attesa generando, inoltre, un notevole grado di dispersione (Fig. 1). Al contrario, lo Zn non sembra esercitare alcuna influenza sulla capacità di assumere una direzione ecologicamente efficace da parte di *T. saltator* sia a 5 ppm che ad 1 ppm (Fig. 1).

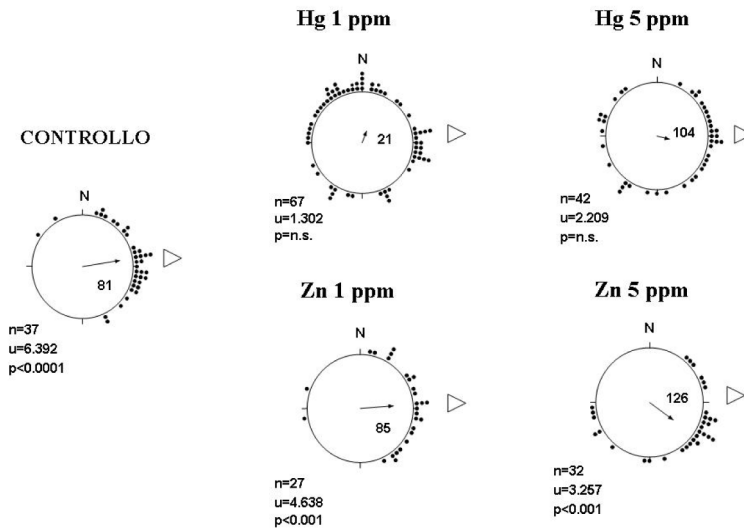


Fig. 1 - Saggi di orientamento solare. Puntini neri, direzioni degli animali; N, Nord; n, numero di individui rilasciati; u, valore del V test con il livello di probabilità, P. Il triangolo bianco rappresenta la direzione attesa. In ogni distribuzione è inoltre rappresentato il vettore medio risultante con il valore dell'angolo medio.

Trials of solar orientation. Black dots, sandhoppers directions, N, North, n, sample size, u, V test value with the probability level P. White triangle, seaward direction for solar orientation. In each distribution the mean vector and angle are also represented.

Conclusioni – I risultati dell' LC_{50} mostrano che i metalli utilizzati hanno un diverso grado di tossicità per *T. saltator* ($Hg > Zn$) così come avviene per altre specie di anfipodi (e.g. *Gammarus italicus* e *Echinogammarus tibaldi*) (Pantani *et al.*, 1997). Inoltre, i risultati dei test di orientamento solare sono in buon accordo con la diversa tossicità. Infatti, il Hg provoca un maggiore effetto negativo sulla corretta scelta direzionale da parte di *T. saltator* rispetto allo Zn. Pertanto, l'orientamento solare in *T. saltator* sembra essere un promettente biomarcatore dell'esposizione a metalli in traccia.

Bibliografia

- BATSCHULET E. (1981) – *Circular statistics in biology*. Academic Press, London: 366 pp.
- MARDSEN I.D., RAINBOW P.S. (2004) – Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology – the amphipod example? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **300**: 373-408.
- PANTANI C., PANNUNZIO G., DE CRISTOFORO M., NOVELLI A.A., SLVATORI M. (1997) – Comparative acute toxicity of some pesticides, metals, and surfactants to *Gammarus italicus* Goedm. and *Echinogammarus tibaldi* Pink. and Stock (Crustacea: Amphipoda). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **59**: 963-967.
- UGOLINI A., MACCHI T. (1988) – Learned component in the solar orientation of *Talitrus saltator* Montagu (Amphipoda: Talitridae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **121** (1): 79-87.
- UGOLINI A., BORGHINI F., CALOSI P., BAZZICALUPO M., CHELAZZI G., FOCARDI S. (2004) – Mediterranean *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as a biomonitor of heavy metals contamination. *Mar. Poll. Bull.*, **48**: 526-532.
- WALLACE W.G., ESTEPHAN A. (2004) – Differential susceptibility of horizontal and vertical swimming activity to cadmium exposure in a gammaridean amphipod (*Gammarus lawrencianus*). *Aquat. Toxicol.*, **69**: 289-297.

A. ZACCARONI, M. SILVI, A. GUSTINELLI, D. SCARAVELLI

Corso di Laurea in Acquacoltura ed Ittiopatologia, Università di Bologna,
Viale Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.
annalisa.zaccaroni@unibo.it

PRIMI RILIEVI DI METALLI PESANTI IN PESCE LUNA (*MOLA MOLA*) DELL'ALTO ADRIATICO

FIRST DATA ON HEAVY METALS IN SUNFISH (MOLA MOLA) FROM NORTHERN ADRIATIC SEA

Abstract - Heavy metals concentration was evaluated in tissues collected from stranded sunfish *Mola mola* from Northern Adriatic Sea. Obtained data show characteristic distribution of metals among tissues, which differs from that of other fish species. Present data are to our knowledge the first one concerning pollutants presence in this species.

Key-words: heavy metals, tissues, *Mola mola*, Northern Adriatic Sea.

Introduzione - La presenza di *Mola mola* nell'Alto Adriatico è segnalata sporadicamente, e rari sono gli spiaggiamenti per questa specie. La sua rarità ha fatto sì che non esistano al momento dati relativi alla presenza di contaminanti ambientali in queste specie, il cui interesse è legato al fatto che sono animali che raggiungono grandi dimensioni e vivono a lungo, e possono quindi potenzialmente accumulare elevate quantità di contaminanti (Houghton *et al.*, 2006). La composizione della dieta di *M. mola* fa ritenere però probabile un forte accumulo di alcuni metalli pesanti, quali cadmio ed arsenico, in quanto le sue prede sono forti accumulatrici di questi elementi (Ritterhoff e Zauke, 1997). Il presente lavoro riporta le concentrazioni di metalli pesanti in vari tessuti prelevati da 3 esemplari di *M. mola* spiaggiati nell'Alto Adriatico tra il 2004 e il 2008.

Materiali e metodi - Campioni di vari tessuti (rene, fegato, gonade, milza, muscolo, grasso, sottocute e tessuto branchiale) sono stati prelevati da tre esemplari femmina di *M. mola* rinvenuti morti tra il 2004 ed il 2008 lungo le coste dell'Adriatico nord occidentale. Aliquote dei tessuti (0.7 g tessuto fresco) sono state sottoposte a procedure di mineralizzazione con forno a microonde ed a successiva analisi per la quantificazione di metalli pesanti (Pb, As, Cd, Hg, Cr, Cu, Se, Fe, Ni) con tecnica ICP-OES. In considerazione dell'esiguità del campione, non è stato possibile effettuare un'analisi statistica dei dati ottenuti, che vengono quindi presentati solo come dati grezzi nei vari tessuti analizzati.

Risultati - I risultati ottenuti dell'analisi dei tessuti consentono di definire innanzitutto come nei tre soggetti da noi analizzati vi siano notevoli differenze interindividuali ed inter-tissutali per tutti i metalli, sia essenziali (Cu, Se, Fe, Ni) che tossici (Pb, As, Cd, Cr, Hg), come riportato in Tab. 1. È interessante notare come sembra esservi un trend generale, per molti dei metalli oggetto di studio, alla diminuzione delle concentrazioni tissutali con l'aumentare delle dimensioni degli animali. Il fenomeno è particolarmente evidente per Se, Hg, Cr, Pb, Fe, Cd, mentre per gli altri metalli la variabilità risulta maggiore. È comunque interessante notare come ad esempio l'As e il Cu seguano lo stesso andamento in rene, fegato e gonadi, unici tessuti raccolti in tutti e tre i soggetti, e come questo trend sembri mantenersi anche negli altri tessuti. Pare quindi che in questa specie, per la quale non esistono dati di riferimento di natura tossicologica o di fisiologia dei metalli essenziali, vi sia una tendenza a ridurre i livelli tissutali di contaminanti e di elementi essenziali, fenomeno che risulta difficilmente

spiegabile in funzione della cinetica nota per questi elementi, che tendono a biomagnificare nelle specie animali. È interessante rilevare come il Cd, che normalmente viene reperito a più alte concentrazioni nel tessuto renale, sia sempre più elevato nel fegato, seguito da rene e dalla milza. Per quanto riguarda l'As, analogamente a quanto osservato in altri organismi planctofagi quali le mante (*Mobula mobular*), i livelli più elevati sono reperiti in fegato, rene e grasso, sebbene in questo caso si osservino punte elevate anche in milza e muscolo. L'elevata variabilità osservata non consente di definire se le punte osservate in alcuni tessuti vadano intese come indicative di intossicazione o siano uno stato "normale" per questa specie, che potrebbe aver sviluppato fenomeni di adattamento, al pari di altre specie planctofaghe, agli elevati tenori di As presenti nelle loro prede.

Tab. 1 - Livelli di metalli reperiti nei tessuti delle tre femmine di *Mola mola*.

Heavy metals concentration observed in the tissues of the three females Mola mola.

Sog.	Sesso	Peso (kg)	Tessuto	Metallo (mg/kg)								
				Cu	Cd	As	Se	Hg	Cr	Pb	Ni	Fe
1	F	540	Rene	10,41	16,05	33,01	31,58	1,28	0,63	0,09	0,7	541
			Fegato	41,97	27,89	23,73	5,24	0,58	0,18	<LOD	0,07	620
			Gonadi	3,21	0,38	16,52	5,09	1,13	0,021	<LOD	<LOD	33,38
			Milza	1,93	0,93	32,57	127	1,12	0,16	<LOD	0,2	829
			Sottocute	0,16	0,06	22,16	2,88	0,18	1,38	<LOD	0,1	12
			Muscolo	7,76	7,77	31,81	9,56	0,53	2,12	1,72	1,14	599
2	F	1050	Rene	13,07	2,733	3,295	2,178	0,046	2,573	<LOD	<LOD	158
			Fegato	104,5	7,534	6,149	1,334	0,053	0,173	<LOD	0,804	22,41
			Gonadi	5,11	0,132	2,095	0,682	0,047	0,837	0,045	1,317	25
			Muscolo	3,031	0,047	2,25	0,227	<LOD	0,204	<LOD	0,047	6,558
			Branchie	3,822	0,156	0,896	0,254	<LOD	3,741	0,524	<LOD	100
3	F	1160	Rene	2,103	0,433	6,091	1,639	<LOD	0,193	<LOD	<LOD	29,21
			Fegato	70,66	5,985	19,41	1,196	0,06	0,087	<LOD	0,076	153
			Gonadi	1,577	0,028	2,807	0,425	0,003	0,091	<LOD	<LOD	8,873
			Milza	2,434	0,113	10,23	8,258	<LOD	0,232	0,008	0,43	324
			Sottocute	1,736	0,088	2,134	0,681	<LOD	0,192	0,032	<LOD	35,11
			Branchie	2,648	0,09	1,974	0,325	<LOD	2,023	0,311	0,585	174
			Grasso	1,324	0,008	20,82	0,474	0,021	0,226	<LOD	0,049	1,846

Conclusioni - I risultati ottenuti sono i primi, a nostra conoscenza, relativi alla presenza di metalli pesanti in *Mola mola*, specie per altro scarsamente conosciuta non solo sotto il punto di vista tossicologico, ma anche per quanto riguarda la sua biologia in generale. Da quanto ottenuto, pare che questa specie sia caratterizzata da fenomeni di biominificazione, rilievo piuttosto raro nel mondo animale, ed in particolare tra le specie ittiche (Zhao *et al.*, 2001). La tipologia di alimentazione e la conseguente posizione lungo la catena trofica (4 secondo Fishbase) potrebbero essere una possibile spiegazione del fenomeno (Froese e Pauly, 2004).

Bibliografia

- HOUGHTON J.D.R., DOYLE T.K., DAVENPORT J., HAYS G.C. (2006) - The ocean sunfish *Mola mola*: insights into distribution, abundance and behaviour in the Irish and Celtic Seas. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **86**: 1237-1243.
- RITTERHOFF J., ZAUKE G.P. (1997) - Trace metals in field samples of zooplankton from the Fram Strait and the Greenland Sea, *Sci. Total Environ.*, **199**: 255-270.
- FROESE R., PAULY D. (2004) - Fishbase. World Wide Web Electronic Publication. <http://www.fishbase.org>.
- ZHAO X., WANG W-X., YU K.N., LAM P.K.S. (2001) - Biomagnification of radiocesium in a marine piscivorous fish. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **222**: 227-237.

F. BOERO, A. RINALDI*

DiSTeBA, Università del Salento - 73100 Lecce, Italia.
boero@unile.it

*ARPA Emilia – Romagna Struttura Oceanografica Daphne, V.le Vespucci, 2 – 47042 Cesenatico (FC), Italia.

LA BIODIVERSITÀ E I MACRODESCRITTORI DELLA STORIA DELL'ADRIATICO

BIODIVERSITY AND MACRODESCRIPTORS OF THE ADRIATIC SEA HISTORY

Abstract – *Macrodescriptors such as changes in seasonal patterns modifying temperature trends, presence of key events such as gelatinous plankton blooms, red tides, mucilages and mass mortalities, contribute to define the history of any ecosystem. In the Mediterranean sea, these events, together with many others, are leading to a drastic change in environmental conditions, probably driven by global warming. Coastal biota are subjected to the northward spread of species typical of the southern part of the basin (meridionalization), being also changed by the arrival and establishment of tropical species, entering either from the Suez Canal or from Gibraltar and being also introduced by human transport. Changes in the patterns of deep water formation near the surface, leading to the Eastern Mediterranean Transient, affect also the deep sea. These changes in the biota of a small basin like that of the Mediterranean possibly reflect what will happen in the world ocean, where changes are slower due to the large scale of the basin. Monitoring (the regular repetition of a standardized set of measures) and observation (the recording of any phenomenon that deviates from regular patterns and processes, i.e. monitored ones) are crucial to describe and understand the world around us.*

Key-words: *Mediterranean Sea, macrodescriptors, global change, monitoring, biodiversity, history.*

Il Mediterraneo: un oceano su piccola scala

In un periodo di riscaldamento globale, i bacini piccoli sono più sensibili alle variazioni e, oltre a rispondere prima degli oceani, manifestano segnali più chiari. Il Mediterraneo è a tale riguardo emblematico, un laboratorio perfetto per testare gli effetti dei mutamenti climatici in atto. Se a questa condizione si aggiungono le informazioni provenienti dall'Alto e medio Adriatico, il panorama degli effetti può assumere una connotazione ancor più definita.

Il ruolo dell'Adriatico rispetto al Mediterraneo Orientale

Se l'Adriatico fosse una specie, le potrebbe essere attribuito un ruolo keystone rispetto alla comunità rappresentata dal Mediterraneo, rivestendo un ruolo ecologico molto più importante di quello che la sua dimensione quantitativa lascerebbe presumere.

Come è noto, in Adriatico si forma acqua densa che, affondando, contribuisce al rinnovamento dell'acqua profonda del Mediterraneo orientale: un ruolo simile viene giocato dal Golfo del Leone e, in parte, dal Nord Egeo. Se questo contributo dovesse ridimensionarsi, tutto il Mediterraneo ne risentirebbe. Le nuove acque profonde, originarie in Adriatico, fanno risalire le acque residenti in profondità, impedendo una stratificazione del bacino (Bianchi *et al.*, 2006) (Fig. 1).

La ricostruzione della storia di un bacino è possibile solo attraverso la continua valutazione dello stato dell'ambiente, un'attività che, pur abbandonata in tempi recenti, si sta rivelando oggi di vitale importanza per valutare l'entità del cambiamento ormai innegabile delle condizioni dell'ambiente planetario. La straordinaria quantità di dati raccolti in oltre 30 anni dalla Struttura Oceanografica Daphne dell'ARPA Emilia-Romagna (ARPA 1982-2006) e dal Centro Ricerche Marine di Cesenatico rappresenta una eccezione virtuosa a questa tendenza. In tale ottica l'Adriatico può essere conside-

rato un caso di studio del tutto particolare, soprattutto se lo si considera come unità ecologica intesa come bacino padano- adriatico.

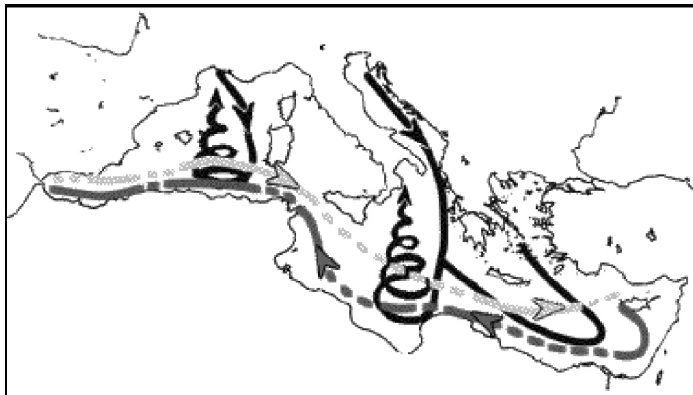


Fig. 1 - La circolazione termoalina nel Mediterraneo. Una corrente superficiale entra da Gibilterra, percorre tutto il bacino e torna indietro in profondità. In superficie, nel Golfo del Leone e nelle parti settentrionali di Adriatico ed Egeo, si formano future acque profonde che affondando, fanno risalire le acque profonde (da Bianchi *et al.*, 2006).

Thermohaline circulation in the Mediterranean Sea. A surface current enters from Gibraltar, crosses the whole basin and a deep countercurrent outflows from Gibraltar. Deep waters are formed at the surface both in the Gulf of Lions and in the Northern Adriatic and Aegean Seas, they sink and cause the surfacing of resident deep waters (after Bianchi et al., 2006).

Il condizionamento dei fiumi

È oramai condivisa l'opinione secondo la quale le condizioni fisico-chimiche, trofiche e biologiche dell'alto Adriatico siano fortemente condizionate, sia negli eventi estremi che in quelli ricadenti nella norma, dagli apporti fluviali che a corona confluiscono nella parte nord-occidentale del bacino.

Dalla metà degli anni '80 le portate del Po e degli altri fiumi minori che riversano le loro acque nell'Alto Adriatico iniziano a diminuire (Fig. 2) con una tendenza che potremmo definire progressiva.

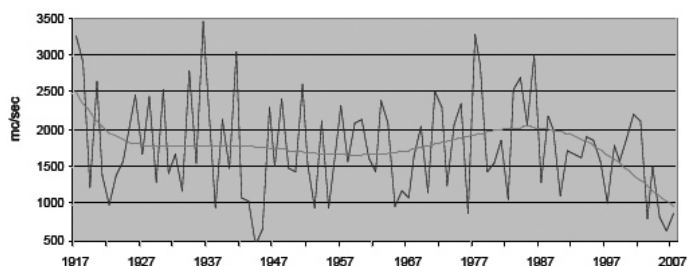


Fig. 2 - Valori medi delle portate del Po in primavera, dal 1917 al 2007.

Average values of the outflows of the Po river in the spring, from 1917 to 2007.

Conseguentemente i valori di salinità mostrano significativi incrementi rispetto ai valori medi calcolati sul medio periodo (Fig. 3).

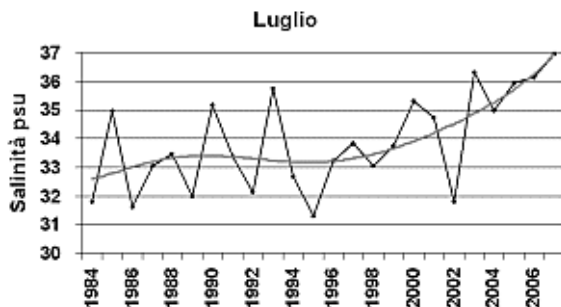


Fig. 3 - Valori di salinità misurati in Adriatico nel mese di luglio, dal 1984 al 2006.
Salinity values, measured in the Adriatic Sea in July, from 1984 to 2006.

A questo si aggiunga l'incremento delle temperature (Fig. 4) delle acque marine superficiali che in Adriatico stanno manifestando incrementi generalizzati anche se si accentuano nel periodo estivo autunnale con circa 2.5 °C rispetto la norma.

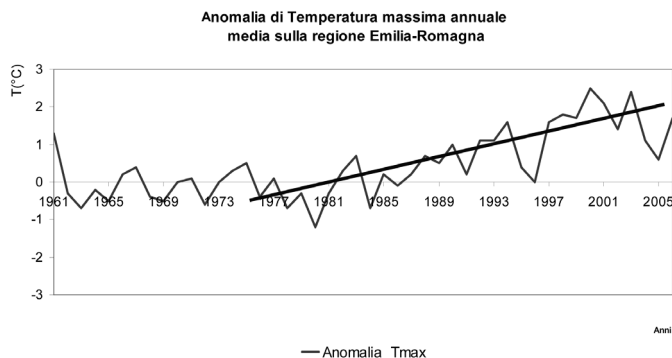


Fig. 4 - Anomalia di temperatura massima annuale media sulla regione Emilia-Romagna.
Anomaly of maximum average yearly temperature in the region Emilia-Romagna.

Il cambiamento e l'Eastern Mediterranean Transient

I cambiamenti significativi della fisica nelle acque del bacino si riverberano sulle condizioni idrologiche strutturali e, conseguentemente, sulle stratificazioni e sulle correnti. A tal riguardo si stanno notando cambiamenti dei flussi delle correnti nei periodi invernali e primaverili. In diversi casi si sono registrate correnti di tipo estivo in pieno inverno con una complessiva riduzione dei flussi e dei processi di ricambio con le acque mediterranee. Queste condizioni, nel loro insieme, si ripercuotono sulla biologia del bacino con esaltazione di processi noti e da tempo monitorati quali la tropicalizzazione e la meridionalizzazione.

Le anomalie climatiche e le loro ripercussioni sul sistema strutturale del bacino hanno già generato un significativo ridimensionamento dell'apporto di acque adriatiche nelle profondità del Mediterraneo orientale; anomalia nota come "Eastern Mediterranean transient" (CIESM, 2000) (Fig. 5).

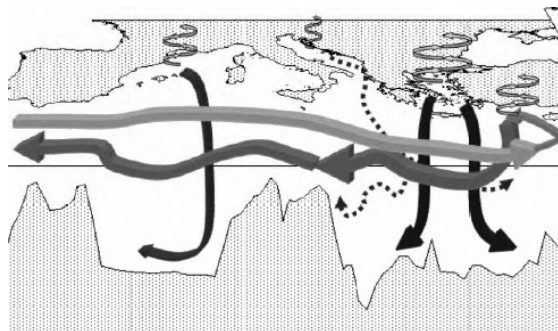


Fig. 5 - Si arresta il ruolo dell'Adriatico Settentrionale come sito superficiale di formazione di acque profonde (linea tratteggiata). Le acque profonde del Mediterraneo Orientale si formano in superficie nell'Egeo Settentrionale. Il fenomeno ha avuto luogo dal 1995 al 1999 (da Theocharis *et al.*, 2002).

The role of Northern Adriatic as site of deep water formation near the surface comes to a stop (dotted line). Eastern Mediterranean Deep Waters are formed at the surface of the Northern Aegean Sea, during 1995-1999 (after Theocharis et al., 2002).

I biota adriatici

L'aspetto saliente del ruolo chiave del bacino è la temperatura mediamente inferiore rispetto al resto del Mediterraneo. L'Adriatico, di conseguenza, ospita un biota ad affinità boreale, con molte specie endemiche (Boero e Bonsdorff, 2007). Una per tutte: *Fucus virsoides*, l'unico rappresentante di *Fucus* in Mediterraneo. In tempi di riscaldamento globale, è facile che queste specie si trovino ad affrontare situazioni critiche. Tenere "sotto controllo" lo stato dell'Adriatico è quindi di importanza strategica, sia per monitorare effetti diretti del cambiamento (la crisi delle specie boreali ad affinità fredda), sia per valutare effetti su scala di bacino, come il già citato "transient".

La storia dei biota dell'Adriatico ci mostra che il bacino ha sempre manifestato particolari fenomenologie (Vollenweider *et al.*, 1992). Le mucillagini sono avvenute almeno da quando la memoria umana viene registrata sotto forma scritta. Casi acuti di eutrofizzazioni (Rinaldi *et al.*, 1988) con crisi anossiche dei fondali hanno manifestato una significativa recrudescenza negli anni '70 e '80 del passato secolo (Rinaldi *et al.*, 1993). Nonostante tali crisi, prima degli anni Ottanta, l'Adriatico era il più pescoso mare italiano. Poi un'eccessiva erosione antropica della risorsa e una serie di eventi, descrivibili come "macrodescrittori" (Boero, 2007), ne ha segnato la storia. La sequenza temporale degli eventi riguarda i bloom di meduse, soprattutto *Pelagia noctiluca* nei primi anni ottanta (oggi da *Aurelia aurita*), seguiti poi da maree rosse, da crisi anossiche con mortalità massive, dalla regressione di alcune specie importantissime come la vongola, dall'introduzione della vongola filippina e, infine, da mucillagini (Boero, 2001). Un mare dominato da pesci ha subito una graduale "regressione paleontologica" con semplificazioni crescenti, un fenomeno globale (Boero *et al.*, 2008), ma particolarmente acuto in Adriatico. I pesci sono nettamente diminuiti per essere sostituiti dai metazoi più antichi tra quelli attuali (le meduse) a loro volta sostituite da protisti fotosintetici o mixotrofici, a loro volta sostituiti da una predominanza batterica (Fig. 6).

L'ecosistema adriatico è andato indietro nel tempo. Questi eventi, purtroppo studiati in modo scollegato, non sono di solito interpretati come una serie storica bensì come una sequenza a-storica di accadimenti scollegati tra loro. La situazione attuale, comunque, risente ancora di queste semplificazioni ecologiche e stenta a stabilizzarsi,

e forse non si stabilizzerà mai. I macrodescrittori biologici a volte sono il risultato di macrodescrittori fisici, come l'incremento della temperatura, la diminuzione degli apporti fluviali. A volte, però, potrebbero innescare processi fisici di enorme importanza.

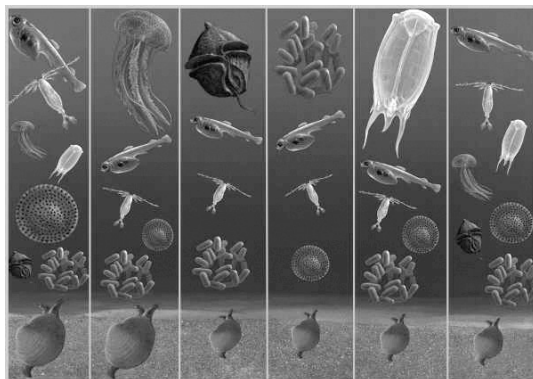


Fig. 6 - La storia dell'Adriatico, dagli anni settanta ad oggi. Nella prima colonna è raffigurata una situazione che vede grande pescosità sia nella colonna d'acqua (larva di pesce) sia sul fondo (bivalve). Nella seconda colonna sono raffigurati i bloom di meduse dei primi anni ottanta, seguiti poi dalle maree rosse causate da dinoflagellati, e dalle mucillagini causate da batteri. Tali eventi sono a volte mitigati dai bloom di taliacei. La situazione di oggi (ultima colonna a destra) vede una coesistenza di tutti i fenomeni, con diminuzione della pescosità (Disegno di Alberto Gennari e Fabio Tresca).

The history of the Adriatic Sea, from the Seventies to the present. The first column depicts a situation with high fisheries yields both in the water column (fish larva) and on the bottom (bivalve). Jellyfish blooms of the early Eighties are figured in the second column, then followed by dinoflagellate red tides, and by mucilages caused by bacterial activity. These events are sometimes mitigated by thalassiosira blooms. The present situation (last column to the right) is characterized by the coexistence of all phenomena, with lower fisheries yields (drawing by Alberto Gennari and Fabio Tresca).

Accecati dai dettagli e dalle previsioni matematizzate

L'Eastern Mediterranean Transient non è stato predetto da modellizzazioni matematiche tese a "prevedere" il futuro comportamento del Mediterraneo. La scoperta è stata fatta casualmente, durante una crociera oceanografica, quando si è visto che le acque profonde dello Ionio non portavano la tipica "marca" nord adriatica ma, bensì, quella del nord Egeo. Sembrerebbe quasi infantile prevedere che, in un periodo di riscaldamento globale, la produzione di acque superficiali destinate a diventare profonde a causa delle loro basse temperature possa subire delle alterazioni, e persino un arresto. Si tratta di un collegamento talmente ovvio che, come la lettera nascosta di Edgar Allan Poe, sfugge all'osservazione di chi si concentra sui dettagli. Le parole di Poe descrivono benissimo come l'ovvio sia spesso poco percepibile: *"There is a game of puzzles," he resumed, "which is played upon a map. One party playing requires another to find a given word --the name of town, river, state or empire --any word, in short, upon the motley and perplexed surface of the chart. A novice in the game generally seeks to embarrass his opponents by giving them the most minutely lettered names; but the adept selects such words as stretch, in large characters, from one end of the chart to the other. These, like the over-largely lettered signs and placards of the street, escape observation by dint of being excessively obvious; and here the physical oversight is precisely analogous with the moral inapprehension by which the intellect suffers to pass unnoticed*

those considerations which are too obtrusively and too palpably self-evident. But this is a point, it appears, somewhat above or beneath the understanding of the Prefect. He never once thought it probable, or possible, that the Minister had deposited the letter immediately beneath the nose of the whole world, by way of best preventing any portion of that world from perceiving it." La precisione e la matematizzazione possono impedire di apprezzare fenomeni di una banalità disarmante.

L'EMT ha avuto ripercussioni sulla biodiversità del mare profondo (e.g. Danovaro *et al.*, 2004) e, se dovesse ripetersi, potrebbe anche causare un cambiamento di regime che porterebbe il Mediterraneo Orientale a condizioni di continua stratificazione, soprattutto se venisse a mancare anche la formazione superficiale di acque profonde nel Nord Egeo.

Se il riscaldamento globale porterà ad un aumento di temperatura nelle acque del Nord Adriatico, saranno anche i biota locali a risentirne, come rimarcato in precedenza. Un inventario delle specie ad affinità fredda endemiche dell'Adriatico Settentrionale porterebbe automaticamente ad una lista di specie minacciate dal riscaldamento globale. Come notato da Boero e Bonsdorff (2007), tra queste specie ve ne sono alcune che non sono segnalate da più di un secolo! Forse il riscaldamento globale ha già fatto delle vittime e non ce ne siamo accorti.

Ecologia storica

L'insieme di questi fatti, di questi accadimenti, di queste tendenze, merita di essere studiato non solo in modo riduzionista, analizzando con accuratezza "anatomo-fisiologica" ogni singolo evento, ma anche in modo più strettamente ecologico e storico, cercando possibili nessi causali tra gli eventi (i macrodescrittori). In questo contesto le serie storiche sono di estrema importanza e sono l'unico mezzo che ci permetterà, in futuro, di capire l'odierno attraverso la storia.

Il monitoraggio standardizzato è di importanza basilare, ma si basa su una serie di osservazioni che derivano da contingenze che, poi, diventano routine. Il cambiamento, però, è a volte generato da situazioni anomale, che generano anche i cambiamenti di regime (Boero *et al.*, 2008), come potrebbe essere avvenuto in Adriatico a causa dei bloom di *Pelagia* nei primi anni ottanta.

È estremamente importante che al monitoraggio venga affiancata un'attività di osservazione. Se la routine del monitoraggio non prevede, ad esempio, la raccolta di taliacei (a causa della loro rarità), l'osservatorio dovrebbe comunque segnalarne la presenza. Ogni evento macroscopico dovrebbe essere registrato, anche se il protocollo del monitoraggio non lo prevede.

L'uomo è attirato dalle regolarità e cerca di trovare, in tutti i sistemi che osserva, dei segnali che permettano di scoprire regole, generali, leggi che, con la loro applicazione, permettano di "prevedere il futuro": se accade questo... allora accadrà quello. Queste "leggi" nei sistemi complessi ci permettono solo di dire che le previsioni sono intrinsecamente impossibili (Benincà, 2008). Il monitoraggio e l'osservazione ci servono per descrivere e per capire, per individuare tendenze e cambiamenti di regime. La storia si comprende in questo modo: si descrive e si comprende, ma non si prevede. Anche se conoscerla dovrebbe insegnarci a non ripetere gli errori del passato.

Bibliografia

- ARPA REGIONE EMILIA-ROMAGNA - Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia-Romagna, Rapporti annuali 1982-2006. A cura di: *Arpa Struttura Oceanografica Daphne. Pubbl. Assessorato Ambiente e Difesa del Suolo, Bologna.*
- BENINCÀ E., HUISMAN J., HEERKLOSS R., JOHNK K., BRANCO P., VAN NES E.H., SCHEFFER M., ELLNER S.P. (2008) - Cahos in a long-term experiment with a plankton community. *Nature*, **451**: 822-825.

- BIANCHI D., ZAVATARELLI M., PINARDI N., CAPOZZI R., CAPOTONDI L., CORSELLI C., MASINA S. (2006) - Simulations of ecosystem response during the sapropel S1 deposition event. *Palaeoceanography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **235**: 265-287.
- BOERO F., BOUILLON J., GRAVILI C., MIGLIETTA P., PARSONS T., PIRAINO S. (2008) – Gelatinous plankton: irregularities rule the word (sometimes). *Marine Ecology Progress Series*, **356**: 299-310.
- BOERO F., BONSDORFF E. (2007) – A conceptual framework for marine biodiversity and ecosystem functioning. *Marine Ecology*, **28** (Suppl. 1): 134-145.
- BOERO F. (2007) – Macrodescriptors: looking at simplicity to understanding complexity. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, **38**, 56.
- BOERO F. (2001) - Adriatic ecological history: a link between jellyfish outbreaks, red tides, mass mortalities, overfishing, mucilages, and thaliacean plankton? In: Gelatinous Zooplankton outbreaks: theory and practice. *CIESM Workshop Series*, **14**: 55-57.
- CIESM (2000) - The Eastern Mediterranean climatic transient: its origin, evolution and impact on the ecosystem. *CIESM Workshop Series*, Trieste, Italy, **10**: 86 pp.
<http://www.ciesm.org/online/monographs/Trieste.html>.
- DANOVARO R., DELL'ANNO A., PUSCEDDU A. (2004) - Biodiversity response to climate change in a warm deep sea. *Ecology Letters*, **7**: 821-828.
- RINALDI A., MONTANARI G. (1988) - Eutrophication in the Emilia-Romagna Coastal Waters in 1984-1985. *Ann. New York Acad. Sci.*, **534**: 959-977.
- RINALDI A., MONTANARI G., GHETTI A., FERRARI C.R. (1993) - Anossie nelle acque costiere dell'Adriatico Nord-Occidentale, Loro evoluzione e conseguenze sull'ecosistema bentonico. In: Atti 23° Congresso SIBM, Ravenna 8-12 Giugno 1992. *Biologia Marina*, Suppl. Notiziario S.I.B.M., **1**: 79-89.
- THEOCHARIS A., KLEIN B., NITTIS K., ROETHER W. (2002) - Evolution and status of the Eastern Mediterranean Transient (1997-1999). *J. Mar. Syst.*, **33**: 91-116.
- VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G. (1992) - Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). In: Marine Coastal Eutrophication. Proc. Bologna Conference, March 21-24, 1990. *J. Science of the Total Environment*, Elsevier (Suppl. 1992): 63-106.

K. HISCOCK

Marine Biological Association, The Laboratory, Plymouth PL1 2PB, U.K.
khis@mba.ac.uk

THE ROLE OF MARINE PROTECTED AREAS FOR BIODIVERSITY CONSERVATION AND FOR SCIENCE

Abstract – *The seas around Europe are now used for a wide range of activities, many of which are damaging to marine life. Partially in response to that damage, marine protected areas (MPAs) for biodiversity conservation are being established. MPAs are representative of the range of marine habitats in a (bio)geographical area and they protect or should protect rare, sensitive and threatened habitats and species. They should also provide reference points for scientists investigating structure and functioning in communities, undertaking autecological studies and assessing the impacts of human activities in unprotected areas. MPAs should also be used to enable to the public to see rich and varied marine life.*

Key-words: *marine protected areas, biodiversity, conservation, research.*

Introduction – Marine Protected Areas (MPAs), especially highly protected marine nature reserves (HPMNRs), are seen by many commercial users of the marine environment and the public as a ‘luxury’ and something that prevents mankind from getting protein, building materials, energy, transport etc. from the sea and, of course, from earning a living. Therefore, to persuade sea-users and policy advisors of the value of marine biodiversity, much intellectual effort is being put into identifying the ‘goods and services’ that biodiversity supplies (see, for instance, Beaumont *et al.*, 2007), or the value of biodiversity in increasing resistance and resilience in marine communities (see, for instance, Stachowicz *et al.*, 2007). MPAs are also promoted as a way of increasing fish (including shellfish) stocks by providing refugia for them from where export of larvae and adults will occur (see for instance Roberts *et al.* 2001).

It seems rare, and perhaps difficult, as an influencing strategy, to promote biodiversity conservation ‘just’ for the sake of ensuring that examples of habitats and of populations of species including rare, scarce or threatened ones are safeguarded. Directives, conventions and statutes have achieved some degree of protection and there are currently major imperatives to establish networks of MPAs. Many people who are not scientists also wish to see biodiversity preserved for its intrinsic appeal, inheritance value or because we have a duty to protect an environment that we can so easily damage. This paper outlines how scientists can state clearly why MPAs are required for biodiversity conservation, without using economic arguments, and emphasises that many scientific studies can only be undertaken if there are protected areas to work in.

The UK context – Until recently, UK politicians and their advisors have only responded effectively to the Conventions and Directives with marine conservation elements that the UK Government has signed and therefore has an obligation to implement. However, in the past few years, the culture of “we have to do it” may have changed to “we want to do it” (in relation to marine conservation) in the form of a variety of studies and the new legislation drafted and presented to the UK Parliament.

The UK Government has just published a Marine Bill that includes legislative provisions (relevant to England and Wales only) for the establishment of ‘Marine Conservation Zones’, a type of MPA. Such areas will range in intent from areas that continue to be used for extractive activities that do not damage specified biodiversity features, to highly protected areas where all extractive and damaging activities are

prohibited. I expect that, during debate, advocates for biodiversity conservation will be challenged to answer the question “why do we need marine protected areas and especially highly protected ones?” Scientists must be ready to inform the debate by clearly indicating the reasons why biodiversity conservation is important in the marine environment, why, in the UK, we need new legislation and why MPAs are needed for conservation and for science.

In presenting this review, I am guilty of adding to the excessive number of reviews rather than original work to inform biodiversity and conservation science. I take to heart the criticism of Willis *et al.* (2003) that review and theoretical papers about the value of marine reserves are exceeding those describing original and well designed scientific research. However, I hope that my presentation (made available on www.ukMPAs.org/presentations), and this paper can inform and influence policy advisors.

International context: the science of conservation – Three main areas of marine protected areas designation and management need the support of science:

identification of locations representative of the range of biodiversity in a geographical area including where species and habitats that are rare, in decline or threatened with decline occur;

design that will protect the designated biodiversity features including species and habitats sensitive to specified ‘pressures’ and the ecological processes that maintain those species and habitats, and

knowledge of the biology of species that will inform management.

There are several recent summaries of the successes of MPAs in enhancing biodiversity and of the design of MPAs. Those studies are most recently brought together in ‘The science of marine reserves’ (PISCO, 2007).

The role of MPAs: conservation of biodiversity - MPAs for biodiversity conservation range in purpose from multi-use areas where there is a presumption in favour of biodiversity conservation but where other (potentially damaging) activities may continue, to HPMNRs where all activities likely to damage marine habitats and species are prohibited. In multi-use areas, the activities that are most damaging to the biodiversity features of an area need to be regulated if the MPA is to be meaningful. The area then maintains essential structural and functional features as well as characteristics such as rare or scenically attractive species and habitats. However, such multi-use areas (which include Special Areas of Conservation established under the EU Habitats Directive) can only be partially successful in protecting biodiversity.

Biodiversity conservation includes two main strands: protecting representative sites and protecting rare, in decline or threatened with decline species and habitats.

1. Representativity. In representative MPAs, examples of habitats are available for study and recreation. In particular, they can be used to help understand the natural fluctuations that occur in marine communities as a reference for areas where exploitation or others impacts occur.

Having MPAs that represent the range of marine habitats and associated communities of species and that those locations are as close as possible to natural is of fundamental importance to biodiversity conservation. The locations represent the range of habitats and species in a particular biogeographical area usually within the territorial seas of a nation state. Furthermore, there should be replicates of each type and the examples chosen should be ‘the best’, the site series incorporating the widest variety of habitats and species including rare, scarce and threatened ones. Practical and pragmatic criteria are also important and include taking account of the ‘acceptability’ of proposed locations – if similar situations are available, the ones that are most acceptable to local communities are most practical to pursue as MPAs.

Identifying the location of representative areas requires survey data and a classification of habitat types. Survey data needs to be of a minimum standard to separate distinctly different communities for representation. The exercise to identify representative areas for protection is greatly aided by a classification of habitats and associated communities which, in Europe, is led by the European Nature Information System (EUNIS) (Hill *et al.*, 2004; see: <http://eunis.eea.europa.eu/habitats.jsp>) classification. Survey data should allow differentiation of habitats to at least Level 4 and preferably Level 5 of the classification.

2. Protection of species and habitats that are rare, in decline or threatened with decline. A great deal of work in the UK has been directed at identifying species and habitats that are important to protect because they are rare, in decline or threatened with decline (and would therefore be likely to benefit from protection including within MPAs).

Identification of species and habitats for protection is usually informed by the sort of criteria that identify 'Red List' species (see: www.iucnredlist.org/info/categories_criteria). Those criteria rely on quantitative measures over time, something that is rarely available for most marine species. Measures that can be applied to the sort of information available for marine species and habitats have been developed as criteria for identifying 'Nationally Important Marine Features' (Connor *et al.*, 2002). The criteria used to identify species (habitats are similar) are summarised below:

CRITERION 1: Proportional Importance

A high proportion of the populations of a species occurs within the UK.

CRITERION 2: Rarity

Marine species that are sessile or of restricted mobility are considered nationally rare if distribution is restricted **to eight or less 10km squares (0.5%) within the 3 nautical mile territorial seas limit of UK waters.**

CRITERION 3: Decline

An observed, estimated, inferred or suspected significant decline (exceeding expected or known natural fluctuations) in numbers, extent or quality of a marine species in the UK (quality refers to life history parameters). **Decline should be at least 25% in the past 25 years** where figures are available.

CRITERION 4: Threat of decline

It is estimated, inferred or suspected that a species will suffer a significant decline in the foreseeable future as a result of human activity. (Factors included for Biodiversity Action Plans: 1. It is predicted that the species **will decline by 50% in a current 25 year period, or in the next 25 years**; 2. The species is **believed to be long-lived (>25 years) with a low recovery potential** and if action is not taken to reverse current trends then the species is likely to become extinct in the next 100 years.)

At present, there is a UK (unpublished) candidate list which includes 402 species and 101 biotopes. That list needs substantial reduction to make it a practical one but the candidate list has already been greatly used.

Identification of locations (design criteria) – Survey data is essential for both identification of representative locations and places where rare, in decline or threatened with decline species and habitats occur. The selection and design criteria defined for Marine Conservation Zones in England and Wales by Defra (2008) (based on OSPAR and IUCN criteria) are:

- Representativity
- Replication
- Viability
- Adequacy
- Maximum connectivity
- Protection
- Use best available information

Another aspect of design is to get the best ‘value for money’ by identifying locations for protection that have the highest diversity and the highest number of ‘important’ species and habitats. The concept of ‘**marine biodiversity hotspots**’ was explored for the UK by Hiscock & Breckels (2007) and defined as: “*Marine biodiversity hotspots are areas of high species and habitat richness that include representative, rare and threatened features*”. The analyses undertaken identified hotspots according to six different measures, but the uneven nature of data available made the results indicative rather than definitive.

The role of MPAs: for studies of species biology and ecosystem functioning in close-as-possible-to-natural situations – MPAs established for biodiversity conservation can be used for science that helps us to understand how an area that is as close as possible to natural functions and how the species in it behave and interact. Such information will inform management actions within and MPA and more generally. MPAs can also provide the best locations to study, *in situ*, growth rates, longevity, feeding biology etc. and therefore contribute to cataloging biological traits of species (see <http://www.marlin.ac.uk/biotic>) and understanding the sensitivity of species and habitats to contribute to environmental assessments and management of sites (see Hiscock & Tyler-Walters, 2004 and <http://www.marlin.ac.uk/sah>).

The studies that are undertaken in HPMNRs are especially valuable but need to be undertaken in a ‘benign’ way, including non-destructive sampling. MPAs are not for destructive experimental studies that could be undertaken anywhere. There may, however, be a type of MPA that is established for experimental and (potentially) damaging research and where other activities that would confuse the science are removed. HPMNRs in particular have a role in providing us with areas that are as close as possible to natural. As such, the habitats and species in them, including rare or threatened features, are protected from damage. However, the ‘re-balancing’ from exploited to protected may create some surprises and some species may decline in abundance as a result. An example is the rise in abundance and size of spiny lobsters in the Leigh Marine Reserve so that the clam population became vulnerable and was depleted (e.g. Langlois *et al.*, 2006). Work that has been underway at the only No-Take area in the UK (4.3 km² of the Lundy Marine Nature Reserve) since 2004 has identified a great increase in the abundance and size of lobsters, *Homarus gammarus*, within the protected area and with probable benefits to stocks outside. There are also initial indications that some other species might be adversely affected by the rise in lobster numbers and size, particularly velvet swimming crabs, *Necora puber*. (M. Hoskin and C. Davies, personal communication.)

The role of MPAs: providing resistance and resilience to change. Diverse communities as well as the protection of key structural and functional species may help to resist some adverse effects of human activities including of non-native species and of climate change. However, evidence in the scientific literature is weak, but see, for instance, Bevilacqua *et al.* (2006).

The role of MPAs: restoring damaged ecosystems (where restoration is possible). Many habitats have been lost forever – under concrete, as a result of land claim, as

a result of destruction of fragile reef habitats by heavy fishing gear etc. Some species may be locally extinct because of past contamination or extractive activities. Restoration is a key role of MPAs although is often challenging. One such restoration challenge is to re-establish beds of horse mussels, *Modiolus modiolus*, (a biogenic reef) in Strangford Lough, Northern Ireland, which is a Special Area of Conservation. Despite repeated notification that the Annex 1 Reef habitat was being destroyed by scallop dredging, and a zoning scheme being established in 1995 under fisheries legislation, it was only when infraction proceedings against the UK Government were threatened by the Commission, that dredging was totally banned. To avoid a fine totalling several million Euro, the Northern Ireland Environment Agency has instigated a programme to restore the horse mussel population which includes legal measures to protect the beds.

The role of MPAs: public recreation, enjoyment and education - The public can enjoy the biodiversity in HPMNRs and the feeling that they are in an area that is as natural as possible. Often, normally scarce species are prolific in MPAs. The public and students will also benefit from educational facilities in multi-use MPAs and, in all types of MPAs, learn to value nature and to support conservation.

Conclusions – Without MPAs, we will continue to lose marine biodiversity and especially examples of vulnerable communities and of rare or sensitive species. Furthermore, we will not have areas that are as close as possible to natural to help to better understand ecosystem function and to have reference points to compare with exploited areas to and understand extent or type of change. MPAs, in their various forms, therefore all have an important role to play in biodiversity conservation and in increasing our knowledge of how ecosystems ‘work’. It is important to remember that ‘conservation’ is the regulation of human activities to ensure the continued presence of rich, diverse and functioning ecosystems and that conservation is therefore an active process. Enforcement of MPA legislation is essential. It is also important to emphasise that MPAs are just one aspect of protecting biodiversity and the overall ‘duty-of-care’ that we have with regard to our rich heritage of marine habitats and species applies everywhere.

The location, reasons for establishment and progress in establishing more MPAs in the UK can be followed through the activities of the UK MPAs Centre, hosted by the Marine Biological Association (<http://www.ukmpas.org>).

References

- BEAUMONT N.J., AUSTEN M.C., ATKINS J.P., BURDON D., DEGRAER S., DENTINHO T.P., DEROUS S., HOLM P., HORTON T., VAN IERLAND E., MARBOE A.H., STARKEY D.J., TOWNSEND M., ZARZYCKI T. (2007) - Identification, definition and quantification of goods and services provided by marine biodiversity: implications for the ecosystem approach. *Marine Pollution Bulletin*, **54** (3): 253-265.
- BEVILACQUA S., TERLIZZI A., FRASCHETTI S., RUSSO G.F., BOERO F. (2006) - Mitigating human disturbance: can protection influence trajectories of recovery in benthic assemblages? *Journal of Ecology*, **75**: 908-920.
- CONNOR D.W., BREEN J., CHAMPION A., GILLILAND P.M., HUGGETT D., JOHNSTON C., LAFFOLEY D.D'A., LIEBERKNECHT L., LUMB C., RAMSAY K., SHARDLOW M. (2002) - *Rationale and criteria for the identification of nationally important marine nature conservation features and areas in the UK. Version 02.11*. Peterborough: Joint Nature Conservation Committee (on behalf of the statutory nature conservation agencies and Wildlife and Countryside Link) for the Defra Working Group on the Review of Marine Nature Conservation. (Available from: <http://www.jncc.gov.uk/PDF/sg341.pdf>)
- DEFRA (Department for Environment Food and Rural Affairs) (2008) – *Draft guidance on selection and designation of Marine Conservation Zones. Note 1*. London, Defra. Available from: www.defra.gov.uk/marine/biodiversity/marine-bill/guidance.htm.

- HILL M.O., MOSS D, DAVIES C.E. (2004) - EUNIS habitat classification descriptions. European Topic Centre on Nature Protection and Biodiversity, Paris. Available from: <http://eunis.eea.europa.eu/habitats.jsp>.
- HISCOCK K., BRECKELS M. (2007) - Marine Biodiversity Hotspots: identification and protection. Godalming: WWF UK. Available from: www.wwf.org.uk/marineact.
- HISCOCK K., TYLER-WALTERS H. (2006) - Assessing the sensitivity of seabed species and biotopes - the Marine Life Information Network (*MarLIN*). *Hydrobiologia*, **555**: 309-320.
- LANGLOIS T.J., ANDERSON M.J., BABCOCK R.C., KATO S. (2006) - Marine reserves demonstrate trophic interactions across habitats. *Oecologia*, **147**: 134-140.
- PISCO (PARTNERSHIP FOR INTERDISCIPLINARY STUDIES OF COASTAL OCEANS) (2007) - *The Science of Marine Reserves* (2nd Edition, International Version). www.piscoweb.org: 22 pp.
- ROBERTS C.M., HALPERN B., PALUMBI S.R., WARNER R.R. (2001) - Designing marine reserve networks. Why small, isolated protected areas are not enough. *Conservation in Practice*, **2** (3): 10-17.
- STACHOWICZ J.J., BRUNO J.F., DUFFY J.E. (2007) - Understanding the effects of marine biodiversity on communities and ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **38**: 739-766.
- WILLIS T.J., MILLAR R.B., BABCOCK R.C. TOLIMIERI N. (2003) - Burdens of evidence and the benefits of marine reserves: putting Descartes before des horse? *Environmental Conservation*, **30**: 97-103.

L. TUNESI, S. AGNESI, T. DI NORA, G. MO

ICRAM, Via di Casalotti, 300 – 00166 Roma, Italia.
l.tunesi@icram.org

LA CONSERVAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ MARINA ALLA LUCE DELLE INIZIATIVE EUROPEE

THE CONSERVATION OF THE MARINE BIODIVERSITY IN THE FRAMEWORK OF THE EUROPEAN INITIATIVES

Abstract – *This paper provides a synthesis of the main constraints given by the EU Directives and by the international conventions on marine biodiversity ratified by Ital to outline some aspects relevant for the marine biological research devoted to support the environmental conservation.*

Key-words: *research, conservation, biodiversity, EU.*

Introduzione

La diversità biologica costituisce un elemento la cui estrema importanza è ormai riconosciuta a scala planetaria, indipendentemente dai diversi livelli ai quali si può esprimere (Turner *et al.*, 1999). A questo proposito la Convenzione sulla Diversità Biologica (CBD), firmata a Rio De Janeiro nel 1992 (CBD, 2000; CBD, 2004), costituisce uno degli impegni politici di maggior rilevanza a livello mondiale nel campo della conservazione ambientale.

Le minacce alla biodiversità del Mediterraneo sono molteplici (Cattaneo-Vietti e Tunesi, 2007), ed ascrivibili a cinque principali categorie: perdita di habitat, intenso sovra-sfruttamento delle risorse, inquinamento e sedimentazione, introduzioni di specie, cambiamenti climatici.

L'Unione Europea negli ultimi decenni ha manifestato una crescente attenzione allo sviluppo di politiche e di attività inerenti la tutela della biodiversità e, per quanto riguarda la biodiversità marina, ha dedicato particolare attenzione all'attuazione della Direttiva 92/43/CEE. Altri ambiti di diretto interesse per gli ambiti marini sono costituiti dalla Direttiva 60/2000, dalle iniziative per arrestare la perdita di biodiversità per il 2010 (SEBI 2010), dal piano d'azione europeo per la biodiversità, finalizzato nel corso del 2006 e redatto nell'ambito degli adempimenti previsti dalla CBD, dai regolamenti sulle attività di pesca e dall'elaborazione di una direttiva europea relativa alla "Strategia marina", la *Marine Strategy Framework Directive*.

Il presente contributo, proponendo una visione di sintesi di alcuni degli ambiti prioritari di impegno dell'UE in campo di biodiversità, si sofferma su alcuni aspetti, scelti in relazione alla loro stretta connessione con la ricerca scientifica. Tutto ciò al fine di evidenziare le aspettative che l'UE pone nei confronti della ricerca e quindi, di evidenziare le possibilità di questo comparto di affrontare tematiche di studio in grado di fornire strumenti conoscitivi concreti in materia di biodiversità marina.

Direttive 79/409/CEE e 92/43/CEE

La protezione della biodiversità a livello dell'Unione Europea trova la sua primaria applicazione con l'implementazione delle Direttive Europee 79/409/CEE e 92/43/CEE, conosciute rispettivamente come "Direttiva Uccelli" e "Direttiva Habitat".

La Direttiva 79/409/CEE, successivamente modificata dalle Direttive 85/411/CEE, 91/244/CEE, 94/24/CE e 97/49/CE, concerne la conservazione di tutte le specie di uccelli selvatici. Essa prevede particolari misure di protezione per alcune specie e per i loro habitat, e diverse misure di gestione tra cui la disciplina dello sfruttamento delle

specie cacciabili. Inoltre questa Direttiva contempla misure speciali di protezione per gli habitat delle specie elencate nel suo allegato I.

La Direttiva Habitat prevede la protezione rigorosa di alcune specie di flora e di fauna, ed introduce il concetto della protezione degli habitat naturali come strumento necessario al mantenimento o al ripristino ad uno stato di conservazione soddisfacente, delle specie di fauna e di flora selvatiche di interesse comunitario. Infatti la Direttiva Habitat che, come esplicitato all'art. 2, ha lo scopo di "contribuire a salvaguardare la biodiversità mediante la conservazione degli habitat naturali, nonché della flora e della fauna selvatiche (...)", contempla anche il monitoraggio del loro stato di conservazione, da realizzarsi mediante la stesura di specifici report.

L'attuazione della Direttiva richiede la realizzazione delle seguenti attività:

- di ricerca, per valutare lo stato di conservazione di habitat e specie (allegati I, II, IV e V),
- di valutazione e gestione delle integrazioni antropiche, mediante attività di sorveglianza e monitoraggio del fenomeno delle catture e delle uccisioni accidentali (allegato IV),
- di *reporting*, sullo stato di conservazione di habitat e specie di cui agli allegati, sulle misure attuate per la tutela e le eventuali deroghe concesse,
- di gestione e legislazione, con l'emanazione di decreti ministeriali e/o linee guida per monitoraggio, prelievi e deroghe ai divieti previsti dalla Direttiva.

La stessa Direttiva Habitat, facendo chiaro riferimento a quanto stabilito dalla Direttiva 79/409/CEE e dalle sue successive modifiche, richiede che ogni Stato Europeo identifichi una lista di Siti di Importanza Comunitaria (SIC) e di Zone di Protezione Speciale (ZPS), individuati per la loro valenza relativamente agli habitat e alle specie di importanza comunitaria. Nello specifico i SIC devono essere istituiti in funzione della presenza di habitat e specie di cui agli annessi I e II della Direttiva Habitat, mentre le ZPS devono essere stabilite in base alle specie elencate nell'allegato I della Direttiva Uccelli.

L'insieme dei SIC e degli ZPS costituisce, secondo la Direttiva, una rete ecologica europea di zone speciali di conservazione, denominata Natura 2000 (Fig. 1). Queste due direttive risultano pertanto complementari perché partecipano alla creazione di una rete di siti protetti creata per consentire la conservazione di specie ed habitat meritevoli di protezione e/o minacciati a livello comunitario.

È importante sottolineare che per quanto riguarda i citati Annessi I e II della Direttiva Habitat, queste due liste contengono voci classificate come "prioritarie", ovvero habitat e specie che rischiano di scomparire dal territorio di applicazione della Direttiva e per la cui conservazione la UE, nonché gli Stati Membri, riconoscono di avere particolare responsabilità. Nello specifico gli Annessi I e II della Direttiva Habitat listano 9 habitat marini (di cui 2 prioritari) e 17 specie marine (di cui 6 prioritarie) (Relini, 1999), per i quali gli Stati membri del Mediterraneo sono tenuti a prevedere la creazione di SIC.

Quanto sopra riportato evidenzia che l'applicazione della Direttiva Habitat richiede la conduzione di molteplici attività, che presuppongono specifiche conoscenze scientifiche ed una pianificazione territoriale dedicata. Inoltre, affinché la direttiva possa essere applicata efficacemente alla conservazione della biodiversità marina, la comunità scientifica deve svolgere un ruolo determinante almeno nei seguenti tre ambiti: l'emendamento di habitat e specie prioritari, i criteri da adottare per la selezione dei SIC marini, la gestione dei SIC marini.

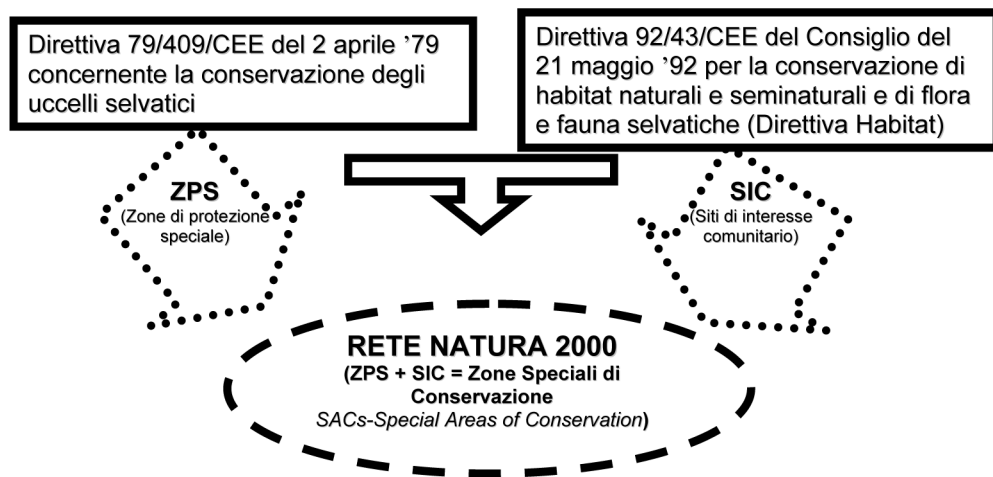


Fig. 1 - Schema esemplificativo dell'integrazione tra le Direttive 79/409/CEE e 92/43/CEE nella creazione di Rete NATURA 2000.

Scheme showing the integration between the two directives 79/409/EEC e 92/43/EEC to create the NATURA 2000 network.

Esigenze di emendamento degli habitat

A parte l'habitat costituito dalle praterie di posidonia, le lagune costiere e le grotte sommerse o semisommerse, la Direttiva 92/43/CEE è piuttosto carente per quanto riguarda la lista degli habitat meritevoli di protezione per il Mar Mediterraneo (Relini, 1999). Negli ultimi anni particolare interesse è stato dedicato all'habitat "Scogliere", elencato dalla Direttiva: molto generico perché, ufficialmente non corredato da ulteriori dettagli; tuttavia proprio questa sua genericità, come vedremo tra breve, potrebbe consentire una declinazione "mediterranea" di questa voce, relativa ai popolamenti bentonici di fondo duro meritevoli di particolare attenzione conservazionistica. Pertanto, per quanto riguarda gli habitat mediterranei meritevoli di protezione, vi è la necessità di "rivedere" la loro lista nel quadro della Direttiva Habitat, prendendo in considerazione le altre iniziative esistenti (Dauvin *et al.*, 2008), sviluppate nel contesto di ulteriori accordi internazionali che contemplano anche la protezione della biodiversità: in particolare la Convenzione di Barcellona, relativa alla protezione del Mar Mediterraneo dall'inquinamento.

La Convenzione di Barcellona fornisce importanti spunti per affinare la lista degli habitat della Direttiva 43/92, in particolare mediante il lavoro svolto per l'attuazione del suo emendamento del 1995, che prevede l'istituzione di Aree Specialmente Protette d'Importanza Mediterranea (ASPIM). Infatti, il RAC/SPA (Centro di Attività Regionale per le Aree Specialmente Protette del Piano d'Azione Mediterraneo – MAP UNEP), alla fine degli anni '90 ha attivato un gruppo di esperti a scala mediterranea, per classificare i popolamenti bentonici del Mediterraneo al fine di identificare quelli maggiormente meritevoli di protezione (Relini, 2000). Un primo risultato importante di questo gruppo è stato la redazione di una lista degli habitat marini del Mediterraneo, predisposta facendo riferimento alla tradizione mediterranea degli studi di zonazione del benthos, fondata sulla scuola di Endoume (Pérès e Picard, 1964; Pérès, 1982; Bellan-Santini *et al.*, 1994).

Seguendo questo tipo di approccio, il gruppo di lavoro internazionale ha prima definito una lista di riferimento degli "habitat" per il Mediterraneo (9 per il Piano

Sopralitorale, 22 per il Mesolitorale, 67 per l'Infralitorale, 41 per il Circalitorale, 9 per il Batiale e 1 per l'Abissale). Successivamente il gruppo di lavoro internazionale ha identificato dei criteri di valutazione di "necessità di attenzione" per questi habitat, per valore naturalistico o perché esposti a danno attuale o potenziale (Relini, 2000). L'analisi delle caratteristiche degli habitat identificati applicando i criteri definiti ha portato alla redazione di una lista di habitat mediterranei per i quali le Parti Contraenti la Convenzione di Barcellona hanno concordemente riconosciuto particolare importanza conservazionistica; questi habitat sono elencati nei documenti UNEP(OCA)/MED WG 149/5 Rev.1 e WG 154/7. Frutto di questo processo di identificazione e successiva selezione ha portato a considerare "Determinanti", quindi di maggiore valenza conservazionistica, 11 habitat afferenti al Piano Mesolitorale, 23 all'Infralitorale, 19 al Circalitorale e 4 al Batiale.

Le attività attualmente in corso da parte del RAC/SPA nell'ambito del Piano di Azione Mediterraneo UNEP "per il Coralligeno e le altre bio-costruzioni calcaree" (adottato dalle Parti Contraenti la Convenzione di Barcellona nel gennaio del 2008), costituisce l'occasione di sintesi di quanto sino ad oggi elaborato. Infatti la categoria "Coralligeno e altre bio-costruzioni calcaree" comprende non solo coralligeno e pre-coralligeno, e anche le *facies* a Peyssonneliaceae, il Mäerl, le Pralines e le *facies* a grandi Briozoi del detritico costiero (DC/c, DC/p, DM/m, DC/pral. E DC/b *sensu* Meinesz *et al.*, 1983), ma anche i *trottoir* a *Lythophyllum* ed a vermetidi.

In pratica questa nuova categoria, nata con un taglio conservazionistico applicativo, accoglie in sé la maggior parte degli habitat considerati "Determinanti" nei documenti RAC/SPA già citati, UNEP(OCA)/MED WG 149/5 Rev.1 e WG 154/7. Infatti, in estrema sintesi, essa raccoglie i principali popolamenti di fondo duro (escludendo solo i coralli profondi del batiale), identificati come meritevoli di protezione (Determinanti) dal gruppo di lavoro di Mediterraneo che ha lavorato sotto l'egida della Convenzione di Barcellona.

Questa nuova categoria (principali popolamenti di fondo duro meritevoli di protezione) potrebbe costituire la chiave con cui "declinare" la composizione dell'habitat "rocce" della Direttiva 43/92 in ambito Mediterraneo.

La comunità scientifica mediterranea ed italiana in particolare dovrebbe impegnarsi in questa direzione, considerando l'insieme degli aspetti legati da una parte ai concetti ecologici (Dauvin *et al.*, 2008a) e dall'altra all'applicabilità di quanto previsto dalle Direttive Europee (Dauvin *et al.*, 2008b), a fornire il supporto scientifico e conoscitivo adeguato per definire in modo concreto una lista motivata di habitat concordemente riconosciuti di importanza conservazionistica.

Esigenze di emendamento delle specie

Anche per quanto riguarda le 17 specie marine (di cui 6 prioritarie) elencate dall'allegato II della Direttiva, e complementari agli habitat dell'allegato I per la realizzazione di una rete europea coerente di zone speciali di conservazione (SIC), va rilevato che tale lista è sicuramente meritevole di essere emendata poiché quanto mai carente (Relini, 1999). A questo proposito, a parte alcuni approfondimenti sulla vulnerabilità dell'insieme delle specie già identificate come meritevoli di protezione considerando l'insieme del quadro legislativo nazionale (Dir. 79/409/CEE; L. 503, 5.10.81; Dir. 92/43 CEE, 21.05.92, D.P.R. 357, 8.09.1997; L. 157, 11.02.1992; L. 175, 27.05.99) (Tunési *et al.*, 2006), vanno ancora definiti gli elementi necessari ad una sua revisione, anche alla luce di quanto previsto dall'Accordo ACCOBAMS, per la conservazione dei Cetacei del Mar Nero, del Mediterraneo e delle contigue aree atlantiche, redatto nell'ambito della Convenzione sulla Conservazione delle Specie Migratorie (CMS).

Criteria da adottare per la selezione dei SIC marini

Molto resta da fare per definire con criteri standardizzati, almeno a livello nazionale, per la selezione dei SIC marini nell'ambito di NATURA 2000. Il caso emblematico dei SIC istituiti per proteggere l'habitat prioritario "prateria di Posidonia" è stato presentato proprio a questo Congresso (Agnesi *et al.*, questo volume): la percentuale delle praterie di posidonia ufficialmente censite e incluse nei SIC è molto diversa a seconda della Regione. Ad esempio dell'eterogeneità di approccio si possono considerare i due estremi: oltre i $\frac{3}{4}$ delle superfici a prateria di posidonia censite in Puglia sono incluse in SIC, mentre la Toscana non ha istituito alcun SIC per la protezione di questo habitat. Questa situazione implica, ovviamente in prospettiva, tutta una serie di possibili problematiche legate all'impegno, da parte di ogni Stato Membro, di "monitorare" lo stato di conservazione degli habitat e delle specie per le quali i SIC sono istituiti, con particolare attenzione a quelli prioritari (Verschuren, 2004).

La gestione dei SIC marini

La ricerca deve giocare un ruolo strategico anche a supporto della gestione: mancano ancora standard nazionali per consentire una gestione attiva dei SIC marini, a partire dalla definizione degli enti gestori. A livello europeo negli ultimi mesi sono state pubblicate linee guida per la gestione dei SIC marini a Posidonia (Díaz-Almela e Duarte, 2008), habitat per il quale esiste ormai una letteratura molto ampia proprio a supporto di gestione e conservazione (Boudouresque *et al.*, 2006). Tuttavia mancano indicazioni gestionali per SIC marini preposti alla protezione degli altri habitat e delle altre specie; inoltre restano ancora da definire aspetti importanti anche per quanto riguarda il completamento della loro lista (vedi la voce "scogliere"). Solo dopo che sia stata definita, in modo condiviso, una lista completa degli habitat e delle specie prioritarie per il Mediterraneo, la ricerca potrà contribuire in modo efficace anche a definire gli aspetti prioritari per la loro conservazione.

Direttiva 2000/60/CE

La Direttiva Quadro Europea sulle Acque (2000/60/CE), entrata in vigore nel dicembre del 2000, prevede che gli Stati Membri dell'Unione stabiliscano obiettivi di qualità ecologica e standard di qualità ambientale per tutte le acque superficiali, comprese le acque marine costiere incluse entro un miglio nautico dalla linea di costa. A questo argomento la Società ha dedicato un incontro *ad hoc* nel 2004 (SIBM, 2004), e quindi in questa sede ci si limiterà ad evidenziare alcuni aspetti, essenziali per inserire anche questa iniziativa nel più ampio contesto dell'approccio EU alla biodiversità.

La Direttiva Quadro Europea sulle Acque risponde all'esigenza di una legislazione comunitaria indirizzata alla disciplina della qualità ecologica delle acque, finalizzata a catalizzare la cooperazione tra gli stati Membri per il rispetto e la tutela degli ambienti marini costieri (Magaletti e Cicero, 2002). Gli Stati Membri devono stabilire un insieme di condizioni di riferimento che consentano di inquadrare le condizioni naturali indisturbate, in relazione a caratteristiche naturali fisico-chimiche ed idromorfologiche (Silvestri *et al.*, 2003). Dette condizioni costituiranno il quadro descrittivo del primo livello di una scala di classificazione dei tratti costieri, basata su cinque categorie di stato ecologico (elevato, buono, sufficiente, scadente, pessimo). Le tipologie degli elementi considerati per la classificazione sono relativi alla qualità biologica, idromorfologica e fisico-chimica.

Questa Direttiva prevede che la classificazione di stato ecologico derivi dalla valutazione di elementi biologici (fitoplancton, macroalghe, angiosperme e macroinvertebrati bentonici), e idromorfologici. Definisce inoltre lo stato ecologico come "espressione della qualità della struttura e del funzionamento degli ecosistemi acquatici associati

alle acque superficiali". Tuttavia i parametri di stato ecologico proposti dalla Direttiva sono principalmente di tipo strutturale, e si prestano solo limitatamente a fornire indicazioni sul grado di funzionamento degli ecosistemi (Magaletti e Cicero, 2002). Proprio a partire da queste problematiche, negli ultimi anni sono state condotte numerose attività di studio a livello europeo mirate anche all'intercalibrazione necessaria perché l'agenzia europea per l'ambiente possa disporre di set di dati utili a definire il quadro europeo dello stato dell'ambiente (EEA, 2007).

Iniziative per arrestare la perdita di biodiversità per il 2010

Nel 2001, sotto la Presidenza Svedese, l'Unione Europea decise la strategia EU per lo sviluppo sostenibile e, in questo ambito, per la prima volta venne proposto il 2010 quale obiettivo temporale entro il quale gestire e conservare le risorse naturali. Nel 2002 le Parti della Convenzione sulla Diversità Biologica (CBD) si sono impegnate a conseguire una riduzione significativa del tasso di perdita di biodiversità a livello globale, regionale e nazionale come contributo per alleviare la povertà ed a beneficio di ogni forma vivente sulla Terra.

Questo obiettivo è stato successivamente fatto proprio dal Summit Mondiale per lo sviluppo sostenibile e l'assemblea Generale delle Nazioni Unite lo ha incorporato come nuovo target tra gli obiettivi di Sviluppo del nuovo Millennio (www.cbd.int/2010-target/). A seguito dell'impegno mondiale su questo argomento (www.countdown2010.net), nel 2004 è stata lanciata l'iniziativa Pan-Europea SEBI 2010 (*Streamlining European 2010 Biodiversity Indicators*), con obiettivo di sviluppare un set europeo di indicatori della biodiversità, identificati in modo da consentire di valutare i progressi dell'Europa nel contrastare la perdita di biodiversità ed informare l'opinione pubblica. Le realtà direttamente coinvolte in questa iniziativa sono l'Agenzia Europea per l'Ambiente (EEA - *European Environment Agency*), la DG Ambiente della Commissione Europea, l'ECNC (*European Centre for Nature Conservation*), il segretariato UNEP/PEBLDS con il coordinamento della Repubblica Ceca e l'UNEP-WCMC (*World Conservation Monitoring Centre*). I lavori sono coordinati da un nucleo specifico che nel 2005 ha previsto la creazione di 6 gruppi di esperti (oltre 100 nominati dagli Stati Europei e dalle Associazioni Non Governative), che hanno iniziato a lavorare al fine di definire un primo set di indicatori per valutare l'obiettivo 2010.

A sua volta la CBD, ha identificato un set di 17 indicatori, relativi a 7 aree focali (www.twentyten.net/target.aspx). Gli indicatori devono rispondere a 13 distinti criteri, devono essere basati su set di dati raccolti a scala europea e disponibili anche per il passato; ciò perché la loro analisi deve consentire di rilevare possibili cambiamenti/inversioni nei trend. In Europa, dati raccolti a scala continentale consentono, ad esempio, di disporre di set di dati storici e raccolti con approcci standardizzati per farfalle e avifauna. La necessità di disporre di set di dati storici, raccolti con approcci standardizzati a scala continentale, per tutti i mari d'Europa, al fine definire indicatori specifici per il mare, costituisce una limitazione molto stringente. Per questi motivi la componente marina in SEBI 2010 è presente principalmente con due indicatori afferenti alla tematica "Stato e trend delle componenti della diversità biologica" ("Trend nell'abbondanza e distribuzione di determinate specie" e "Trend nell'estensione di biomi, ecosistemi e habitat determinati") e di un indicatore afferente alla tematica "Integrità degli ecosistemi, beni e servizi degli ecosistemi" (*Marine Trophic Index* - Pauly *et al.*, 1998, Pauly e Watson, 2005).

Notevole impegno è stato profuso nel proporre, nell'ambito dell'indicatore "Trend nell'estensione di biomi, ecosistemi e habitat determinati", lo studio delle fanerogame marine (principalmente *Posidonia* per il Mediterraneo e *Cymodocea* per i restanti mari). Lo studio di *Posidonia*, in particolare, è già previsto dalla Direttiva Habitat (92/43/CEE), dalla Direttiva Acque (2000/60/CE), e dalla Direttiva quadro sulla strategia per

l'ambiente marino (2008/56/CE). È sicuramente necessario affrontare e risolvere problemi di comparabilità dei dati (Lopez y Royo *et al.*, 2007). Tuttavia la valorizzazione delle Magnoliofite marine nella definizione di un particolare indicatore può costituire un ulteriore elemento di ottimizzazione dello sforzo che l'Unione Europea sta esprimendo al fine di organizzare tutta una serie di attività di monitoraggio che, se opportunamente messe a sistema, può costituire l'occasione per "alimentare" più strumenti conoscitivi e per rispondere a molteplici impegni. In effetti ci sono ancora margini per proporre nuovi indicatori marini. Le tre sfide principali che devono essere superate per motivare la scelta di un nuovo indicatore sono principalmente le seguenti:

1. Applicare approcci già in uso, soprattutto per valorizzare programmi di monitoraggio o di *reporting* già esistenti;

Valutare e creare uno specifico set di dati di riferimento (= prima del 2010) e uno successivo, dopo il 2010;

Scegliere un indicatore che sia in grado di fornire un messaggio chiaro, che consenta di far comprendere lo stato della biodiversità in quanto tale per i mari europei.

Piano d'azione europeo per la biodiversità, finalizzato nel 2006

La comunicazione della Commissione –COM (2006) 216 costituisce un'importante "sintesi" dell'approccio adottato dall'Unione Europea poiché fa riferimento allo *EU Action Plan to 2010 and Beyond* e agli *EU Biodiversity Headline Indicators*.

Questo documento che, prende in rassegna sinteticamente l'importanza che la biodiversità riveste per l'Umanità, evidenzia l'ampiezza dei problemi in atto, esaminando l'adeguatezza delle soluzioni poste in essere dall'UE. Inquadra così, tra gli altri argomenti, l'importanza che le priorità identificate in materia di biodiversità siano opportunamente integrate nella politica della pesca, per il controllo delle specie esotiche. Va rilevato che la COM 216, nell'ambito delle misure di sostegno, dedica particolare attenzione al potenziamento delle attività di ricerca. A questo proposito fa riferimento specifico al 7° programma quadro come occasione in termini di cooperazione, nuove infrastrutture e creazione di nuove capacità.

Gli spunti forniti dal sopraccitato documento sono organizzati in quattro settori principali e ben 10 obiettivi prioritari. I due settori che probabilmente rivestono maggiore rilevanza per la biologia marina nazionale possono essere considerati il primo e il quarto. Il 1° settore (La biodiversità nell'UE) propone i seguenti obiettivi:

- La salvaguardia degli habitat e delle specie più importanti dell'UE;
- Conservare e ripristinare la biodiversità e i servizi eco sistemici nell'ambiente marino dell'UE;
- Rafforzare la compatibilità tra lo sviluppo regionale e territoriale e la biodiversità all'interno dell'UE;
- Ridurre sensibilmente l'impatto delle specie esotiche invasive e dei genotipi esotici sulla biodiversità dell'UE.

Il 4° (La base di conoscenze) ha un solo obiettivo, ma particolarmente importante: potenziare in maniera sostanziale la base di conoscenze per la conservazione e l'uso sostenibile della biodiversità, all'interno dell'UE e nel mondo.

Le principali misure di sostegno previste contemplano un "finanziamento economico adeguato" che, per quanto riguarda la ricerca, sono da cercare principalmente nell'ambito del 7° programma quadro e in Life+.

Regolamenti sulle attività di pesca

La comunicazione della Commissione COM (2001) 162 definitiva – Volume IV evidenzia aspetti di particolare interesse per le attività di ricerca a supporto dell'approfondimento delle conoscenze relative alla biodiversità. In particolare l'Azione V

“Ricerca finalizzata ad una maggiore conoscenza in materia di biodiversità”, prevede: elaborazione ed applicazione di tecniche molecolari per l’identificazione degli stock, la quantificazione della variabilità genetica e delle modifiche inter e intra popolazione ed il monitoraggio dei cambiamenti genetici;

- elaborazione di modelli quantitativi sugli effetti delle pressioni antropiche sulle popolazioni di specie di valore commerciale scarso o nullo compresi gli effetti della distruzione di habitat;
- elaborazione di indicatori della biodiversità relativi allo stato di salute degli ecosistemi marini relativamente agli stock ittici e ad altre specie. Tali indicatori potrebbero essere utilizzati come elementi di paragone o livelli di riferimento in materia di gestione rispetto ai quali valutare l’impatto della pesca o di altre attività umane sull’ambiente;
- individuazione di nuovi dati da raccogliere su base regolare;
- individuazione di habitat e biotopi importanti e delle misure di conservazione e di gestione necessaria per ridurre al minimo l’impatto della pesca su di essi;
- studio delle interazioni tra specie e della relazione predatore-preda per meglio comprendere gli impatti delle attività della pesca.

L’ultimo Regolamento Comunitario sulla pesca in Mediterraneo (CE 1967/2006 del Consiglio, relativo alle misure di gestione per lo sfruttamento sostenibile delle risorse della pesca nel Mar Mediterraneo, recante modifica del regolamento CEE 2847/93, e che abroga il regolamento CE 1626/94), presenta una particolare trasversalità rispetto alle politiche ambientali derivanti dalla DG Ambiente (es. Direttiva 92/43/CEE). In particolare perché prevede due divieti funzionali alle politiche di conservazione attuate dalla CE:

- Il divieto di cattura, detenzione, trasbordo e sbarco intenzionale delle specie protette dalla Direttiva 92/43/CE;
- Il divieto di strascico su praterie di Posidonia, coralligeno e maërl.-

Direttiva europea per la “Strategia marina”

Questa direttiva, pubblicata il 17 giugno del 2008, ha l’obiettivo di istituire il quadro di azione comunitaria nel campo della politica per l’ambiente marino, affinché i Paesi Membri adottino le misure necessarie ad ottenere e/o mantenere un adeguato stato di salute ambientale dei mari europei entro il 2020. Questo documento prevede molteplici impegni per gli Stati Membri. In particolare si segnala:

lo sviluppo di piani di valutazione sulle componenti ambientali nel territorio dello Stato Membro - a tale riguardo la Direttiva include gli elementi di interesse conservazionistico ai sensi delle altre Direttive Europee (quindi specie e habitat della Direttiva 92/43/CEE), nonché gli habitat importanti ai sensi della normativa internazionale (es. habitat identificati in seno alla Convenzione di Barcellona);

l’attuazione di un piano di monitoraggio degli elementi ambientali e delle fonti di pressione su detti elementi ambientali;

l’armonizzazione di misure di monitoraggio e difesa dell’ambiente in sinergia con iniziative Regionali (quindi, ad esempio con le Convenzioni Regionali, come la Convenzione di Barcellona per il Mediterraneo).

Conclusioni

L’importanza della biodiversità è ormai un concetto acquisito a scala planetaria, come la necessità di arrestarne la perdita e di avviarne il recupero. Questa visione si basa sulla coscienza, da parte dell’Umanità di aver compreso di essere interdipendente con la natura e di avere bisogno di trovare un nuovo equilibrio tra sviluppo e conservazione dell’ambiente naturale.

L'Unione Europea ha deciso di dedicare il massimo impegno per il raggiungimento di questi obiettivi, ben oltre il 2010, dotandosi di una visione a più lungo termine, necessaria per inquadrare e definire politiche adeguate. In questo ambito, i contesti normativi internazionale, europeo e mediterraneo risultano quanto mai complessi ma, nel contempo, chiaramente determinati a richiedere impegni precisi e sempre più puntuali agli Stati, in materia di salvaguardia ambientale e protezione della biodiversità.

Tutto ciò concorre a riconoscere alla ricerca in campo ambientale marino un ruolo strategico per conseguire le conoscenze scientifiche necessarie a trasformare la volontà politica in iniziative concrete.

In estrema sintesi, le politiche europee costituiscono l'occasione per la comunità scientifica di avviare una serie concreta di iniziative tese a fornire le informazioni necessarie per l'applicazione di quanto previsto da Direttive, Regolamenti ed iniziative Comunitarie inclusi gli aspetti complessi ed interconnessi trattati dalla nuova direttiva quadro sulla strategia per l'ambiente marino.

Bibliografia

- AGNESI S., CASSESE M.L., MO G., TUNESI L. (in press) - Sites of Community Importance for *Posidonia oceanica*: tools for conservation in Italy. *Biol. Mar. Mediterr.*, **15** (1)
- BELLAN-SANTINI D., LACAZE J.C., POIZAT C. (1994) - Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, synthèse, menaces et perspectives. *Patrimoine Naturels*, **19**: 1-246.
- BOUDOURESQUE C.F., BERNARD G., BONHOMME P., CHARBONNEL E., DIVIACCO G., MEINESZ A., PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., RUITTON S., TUNESI L. (2006) - *Préservation et conservation des herbiers à Posidonia oceanica*. RAMOGE pub.: 202 pp.
- CATTANEO VIETTI R., TUNESI L. (2007) - *Le aree marine protette in Italia. Problemi e prospettive*. Aracne Editrice srl, Roma: 252 pp.
- CBD (2000) - *Sustaining Life on Earth*. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, Canada: 21 pp.
- CBD (2004) - *The Convention on Biological Diversity from conception to implementation*. *CBD News* - Special Edition, Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, Canada: 42 pp.
- COM (2006) - *Comunicazione della Commissione - Arrestare la perdita di biodiversità entro il 2010 - e oltre - Sostenere I servizi ecosistemici per il benessere umano*. Commissione delle Comunità Europee, Bruxelles, 22.5.2006, COM(2006) 216 definitivo: 1-17.
- DÍAZ-ALMELA E., DUARTE C.M. (2008) - *Management of Natura 2000 habitats. 1120 *Posidonia beds (Posidonion oceanicae)*. European Commission: 28 pp.
- PÉRÈS J.M. (1982) - Zonations. *Mar. Ecol.*, **5** (1): 9-45.
- DAUVIN J.C., BELLAN G., BELLAN-SANTINI D. (2008a) - The need for clear and comparable terminology in benthic ecology. Part I. Ecological concepts. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, **18**: 432-445.
- DAUVIN J.C., BELLAN G., BELLAN-SANTINI D. (2008b) - The need for clear and comparable terminology in benthic ecology. Part II. Application of the European Directives. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, **18**: 446-456.
- EEA (2007) - *Europe's environment. The fourth assessment*. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark: 454 pp.
- LOPEZ Y ROYO C., PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., CASAZZA G. (2007) - Monitoring *Posidonia oceanica* in the Mediterranean: a datawarehousing approach. *PNUE-PAM-CAR/ASP. Actes du 3^{ème} Symposium méditerranéen sur la végétation marine (Marseille, 27-29 mars 2007)* C. Pergent-Martini, S. El Asmi, C. Le Ravallec edits, RAC/SPA publ., Tunis: 96-103.
- MAGALETTI E., CICERO A.M. (2002) - La direttiva quadro europea sulle acque: i riferimenti all'ambiente marino costiero. *Acqua & Aria*, **2**: 69-75.
- PAULY D., CHRISTENSEN V., DALSGAARD J., FROESE R., TORRES F.C. Jr. (1998) - Fishing down marine food webs. *Science*, **279**: 860-863.
- PAULY D., WATSON R. (2005) - Background and interpretation of the 'Marine Trophic Index' as a measure of biodiversity. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **360**: 415-423.

- PÉRÈS J.M., PICARD J. (1964) – Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Rec Trav. Stat. Mar. Endoume*, **31** (46): 1-37.
- RELINI G. (1999) – L'Italia e la protezione della biodiversità. *Biol Mar Mediterr.*, **6** (1): 151-171.
- RELINI G. (2000) – Nuovi contributi per la conservazione della biodiversità marina in Mediterraneo. *Biol Mar Mediterr.*, **7** (3): 173-211.
- SIBM (2004) – Atti del Seminario – La direttiva sulle acque 2000/60/CE: Quali indicatori biologici? Roma, 22 Aprile 2004. Relini G., Massaro E., Simoni R., Queirolo S. Eds. *Biol Mar Mediterr.*, **11** (1): 115 pp.
- SILVESTRI C., MAGALETTI E., CICERO A.M., GIOVANARDI F., SCARPATO A., BRONDI A., SPADA E., CASAZZA G. (2003) – Towards the application of the European water framework directive in Italian coastal waters. *Proceedings of the Sixth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 03, E. Ozhan Ed., 7-11 October 2003, Ravenna, Italy*: 1169-1178.
- TUNESI L., AGNESI S., CLÒ S., DI NORA T., MO G. (2006) - La vulnerabilità delle specie protette ai fini della conservazione. *Biol. Mar. Mediterr.*, **13** (1): 446-455.
- TURNER R.K., VAN DER BERG J.C.J.M., SODERQVIST T., BARENDREGT A., VAN DER STRAATEN J., MALTBY E., VAN IERLAND EKKO C. (2000) - Ecological-economic analysis of wetland: scientific integration for management and policy. *Ecological Economics*, **35**: 7-23.
- VERSCHUUREN J. (2004) - Effectiveness of nature protection legislation in the European Union and the United States: the Habitats directive and the Endangered Species Act. In: Dieterich M. and van der Straaten J. (eds), *Cultural landscapes and land use. The nature conservation – society interface*. Kluwer Academic Publishers: 39-68.